



T.C.
BATMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

OKZALİPLATİNİN ELEKTROKİMYASAL
ÖZELLİKLERİ VE MİKTAR TAYİNİ

Mehmet ASLAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kimya Anabilim Dalı

NİSAN-2019
BATMAN
Her Hakkı Saklıdır

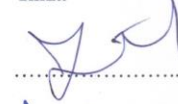
TEZ KABUL VE ONAYI

Mehmet ASLAN tarafından hazırlanan “Okzalıptinin Elektrokimyasal Özellikleri ve Miktar Tayini” adlı tez çalışması .../.../2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan: Prof. Dr. Zühre ŞENTÜRK



Danışman: Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT



Üye: Dr. Öğr. Üyesi Deniz BARIŞ CEBE



.....Yukarıdaki sonucu onaylarım.


Prof. Dr. Bahattin İSÇAN
FBE Müdürü



TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Mehmet ASLAN

29/04/2019

ÖZET
YÜKSEK LİSANS TEZİ
OKZALİPLATİNİN ELEKTROKİMYASAL ÖZELLİKLERİ VE MİKTAR
TAYİNİ

Mehmet ASLAN

Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT
2019, 52 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Zühre ŞENTÜRK
Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT
Dr. Öğr. Üyesi Deniz BARIŞ CEBE

Bu tez çalışmasında, sitotoksik özelliğe sahip anti kanser etki gösteren Okzaliplatin için basit, hızlı ve duyarlı bir voltametrik yöntem geliştirilmiştir. Bor katkılı elmas (BDD) elektrotu katodik yönde 0.5 M H₂SO₄ ortamında elektrokimyasal olarak aktive edilmiştir. Okzaliplatinin elektrokimyasal özellikleri BDD elektrot yüzeyinde kare-dalga ve dönüşümlü voltametri teknikleri kullanılarak incelenmiştir. Kare-dalga voltametri tekniği kullanılarak Britton Robinson (BR) tamponu (pH 5.0) içerisinde Okzaliplatin, +1.01 V (vs. Ag/AgCl) gerilim değerinde iyi belirlenmiş voltametrik bir yanıt vermiştir. Geliştirilen voltametrik teknik BR (pH 5.0) ortamında 1.0-4.5 µM derişim aralığında doğrusal olduğu ve gözlenebilirlik sınırı 0.276 µM (0.109 µg mL⁻¹) olarak saptanmıştır. Önerilen yöntem Okzaliplatin ilaç şekillerine başarılı bir şekilde uygulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Okzaliplatin, BDD Elektrot, Kare Dalga Voltametri, İlaç.

**ABSTRACT
MS THESIS**

**ELECTROCHEMICAL BEHAVIORS AND DETERMINATION OF
OXALIPLATIN**

Mehmet ASLAN

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
BATMAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
DEPARTMENT OF CHEMISTRY**

**Advisor: Prof. Dr. Abdukadir LEVENT
2019, 52 Pages**

Jury

**Prof. Dr. Zühre ŞENTÜRK
Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT
Dr. Öğr. Üyesi Deniz BARIŞ CEBE**

In this thesis study, a simple, rapid and sensitive voltammetric method for Oxaliplatin, which has anticancer effect with cytotoxic properties has been developed. The BDD electrode is electrochemically activated in the cathodic direction at 0.5 M H₂SO₄. The electrochemical properties of oxaliplatin have been investigated using square-wave voltammetry and cyclic voltammetry techniques on the surface of the BDD electrode. Using square-wave stripping mode, oxaliplatin has yielded a well-defined voltammetric response in Britton-Robinson buffer BR (pH 5.0) at +1.01 V (vs. Ag/AgCl). The voltammetric technique developed has been detected to be linear in the BR (pH 5.0) environment in the 1.0-4.5 µM concentration range and the detection limit to be 0.27665 µM (0.109 µg mL⁻¹). The proposed method has successfully been applied to pharmaceutical formulations of Oxaliplatin.

Keywords: Oxaliplatin, BDD Electrode, Square Wave Voltammetry, Pharmaceutical.

ÖNSÖZ

Bu tezin hazırlanmasında bilim insanı olmanın gerektirdiği sorumluluğun bilincinde olan, her fırsatta benden yardımlarını ve tecrübelerini esirgemeyen bir yaşamı bu uğurda şekillendiren, mücadeleyi yaşam felsefesi haline getirmiş olan ve her koşulda dimdik durabilen bilim emekçisi sayın hocam Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT'e yaşamımda kelimelerle ifade edilmesi güç olan bir etki bırakmıştır. İşte hem bu nedenle hem de çalışmalarımın her aşamasına olan katkısından dolayı kendilerine sonsuz teşekkür ederim.

Kendine has bilimsel anlayışıyla bana bildiği her şeyi aktarmaktan bir kere bile tereddüt etmeyen sayın kardeşim Medikal Onkolog Dr. Ferit ASLAN'a ve Dr. Öğr. Üyesi Günay ÖNAL'a çok teşekkür ederim.

Hem çalışmalarla ilgili sıkıntılarında hem de yaşamımın tüm sorunlu zamanlarında desteğini hiç esirgemeyen ve hayatımda özel bir yeri olan eşim ve çocuklarıma sonsuz teşekkür ederim.

Mehmet ASLAN
BATMAN-2019

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
TEZ BİLDİRİMİ.....	III
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGE VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Kanser	3
2.2. Platin Analogları	7
2.2.1. Okzaliptin	8
2.3. Elektroanalitik Yöntemler.....	12
2.3.1. Voltametri.....	13
2.3.2. Voltametrik düzenek	14
2.3.3. Voltametrیده kullanılan karşılaştırma elektrotları.....	16
2.3.4. Voltametrیده kullanılan çalışma elektrotları	16
2.3.4.2. Bor katkılı elmas elektrot	18
2.4. Voltametrik Teknikler.....	20
2.4.1. Polarografi	20
2.4.2. Dönüşümlü voltametri	21
2.4.4. Puls voltametrik teknikler	23
2.4.4.1. Diferansiyel puls voltametrisi	23
2.4.4.2. Kare dalga voltametrisi	24
3. MATERYAL VE YÖNTEM	26
3.1. Materyal	26
3.1.1. Voltametrik çalışmalarda kullanılan malzeme, araç ve gereçler.....	26
3.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler.....	27
3.1.3. Çözeltilerin hazırlanması.....	28
3.1.3.1. Stok çözeltilerinin hazırlanması	28
3.1.3.2. Tampon çözeltilerinin hazırlanması	28
3.1.4. Elektrokimyasal ölçümler.....	28
3.2. Yöntem.....	29
3.2.1. Voltametrik yöntemin gerçek örneklerde uygulaması	29
3.2.1.1. Enjektabl çözeltiler	29
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA	30
4.1. Okzaliptin'in Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi	30
4.1.1. Dönüşümlü voltametri	30
4.1.1.1. Gerilim tarama hızının etkisi.....	31

4.1.2. Kare dalga voltametri	36
4.1.3. Geliştirilen yöntemin analitik performans özelliklerinin incelenmesi	38
4.2. Gerçek Örnek Analizleri	40
4.2.1. Enjektabl çözeltiler	41
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	42
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	52



SİMGE VE KISALTMALAR

Simgeler

A	Amper
mA	Miliamper
Dak	Dakika
M	Molarite
g L⁻¹	Gram litre ⁻¹
V	Volt
mV	Milivolt
mV s⁻¹	Milivolt saniye ⁻¹
mL	Mililitre
Mg	Miligram
µg	Mikrogram
µg mL⁻¹	Mikrogram mililitre ⁻¹
M	Molarite
mM	Milimolar
µM	Mikromolar
<i>i</i>_p	Pik akımı
<i>i</i>_{pa}	Anodik pik akımı
<i>i</i>_{pc}	Katodik pik akımı
<i>E</i>	Gerilim
<i>E</i>_p	Pik gerilimi
<i>E</i>_{pa}	Anodik pik gerilimi
<i>E</i>_{pc}	Katodik pik gerilimi
s	Saniye
<i>m</i>	Eğim
F	Faraday Sabiti (96485, kulon/eşdeğergram)
<i>v</i>	Gerilim tarama hızı
ss	Standart sapma
<i>α</i>	Yük aktarım katsayısı
<i>n</i>	Redoks tepkimesinde aktarılan elektron sayısı
R	İdeal gaz sabiti (8.314 J K ⁻¹ mol ⁻¹)
T	Mutlak sıcaklık (298 K)

Hz	Hertz
ΔE_s	Gerilim adımı
ΔE_{sw}	Puls amplitüdü

Kısaltmalar

DACH	Diaminosikloheksan
CV	Dönüşümlü voltametri
BR	Britton-Robinson
DPV	Diferansiyel puls voltametrisi
SWV	Kare dalga voltametrisi
GCE	Camsı karbon elektrot
CPE	Karbon pasta elektrot
DKE	Doygun kalomel elektrot
LC	Sıvı kromatografisi
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
CE	Kapiler elektroforez
ESI	Elektrosprey iyonisasyon
ICP	İndüktif eşleşmiş plazma
MS	Kütle spektrometresi
HILIC	Hidrofilik etkileşim sıvı kromatografisi
DNA	Deoksi ribo nükleik asit
SWCNTs-GE	Tek duvarlı karbon nanotüp modifiye grafit elektrot
GE	Grafit elektrot
EIS	Elektro impedans spektrometresi
FIA-ED	Elektrokimyasal miktar saptama yöntemi
SPCE	Perde baskılı karbon elektrot
CFE	Karbon fiber elektrot
PGE	Kalem grafit elektrot
BDD	Bor katkılı elmas elektrot
LOD	Gözlenebilirlik sınırı
LOQ	Tayin alt sınırı
R	İdeal Gaz Sabiti
rpm	Dakikada döngü sayısı

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1 Kanser hücresi ve çoğalması.....	3
Şekil 2.2. Hücre proliferasyonunun evreleri (hücre döngüsü).....	4
Şekil 2.3 Kanserın 10 temel özelliği.....	5
Şekil 2.4 Yaygın elektroanalitik yöntemlerin şematik gösterim.....	13
Şekil 2.5 Voltametrik teknikler ve sınıflandırması.....	13
Şekil 2.6 Voltametri de üç elektrotlu potansiyostatik sistem diyagramı.....	15
Şekil 2.7. Voltametrik ölçümlerde kullanılan üç elektrotlu elektrokimyasal hücre.....	15
Şekil 2.8 Platin tel elektrot.....	16
Şekil 2.9 Voltametrik analizlerde kullanılan çalışma elektrotları.....	17
Şekil.2.10 Elmas örgüsü ve grafit örgüsü farklılıkları.....	19
Şekil 2.11 BDD elektrot.....	20
Şekil 2.12 Dönüşümlü voltametri de elektroda uygulanan gerilimin zamana karşı grafiği.....	21
Şekil 2.13 Dönüşümlü voltametri de akım-gerilim eğrisi.....	22
Şekil 2.14 Dijital cihazlarda diferansiyel puls voltametrisi uyarma sinyali.....	24
Şekil 2.15 DPV Voltogramı.....	24
Şekil 2.16 Kare dalga voltametrisinde uyarma sinyali(a) ve elde edilen bir voltamogram(b)	25
Şekil 3.1 AUTOLAB, PGSTAT128N cihazı.....	27
Şekil 4.1 1.25×10^{-4} M Okzaliplatin'in BR (pH 5.0) tamponu içinde iki döngümlü voltamogramı. Elektrot, BDD; gerilim tarama hızı, 100 mVs-1. Kesikli çizgi, destek elektroliti.....	30
Şekil 4.2 1.25×10^{-4} M Okzaliplatinin BR (pH 5.0) tamponu içinde (1) 25, (2) 50, (3) 100, (4) 200, (5) 300, (6) 400 mV s ⁻¹ gerilim tarama hızlarıyla elde edilen dönüşümlü voltamogramları.....	31
Şekil 4.3 $\sqrt{v} - i_p$, $v - i_p$ ve $\log v - \log i_p$ grafikleri.....	32
Şekil 4.4 1.25×10^{-4} M Okzaliplatinin BR tamponu içinde (pH 2.0-10.0) BDD elektrot kullanarak elde edilen SWV eğrileri. SW değişkenleri: frekans, 30 Hz; adım gerilimi, 10 mV; amplitüd, 90 mV.....	34
Şekil 4.5 1.25×10^{-4} Okzaliplatinin fosfat (pH 3.0, 4.0, 7.4, 9.0) ve asetat (pH 4.8) tamponları içinde BDD elektrot kullanarak elde edilen eğriler SW değişkenleri: frekans, 30 Hz; adım gerilimi, 10 mV; amplitüd, 90 mV.....	34
Şekil 4.6 Okzaliplatin pik gerilimi (E _p) ve pik akımı (i _p) üzerine pH etkisi. Okzaliplatin, 1.25×10^{-4} M; destek elektroliti, BR tamponu; elektrot, BDD; yöntem, SWV; SW değişkenleri: frekans, 30 Hz; adım gerilimi, 10 mV; amplitüd, 90 mV.....	35
Şekil 4.7 BDD elektrot yüzeyinde 1.25×10^{-5} M Okzaliplatinin BR tamponu (pH 5.0) çözeltisi içindeki farklı adım potansiyeli deki SW voltamogramları ve dağılım grafiği	37
Şekil 4.8 BDD elektrot yüzeyinde 1.25×10^{-5} M Okzaliplatinin BR tamponu (pH 5.0) çözeltisi	

	içindeki farklı amplitüd deki kare dalga voltamogramları ve dağılım grafiği.....	37
Şekil 4.9	BDD elektrot yüzeyinde 1.25×10^{-5} M Okzaliptinin BR tamponu (pH 5.0) çözeltisi içindeki farklı frekans daki kare dalga voltamogramları ve dağılım grafiği.....	38
Şekil 4.10	(A) Okzaliptinin farklı derişimlerinin [(1)1.0, (2)1.5, (3)2.0, (4)2.5, (5)3.0, (6)3.5, (7)4.0, (8)4.5 μ M] BR tamponu (pH 5.0) içerisinde kaydedilen SW değişkenleri: frekans, 30 Hz; adım gerilimi, 10 mV; amplitüd, 90 mV. Kesikli çizgi, destek elektroliti. Ek (B): ip/C Oksaliptin kalibrasyon eğrisi.....	39
Şekil 5.1.	Okzaliptinin yükseltgenme mekanizması	43



ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Kaynaklarına göre Antineoplastik ilaçlar	7
Çizelge 2.1 Okzaliplatin bileşiğinin moleküler yapısı ve genel özellikleri.....	8
Çizelge 2.3. Platin analoglarının analiz yöntemleri.....	9
Çizelge 2.4 Platin Anaologları farklı elektrotlar üzerinde voltametrik analizi.....	12
Çizelge 4.1 Okzaliplatin voltamogramlarındaki pik akımı ve pik gerilimi üzerinde gerilim tarama hızının etkisi. Okzaliplatin derişimi, 1.25×10^{-5} M; yöntem, CV; destek elektroliti, BR tamponu (pH 5.0); elektrot, BDD.....	31
Çizelge 4.2 Okzaliplatin voltamogramlarındaki pik gerilimi (E_p) ve pik akımı (i_p) üzerinde pH etkisi. Okzaliplatin derişimi, 1.25×10^{-5} M; destek elektroliti, BR tamponu; elektrot, BDD; yöntem, SWV.....	35
Çizelge 4.2 Okzaliplatin tayini için voltametrik yöntem ile elde edilen en iyi deneysel ve aletsel değişkenler.....	39
Çizelge 4.4 Oksaliplatin içeren flakonlarda voltametrik yöntem analiz bulguları.....	41



1. GİRİŞ

Çağımızda beslenme, yaş, çevre ve genetik yatkınlığa bağlı olarak hızla artan kanser vakalarının önlenmesi ve kanser hücresinin iyi tanınması, gerekli analizlerin zamanında yapılması ve kanser hücresinin etkisiz hale getirilmesi için multidisiplinler arası akademik çalışmalar gerekmektedir. Aslında canlı organizmasını anlayabilmek gerçekte organizmanın dilini çözmek anlamına gelmektedir. Bu nedenle organizmanın işleyişinde rol oynayan bileşenlerin neler olduğunu, hangi organlardan, ne koşullarda, ne kadar sentezlenip salıverildiklerini saptamak son derece önem arz etmektedir. Bu bağlamda multidisiplin çalışmalarda, özellikle analitik kimya anabilim dalı maddelerin analizleri için, spektroskopik, kromatografik ve elektrokimyasal yöntemleri kullanma ve uygulanmasında bir adım öne çıkmaktadır.

Analitik kimya; maddeleri tanıma, analiz etme, bileşenlerini ve yapılarının saptanması, bakımdan alternatif yollar geliştiren kimya alt dalı olması, kimyasal işlemlerin bilimsel amaçla kullanıldığı ve çözüm üretmemizi sağlayan kimya alt dalıdır. Analitik Kimya, temel bilimler yanında yaşam bilimleri ve teknolojileriyle ilgili problemlerin çözümünde kullanılacak analitik yaklaşım için gerekli temel bilgi ve yöntemler ile bunların mevcut ve yeni teknolojilerle uygulamalarını içeren bir bilim dalı olması nedeniyle tüm canlı ve cansız madde ile vede pozitif bilimlerle uğraşan uzmanlar analitik kimyaya ihtiyaç duyarlar ve uğraştıkları maddeyi en güzel şekilde tanımak ve analiz etmek için analitik yöntemleri kullanırlar. Bu tez çalışmasında elektrokimyasal tekniklerden voltametri kullanılarak Okzaliplatinin elektroanalitik özellikleri incelenecektir.

Elektrokimyasal teknikler özellikle voltametrik tekniklerle gerçekleştirilen farmasötik, klinik ve adli tıp analizleri, madde analizlerin yapılabilir olmasının yanında örneklerin rahatlıkla ve kısa zaman içinde hazırlanabilmesi ve analizin hızlı olması gibi üstünlükleriyle kaynakçadaki yerini sağlamlaştırmıştır.

Yapılan kaynakça araştırmasına göre, Okzaliplatin hakkında farklı teknik ve yöntemlerin olduğu çok sayıda çalışma bulunmasına karşın, iki tane elektrokimya temelli çalışma olduğu gözlemlenmiştir. Bu tezde ilk defa denenecek ve kaynakçada yerini alacak bor katkılı elmas (BDD) elektrot kullanılarak anti-kanser ilacı olarak kullanılan Okzaliplatinin voltametri tekniğinden faydalanarak elektrokimyasal özellikleri araştırılacaktır. Bu bağlamda kısaca sunulan bilgilerden yola çıkılarak; önerilen bu tez çalışmasında, antineoplastik ilaç grubunda bulunan bir alkilleyici ajan

olan "**Okzaliptatin**" bileşiminin tayini için BDD elektrot kullanılarak elektroanalitik etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Tez çalışması üç ana başlık altında toplanacaktır: (i) İlk bölümde BDD elektrot üzerinde çeşitli destek elektroliti çözeltileri içerisinde ve geniş bir pH aralığında Okzaliptatin bileşiminin elektrokimyasal davranışı detaylı bir şekilde incelenmesi, (ii) İkinci bölümde ilgili bileşimin tayinine yönelik etkili bir voltametri yöntemi tanımlanması ve deneysel/aletsel koşullar optimize edilmesi, (iii) Son bölümde ise diğer bölümlerde elde edilen veriler ışığında bileşimin farmasötik ilaçlarda önerilen yöntem ile tayin edilebilirliğinin deneneşmesi çalışmaları yapılacaktır.

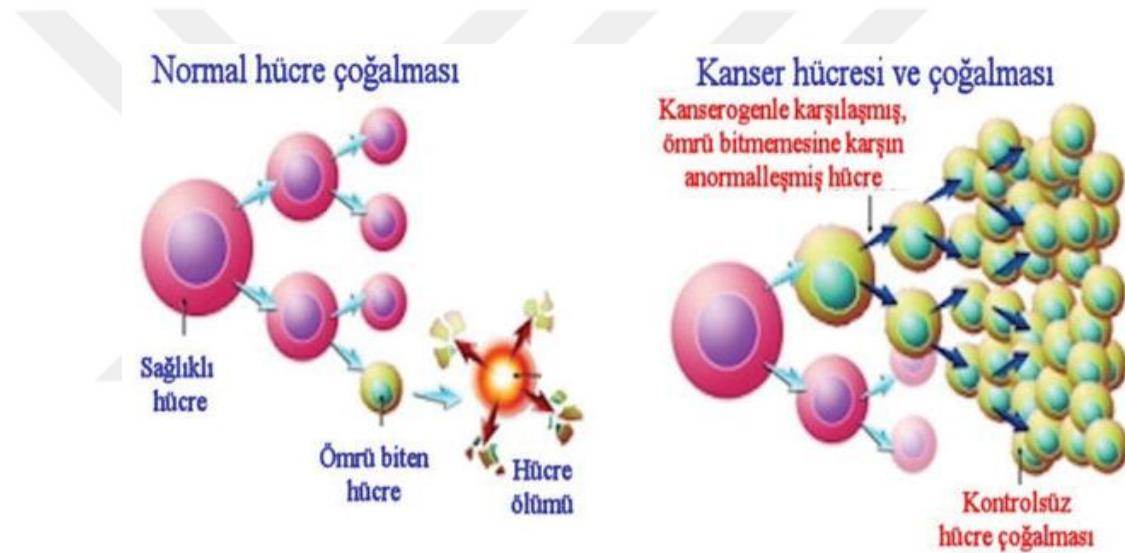


2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Bu bölümde kısaca kanser hakkında bilgi verildikten sonra bu tez çalışmasına konu olan Okzaliplatin bileşiğinin fiziksel ve kimyasal özellikleri verilmiştir. Daha sonraki kısımlarda Okzaliplatin üzerinde yapılan çalışmalar kısaca özetlenmiştir.

2.1. Kanser

Kanser, vücut hücrelerinin istemsiz ve kontrolsüz bir şekilde çoğalması veya yayılmasıdır. Kanser hücrelerinin özellikleri; Şekil 2.1’de görüldüğü gibi kontrolsüz çoğalma, farklılaşmama ve fonksiyon kaybı, invaziflik, metastaz (diğer dokulara yayılım) olarak tanımlanabilir.



Şekil 2.1 Kanser hücresi ve çoğalması (Bayca, 2017)

Gelişmiş ülkelerin ölüm istatistiklerinde kanserden ölüm oranı ikinci sırada yer alan ölüm nedenidir. Kanser, cinsiyet olarak kadın-erkek, genetik, ırk, ulus ve yaş farkı gözetmeksizin bütün canlıları etkileyebilecek ölümcül bir hastalıktır. Bu hastalık kontrolsüz yayılarak vücudun tamamını etkileyebilmektedir. Hücre fizyolojisinin bozulup kanseri başlatmasının nedenini algılayabilmek için, öncelikle hücre içi dönüşümleri anlamak gereklidir.

Her hücre çekirdek (nukleus), hücre zarı ve sitoplazmadan oluşur. Çekirdek hücreyi yöneten birimdir ve genom, kromozom ve kromatin iplikleri adı verilen genetik maddeyi taşıyan yapıdır.

Hücre döngüsü, Şekil 2.2 de olduğu gibi 4 ana evrede gerçekleşir (Weinberg, 1996).

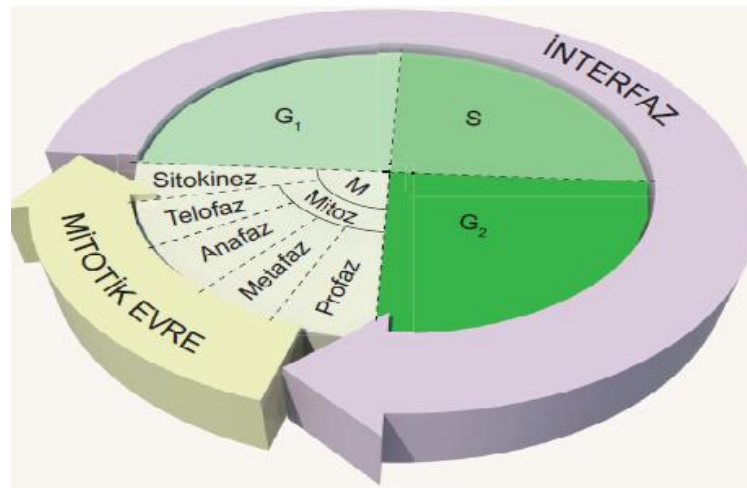
1. S evresi: DNA replikasyonu, kromozom çiftlenmesi (çekirdek bölünmesi) gerçekleşir. Bu evrede DNA kendisinin benzersiz bir kopyasını yapar ve kardeş kromatit adı verilen birbirinin aynısı iki DNA oluşur. Ayrıca hücre bölünmesi sırasında gerekli olacak enzim, protein vb. gerekli maddelerin sentezi de bu evrede meydana gelir.

2. G-2 evresi: Önceki evreden eksik kalan RNA ve proteinler varsa bunların sentezi devam eder.

3. M evresi: Mitoz yani profaz, metafaz, anafaz ve telofaz evreleri ile sitokinez yani stoplazma bölünmesi olur.

4. G-1 evresi: Bu evrede hücre bölünmesi durur. Ancak tüm biyokimyasal olaylar devam eder. Deri hücresi gibi hücrelerde G-0 evresindeki hücre gerektiğinde tekrar bölünme evresine yani G-1'e geri döner. Ancak sinir hücresi gibi hücrelerde G-0 evresi kalıcıdır ve bu hücreler asla bölünemezler. Böylece sentrozomlar tekrar aktif hale geçer.

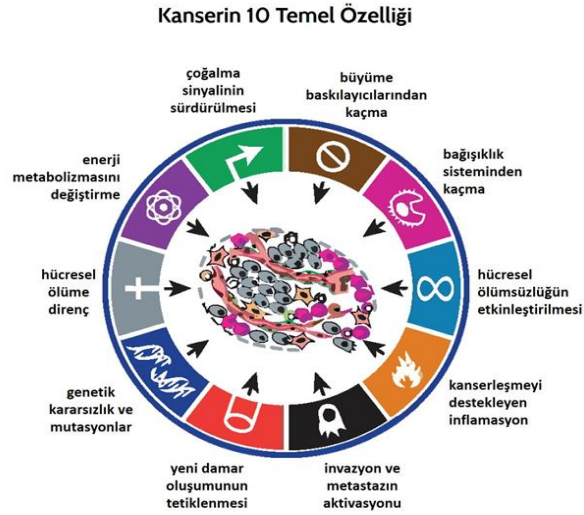
G-1 kontrol evresinde, hücre büyüklüğünün bölünme için yeterli olup olmadığına, DNA'da hasar olup olmadığına ve ortamda yeteri kadar besin ile büyüme faktörü olup olmadığına bakılır. Büyüme faktörü vücuttaki çeşitli hücreler tarafından salgılanan ve hücreleri bölünmeleri için uyaran protein yapılı moleküllerdir. Eğer bu koşullar uygunsa G-1 kontrol evresi geçilir. G-2 kontrol evresinde hücre büyüklüğünün bölünme için yeterli olup olmadığına tekrar bakılırken replikasyonda hata olup olmadığı da kontrol edilir. Bunlarda da sıkıntı yoksa son kontrol noktası olan M'ye geçilir. Bu son kısımda ise kromozomların iç ipliklerine düzgün bağlanıp bağlanılmadığına bakılır. Eğer bağlanmışlarsa bölünme devam eder. Bahsedilen kontrol noktalarında bölünmeyi siklin ve siklin bağımlı kinaz adı verilen iki protein yapılı molekül kontrol eder. Koşullar uygunsa bu iki molekül bağlanır ve bölünme devam eder, uygun değilse bu iki molekül ayrılır ve bölünme durur. Böylece hatalı bir bölünmenin önüne geçilmiş olur.



Şekil 2.2. Hücre proliferasyonunun evreleri (Weinberg. 1996'dan modifiye edilmiştir)

Yapılan araştırmalar kanserin 10 belirgin özelliğini belirlemişlerdir.(Douglas, 2011)

1. Kendi büyüme faktörlerine sahip olma
2. Büyüme engelleyici faktörlerden kurtulma
3. Bağışıklık sisteminden kaçma
4. Sürekli bölünme yeteneği
5. Kanserleşmeyi destekleyen iltihaplanma
6. Başka doku ve organlara göç etme
7. Anjiyogenez
8. Gen yapısında mutasyonlar
9. Hücre ölüm mekanizmasını atlama
10. Enerji metabolizmasını değiştirme, şeklinde sıralanabilir.



şekil 2.3. Kanserin 10 temel özelliği (Douglas, 2011)

Kanser araştırmalarıyla birlikte her geçen gün yeni bilgiler keşfedilmektedir. Bizde bu çalışmamızda sitotoksik etki gösteren antineoplastik ilaç olan Okzaliptinin elektrokimyasal özelliklerini inceleyerek bilime katkıda bulunmayı amaçlamaktayız.

Kanserin tedavisinde üç yaklaşım bulunmaktadır;

- (1) Cerrahi girişim,
- (2) Radyoterapi,
- (3) İlaç kullanılması (*kimyasal tedavi*).

Bazı şartlarda üçü de kullanılır. Bazen ilaç ve ışın tedavisi aynı anda uygulanabilir

Kemoterapinin ana ilkesi, "*sitotoksik ilaçlar*" olarak da isimlendirilen "*antineoplastik ilaçlar*" ile tedavinin de temel ilkelerini oluşturur. Hastanın hücrelerine

zarar vermeksizin kanser hücrelerinin büyümesini, gelişmesini ve çoğalmasını durdurmak ya da olabilirse yok etmektir.

Antineoplastik ilaçların etkinliğini kısıtlayan önemli bir durum; ilaç etkisinin hücre döngüsünün dönemine özgü olmamasıdır.

Antineoplastik ilaçların etkinliğini kısıtlayan bir diğer durum, kanser hücresinin ilaca dirençli olması ya da zamanla direnç kazanmasıdır. Tedavi esnasında direnç kazanılmasını engellemek için ilaçlar birlikte kullanılır ya da bir ilaç yeterli süre ve dozda verilir. Antineoplastik ilaçlar genel olarak;

1. Oral yol ile kapsül veya tablet şeklinde
2. Cilt altına ya da kas içine akıtma yolu ile
3. Damardan infüzyon şeklinde verilirler.

Birçok ilaç sindirim yolu ile emilemediği için damardan infüzyon yoluyla verilmektedir. İnfüzyon yolu ile verilen ilaçlar dolaşım sistemine hemen katıldığı için etkileri çabuk görülmektedir.

Antineoplastik ilaçlar, genel etki mekanizmalarına ya da kaynaklarına göre aşağıdaki şekilde sınıflandırılırlar:

Kanser kemoterapisi ve antineoplastik ilaçlar Çizelge 2.1'de gösterilmiştir.(Bökesoy ve ark., 2000; Moosa ve ark., 2003; Thurston, 2009; Kayaalp, 2012)

Çizelge 2.1. Kaynaklarına göre Antineoplastik ilaçlar

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

2.2. Platin Analogları

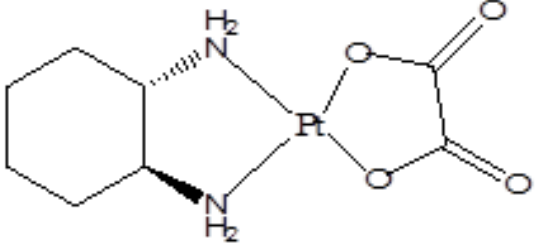
Metal iyonlarının tıbbi kullanımı yaklaşık 5000 yıl öncesine dayanmaktadır. Metal bileşiklerinden oluşmuş çeşitli ilaçlar kanser dahi birçok hastalıkta

kullanılmışlardır (Orvig ve ark., 1999) ve bazıları şunlardır; Cisplatin, Okzaliplatin, Karboplatin, Nedaplatin, Lobaplatin, Heptaplatin, Satraplatin ve Pikoplatin.

2.2.1. Okzaliplatin

Okzaliplatin, platin atomuna okzalat grubu ve 1,2-diaminosikloheksan (DACH) bağlanmasıyla oluşan karmaşık yapıya sahip ve sitotoksik etki gösteren alkilleyici ajan görevinde bulunan bir anti-kanser ilacıdır. Çizelge 2.2’te görüldüğü gibi IUPAC adı cis-[(1R,2R)-sikloheksandiamin-N,N’] [Okzalat (2-)-0,0]-platinumdur. 1994 yılından sonra geliştirilen çeşitli platin türevlerinin kabul edilmesiyle Eloxatin adıyla anılan ve Okzaliplatin etken maddesi içeren üçüncü nesil ilaç olarak sunuldu. Bu tür ilaçlar ilk olarak metastatik (diğer organlara yayılım göstermiş) kolorektal kansere karşı kullanılmaya başlandı.

Çizelge 2.2. Okzaliplatin bileşiğinin moleküler yapısı ve genel özellikleri.

Moleküler yapısı	Genel özellikleri
	Kimyasal formülü: C ₈ H ₁₄ N ₂ O ₄ Pt
	Molar kütle: 397.3 g/mol
	Görünüş: Katı toz hali beyaz
	Erime noktası: 285-300 °C
	Çözünürlük: Suda az çözünür, metanolde daha az etanol ve asetonunda hemen hemen hiç çözünmez
	pK_a: 7.23
	Saklama koşulları: 2-8 °C

Okzaliplatin, cisplatinden amin gruplarının, DACH ile yer değiştirmesi ile cisplatin'den ayrılır. Okzaliplatinin moleküler ağırlığı 397.3 g/mol dır. Suda az çözünürken, metanolde daha az etanol ve asetonunda hemen hemen hiç çözünmez. Cisplatinin aksine, plazmada Okzaliplatin, farmakokinetik profilini karmaşıklaştıran bir işlem olan oksalat grubunun yer değiştirmesi nedeniyle reaktif bileşiklere hızla enzimatik olmayan transformasyona uğrar. Bileşiklerin çoğu farmakolojik olarak aktif değildir. (Hirschfeld ve ark., 2004)

Okzaliplatin için uygulanan diğer analiz yöntemleri

Platin taşıyan ilaçlar DNA'ya bağlanan ilaçlar olarak sınıflandırılır ve bu ilaçların tümünün terapötik etkinliği DNA'ya bağlanma yeteneğine bağlıdır. Cisplatinin DNA'ya

bağlanması ile transkripsiyon ve replikasyon mekanizmalarının engellenmesinin sonucu kanser hücrelerinin yok edildiği görüşü hakimdir. (Crul ve ark., 2002)

Karboplatin ve Okzaliplatin bileşiklerinin sahip olduğu ve kolay ayrılabilen karboksilat grubu komplekslerin suda fazla çözündüğü ve dayanıklılıklarının yüksek olduğu, klinik kullanıma hazır platin komplekslerinin büyük bir bölümü karboksilat ligandı içerdiğini çalışmalarında gözlemler.

Anti kanser ilacı olan Okzaliplatin alkali ortamda hidroliz edildiğinde oksalato monodendat ara ürünü ve dihidrat Okzaliplatin kompleksi oluştuğu gözlemlendi. Bu çalışmada oksaliplatinin pKa'sı yaklaşık 7.23 olarak hesaplandı. (Jeremalm ve ark., 2002; Jeremalm ve ark., 2003)

Okzaliplatinin de içinde olduğu platin analogları için kaynakçada önerilen analiz yöntemleri Çizelge 2.3'de özetlenmiştir.

Çizelge 2.3. Platin analoglarının analiz yöntemleri

Analit	Teknik	Dedektör	LOD	Matris	Kaynak
Okzaliplatin	HPLC	PHBV/PLGA	0.13 µg/L	İlaç	Somayeh H., ve ark., 2019
Okzaliplatin	LC	MS	-	Tümör hücresi	Zhao ve ark., 2018
Okzaliplatin	ICP-MS	MS	-	Plazma	Lemoine ve ark., 2018
Okzaliplatin	HPTLC	-	-	Serum	Sonali ve ark., 2017
Okzaliplatin Cisplatin	LC	ESI-MS	-	Böbrek ve Karciğer doku	Kim ve ark., 2015
Okzaliplatin	HPLC	HILIC	0.07 µg /mL -	Enantiyomerik bileşim	Cirilli ve ark., 2014
Okzaliplatin Karboplatin	HPLC	HILIC	-	İlaç	Osipov ve ark., 2013
Okzaliplatin Cisplatin Karboplatin	LC	ICP-MS	-	plazma, Serum	Scancar ve ark., 2013
Okzaliplatin	LC	ESI-MS/MS	-	plazma	Ken ve ark., 2012

Teknik: LC; sıvı kromatografisi, HPLC; Yüksek performanslı sıvı kromatografisi. **Dedektör:** EC; elektrokimyasal, ESI; Elektrosprey iyonizasyon, MS; kütle spektrometresi, HILIC; Hidrofilik etkileşim sıvı kromatografisi

Çizelge 2.3.(devam ediyor)

Analit	Teknik	Dedektör	LOD	Matris	Kaynak
Okzaliplatin	CE	ICP-MS	0.023 mg/mL	İlaç	Qstergaard ve ark., 2011.
Okzaliplatin	HPLC	ICP-MS	0.05 µg /L	İdrar	Hann ve ark., 2010
Okzaliplatin	HPLC	MS	-	Hasta plazması	Chen ve ark., 2008
Okzaliplatin Cisplatin Karboplatin	HPLC	ICP-MS	0.15µg/L 0.09 µg /mL 0.10 µg /mL	Hastane atık suyu	Hann ve ark., 2005
Okzaliplatin	LC	ICP-MS/MS	-	Kan plazması	Ehrsson ve ark., 2003
Okzaliplatin	RP-HPLC	UV	-	Plazma	Ficara ve ark., 2002

Teknik: LC; Sıvı kromatografisi, CE; Kapiler elektroforez, RP-HPLC; Ters faz yüksek performanslı sıvı kromatografisi, **Dedektör:** EC, elektrokimyasal; ICP; İndüktif eşleşmiş plazma, MS; kütle spektrometresi

Platin analogları için uygulanan elektrokimyasal yöntemler

Elektrokimyasal olarak DNA-biyosensör kullanıp Sisplatin, Karboplatin ve Okzaliplatinin DNA'ya bağlanmasını çalışmalardır. Hidroliz ile üretilen elektrofilik maddenin DNA ile etkileşime gireceği eğilimi, SW voltametri tekniği kullanılarak bir elektrik baskılı elektrot üzerinde hareketsiz hale getirilen metal DNA adüktünün guanin oksidasyon sinyalinin azalmasının bir fonksiyonu olarak ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar, karbonatın, DNA ile kolayca reaksiyona girebilen aktive karbonato kompleksleri oluşturmak için platin ilaçlarıyla reaksiyona girdiğini açıkladılar(Ravera ve ark., 2007).

Okzaliplatin tek duvarlı karbonnanotüp modifiye grafit elektrot (SWCNTs-GE) ve modifiye edilmemiş grafit elektrot ile kombinasyon halinde diferansiyel puls voltametri (DPV) ve elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS) kullanılarak daha ayrıntılı olarak incelendi (Yapasan ve ark., 2010).

Cisplatin türevlerinin aksine Okzaliplatin türevlerinin askorbat ile indirgenme oranlarının ve elektrokimyasal indirgenme potansiyelleri arasında bir korelasyon olmadığı görüldü. Bunun nedeni, muhtemelen, amin ve karboksilat ligandlarının, elektron transferini kolaylaştırmak için indirgeyici ajanlarla bir köprü kurma yeteneğinin düşük olmasıdır. (Gibson ve ark., 2012)

Platin, Okzaliplatin, cisplatin ve karboplatinin miktar tayinleri için 0.36 M H₂SO₄ ortamında damlayan civa elektrot kullanılarak bir elektrokimyasal yöntem geliştirildi. Okzaliplatin bileşiğinin -0.9 V civarında indirgendiği görülmektedir. Geliştirilen yöntem protein metalotiyonin fragmanlarında başarılı bir şekilde uygulandı. (Kensova ve ark., 2013).

Cisplatin, karboplatin ve Okzaliplatin gibi platin bazlı sitostatik, çeşitli tümör tiplerinin tedavisinde yaygın olarak kullanılan ajanlardır. Bu ilaçların büyük miktarı, hastaların idrarı yoluyla, metabolize edilmemiş formlarda atık sulara atılır. Bu fenomen su ortamında artan miktarda platin iyonu oluşturur. Bu kirleticilerin su ekosistemi üzerindeki etkileri ve su kaynakları içerikleri yeterince araştırılmamıştır. Çeşitli platin türlerinin saptanmasını kolaylaştırmak için, elektrokimyasal saptama ile yeni ve hızlı bir akış enjeksiyon analiz yöntemi geliştirdi (Kominkova ve ark., 2014) .

Yaptığımız kaynak araştırmasına göre; Okzaliplatin'nin elektrokimyasal özelliklerinin incelenmesi üzerinde iki çalışma bulunmaktadır. (Yapasan ve ark. 2010) tarafından SWCNTs-GE elektrot ile DNA etkileşim çalışması ve (Kensova ve ark. 2013) de H₂SO₄ ortamında damlayan civa elektrot ile bir elektrokimyasal indirgenme çalışmasıdır. Bu çalışmalar detaylı bir elektroanalitik çalışmayı kapsamamaktadır. Aslında, yapılan kaynakça araştırmasından görüldüğü üzere platin analoglarının voltametik yöntemle tayini üzerinde de çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. İlgili bileşiklerin tayinlerinde kullanılan bazı voltametik teknikler ve analitik performans özellikleri Çizelge 2.4'de özetlenmiştir.

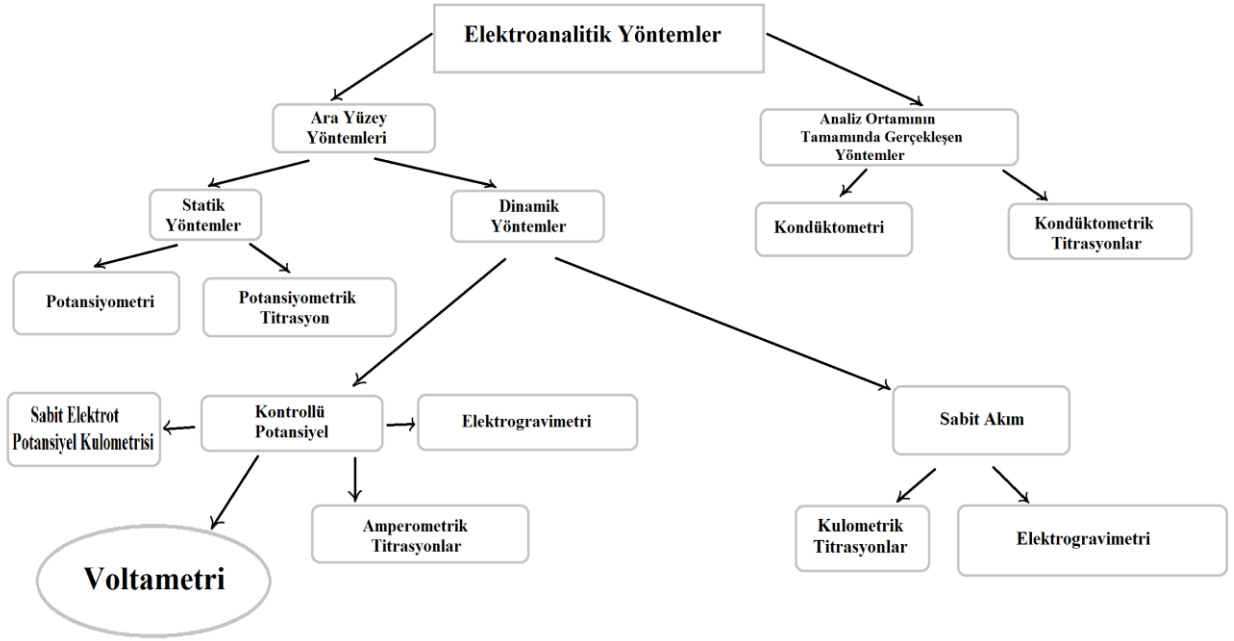
Çizelge 2.4. Platin Anaologları farklı elektrotlar üzerinde voltametrik analizi

Analit	Teknik	Elektrot	LOD	Matris	Kaynak
Okzalipatin	DPV	SWCNTs- GE	-	DNA stok çözültisi	Yapasan ve ark., 2010
Okzalipatin	DPV	DME	0.06 ng/mL	-	Kensova ve ark., 2013
Cisplatin			0.03 ng/mL		
Karboplatin			0.05 ng/mL		
Okzalipatin	DPV	DME	-	Kan, Perfüzaz	Orecchio ve ark., 201
Cisplatin	SW-CSV	DME	$6.0 \times 10^{-12} M$	İlaç, serum	Hourch ve ark., 2003
Cisplatin	SWV	CPE	8.8 μM	İlaç, serum	Liu ve ark., 2013
Cisplatin	CV	GCE	-	İlaç	Mu-Hyun ve ark., 2015
Cisplatin	AdTSV, DPV	GCE	-	DNA stok çözültisi	Kauffman ve ark., 2016

DPV; diferansiyel puls voltametrisi, SW-CSV; kare dalga katodik sıyırma voltametrisi, CV; dönüşümlü voltametri, AdTSV; Adsorbif sıyırma voltametrisi. CPE; karbon pasta elektrot, DME; damlayan cıva elektrot, GCE; camımsı karbon elektrot, GE; grafit elektrot

2.3. Elektroanalitik Yöntemler

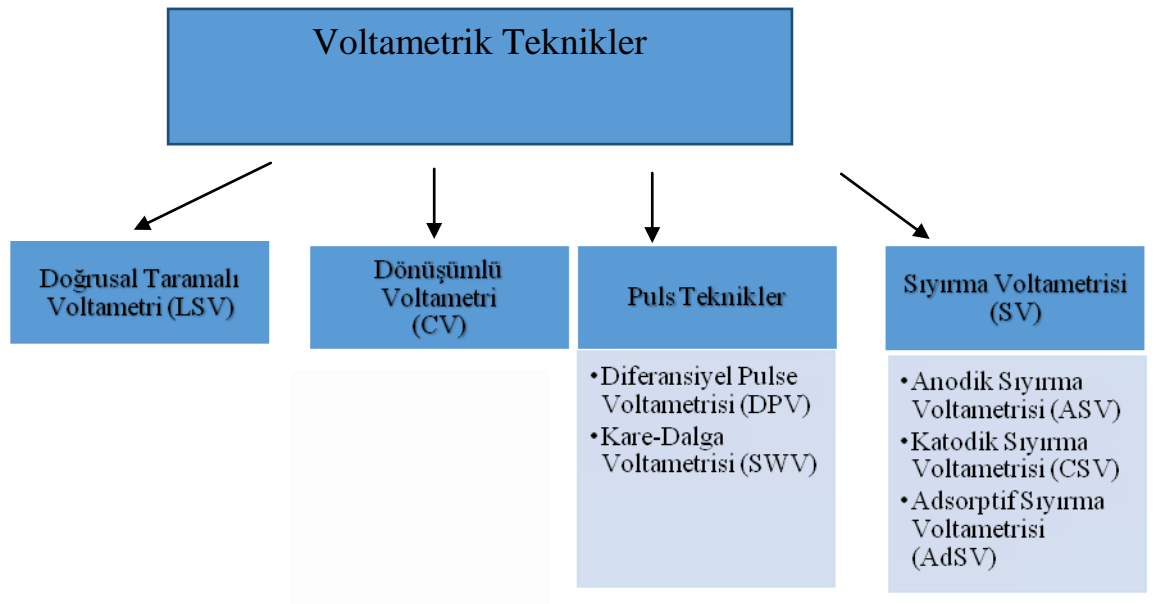
Elektroanalitik yöntemler, Şekil 2.4'te görüldüğü gibi analiz ortamının tamamında ve ara yüzey yöntemlerinde gerçekleşen yöntemler olmak üzere iki ana başlık altında açıklanabilir. Analiz ortamının tamamındaki yöntemler ise çözeltinin tamamında gerçekleşen olayları incelemek üzerine kurgulanmıştır ve ara yüzey olaylarından olabildiğince uzak durulur. Elektroanalitik yöntemlerden ara yüzey yöntemleri elektrotun yüzeyi ile elektrot yüzeyine bitişik konumdaki tabakadaki homojen karışım arasında gerçekleşen olayları inceler. Bu yöntemler, akımın varlığına ya da yokluğuna bağlı olarak durağan (statik) ve hareketli (hareketli) olmak üzere ikiye ayrılır. Durağan yöntemlerin hızlarının ve seçiciliklerinin elektroanalitik kimyada farklı bir önemi olsa da akımın çok önem taşıdığı dinamik yöntemleri elektroanalitik kimyada daha yaygın bir kullanım alanına sahiptir



Şekil 2.4. Yaygın elektroanalitik yöntemlerin şematik gösterimi (Gökçe, 2004 ten modifiye edilmiştir.)

2.3.1. Voltametri

Voltametri; çalışma elektrotunun polarize olduğu koşullarda elektrota uygulanan gerilimle akım ölçülmesinden yararlanarak, analizi yapılan madde hakkında veri elde edilen elektroanalitik yöntemler grubudur. Bu yöntemler Şekil 2.5’de gösterilmiştir.



Şekil 2.5. Voltametrik teknikler ve sınıflandırması

Voltametrizde elektrot gerilimi, faradayik akım ya da her ikisi birden zamanla değiştirilir(Bond ve ark., 1989; Yaacob, 2006). Uygulanan gerilimin bir fonksiyonu olarak elektroaktif türlerin derişimleri ile doğrudan orantılı akım eğrilerine ‘‘voltamogram’’ denir. Voltamogram, çalışma elektrotu üzerinde indirgenme, yükseltgenme ya da her ikisinin de gerçekleştiği türler hakkında nitel ve nicel bilgi verir.

Voltametrik tekniklerin avantajlarından biri; düşük derişimlerde bile metallerin, organik ve inorganik bileşiklerin saptanmasına olanak sağlaması (Fifield, 2000) elektroaktif (elektrot tepkimesine katılan) türlere karşı seçici (Barek ve ark., 2001) ve ekonomik olması gibi avatajları vardır.

Voltametrik teknikler; çalışma elektrotuna bağlı olarak çeşitli ortamlarda oluşan redoks olaylarının, yüzeydeki adsorpsiyon olaylarının, elektron aktarım mekanizması ve çalışmalarını kapsayan alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır(Skoog ve ark., 1998). Son yıllarda geliştirilen farklı tür elektrot şekil ve tasarımı elektroun aktivasyon işlemleri ve yeni yöntemler kullanılarak oluşturulan ‘‘katı elektrot voltametrisi ile’’ pikomolar farklı derişim düzeylerinde çalışmaya imkan vermesi bu tekniklerin üstün hale getirmiştir(Czae ve Wang, 2000; Barek ve ark., 2001).

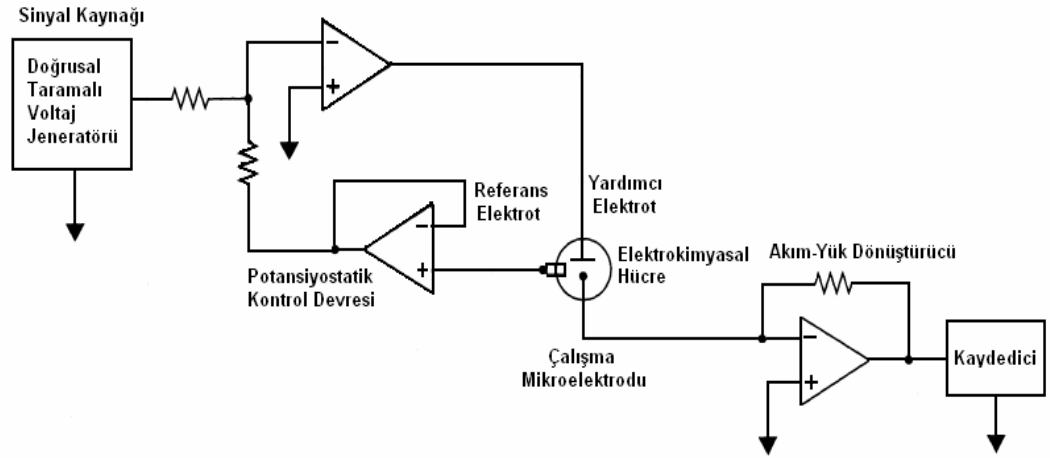
2.3.2. Voltametrik düzenek

Voltametrik ölçümler; çalışma elektrotu, karşılaştırma elektrotu ve yardımcı elektrotu içeren üçlü elektrot sistemi içinde yürütülür. Tüm düzenek; çeşitli hacim kapasitelerine sahip voltametrik hücreden, manyetik karıştırıcıdan ve sisteme sinyal sağlayan gerilim kaynağından (potansiyostat) ibarettir. Bazı sistemlerde elektrolit çözeltisindeki oksijeni uzaklaştırmak amaçlı inert gaz borusu da voltametrik düzeneğe (Şekil 2.7) eklenir (Reinke ve Simon, 2002; Colombo ve Van den Berg, 1998).

Hücrede bulunan çalışma elektrotunun gerilimi doğrusal olarak değiştirilir. Polarizasyonun sağlanması amacıyla çalışma elektrotunun yüzeyi olabildiğince küçük tutulur. Karşılaştırma elektrotu olarak sıklıkla doygun kalomel elektrot ya da gümüş/gümüş klorür elektrodu kullanılır. Ölçüm boyunca karşılaştırma elektrotunun gerilimi sabit kalır. Üçüncü elektrot olarak hücredeki geçirgenliği sağlamak amacıyla yüzeyi büyük tutulan yardımcı elektrot (genellikle inert platin) kullanılır.

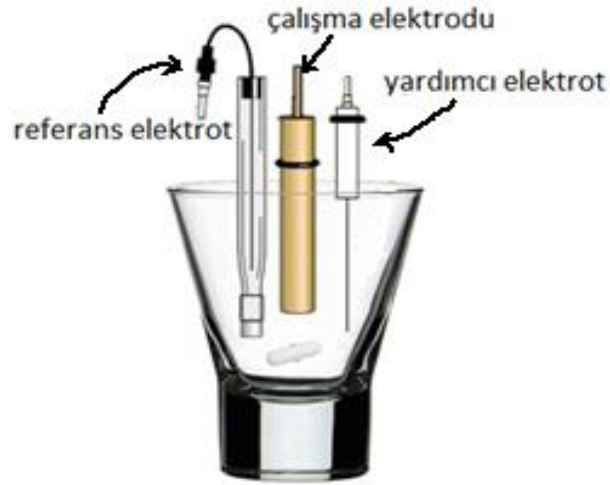
Sinyal kaynağı doğrusal taramalı voltaj jeneratörüdür. Buradan gönderilen sinyal, direnci çok büyük olan ($\sim 10^{11} \Omega$) potansiyostatik kontrol devresine gelir. Böylelikle akım ihmal edilecek düzeye indirilir. Kaynaktan gelen akım doğrudan yardımcı elektrota gider. Potansiyostatik kontrol devresi akımı ayarlayarak voltaj jeneratörü ile çalışma ve

karşılaştırma elektrotlarının gerilimlerinin aynı olmasını sağlar. Sonuçta devreden geçen akım gerilime dönüştürülerek zamana karşı grafiğe geçirilir (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Voltametri için üç elektrotlu potansiyostatik sistem diyagramı (Reinke ve Simon, 2002)

Bu çalışmada kullandığımız üç elektrotlu voltametrik düzenektir.



Şekil 2.7. Voltametrik ölçümlerde kullanılan üç elektrotlu elektrokimyasal hücre (Özkan ve ark., 2015'ten modifiye edildi.)

Çalışma Elektrotu: Yüzeyinde çözeltildeki indirgenme ve yükseltgenme tepkimelerinin gerçekleştiği ve zamanla gerilimi doğrusal olarak değişen elektrottur.

Karşılaştırma Elektrotu: Sabit bir gerilime sahip olan bu elektrot, çalışma elektrotunun geriliminin kıyaslandığı elektrottur. Gerilimi analizi yapılacak analitin derişiminden bağımsız olup tekrarlanabilen, kararlı ve sabit bir değerdedir.

Yardımcı Elektrot: Elektrokimyasal hücre içinde akımın aktarılması görevini yürüten, çalışma elektrotu ile bir çift oluşturan ve genellikle şekil 2.8 de görüldüğü gibi inert materyalden oluşan elektrot tipidir.



Şekil 2.8. Platin tel elektrot

Hücre içindeki elektrotların yerleşimi oldukça önemlidir. Çalışma elektrotu, karşılaştırma elektrotuna oldukça yakın olmak koşuluyla yardımcı elektrot ve karşılaştırma elektrotu arasına yerleştirilir. Üçlü elektrot sistemi kullanılmasının gerekçesi, potansiyostatın çalışma elektrotu aşırı gerilim yüklemesi durumunda sistemi otomatik olarak verilen doğru gerilime getirmektir. Bu işlem, çalışma elektrotu ve karşılaştırma elektrotu arasındaki gerilim sürekli ölçülerek ve ayarlı gerilimle karşılaştırılarak yapılır.

2.3.3. Voltametri de kullanılan karşılaştırma elektrotları

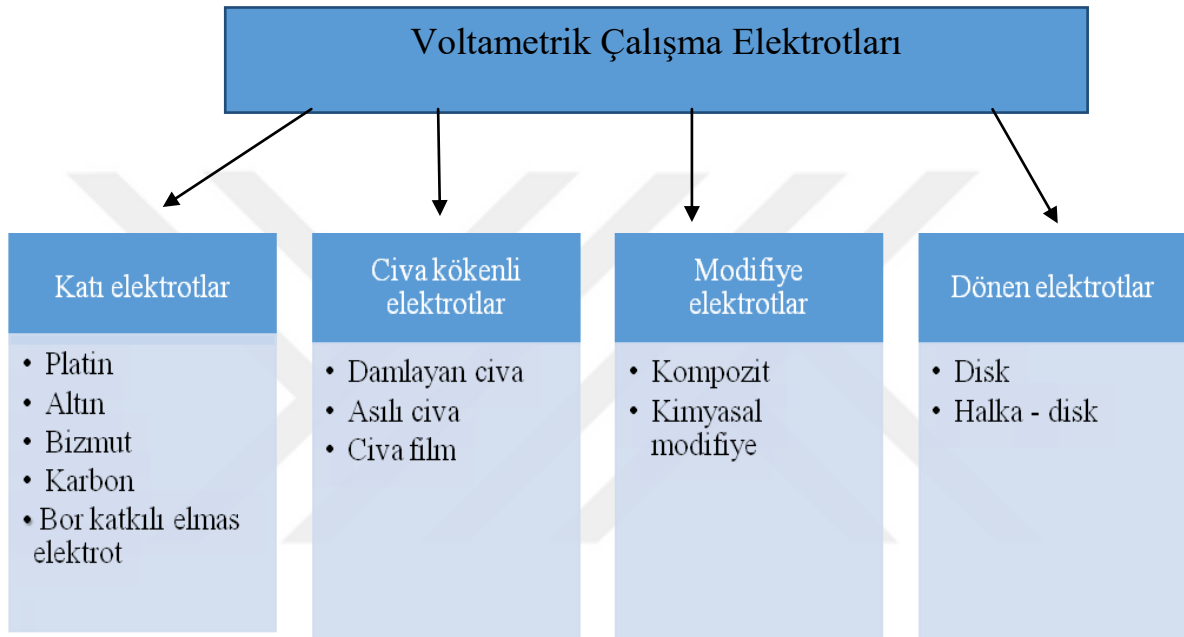
Elektroanalitik uygulamaların çoğunda, elektrotlardan birinin yarı-hücre geriliminin değerinin bilinmesine, değişken olmamasına, çözeltinin bileşiminden bağımsız olmasına dikkat edilmesi gerekir. Bu özelliklere sahip elektrotlara karşılaştırma (referans) elektrotları denir. İdeal özellikteki bir karşılaştırma elektrotu tersinir ve Nernst eşitliğine uyduğu görülür. Ayrıca zamanla sabit kalan bir gerilime sahiptir (Hyrovsky ve Zuman, 2011). Küçük bir akım altında bile tekrar önceki gerilimine döner. Her ne kadar bu koşulları tamamen karşılayan bir karşılaştırma elektrotu bulunmamakla birlikte kalomel ve gümüş karşılaştırma elektrotları bu özelliklere yakın davranışlar sergilerler.

2.3.4. Voltametri de kullanılan çalışma elektrotları

Çalışma elektrotu yük aktarımının gerçekleştiği ve elektroaktif türlerin indirgenme/yükseltgenme tepkimelerinin gerçekleştiği elektrottur. Çalışma elektrotu, gerilimi kontrol eder ve hücre direncinden gelen hataları azaltır. Voltametrinin performansı büyük oranda çalışma elektrotuna bağlıdır. Bu elektrotun ideal özellikleri geniş bir gerilim aralığı, düşük direnç, yeniden oluşturulabilir yüzey ve yüksek sinyal

düşük gürültü yanıtı sağlayabilmesidir. (Wang, 2000). Elektrokimyasal yöntemlerin çoğunda katodik gerilim alanı için civa elektrotlar, anodik işlemlerin gerçekleştirildiği deneylerde ise katı elektrotlar kullanılır. Çalışma elektrotunu sınırlayan en önemli faktör, sulu çözeltilerde çalışırken pozitif gerilimlerde sudaki oksijenin yükseltgenmesi, negatif gerilimlerde ise sudaki hidrojenin indirgenmesidir

Voltametrde çoğunlukla kullanılan çalışma elektrotları aşağıda Şekil 2.9 deki gibi sınıflandırılır.



Şekil 2.9. Voltametrik analizlerde kullanılan çalışma elektrotları(Wang, 2000 modifiye edilmiştir.)

2.3.4.1. Katı elektrot voltametrisi ile ilgili genel bilgi

Civa elektrotların pozitif gerilim (anodik) aralıklarında kullanımının sınırlı olması nedeniyle yükseltgenebilen bileşiklerin elektrokimyasal özelliklerinin incelenmesi için daha geniş bir anodik gerilimde çalışmaya olanak sağlayan katı elektrotlar tercih edilir. Farklı materyallerden yapılan değişik katı çalışma elektrotları bulunmaktadır. Analizi yapılacak analite de bağlı olarak tel, disk biçiminde sabit elektrotlar kullanılabildiği gibi dönen ve titreşen katı elektrotlar da tasarlanmıştır. Katı elektrotların en büyük sıkıntısı her yeni analiz için homojen bir yüzey yaratmanın zorunluluğudur. Ayrıca deneyler sırasında elektrot yüzeyinde biriken katı maddeler ve oksitler elektrotun voltametrik davranışını etkiler. Bu sakıncaları ortadan kaldırmak için her analiz öncesi elektrot yüzeyinin yenilenmesi ve temizlenmesi gerekir. "Ön işlem" denilen bu adım değişik tipteki katı elektrotlar için farklılık

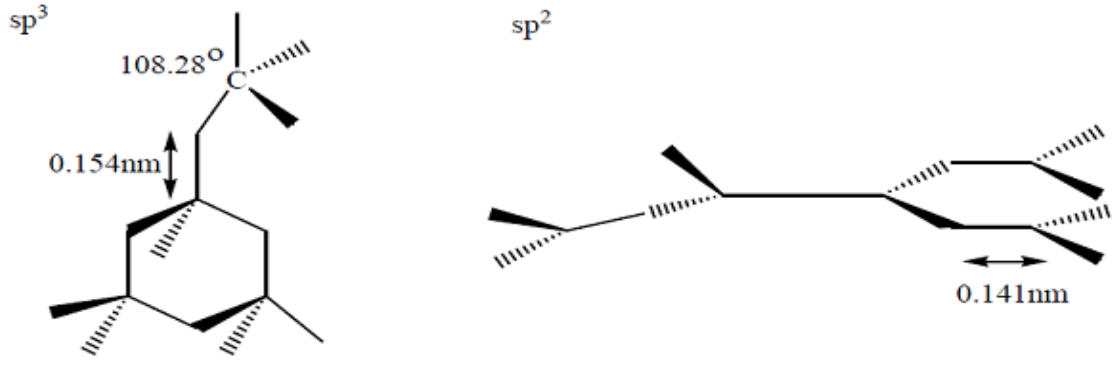
gösterir. Mekanik parlatma ve dönüşümlü gerilim taraması uygulamak sıklıkla kullanılan teknikler olmakla birlikte kimyasal, elektrokimyasal ve termal yüzey yöntemleri kullanılarak yüzey aktivasyonu da sağlanır (Wang, 2000).

2.3.4.2. Bor katkılı elmas elektrot

BDD elektrot yüksek seviyede kararlılık gösteren, geniş bir potansiyel aralığında ve düşük akımda çalışmaya olanak sağlayan, karbon elektrotlara alternatif önerilen yeni bir elektrottur. BDD elektrotlar bozulmaya karşı dirençli ve dayanıklıdır. Benzen üzerindeki yapılan çalışmalarda BDD elektrotun GC elektrota göre daha dayanıklı olduğu görülmüştür (Oliveira ve ark., 2007). Ayrıca gerekli elektriksel iletkenliği sağlar ve anodik oksidasyon için atıksu arıtımı, su dezenfeksiyonu ve sterilizasyon için kullanılmaktadır. BDD yüksek O₂ gerilimine sahiptir ve elektroliz sırasında fazla miktarda OH⁻ radikalleri barındırdıklarından çok güçlü oksitleyicilerdir ve organik moleküllerin parçalanmalarına imkân sağlarlar. BDD elektrodu, grafit veya camsı karbon gibi geleneksel karbon elektrotlardan daha üstün özelliklere sahip bir elektrottur. Voltametrik çalışmalarda GC ile BDD elektrot kullanılarak 2,6-dimetoksifenol ve 1,3,5 trimetil benzen gibi bileşikler çeşitli ortamlarda dönüşümlü voltamogramları alınmıştır. Deneysel işlemler gösteriyor ki BDD elektrot GC elektrotuna göre daha düşük akım ve daha geniş potansiyel aralıkta olduğu görülmüştür (Suryanarayanan ve ark., 2010). Elmas elektrotların başlıca özellikleri geniş potansiyellerde çalışma aralığına sahip olması, düşük kapasitans ve kararlılık göstermesidir. Ayrıca elmas filmlerin hidrojen/oksijen çıkışı ile ilgili gerilim aralığı neredeyse 4.0 V kadar imkan tanımaktadır. BDD elektrot, platin elektrot ile kıyaslandığında BDD elektrotun gerilim aralığı platin elektrota göre 2 V kadar daha fazladır. (Kapalka ve ark., 2008) Asidik çözeltide elektrokimyasal oksijen çıkışının ilk basamağının genellikle suyun ayrışmasıyla oluşan hidroksil radikalinin olduğu düşünülmektedir.



BDD elektrotları yüksek sıcaklıklarda kimyasal buhar biriktirme yöntemiyle meydana getirilmiş polikristal elmastan yapılmış bir elektrottur. Bu yöntem, bir yüzey üzerine gaz fazından meydana gelen araçlar için kullanılan bir yöntemdir. Elmasın Şekil 2.10'de görülen tetrahedral örgü kristal yapısının oluşturulması için her C atomu komşusuna sp³ hibritleşmesi yaparak kovalent bağlanmıştır.



Şekil 2.10. Elmas örgüsü ve grafit örgüsü farklılıkları

Çözeltide bulunan BDD elektrotları, organik ve anorganik bileşiklerin yükseltgenmesi için elektrokimyasal özellik gösteren elektrotlardır. (Şekil 2.11) Bu elektrotlar bozunmaya karşı dayanıklı elektrotlardır. BDD elektrotlar gerekli olan elektriksel iletkenliği sağlarlar. Ayrıca bu elektrotlar anodik oksidasyonuna lazım olan su arıtımı, su dezenfeksiyonu ve sterilizasyon işlemleri için de uygundur. Doğada pasif özellik gösterip, organik kirleticiler ile reaksiyon vermez. Kirleticilerin oksidasyonunun katalizlenmesinde görev almazlar. BDD elektrotları hidroksil radikalleri başta olmak üzere geniş bir aralıkta oksitleyici türler üretirler. BDD elektrotlarının avantajları sıralandığında sulu elektrolit içerisinde geniş bir organik bileşik oksidasyonuna izin verme potansiyeline sahip olması başta gelmektedir. Bu elektrotlar yüksek elektrot potansiyel değerlerinde hidroksil radikallerinin üretilmesini sağlamakta ve bu radikallerin kuvvetli oksitleyici türlerin anot görevinde kullanılmasını sağlamaktadır. (Kısacık, 2010)

Asidik çözeltide BDD elektrotunun yüksek anodik kararlılığından dolayı güçlü yükseltgenme ürünleri üretir. BDD elektrotunun en değerli özelliklerinden birisi yüksek anodik potansiyellerde hidroksil radikallerini elektriksel olarak üretmesidir. Elmas elektrotların ana uygulamaları elektrosentez, organik kirliliklerin elektrokimyasal arıtımı, elektroanaliz ve ağır metallerin geri kazanılmasıdır (Comninellis ve ark., 2005).

BDD elektrotları katı ince levhalar şeklinde ya da silikon, tungsten, niyobyum ve tantal içerebilen uygun substratlar üzerine kaplanmış olarak kullanılabilir (Kısacık, 2010).



Şekil 2.11. BDD elektrot

Kullanılacak olan BDD elektrotunun yüzeyinin temiz olması son derece önemlidir çünkü en ufak bir kirlilik pik akımında azalma ve pik potansiyelinde kaymalar meydana getirir. Bundan dolayı her işlemde önce elektrot yüzeyi süspansiyon çözeltisinden alınıp daha önceden temizlenen BDD elektrot yüzeyine damlatılır ve oda şartlarında kurumaması için bekletilir. Tam anlamıyla kuruma işlemi bittiğinde saf su ile yıkanıp, kullanıma hazır hale getirilir. Ayrıca aralıklarla madde ile ve Al_2O_3 (Alümina) ile temizlenip parlatılarak veya farklı sürelerde H_2SO_4 ve destek çözeltiyle aktive edilir. BDD elektrodun temizlenmesi ve aktivasyonu literatürlerde değişik çözeltilerde anodik (Carlos, 2006; Simon, 2007; Zhao, 2007; Levent, 2012; Levent ve ark., 2014; Şentürk ve ark., 2014) ve katodik (Avaca ve ark., 2004; Simon, 2006; Levent, 2017) gerilim uygulanarak gerçekleştirilmektedir.

2.4. Voltametik Teknikler

2.4.1. Polarografi

Voltametrimin tarihsel gelişim süreci, 1920'lerin başında Çekoslovak Kimyacı Jaroslav Heyrovsky'nin "polarografi" tekniği üzerine yaptığı çalışmalarla başlamıştır.

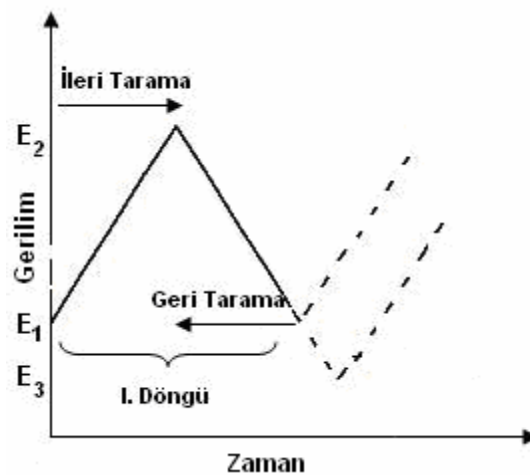
Bu yöntem diğer yöntemlere göre konveksiyonun engellenmiş olması ve çalışma elektrotun damlayan civa elektrot kullanılması bakımından diğer voltametik tekniklerden

ayrılır. Polarografik sınır akımları çözelti karıştırılmadığından sadece difüzyon ile kontrol edilir (Harvey, 2000). Bu yöntem ile anyonlar, nötral moleküller, anorganik katyonlar ve çeşitli organik bileşikler analiz edilebilir. Birçok madde polarografik dalgaya sebebiyet verdikleri için bu yöntem ile tayin edilebilirler. (Barek ve ark., 2001)

2.4.2. Dönüşümlü voltametri

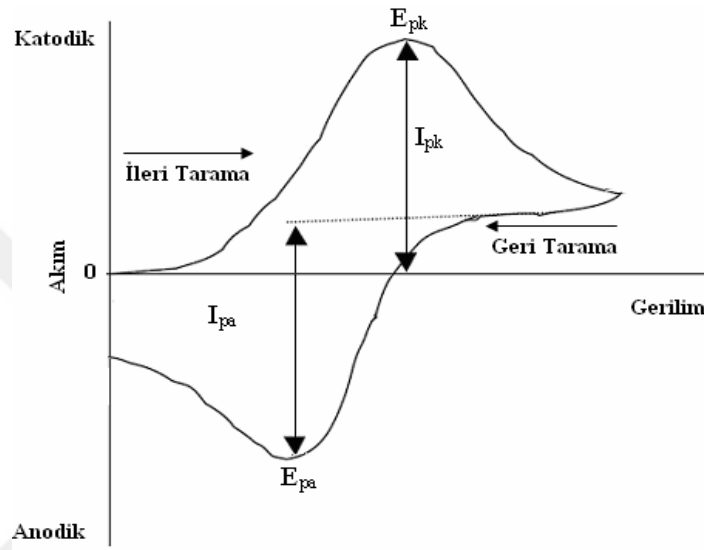
Dönüşümlü voltametri (CV) tekniğinde, gerilim ilk olarak bir değere kadar artar, daha sonra başlangıç değerine yine doğrusal olarak geri döner (Şekil 2.12). Voltametrik tekniğe; gerilim taraması E_1 ve E_2 gerilimler arasında olursa ‘‘doğrusal voltametri’’, E_2 gerilimini takip edip aynı tarama hızında ve ters yönde tarama yapıldığında oluşan voltametrik tekniğe ise ‘‘dönüşümlü voltametri’’ denir. Ters taramada başlangıç gerilimine (E_1) tekrar dönülebileceği gibi farklı bir gerilime de (E_3) gidilebilir. Sürekli değişen gerilim değerlerine karşı belirli bir aralıkta akımdaki değişim grafiğe geçirilerek ‘‘dönüşümlü voltamogram’’ elde edilir (Şekil 2.13). CV tekniği ile karıştırılmayan durgun sistemde ve üçlü elektrot sistemlerinde çalışılır. CV’de hız difüzyon tarafından belirlenir. Analit elektron alışverişi voltamogram üzerinde izlenebilmektedir. Başlangıçta gerilim taramasının yönü, analiz örneğinin bileşimine bağlı olarak pozitif veya negatif olmaktadır.

Dönüşümlü voltamogramlarda seçilen gerilim aralığıyla beraber, seçilen tarama hızı taramanın kaç kez yapıldığının bile etkisi bulunmaktadır. Tarama hızı yükseltilebilir. Ancak yüksek tarama hızlarında IR düşüşü ve çift tabaka yüklenmesi gibi olumsuzluklar yaşanır.



Şekil 2.12. Dönüşümlü voltametri de elektrotta uygulanan gerilimin zamana karşı grafiği

Duyarlılığın 10^{-5} M ile sınırlı olduğu bu yöntem, miktar tayinine dayalı bir yöntem değildir ancak özellikle organik ve metalorganik sistemlerde yükseltgenme/indirgenme işlemlerin hız ve mekanizma çalışmaları için önemli bilgi sağlar. Tarama hızının pik akımı değişimi incelenerek adsorbsiyon, difüzyon ve heterojen elektrot tepkimelerinin özellikleri, ters taramada ise elektrot tepkime mekanizması ve kinetik bulgulara ulaşılabilir.



Şekil 2.13. Dönüşümlü voltametri akım-gerilim eğrisi.

Şekil 2.13’de görüldüğü gibi, dönüşümlü voltamogramın parametrelerine bakıldığında; katodik pik akımı (I_{pk}), katodik pik gerilimi (E_{pk}) ve anodik pik akımı (I_{pa}), anodik pik gerilimi (E_{pa}) olarak ifade edilmektedir.

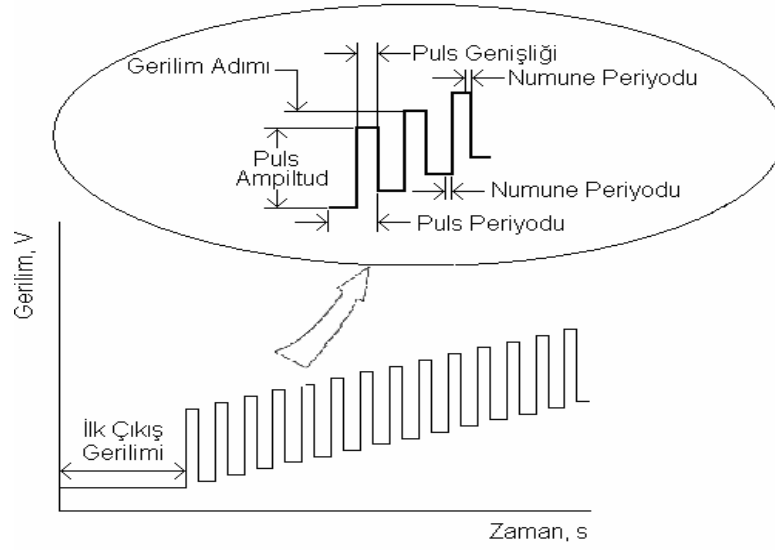
CV ile elektrot mekanizması incelendiğinde; CV ile ulaşılan voltamogramların tarama hızı ile değişimi, çözelti elektrot yüzeyinde gerçekleşen olaylar hakkında önemli bilgiler verir. Elektrokimyasal olayın öncesinde ve sonrasında kimyasal bir olayın olup olmadığını, sonrasında elektron aktarım tepkimesinin gerçekleşip gerçekleşmediğinin yanıtını farklı tarama hızlarındaki voltamogramlardan çıkarabiliriz. Elektron aktarım basamağının öncesinde ve sonrasında kimyasal bir olayın gerçekleşmesi voltamogramların şekillerinin belirlenmesinde rol oynar. Dönüşümlü voltametride çözelti içindeki moleküller veya iyonlar elektrot yüzeyinde adsorbe olabilmektedir ve aralarında çeşitli etkileşimler meydana gelebilmektedir. Bu etkileşim elektrostatik çekim kuvvetleri olabildiği gibi zayıf etkileşime sahip iyon-dipol etkileşimi de olabilmektedir (Bard ve Faulkner, 2001; Gosser 1994).

2.4.4. Puls voltametrik teknikler

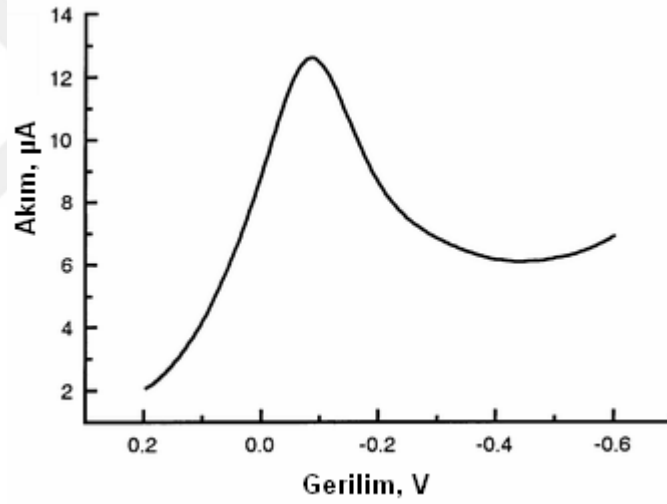
Puls voltametrik tekniklerle voltametrik ölçümlerin tayin sınırlarının daha düşük derişimlere çekilmesi amaçlanmıştır. Bu tekniklerle faradayik olan ve faradayik olmayan akımlar arasındaki oran arttırılmış ve duyarlılık 10^{-8} M düzeyine indirilmiştir. Bu tekniklerde çalışma elektrotuna yaklaşık 50 ms zaman aralıklarıyla bir dizi gerilim adımı uygulanır. Her aralıklı gerilim uygulamasından sonra kapasitif akım hızlı bir şekilde azalarak yok sayılabilecek bir düzeye gelir; bu arada faradayik akımda azalma ise çok küçüktür. Böylece tayin sınırı daha düşük ölçümler gerçekleştirilir. Puls voltametrik teknikler; “normal puls”, “diferansiyel puls” ve “kare-dalga” voltametrik teknikler olmak üzere üç ana başlık altında toplanabilir. Bu tekniklerden Diferansiyel puls (DP) ve SW voltametrik teknikler günümüzde kendilerine geniş bir uygulama alanı bulmuştur.

2.4.4.1. Diferansiyel puls voltametrisi

DP voltametrisi; organik ve inorganik türlerin eser analizlerinde yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Bu teknikte; çalışma elektrotuna sabit büyüklükteki pulslar periyodik darbeler doğrusal gerilim basamaklarının üzerine yerleştirilerek uygulanır Puls uygulamadan hemen önceki bir zamanda ölçülen bir akım ile puls uygulamasının bitimine yakın belli bir zamandaki akımlar ölçülür ve bu akımlar arasındaki fark ($\Delta i = i(t_1) - i(t_2)$) doğrusal bir şekilde artış gösteren gerilimin bir fonksiyonu olacak şekilde kaydedilir. Uygulanan gerilime karşı elde edilen akım farkı grafiğe geçirildiğinde oluşan pik diferansiyel eğri şeklinde meydana gelip (Şekil 2.14), analit derişiminin yükseklikle doğru orantılı olduğu görülür. Elde edilen voltamogramdaki pik gerilimi (E_p), türlerin tanımlanmasında kullanılabilir; bu pik gerilimi, yarı dalga gerilimine yakın bir değerdir. Faradayik olmayan yükleme akımının düşük, faradayik akımın ise yüksek değerde olması yani sinyal/gürültü oranının artması sonucu duyarlılık artmıştır. DP voltametri tekniği, 10^{-8} M'dan daha düşük derişimlerdeki ölçümlere olanak tanıyan duyarlı bir yöntemdir (Wang, 2000; Skoog ve ark., 1998).



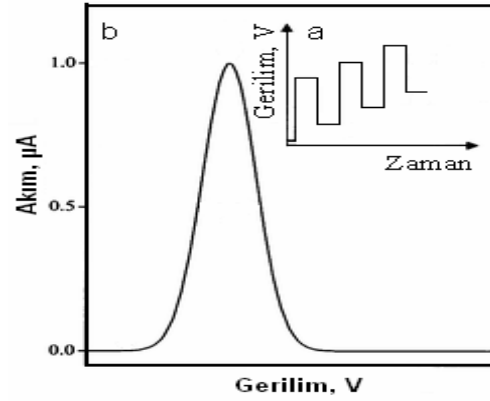
Şekil 2.14. Dijital cihazlarda diferansiyel puls voltametri uyarma sinyali.



Şekil 2.15. DPV Voltogramı

2.4.4.2. Kare dalga voltametri

SW voltametri, basamaklı bir gerilim taraması sırasında çalışma elektrotuna kare dalga şeklinde darbenin uygulandığı diferansiyel bir tekniktir. Elde edilen sinyalde her basamağın darbe periyodu ve boyları aynı olup 5 ms'dir. Ölçüm sırasında akım, darbe uygulanmasından hemen önce ve hemen sonra olmak üzere iki kere ölçülür ve iki ölçüm arasındaki akım farkı uygulanan gerilime karşı grafiğe geçirilir.



Şekil 2.16. Kare dalga voltametrisinde uyarma sinyali(a) ve elde edilen bir voltamogram(b).(Skoog ve ark., 1998)

Şekil. 2.17’de kare dalga voltametrisinde uyarma sinyalinin oluşumunda elde edilen akım farkı (Δi), birinci gerilimdeki akım değerinden ikinci gerilimdeki akım değerinin çıkarılması ile bulunur. (Wang, 2000; Skoog ve ark., 1998).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Voltametrik çalışmalarda kullanılan malzeme, araç ve gereçler

Bu tez çalışmasında kullanılan malzeme ve araç gereçler aşağıda sıralanmıştır.

- | | |
|-----------|---|
| a) | Elektrokimyasal analiz cihazı (AUTOLAB, PGSTAT128N) (şekil 3.1)
(Nova1.11 yazılımı ile birlikte) |
| b) | Elektrotlar
Çalışma elektrotu: BDD elektrot
Karşılaştırma elektrotu: Ag/AgCl (3 M NaCl) (MF 1063, BAS)
Yardımcı elektrot: Platin tel(MF 1032, BAS) |
| c) | Deney hücresi
10 mL 3 bölmeli kapaklı standart cam Hücres (MR1208) |
| d) | Karıştırma sistemi
Manyetik karıştırıcı(ARE heating magnetic stirrer)
Magnet (Spinbar VMR micro) |
| e) | pH metre
Termo scientific Orion 3 star pH metre |
| f) | Duyarlı terazi
Precisa 320XB 220A |
| g) | Otomatik makro ve mikro ölçülerde pipetler |
| h) | Santrifüj
Soğutmalı Hettich ROTINA 380R |
| i) | Çeşitli ölçülerde cam malzemeler (pyrex®)
Farklı hacimlerde tampon çözelti şişeleri, balonjoje, pipet, mezür, deney tüpleri, beher, erlen ve cam tüpler. |



Şekil 3.1. AUTOLAB, PGSTAT128N cihazı

3.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler

Deneylerde harcanan kimyasal maddeler aşağıda sıralanmıştır.

Maddenin Adı	Üretici Firma Adı
Ploxal-S	Koçak
Okzaliptatin	Sigma
Alüminyum oksit	Merck
Sodyum Hidroksit	Merck
Borik Asit	Merck
Fosforik Asit	Merck
Glasiyel Asetik Asit (%99-100)	Merck
Di sodyum monohidrojen fosfat	Merck
Sodyum klorür	Sigma
Nitrik asit(%65)	Sigma

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

3.1.3. Çözeltilerin hazırlanması

3.1.3.1. Stok çözeltilerinin hazırlanması

Bu tez çalışmasında etken madde olarak ‘Okzaliptatin’ bileşiği uygun koşullarda alınarak metanolde çözünmesiyle 1.25×10^{-3} M stok çözeltisi hazırlandı. Işıktan etkilenmesin diye alüminyum folyo ile sarılarak $+4$ °C buzdolabında saklandı.

3.1.3.2. Tampon çözeltilerin hazırlanması

Deneylerde destek elektroliti çözeltisi olarak Britton-Robinson tamponu (BR, 0.04 M, pH 2.0-10.0), fosfat tamponu (0.1 M, pH 3.0, 4.0, 7.4, 9.0) ve asetat tamponu (0.10 M, pH 4.8) çözeltileri kullanılmıştır. BR tamponu için 0.04 M H_3BO_3 (2.472 g), 0.04 M H_3PO_4 (2.69 mL) ve 0.04 M CH_3COOH (2.29 mL) karışımını içeren çözeltiye 5.0 M NaOH çözeltisi ilaveleri yapılarak istenen pH değerine ayarlanmıştır. Fosfat tamponu için 1 litrede 5.6784 g 900 mL 0.10 M $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ çözeltisine 5.0 M NaOH ya da 5.0 M HCl çözeltisi eklenerek istenen pH değerine ayarlanmıştır. Asetat tampon için ise, 0.1 M CH_3COOH çözeltisine 5.0 M NaOH eklenerek istenen pH değerine ayarlanmıştır. Yukarıda belirtilen tampon çözeltiler Milli-Q su (Millipore) kullanılarak hazırlandıktan sonra uygun koşullarda hazırlanıp pyrex® cam şişelerde hazırlanmış ve buzdolabında saklanmıştır.

3.1.4. Elektrokimyasal ölçümler

Elektrokimyasal ölçümlerde çalışma elektrodu, referans elektrot ve yardımcı elektrot kullanılarak gerçekleştirilen bir üçlü elektrot tekniği kullanılmıştır. Bu çalışmada elektrodu olarak BDD elektrot, referans elektrot olarak gümüş/gümüş klorür (Ag/AgCl), karşıt elektrotta ise platin elektrodu kullanılmıştır.

Elektrokimyasal ölçümlerin yapıldığı AUTOLAB, PGSTAT128N cihazı (Şekil 3.1)(Nova1.11 yazılımı ile birlikte) ve özel üretilmiş bölmeli, kapaklı 10 mL’lik elektrokimyasal deney hücresi (MR 1208) içeren bir cihazdır. Kapağında üç girişi bulunan bu hücrenin girişlerine elektrotlar bırakıldı. Deney hücreleri kullanılmadan önce 3.0 M HNO_3 içerisinde bir süre bırakıldıktan sonra su ve kullanılan destek elektrolit çözeltisiyle yıkanmıştır.

3.2.Yöntem

Elektrokimyasal analizlere başlamadan önce BDD elektrotu mekanik olarak Al_2O_3 çözeltisiyle temizlendikten sonra $-2.4 V/1200 sn$ $0.5 M H_2SO_4$ ortamında elektrokimyasal olarak aktive edildi. Her bir analiz ölçümü arasında ise BDD elektrotu $0.5 M H_2SO_4$ ortamında $-2.4 V$ gerilimde $30 sn$ bekletme ile aktivasyon işlemi gerçekleştirildi. Daha sonra elektrokimyasal ölçümler (CV ve SWV) uygun destek elektrolit çözeltilerinde yapıldı.

3.2.1. Voltametrik yöntemin gerçek örneklerde uygulaması

3.2.1.1. Enjektabl çözeltiler

Yöntemin ticari ilaç şekline uygulamasında eczanelerden temin edilen Ploxal-S yoğunlaştırılmış çözelti ($100 mg/20 mL$ Okzaliptatin) kullanılmıştır. İki flakon içeriği karıştırıldıktan sonra optimum koşullar için seçilen destek elektroliti içeren voltametrik hücreye bu karışımdan μL düzeyinde eklemeler yapılmıştır. Örnek çözeltisi doğrudan analiz edilmiş ve miktar tayini işlemi kalibrasyon yöntemi ile gerçekleştirildi. Her analiz ölçümü üç kez tekrarlandı.

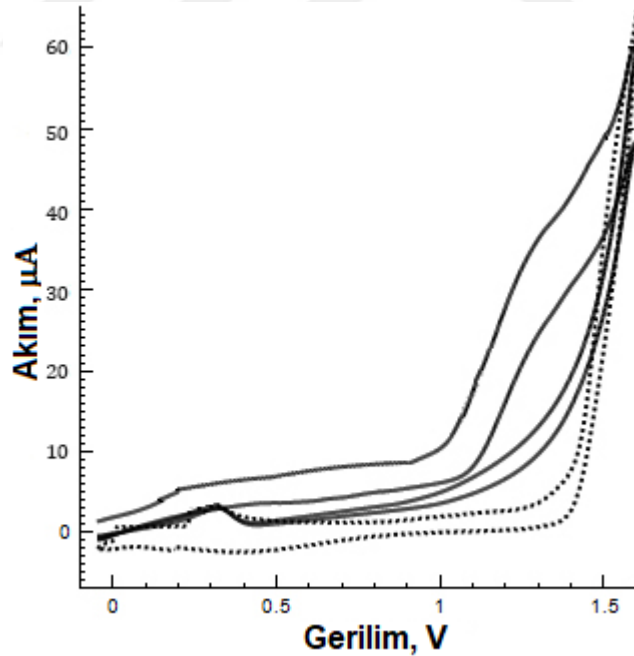
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Okzaliptin'in Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi

Katı elektrotlardan BDD elektrot kullanılarak Okzaliptin bileşiğinin pik morfolojisi ve gerilimi üzerindeki elektrokimyasal olayları anlamak, yorumlamak için başlangıç deneyleriyle, farklı pH ve destek elektrolit çözeltilerde CV ve SWV teknikleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4.1.1. Dönüşümlü voltametri

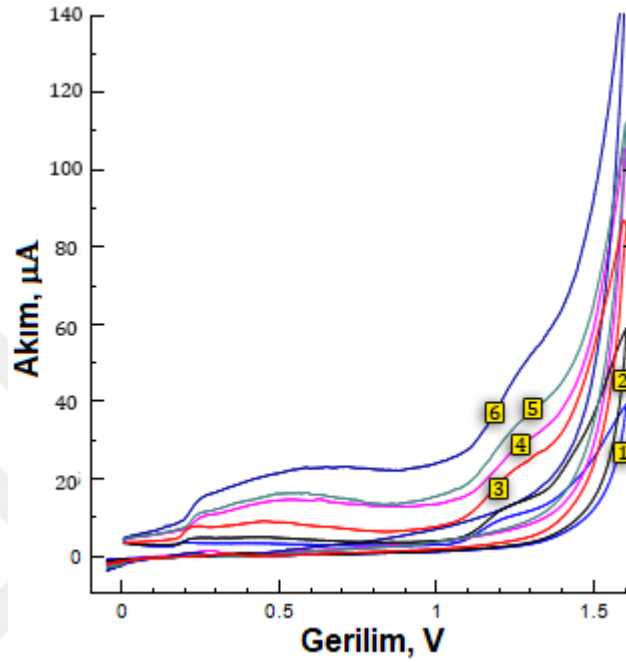
Araştırmanın başlangıcında BDD elektrot kullanılarak 1.25×10^{-4} M Okzaliptin BR tamponu (pH 5.0) içerisinde (0.0 V) - (+1.5 V) - (0.0 V) gerilim tarama aralığında ve 100 mVs^{-1} gerilim tarama hızında CV'leri kaydedilmiştir. Bu teknik ile tarama hızının değiştirilmesi suretiyle pik yüksekliklerinin tarama hızı ile farklı şekilde değişmesinden dolayı adsorpsiyon, difüzyon ve elektron aktarım reaksiyonuna eşlik eden kimyasal reaksiyon olaylarının varlığı belirlenebilir. Şekil 4.1'de BR tamponu (pH 5.0) içerisinde Okzaliptin bileşiğinin aynı koşullarda iki döngülü voltamogramı görülmektedir. Yaklaşık +1.225 V'ta çok yayvan bir yükseltgenme piki verdiği görülmektedir.



Şekil 4.1. 1.25×10^{-4} M Okzaliptin'in BR (pH 5.0) tamponu içinde iki döngülü voltamogramı. Elektrot, BDD; gerilim tarama hızı, 100 mVs^{-1} . Kesikli çizgi, destek elektroliti.

4.1.1.1. Gerilim tarama hızının etkisi

Gerilim tarama hızının Okzaliplatin bileşiminin elektrokimyasal yükseltgenmesi üzerine etkisini incelemek amacıyla 1.25×10^{-4} M Okzaliplatin çözeltisinin BR tamponu (pH 5.0) içerisinde (0.0 V)-(+1.6 V)-(0.0 V) gerilim tarama aralığında, 25-400 mVs^{-1} arasındaki gerilim tarama hızlarında CV'leri Şekil 4.2'de kaydedilmiştir.

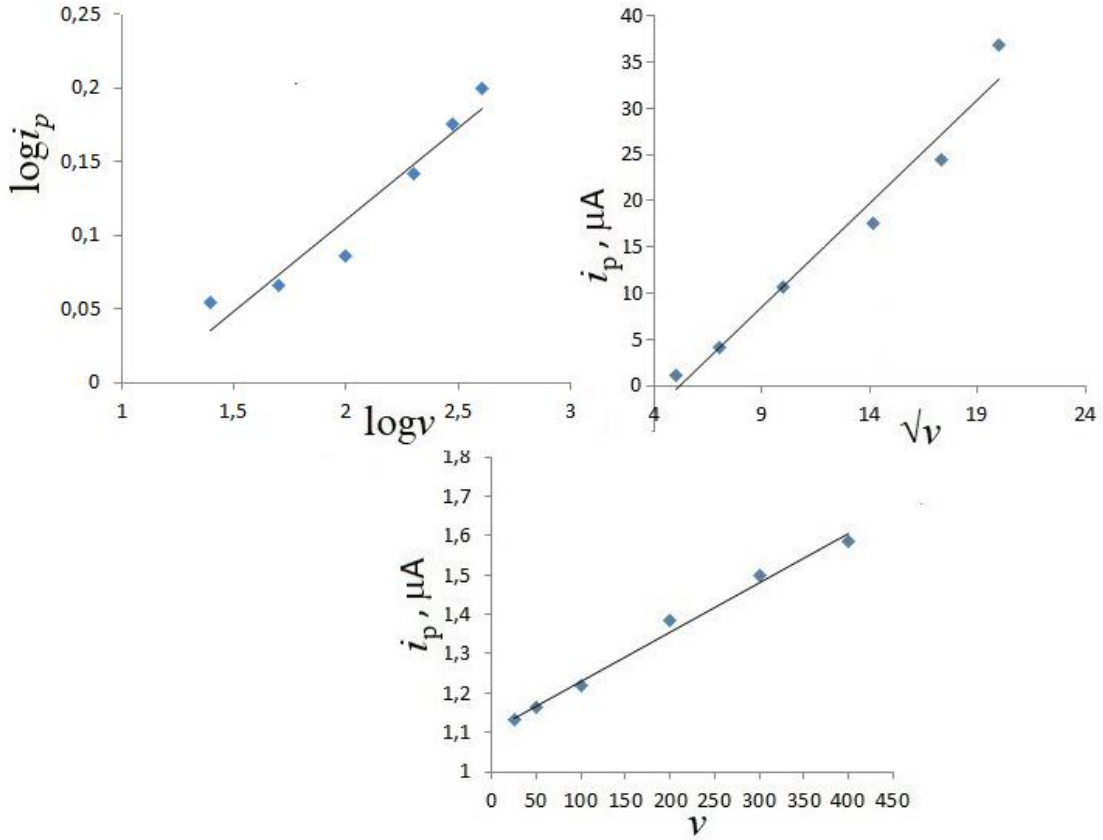


Şekil 4.2. 1.25×10^{-4} M Okzaliplatin'in BR (pH 5.0) tamponu içinde (1) 25, (2) 50, (3) 100, (4) 200, (5) 300, (6) 400 mVs^{-1} gerilim tarama hızlarıyla elde edilen dönüşümlü voltamogramları

Çizelge 4.3. Okzaliplatin voltamogramlarındaki pik akımı ve pik gerilimi üzerinde gerilim tarama hızının etkisi. Okzaliplatin derişimi, 1.25×10^{-4} M; Teknik, CV; destek elektroliti, BR tamponu (pH 5.0); elektrot, BDD.

$V(\text{mVs}^{-1})$	\sqrt{v}	$\log E_p$ (mV)	$\log v$	$\log I_p(\mu\text{a})$
25	5.000	3.078	1.398	0.054
50	7.070	3.084	1.699	0.028
100	10.00	3.088	2.000	0.048
200	14.14	3.093	2.301	0.200
300	17.32	3.098	2.477	0.175
400	20.00	3.101	2.602	0.073

Çizelge 4.1'deki verilerden faydalanarak $\sqrt{v} - i_p$, $v - i_p$ ve $\log v - \log i_p$ grafikleri Şekil 4.3'de görülmektedir.



Şekil 4.3. $\sqrt{v} - i_p$, $v - i_p$ ve $\log v - \log i_p$ grafikleri

25-400 mV s^{-1} aralığındaki gerilim tarama hızı ile pik akımı ilişkisinde elde edilen doğrusallık denklemleri ise aşağıdaki gibidir:

$$i_p (\mu A) = 2.237 \sqrt{v} (\text{mV s}^{-1}) - 11.623 \quad r = 0.9837$$

$$i_p (\mu A) = 0.0012 v (\text{mV s}^{-1}) + 1.1064 \quad r = 0.9947$$

$$\log i_p = 0.1247 \log v - 0.139 \quad r = 0.9647$$

BDD elektrot üzerinde gerçekleşen sürecin karakterizasyonu anlamak için yükseltgenme piki farklı tarama hızlarında alınarak Şekil 4.3'de gösterilmiştir. Difüzyon kontrollü bir elektrot reaksiyonunda i_p/\sqrt{v} ilişkisi doğrusal çıkarken i_p/v grafiğinin üstel bir şekilde artış göstermesi beklenir. Adsorpsiyon kontrollü bir pik söz konusu olduğunda i_p/v grafiği doğrusal çıkar ve $\log i_p - \log v$ grafiğinin eğimi idealde 1 olarak bulunur (Laviron ve ark., 1980). Eğer difüzyon katkılı bir adsorpsiyon söz konusu ise eğim değeri 0.5-1 aralığında olurken tamamen difüzyon kontrollü ise eğim 0.5 olur. Bu bilgilere ve elde edilen sonuçlara göre; i_p/v ilişkisindeki doğrusallık, i_p/\sqrt{v} ilişkisindeki kısmen üstel değişim ve $\log i_p - \log v$ ilişkisindeki eğimin 0.5 den oldukça küçük olması BDD elektrot

yüzeyinde gerçekleşen elektrokimyasal sürecin difüzyon kontrollü olabileceğini göstermektedir.

Diğer taraftan, Şekil 4.2 ve Çizelge 4.1'de görüldüğü üzere; 25-400 mV s⁻¹ aralığında pik gerilimleri hafifçe daha pozitif bölgeye kaymıştır. Bu olgu, tersinmez ya da yarı tersinir elektrokimyasal tepkimesi için karakteristiktir (Bard ve Faulkner, 2000).

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

$$E_p(\text{V}) = 0.0527 \log v (\text{mV s}^{-1}) + 1.1227 \quad (r = 0.9952)$$

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

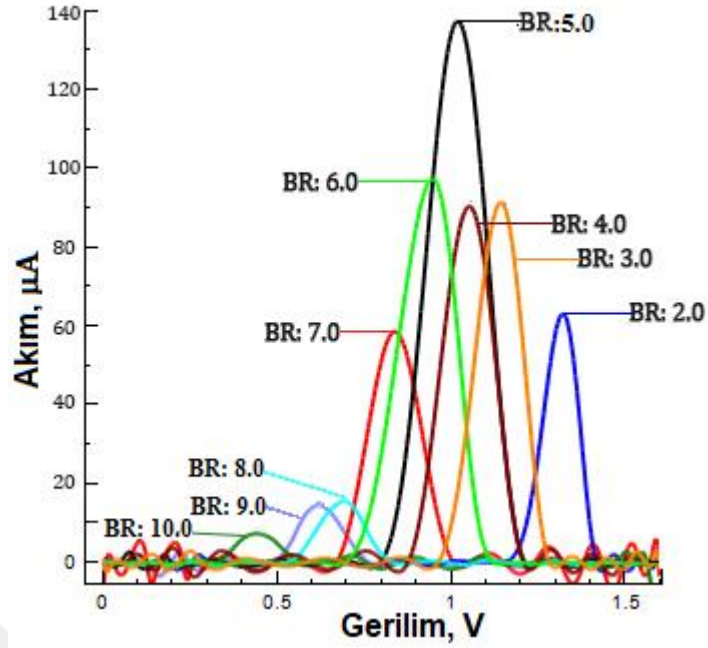
$$E_p = E^0 + (2.303RT / \alpha nF) \log (RTk^0 / \alpha nF) + (2.303RT / \alpha nF) \log v$$

Eşitlikte yer alan α , yük aktarım katsayısı ve n , redoks tepkimesinde aktarılan elektron sayısıdır. R (8.314 J K⁻¹ mol⁻¹), T (298 K) ve F (96480 C mol⁻¹) ise bilinen sabitlerdir. $E_p - \log v$ ilişkisindeki eğim değeri 0.0527'dir. Yukarıdaki eşitlik kullanılarak αn değeri 1.12 olarak hesaplanır. Tam tersinmez elektrot olayında pek çok sistem için, $\alpha = 0.5$ olarak kabul edilebilir. Böylece, $n = 2.24 (\approx 2)$ değeri elde edilir.

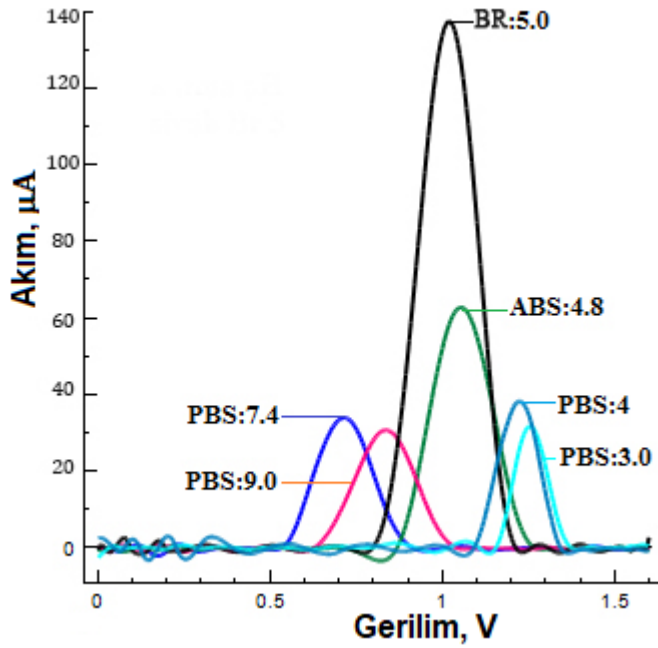
4.1.1.2. Destek elektroliti ve pH etkisi

Voltametik bir çalışmada analit bileşiğinin elektrot yüzeyinde gerçekleşen elektrokimyasal davranışının yorumlanmasında kullanılacak destek elektroliti bileşiminin ve pH değerinin seçimi oldukça önemlidir. BR tamponu, çok geniş bir çalışma aralığına sahip olması nedeniyle elektrokimyasal çalışmalarda çok tercih edilen bir karma tampon sistemidir. Bunun yanısıra; fosfat ve asetat tamponları da doğru çalışma aralıkları seçilme koşuluyla sıklıkla kullanılan destek elektroliti ve tampon ortamlarıdır.

Yukarıdaki bilgilerden yola çıkarak; araştırmanın bu bölümünde pH 2.0-10.0 aralığında BR tamponu Şekil 4.4 ile fosfat (pH 3.0, 4.0, 7.4, 9.0) ve asetat (pH 4.8) tamponları Şekil 4.5 içerisinde SWV tekniği kullanılarak 1.25×10^{-4} M Okzaliptinin BDD elektrot üzerinde voltamogramları kaydedilmiştir.



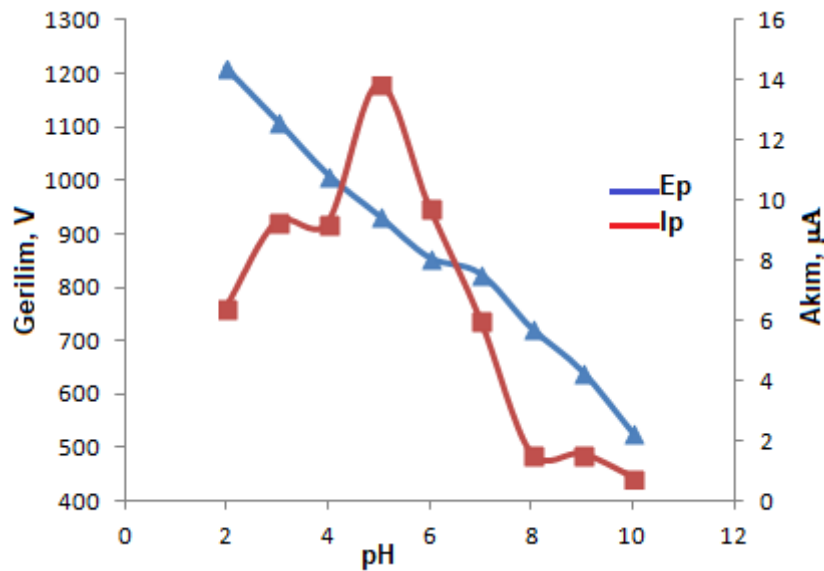
Şekil 4.4. 1.25×10^{-4} M Okzaliplatinin BR tamponu içinde (pH 2.0-10.0) BDD elektrot kullanarak elde edilen SWV eğrileri SWV değişkenleri: frekans, 30 Hz; adım gerilimi, 10 mV; amplitüd, 90 mV.



Şekil 4.5. 1.25×10^{-4} Okzaliplatinin BR (pH 5.0), fosfat (pH 3.0, 4.0, 7.4 ve 9.0) ve asetat (pH 4.8) tamponları içinde BDD elektrot kullanarak elde eğrileri SWV değişkenleri: frekans, 30 Hz; adım gerilimi, 10 mV; amplitüd, 90 mV.

Çizelge 4.2. Okzaliplatin voltamogramlarındaki pik gerilimi (E_p) ve pik akımı (i_p) üzerinde pH etkisi. Okzaliplatin derişimi, 1.25×10^{-4} M; destek elektroliti, BR tamponu; elektrot, BDD; yöntem, SWV

pH(BR)	E_p (mV)	I_p (μ A)
2	1211	6.43
3	1113	9.297
4	1012	9.26
5	935	13.88
6	856	9.796
7	826	6.05
8	725	1.59
9	644	1.56
10	528	0.78



Şekil 4.6. Okzaliplatin pik gerilimi (E_p) ve pik akımı (i_p) üzerine pH etkisi. Okzaliplatin, 1.25×10^{-4} M; BR(pH 2-10); SW değişkenleri: frekans, 30 Hz; adım gerilimi, 10 mV; amplitüd, 90 mV.

Bulgulardan da görüleceği üzere, pH değeri arttıkça pik gerilimi daha negatif değerlere kaymaktadır. Bu gözlem, Okzaliplatinin yükseltgenme olayında proton aktarımının da yer aldığı kanıttır. E_p /pH ilişkisi incelendiğinde; çalışılan geniş pH aralığında farklı eğim değerlerine sahip iki doğrusal bölge elde edilmiştir:

$$\begin{aligned} \text{pH } 2.0 - 6.0 & \quad E_p \text{ (mV)} = -88.8 \text{ pH} + 1380.6 & \quad r = 0.998 \\ \text{pH } 7.0 - 10.0 & \quad E_p \text{ (mV)} = -97.5 \text{ pH} + 1509.5 & \quad r = 0.997 \end{aligned}$$

Okzaliplatine ait E_p/pH ilişkisi incelendiğinde bir eğimli bölge olduğu görülmektedir. Bu eğimli bölgenin (-88.8 mV/pH) Okzaliplatine ait pKa:7.23 (Jeremalm ve ark., 2002; Jeremalm ve ark., 2003) değeri ile uyumlu olduğu görülmektedir.

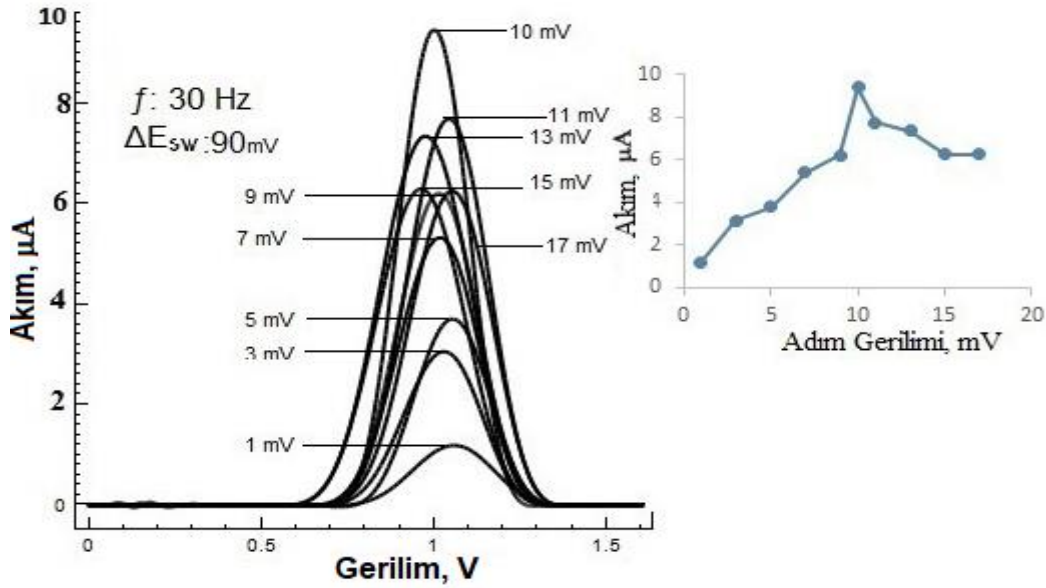
4.1.2. Kare dalga voltametri

Yukarıda elde edilen bulguların ışığında, çalışmanın bu bölümünde Okzaliplatin bileşiğinin elektrokimyasal yükseltgenmesi, farklı pH değerlerine sahip çözeltilerinde BDD elektrot ile bölüm 3.2 ayrıntılı belirtildiği gibi aktivasyon işlemi uygulanarak SW voltametri tekniği yardımıyla voltogramları incelenmiştir.

4.1.2.1. Kare dalga değişkenlerinin etkisi

Araştırmanın devamında, en duyarlı ve simetrik voltamogramların elde edilmesi için optimum cihaz değişkenlerinin belirlenmesi amacıyla SW parametreleri (kare dalga frekansı, $f = 5-50$ Hz; adım gerilimi, $\Delta E_s = 1-17$ mV; kare dalga amplitüdü, $\Delta E_{sw} = 10-150$ mV) etkisi araştırılmıştır. Elektrokimyasal ölçümler 1.25×10^{-5} M Okzaliplatin içeren optimum BR (pH 5.0) destek çözeltisinde gerçekleştirilmiştir. Her değişken için diğer iki değişkenin değerlerinin sabit tutulduğu koşullarda voltamogramlar kaydedilmiştir (Şekil 4.7). SWV tekniği amplitüd, frekans ve adım gerilimi ile ilişkilidir. $f = 30$ Hz ve $\Delta E_s = 9$ mV değerlerine kadar artış, etkin gerilim tarama hızındaki artışa bağlı olarak pik akımı değerlerinde artışı sağlamıştır. Ancak bu değerlerden sonra akım sinyal şiddeti düştüğü gibi $f = 30$ Hz ve $\Delta E_s = 15$ mV değerlerinde pik genişlemesi ve zemin çizgisi bozulması gözlenmiştir. Analitik sinyal aynı zamanda puls amplitüdü değeriyle de (frekans kadar olmasa da) ilişkilidir. Pik yükseklikleri, $\Delta E_{sw} = 90$ mV değerine kadar artmış, sonrasında azalmıştır. Sonuç olarak; analitik incelemenin devamında $f = 30$ Hz, $\Delta E_s = 10$ mV ve $\Delta E_{sw} = 90$ mV değerlerinin optimum olarak kullanılmasına karar verilmiştir.

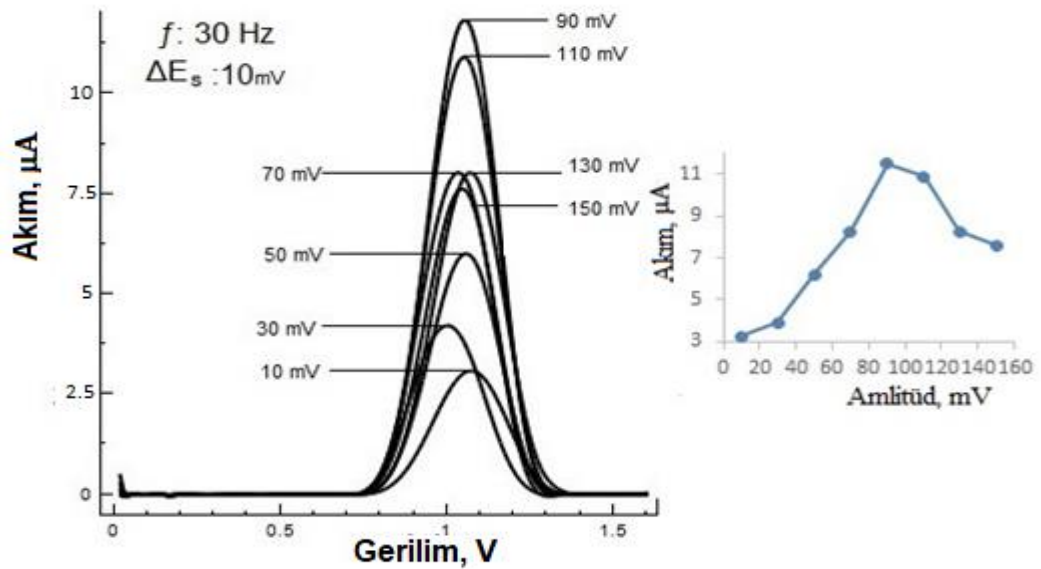
Okzaliplatin bileşiğinin farklı adım potansiyelinde optimum BR tampon (pH 5.0) içinde SW voltamogramları ve üç tekrar deneyi ile elde edilen dağılım grafiği Şekil 4.7'de verilmiştir.



Şekil 4.7. BDD elektrot yüzeyinde $1.25 \times 10^{-5} \text{ M}$ Okzalipatin'in BR tamponu (pH 5.0) çözeltisi içindeki farklı adım potansiyelindeki SW voltamogramları ve dağılım grafiği.

Okzalipatin bileşiğine ait yükseltgenme pikleri, 1-17 mV gerilim aralığında çalışıldı. Gerilimindeki artışın incelendiği 1-10 mV gerilim aralığında pik şekli ve pik şiddeti bakımından en iyi sonuç 10 mV'daki gerilim adımında, akım şiddeti $9.41 \mu\text{A}$ düzeyinde bulundu.

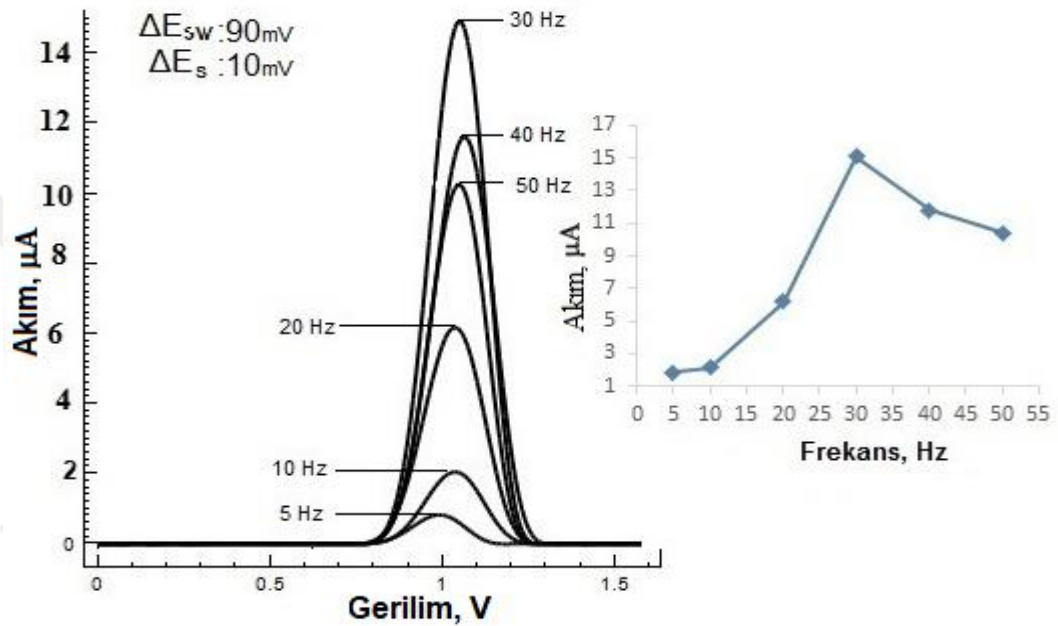
Çalışmanın devamında, Okzalipatin bileşiğinin farklı amplitüdlere optimum BR tampon (pH 5.0) içinde SW voltamogramları ve üç tekrar deneyi ile elde edilen dağılım grafiği Şekil 4.8'de verilmiştir.



Şekil 4.8. BDD elektrot yüzeyinde $1.25 \times 10^{-5} \text{ M}$ Okzalipatinin BR tamponu (pH 5.0) çözeltisi içindeki farklı amplitüd deki kare dalga voltamogramları ve dağılım grafiği.

Okzaliplatin bileşiğine ait yükseltgenme piki, 10-150 mV gerilim aralığında çalışıldı. Amplitüd değeri arttıkça pik akım şiddetinde bir artış gözlemlendi. Ancak artışın incelendiği 10-90 mV aralığında olduğu, pik şekli ve pik şiddeti bakımından en iyi sonuç 90 mV'de, akım 11.50 μA düzeyinde bulundu.

Yapılan çalışmada, Okzaliplatin bileşiğinin farklı frekanslarda optimum BR tampon (pH 5.0) içinde SW voltamogramları ve üç tekrar deneyi ile elde edilen dağılım grafiği Şekil 4.9'da verilmiştir.



Şekil 4.9. BDD elektrot yüzeyinde 1.25×10^{-5} M Okzaliplatinin BR tamponu (pH 5) çözeltisi içindeki farklı frekanslardaki kare dalga voltamogramları ve dağılım grafiği.

Okzaliplatin bileşiğine ait yükseltgenme piki, 5-50 Hz aralığında çalışıldı. Artışın incelendiği 5-30 Hz aralığında pik şekli ve pik şiddeti bakımından en iyi sonuç 30 Hz'de, akım şiddeti 15.10 μA düzeyinde bulundu.

4.1.3. Geliştirilen yöntemin analitik performans özelliklerinin incelenmesi

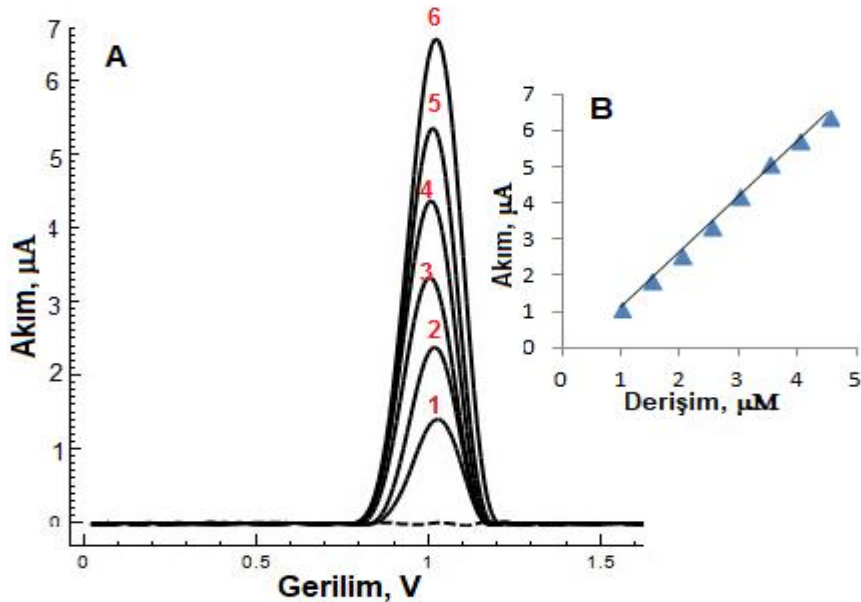
Sunulan tez çalışmasında BDD elektrot üzerinde geliştirilen voltametrik yöntemin analitik performans özellikleri (çalışma aralığı, duyarlılık, tekrarlanabilirlik), optimum BR pH 5.0 değerine sahip destek çözelti içerisinde incelenmiş olup Okzaliplatin bileşiğinin tayinine yönelik en iyi voltametrik ve analitik koşullar Çizelge 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.4. Okzaliptatin tayini için voltametrik yöntem ile elde edilen en iyi deneysel ve aletsel değişkenler

Yöntem	SWV
Elektrot	BDD
Destek elektroliti	BR tampon (pH 5.0)
Kare-dalga değişkenleri	
f	30 Hz
ΔE_s	10 mV
ΔE_{sw}	90 mV

Okzaliptatin 1.25×10^{-3} M standart çözeltilerinden elektrokimyasal hücreye belirli hacimlerde eklenmiş ve yukarıda verilen koşullarda voltamogramları (üç kez tekrarlanarak) kaydedilmiştir. Her eklemekten sonra yaklaşık +1.01 V civarındaki yükseltgenme piki değerlendirilmiştir. İlgili voltamogramlar ve derişim pik akımı ilişkisi Şekil 4.10'de verilmiştir.

Şekil 4.10 B'de sunulan analitik eğri 1.0-4.5 μ M derişim aralığında [$i_p(\mu A) = 1.5398 C(\mu M) - 0.4306$ ($r = 0.999$, $n=6$)] doğrusal bir yanıt sunmaktadır. Eşitlikteki i_p yükseltgenme pik şiddeti, C Okzaliptatin derişimi ve r korelasyon katsayısıdır.



Şekil 4.10. (A) Okzaliptatin'in farklı derişimlerinin [(1) 1.0, (2) 1.5, (3) 2.0, (4) 2.5, (5) 3.0, (6) 3.5, (7)4.0, (8) 4.5 μ M] BR tamponu (pH 5.0) içerisinde kaydedilen SW değişkenleri: frekans, 30 Hz; adım gerilimi, 10 mV; amplitüd, 90 mV. Kesikli çizgi, destek elektroliti. Ek (B): i_p/C Okzaliptatin kalibrasyon eğrisi.

Analitik eğriler yardımıyla elde edilen gözlenebilirlik sınırı (LOD) ve en düşük tayin sınırı (LOQ) değerleri; $LOD = 3s/m$; $LOQ = 10s/m$ eşitliğine göre hesaplanmıştır. Eşitliklerde yer alan s , doğrusallık aralığındaki en düşük derişime karşılık gelen pik akımının (3 değer ortalaması olarak) standart sapmasını, m ise ilgili kalibrasyon eşitliğinin eğim değerini ifade etmektedir. LOD ve LOQ değerleri sırasıyla $0.276 \mu M$ ($0.109 \mu g mL^{-1}$) ve $0.920 \mu M$ ($0.365 \mu g mL^{-1}$) olarak saptanmıştır.

Elde edilen sonuçlardan görüldüğü üzere BDD elektrota herhangi bir kimyasal modifikasyon sürece tutulmadan (basit bir elektrokimyasal ön-işlem dışında) Oksaliplatinin düşük derişimlerde saptanabilmesine imkan vermektedir. Bu çalışmada BDD elektrot yüzeyine uygulanan elektrokimyasal aktivasyon işlemi (Avaca ve ark., 2004; Simon, 2006; Carlos, 2006; Zhao, 2007; Şentürk ve ark., 2014) araştırmacılarının da ifade ettiği gibi elektrot yüzeyini oldukça aktif kılarak hedef analitin redoks olayında elektrotun elektrokatalitik etkinliğini artırmaktadır. Bu elektrokimyasal aktivasyon süreci diğer elektrot modifikasyon işlemlerinden daha basit ve daha az toksik ve kimyasal madde gerektirdiği için çevre dostu bir elektrokimyasal ön işlem olarak tanımlanabilir. Bu tez çalışmasında sunulan BDD elektrot yüzeyinde elde edilen sonuçlar bu görüşü destekler düzeydedir. Bilgimize göre sadece (Yapasan ve ark. 2010) grafit elektrotu tek duvarlı karbonnanotüp ile modifiye ettikten sonra Oksaliplatin için bir yükseltgenme sinyali aldıkları görülürken sunulan tez çalışmasında basit, ucuz ve duyarlı voltametrik yöntemle daha duyarlı sonuçlar alındığı görülmektedir.

Oksaliplatin bileşiği için BDD elektrot yüzeyinde BR (pH 5.0) ortamında geliştirilen voltametrik yöntemin tekrar edilebilirlik düzeyini belirlemek için $3.0 \times 10^{-6} M$ derişimdeki çözeltiler, optimum deney koşullarında hazırlanarak ve bu çözeltilerde aynı gün içerisinde 9 kez SW voltamogramları kaydedilmiştir. Bu voltamogramların yükseltgenme pik akım ve gerilim değerleri okunarak bulunan sonuçlar gün içi kesinlik olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre yükseltgenme pik akımı ve gerilimi için BSS değerleri sırasıyla % 1.45 ve % 0.43 olarak saptanmıştır.

4.2. Gerçek Örnek Analizleri

Geliştirilen yöntemin gerçek örneklerdeki performans özelliklerini doğrulamak için, uygulanabilirliği ticari ilaç şekillerine uygulanmıştır.

4.2.1. Enjektabl çözeltiler

Yöntemin ticari ilaç şekline uygulamasında eczanelerden temin edilen Ploxal-S konsantre çözelti (100 mg/20 ml okzaliplatin) kullanılmıştır. Bölüm 3.2.1.1'de anlatılan yolla hazırlanmış flakon çözeltilerinin voltamogramları standart maddeler için hazırlanan koşullarda alınmıştır. Flakon analizine ilişkin voltamogramlar ile standart Okzaliplatine ilişkin voltamogramlar karşılaştırıldığında eğrilerin uyumlu olduğu gözlenmiştir. Voltamogramlar üzerinde okunan yükseltgenme pik akımı değerleri ilgili kalibrasyon eğrilerinde yerine konularak flakonların içerdiği Okzaliplatin miktarları hesaplanmış ve bu değerler gerçek değerle karşılaştırılmıştır. Geliştirilen yöntemin doğruluk ve kesinliğini kontrol etmek amacıyla geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Bunun için, aynı enjektabl çözeltisi üzerine standart Okzaliplatin çözeltisinden doğrusallık sınırlarını aşmamak koşulu ile ardışık eklemeler yapılmış ve her ekleden sonra voltamogramlar yeniden kaydedilmiştir. Pik akımlarının ölçümü hem orijinal enjektabl çözeltisinde hem de ardışık eklemelerden sonra yapılmıştır. Daha sonra enjektabl çözelti örneğine katılan saf maddenin ne kadarının tayin edilebildiği hesaplanmaya çalışılmıştır. Geliştirilen voltametrik yöntemle yapılan analiz sonuçları Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4. 5. Oksaliplatin içeren flakonlarda voltametrik yöntem analiz bulguları

Örnek	Bulunan(mg)^{a,b}	Geri Kazanım^b(%) ± %BSS
1	94	94 ± 3.28
2	105	105 ± 4.11
3	106	106 ± 3.96
4	92	92 ± 4.33
5	107	107 ± 3.31

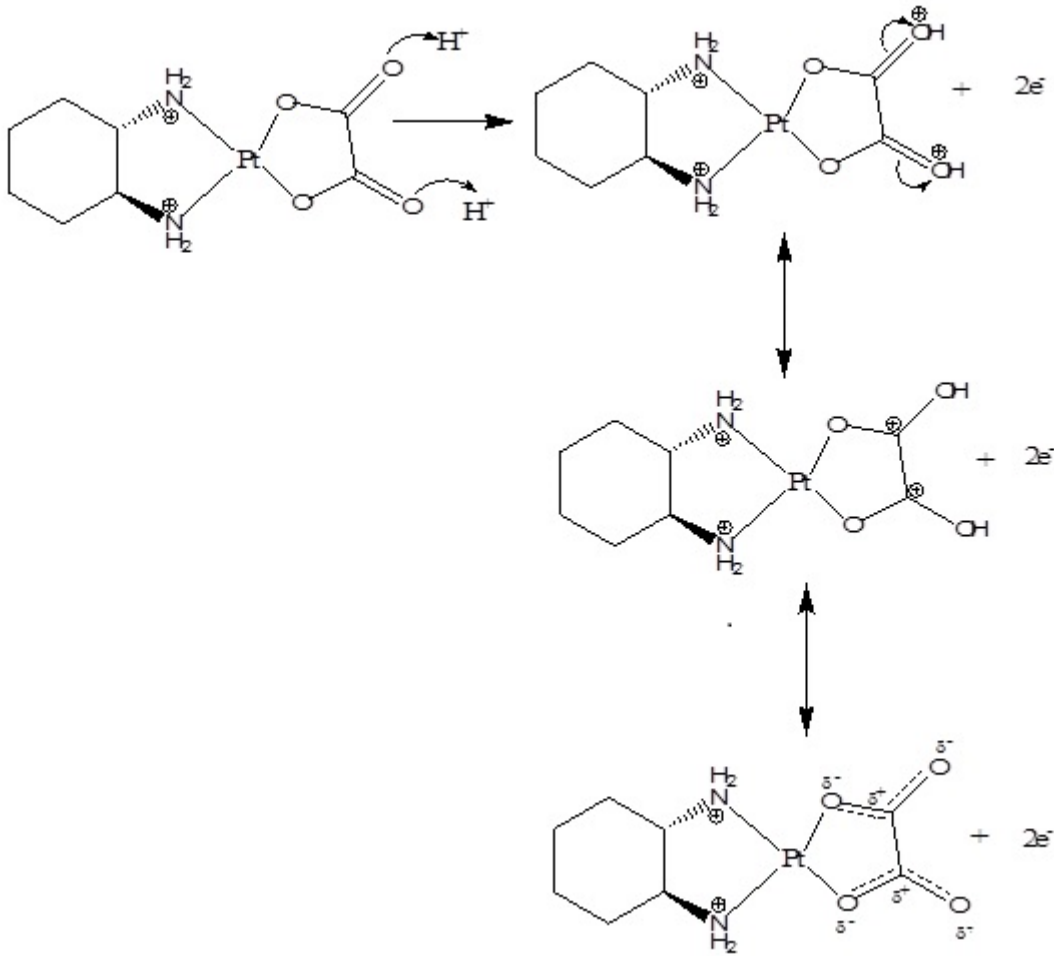
^aBir flakon (20 mL), 100 mg oksaliplatin içerir.

^bSonuçlar, üç analizin ortalamasıdır.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çizelge 2.3’de özetlendiği gibi platin analogların voltametrik tayinlerine yönelik kaynakçada kayıtlı çok sınırlı sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Yapılan kaynakça araştırmasına göre Okzaliptatin ile ilgili ise sadece 2 adet elektrokimyasal temelli makaleye rastlanılmıştır. (Yapasan ve ark., 2010) Okzaliptatinin SWCNTs-GE elektrot ile DNA etkileşimini çalışırken, (Kensova ve ark. 2012) da toksik etkisi olan damlayan civa elektrot ile Okzaliptatinin elektrokimyasal özelliklerini ve miktar tayinini çalışmışlardır.

Bu tez çalışmasında BDD elektrota uygulanan elektrokimyasal ön işlem süreci ile Okzaliptatinin yükseltgenmesi üzerinde mükemmel elektrokatalitik etki göstermiştir. Bu çalışmanın birinci bölümünde Okzaliptatinin BDD elektrot yüzeyinde yükseltgenme davranışları, SW ve CV teknikleri kullanılarak incelenmiştir. Ortamın pH’nın, destek elektroliti cinsinin ve ilgili madde derişiminin yükseltgenme olayı üzerine etkileri duyarlı bir şekilde araştırılmıştır. Bunun için fosfat tamponu (pH 3.0, 4.0, 7.4 ve 9.0), asetat tamponu (pH 4.8), BR tamponu (pH 2.0-10.0) kullanılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucu en uygun ortamın keskin, tekrar edilebilir ve oldukça duyarlı pikin elde edildiği pH 5.0 BR tamponu olduğu bulunmuştur(şekil 4.5). CV tekniği ile pH 5.0 BR tamponunda 25-400 mVs⁻¹ tarama hızlarında kinetik incelemeler yapılmıştır (şekil 4.2 ve şekil 4.3). Bu incelemelerde \sqrt{v}/i_p , v/i_p ve $\log v/\log i_p$ verileri incelenmiştir. Okzaliptatinin BDD elektrot yüzeyinde +1.225 V civarında tersinmez bir yükseltgenme dalgası verdiği (şekil 4.1) ve bu dalganın 25-400 mV/s⁻¹ tarama hızı aralığında pozitifte kaydığı ve yükseltgenme pikinin difüzyon kontrollü olduğu anlaşılmıştır. E_p ile v arasındaki ilişki [$E(V) = 0.0527 \log v (mV s^{-1}) + 1.1227 (r = 0.9952)$] den BDD elektrot yüzeyinde gerçekleşen elektrokimyasal süreçte yaklaşık 2 elektronun katkı sunduğu ve pH ile E_p (pH:2-10) arasındaki ilişkiden [$E_p (mV) = -80.367 \text{ pH} + 1354.4$] bu elektronlara eşit sayıda proton katkı sunduğu sonucuna varılmıştır. BDD elektrot yüzeyinde Okzaliptatin için aşağıdaki gibi bir elektrokimyasal mekanizma önerebiliriz;



Şekil 5.1.Okzaliplatinin yükseltgenme mekanizması

Okzaliplatin bileşiğinde azot atomunun ortalanmamış elektron çiftleri Pt ile koordinasyonda olduğundan en bazik elektronlar karbonil oksijenine aittir. Elektrokimyasal sürecin gerçekleştiği ortam asidik (pH 5.0) olduğu için karbonil oksijenlerinin ortaklanmamış elektron çiftlerini protona aktararak oksijenlerin birer basamak yükseltgenmesi beklenir. Devam eden süreçte karbon oksijen arasındaki π elektronları oksijen atomu tarafından çekilerek karbonil karbonunun kısmi pozitif yüklenmesini sağlamaktadır. Aslında oluşan bu yapı beklenildiği gibi pozitif yüklenen karbon, iki oksijen arasında olduğu için yapı mezomerik olarak kararlı bir karbokatyondur. Bu da pH 5.0 ortamında BDD elektrot yüzeyinde Okzaliplatin için önerilen elektrokimyasal mekanizma sürecinin bu şekilde olabileceğini güçlendirmektedir.

Çalışmanın ikinci bölümünde ise BDD elektrot kullanılarak Okzaliplatin için geliştirilen voltametrik teknik, şekil 4.11'de gösterildiği gibi BR (pH 5.0) ortamında 1.0-4.5 μM derişim aralığında mükemmel bir doğrusallık [$i_p(\mu\text{A})=1.5398 C(\mu\text{M}) - 0.4306$ ($r=0.999$, $n=6$)] saptanmıştır. LOD değerleri bakımından Okzaliplatinin toksik

özelliikli damlayan civa elektot'tan (Kensova ve ark., 2012) büyük LOD değeri (0.276 μM (0.109 μgmL^{-1}) elde edildiği görölmüştür. Kalibrasyon eğrilerine ait validasyon hesaplamaları yapılıp, gün içi kesinlik değeri yükseltgenme pik akımı ve gerilimi kapsamında BSS değeri sırasıyla % 1.45 ve % 0.43 olarak hesaplanmıştır. İlaç içindeki katkı maddelerinin çalışmamızı etkilemediğini, geliştirilen yöntemlerin Okzaliplatin için seçici ve doğruluğunu kanıtlamak için geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Geliştirilen voltametik teknik Okzaliplatin'in ilaç formlarına basit, hızlı ve başarılı bir şekilde uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar geri kazanım olarak % 92 ile % 107 aralığında bulunmuş ve kabul edilebilir değeri arasında olduğu görölmektedir. Sonuç olarak, Okzaliplatin'in elektroanalitik tayini için hızlı, kolay, doğru, kesin, duyarlı, seçici ve herhangi bir ayırma işlemine gerek duyulmayan voltametik teknik geliştirilmiş ve bunların Okzaliplatin içeren ilaç formlarına uygulanabilirliği gösterilmiştir. Okzaliplatin için ilk kez geliştirilen BDD elektrotun kullanıldığı bu voltametik yöntem, gerek bu bileşik gerekse de platin analoglarının kapsadığı bileşik ya da benzer yapılı diğer bileşiklerin biyolojik örneklerden tayininde sıklıkla kullanılan ancak çok zaman alıcı ve özel deneyim isteyen ön ayırma işlemlerine gerek duyan kromatografik ve spektroskopik yöntemlere alternatif olabileceği kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

- Avaca L. A., Hugo B. Suffredini, Valber A. Pedrosa, Lúcia Codognoto, Sérgio A.S. Machado, Romeu C. Rocha-Filho 2004. Enhanced electrochemical response of boron-doped diamond electrodes brought on by a cathodic surface pre-treatment *Electrochimica Acta* ,49: 4021–4026
- Bard, A.J., Faulkner, L.R., 2000. *Electrochemical Methods: Principles and Applications*, 2nd ed.; JohnWiley and Sons: New York, USA.
- Bard, A. J., Faulkner L.R., 2001. *Electrochemical Methods Fundamentals and Applications*. Copyright John Wiley & Sons, Inc. 2nd ed.
- Barek, J., Cvacka, J., Muck, A., Quaiserova, V., 2001. Electrochemical methods for monitoring of environmental carcinogens. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 369:556-562.
- Bond, A.M., Oldham, K.B. ve Zoski, C.G.,1989. Steady State Voltammetry. *Anal. Chim. Acta*. 216: 177-230.
- Bökesoy, A., Çakıcı, İ., Melli M., 2000. *Farmakoloji Ders Kitabı.*, Türk Farmakoloji Derneği, Ankara
- Chen E.X., Zhang W., Seymour L., 2008 Determination of intact oxaliplatin in human plasma using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry *Journal of Chromatography B*, 876: 277–282
- Cirilli R., Gallinella B., Bucciarelli L., Zanitti L., Ferretti R., 2014 Direct separation of the enantiomers of oxaliplatin on a cellulose-based chiral stationary phase in hydrophilic interaction liquid chromatography mode *Journal of Chromatography A*,1339: 210–213
- Colombo, C., Van den Berg, C.M.G., 1998. In-line deoxygenation for flow analysis with voltammetric detection. *Anal. Chim. Acta*, 377: 229-240.
- Cominellis, C., Duo, I., Michaud, P.A., Marselli, B., Park, S-M., 2005. Application of Synthetic Boron-Doped Diamond Electrodes in Electrooxidation Processes *Diamond Electrochemistry*, 449-476.
- Carlos A. Martínez Huitle Marco Antonio Quiroz A., Sergio F., and Yunny Meas V., 2006. Boron Doped Diamond Electrode for the Wastewater Treatment *J. Braz. Chem. Soc.*, 17: 227-236,
- Crul M, Waardenburg R., Beijnen J., Schellens J. 2002. DNA-based drug interaction of cisplatin. *Cancer Treatment Rev.*; 28: 291-303

- Czacek, M. Z., Wang, J., 1999. Pushing the detectability of voltammetry *Talanta* 50: 921-928.
- Douglas H. Hallmarks of Cancer: The Next Generation 2011-.10.1016
- Ehrsson H., Wallin I., 2003. Liquid chromatographic determination of oxaliplatin in blood using post-column derivatization in a microwave field followed by photometric detection *Journal of Chromatography B*, 795: 291–294
- Ficarra P., Ficarra R., Calabro M.L., Cutroneo P., Tommasini S., Melardi S., Semreen M., Furlanetto S., Altavilla G. 2002. Validation of a LC method for the analysis of oxaliplatin in a pharmaceutical formulation using an experimental design *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 29: 1097–1103
- Fifield, F.W., Kealey, D., 2000. *Principle and Practice of Analytical Chemistry* 3rd Edition. UK: Blackwell science.
- Fifield, F.W., Haines, P.J., 2000. *Environmental Analytical Chemistry*. 2nd Ed, UK: Blackwell Science.
- Gibson D., Zhang J. Z., Wexselblatt E, Hambley, T.W., 2012. Pt(IV) analogs of oxaliplatin that do not follow the expected correlation between electrochemical reduction potential and rate of reduction by ascorbate, *Chemical communication*, 48(6): 847-9
- Gosser, D. K., 1994. *Cyclic Voltammetry*, VCH Publishers, Inc.
- Gökçe, 2004. Trifenilformazan ve bazı türevlerinin elektrokimyasal davranışlarına kompleks oluşumunun etkisinin incelenmesi (doktora tezi, basılmamış). AÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Hann S., Koellensperger G., 2010. Ultra-fast HPLC-ICP-MS analysis of oxaliplatin in patient urine *Anal Bioanal Chem* 397: 401–406
- Hann S., Stefanka Z., Lenz K., Stingeder G., 2005. Novel separation method for highly sensitive speciation of cancerostatic platinum compounds by HPLC-ICP-MS *Anal Bioanal Chem* 381: 405–412
- Harvey, D., 2000. *Modern Analytical Chemistry*. 508-527
- Heyrovsky, M., 2011. Polarography-past, present, and future. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 15: 1799-1803
- Hirschfeld S., İbrahim A., Cohen M.H., Griebel D.J., Williams G.A., Pazdur R. fda ilaç onayı özetleri: oksaliplatin. *Onkolog*, 9: 8–12

- Houch, M.E., Dudoit, A., Amiard, J-C., 2003. Optimization of new voltammetric method for the determination of Metallothionein. *Electrochim. Acta*, 48: 4083-4088.
- Jerremalm E., Videhult P., Alvelius G., William J. G., Bergman T., Eksborg S., Ehrsson H., 2002. Alkaline Hydrolysis of Oxaliplatin Isolation and Identification of the Oxalato Monodentate Intermediate, *J.Pharm* 91 (10):2116-21.
- Jerremalm E., Eksborg S., Ehrsson H., 2003. Hydrolysis of Oxaliplatin—Evaluation of the Acid Dissociation Constant for the Oxalato Monodentate Complex, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 92:436–438.
- Liu J, Materon E.M., Jimy Huan P.J., Wong A., Pupim Ferraira A.A., Sotomayor Medel P. 2014 Glutathione-s-transferase modified electrodes for detecting anticancer drugs *Biosens Bioelectron*, 58: 232–6
- Kauffmann J.M., Yardım Y., Vandeput M., Çelebi M., Şentürk Z., 2016. A Reduced Graphene Oxide-based Electrochemical DNA Biosensor for the Detection of Interaction between Cisplatin and DNA based on Guanine and Adenine Oxidation Signals, *Electroanalysis*, 10.1002/elan.201600804
- Kapalka, A., Lanova, B., Baltruschat, H., Foti, G., Comminellis, C., 2008. Electrochemically induced mineralization of organics by molecular oxygen on boron-doped diamond electrode *Electrochemistry Communications*, 10:1215-1218.
- Kayaalp, O., 2012. Kanser Kemoterapisinin Esasları ve Antineoplastik ilaçlar. 36. Konu. *Akılcı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji* 1.Cilt, 13. baskı. Pelikan Tıp ve Teknik Kitapçılık Tic. Ltd. Şti. Ankara.
- Kısacık, İ., 2010. Benzenin Bor Katkılı Elmas (BDD) Elektrot Üzerinde Elektrooksidasyonu Yüksek Lisans Tezi Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Adana 9-12
- Kim P.K., Kim H.J., Kim Y.W., Bandu R., Ahn H.S., Lee J.W., 2015 Distribution study of cisplatin in rat kidney and liver cancer tissues by using liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry *Journal of mass spectrometry*, 0.1002/jms.3594.
- Kensova, R., Kremplova, M., Smerkova, K., Zitka, O., Hynek, D., Adam, V., Beklova, M., Trnkova, L., Stiborova, M., Eckschlager, T., Hubalek, J., Kizek, R., 2013. Interactions of platinum-based cytostatics with metallothionein revealed by

- electrochemistry *International Journal of Electrochemical Science*, 8 (4): 4472-4484.
- Kominkova M, Heger Z, Zitka O, Kynicky J, Pohanka M, Beklova M, Adam V, Kizek R., 2014. Flow injection analysis with electrochemical detection for rapid identification of platinum-based cytostatics and platinum chlorides in water *Int J Environ Res Public Health*. 11(2):1715-24.
- Laviron, E., 1979. General expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 101: 19-28.
- Laviron, E., Roullier, L., Degrand, C., 1980. A multilayer model for the study of space distributed redox modified electrodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 112: 11-23.
- Lemoine L., Thissen E., Noben J.P., Adriaenses P., Carleer R., Van der speeten K., 2018. A validated inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) method for the quantification of total platinum content in plasma, plasma ultra filtrate, urine and peritoneal fluid *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 152: 39-46
- Levent A., 2012. Electrochemical determination of melatonin hormone using a boron-doped diamond electrode. *Diamond & Related Materials*, 21: 114–119
- Levent A., Yardım Y, Şentürk Z., 2014 Electrochemical performance of boron-doped diamond electrode in surfactant-containing media for amroxol determination, *Sensors and Actuators B*, 203: 517–526.
- Levent A., 2017. Bor Katkılı Elmas Elektrot ile Naftalin'in Voltammetrik Davranışı: Kare Dalga Anodik Sıyırma Voltammetrisi ile Miktar Tayini, *Süleyman Demirel University Journal of Natural and Applied Sciences*, 21: 948-955.
- Levent, A., 2017. Voltammetric behavior of acebutolol on pencil graphite electrode: highly sensitive determination in real samples by square wave anodic stripping voltammetry. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 14: 2495-2502
- Moosa, A., Dobish, R., Watts, C., 2003. Interacting with drugs used in oncology: An Alberta Cancer Board initiative. *Journal of Oncology Pharmacy Practice*, 9: 87-107
- Ken I., Hajime I., Hiroaki Y., Asuka F., Nobuaki T., Ayako F., Kazuaki M., Natsuko T., Jiro O., Masaki K., Takehiro Y., Nariyasu M., 2012. A full validated hydrophilic interaction liquid chromatography–tandem mass spectrometric

- method for the quantification of oxaliplatin in human plasma ultrafiltrates *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 71: 99–103
- Oliveira, R.T.S., Salazar-Banda, G.R., Santos, M.C., Calegari, M. L., Miwa, D.W., Machado, S.A.S., Avaca, L.A., 2007. Electrochemical oxidation of benzene on boron-doped diamond electrodes, *Chemosphere*, 66: 2152-2158
- Orecchio S., Amorello D., Carollo C., 2012. Voltammetric determination of platinum in perfusate and blood: Preliminary data on pharmacokinetic study of arterial infusion with oxaliplatin *Microchemical Journal* 100: 72–76
- Orvig, C.; Abrams, M.J. *Medicinal inorganic chemistry* introduction. Chem. Rev., 10.1021/980419 . 2201-2203.
- Osipov A. S., Nechaeva E. B., Pobedin O. A., 2013. Application of a chromatographic column with a diol sorbent for the analysis of platinum coordination compounds *Pharmaceutical Chemistry Journal* ,47(6): 337-339
- Özkan S.A., Kauffmann J.M., Zuman P., 2015. Electroanalysis in Biomedical and Pharmaceutical Sciences Voltammetry, Amperometry, Biosensors, Applications, 10.1007/978-3-662-47138-8.
- Qstergaard J., Franzen U., Nguyen T., Vermehren C., Gammelgaard B., 2011. Characterization of a liposome-based formulation of oxaliplatin using capillary electrophoresis: Encapsulation and leakage *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 55: 16–22
- Ravera, M., Mascini M., C.Dabrowiak J., Osella D. 2007. The activation of platinum(II) antiproliferative drugs in carbonate medium evaluated by means of a DNA-biosensor journal of inorganic biochemistry, 1023-1027.
- Reinke, R., Simon, J., 2002. The online removal of dissolved oxygen from aqueous solutions used in voltammetric technique by chromatomembrane method. *Anal. Bioanal. Chem.*, 374: 1256-1260.
- Ravera M., Bagni G., Macini M., Dabrowiak J.C., Osella. D. 2007. The activation of platinum(II) antiproliferative drugs in carbonate medium evaluated by means of a DNA-biosensor *journal of inorganic biochemistry*, 101(7) 1023-7.
- Scancar J., Martincic A., Cemazar M., Sersa G., Kovač V., Milacic R., 2013. A novel method for speciation of Pt in human serum incubated with cisplatin, oxaliplatin and carboplatin by conjoint liquid chromatography on monolithic disks with UV and ICP-MS detection. *Talanta* 116: 141–148.
- Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A., 1998. *Principles of Instrumental Analysis*.

- Fifth Edition. Harcourt Brace & Company. Florida, USA. Pp. 639-670.
- Simon N., Girard H., Ballutaud D., Herlem M., Etcheberry A. 2007 Effect of anodic and cathodic treatments on the charge transfer of boron doped diamond electrodes *Dimond & Reladet Materials*, 16: 316–325.
- Somayeh H., Zahra R., Eskandar M., Mohsen R. Farid A.D., 2019. A novel method for the simultaneous determination of 5-fluorouracil and oxaliplatin in new biodegradable PHBV/PLGA nanoparticles *Journal of the Iranian Chemical Society*, 16: 609–615.
- Sonali G.T., Rupesh V.C., Madhukar R.T., 2017. A rapid and simple HPTLC assay for therapeutic drug monitoring of capecitabine in colorectal cancer patients *Biomedical Chromatography* ,10.1002/bmc.4100
- Suryanarayanan, Noel, M., 2010. comparative evaluation on the voltammetric behavior of boron-doped diamond and glassy carbon electrodes in different electrolyte media, *Journal of Electroanalytical Chemistry* 642(1): 69-74
- Şentürk Z., Yardım Y., 2014. Electrochemical Behavior of Folic Acid at A Boron-Doped Diamond Electrode: Its Adsorptive Stripping Voltammetric Determination in Tablets *Turk J Pharrn*, 11(1): 87-100
- Thurston, D.E. 2006. *Chemistry and Pharmacology of Anticancer Drugs*, CRC Press. Taylor and Francis Group, Boca Raton, 10.1038/6604075
- Wang, J., 2000. *Analytical Electrochemistry*. 2nd Ed. Wiley-VCH, New York. S.1-209.
- Wang, J., Kawde, A.N., 2001. Pencil-based renewable biosensor for label-free electrochemical detection of DNA hybridization. *Anal. Chim. Acta*, 431: 219-224.
- Weinberg, R.A., 1996. How cancer arises. *Scientific American*, 275(3): 62-70.
- Yaacob, M.H.B., 2006. *Stripping voltammetric methods for the determination of aflatoxin compounds* (doktora tezi, basılmamış). Faculty of Science University Technology, Malaysia.
- Yapasan E, Caliskan, A., Karadeniz, H., Erdem A. 2010 Electrochemical investigation of biomolecular interactions between platinum derivatives and DNA by carbon nanotubes modified sensors *Materials Science and Engineering* 169: 169–173
- Zhao D., Qin Z., Ren G., Liu Q., Lu X., Zhang Q., Fan A., Lu Y., Li N., 2018 Hydrophilic interaction liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the determination of intact oxaliplatinin cells: validated and

applied in colon cancer HCT-116 cell line, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 155: 7-14

Zhao G.H., Li M.F., Li M.L., 2007. Differential pulse voltammetric determination of dopamine with the coexistence of ascorbic acid on boron-doped diamond surface *Central European journal of chemistry*, 10.2478/s11532-007-0049-1.



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Mehmet ASLAN
Uyruğu : T.C
Doğum Yeri ve Tarihi : Kulp/1978
Telefon : 05306078750
e-mail : mhtaslan2010@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise :	Kulp lisesi/Diyarbakır	1996
Üniversite :	Dicle Üniversitesi	2003

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2006-2010	İç İşleri Bakanlığı(İzmir)	VHKİ
2010-....	Milli Eğitim Bakanlığı(Batman)	Öğretmen