

**T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BAZI İLAÇLARIN SAPTANMASI İÇİN YENİ BİR ELEKTROKİMYASAL  
SENSÖR**

**Serpil KARABULUT**

**KİMYA ANABİLİM DALI**

**ŞANLIURFA  
2008**

Doç. Dr. Mehmet ASLANOĞLU'nun danışmanlığında, Serpil KARABULUT'un hazırladığı 'Bazı İlaçların Saptanması İçin Yeni Bir Elektrokimyasal Sensör' konulu bu çalışma 01.02.2008 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Mehmet ASLANOĞLU

Üye : Yrd. Doç. Dr. Murat DİKİLİTAŞ

Üye : Yrd. Doç. Dr. Abdullah KAHRAMAN

**Bu Tezin Kimya Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım**

**Prof. Dr. İbrahim BOLAT**  
Enstitü Müdürü

**Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.**  
**Proje No: 106T404**

**Not:** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin ve şekillerin kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZ .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	vi
SİMGELER DİZİNİ .....	vii
1. KURAMSAL TEMELLER.....	1
1.1. Dönüşümlü Voltammetri.....	1
1.2. Elektropolimerizasyon.....	2
1.3. İletken Polimerler.....	2
1.3.1. Ticari iletken polimerler .....	2
1.3.2. İyonik iletken polimerler.....	2
1.3.3. Redoks polimerleri .....	3
1.3.4. Kojuge polimerler.....	3
1.4. Elektrokimyasal Biyosensörler .....	3
2. MATERYAL ve YÖNTEM.....	5
2.1. Materyal .....	5
2.2. Yöntem.....	5
2.2.1. Elektropolimerizasyon.....	5
3. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	8
3.1. Methyldopa Araştırma Sonuçları .....	8
3.1.1. Methyldopa' nın voltammetrik davranışı.....	8
3.1.2. Methyldopa' nın pik potansiyeline pH etkisi .....	10
3.1.3. Methyldopa' nın tayini için kalibrasyon eşitliği.....	11
3.1.4. Askorbik asit ve ürik asit varlığında methyldopa' nın saptanması .....	12
3.1.5. Methyldopa için analitiksel uygulamalar .....	15
3.2. Epinephrine Araştırma Sonuçları.....	16
3.2.1. Epinephrine' nin voltammetrik davranışı.....	16
3.2.2. Epinephrine' nin tayini için kalibrasyon eşitliği.....	19
3.2.3. Askorbik asit ve ürik asit varlığında epinephrine tayini.....	20
3.2.4. Epinephrine için analitiksel uygulamalar .....	24
4. SONUÇLAR ve ÖNERİLER .....	25
4.1. Sonuçlar.....	25
4.2. Öneriler .....	25
KAYNAKLAR .....	26
ÖZGEÇMİŞ .....	28
ÖZET .....	29
SUMMARY .....	30

## ÖZ

**Yüksek Lisans Tezi**

**BAZI İLAÇLARIN SAPTANMASI İÇİN YENİ BİR ELEKTROKİMYASAL SENSÖR**

**Serpil KARABULUT**

**Harran Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalı**

**Danışman: Doç. Dr. Mehmet ASLANOĞLU  
Yıl:2008, Sayfa: 41**

Bu çalışmada, poly(1-methylpyrrole) ile modifiye edilmiş camı karbon elektrot kullanılarak ilaç örneklerinde methyldopa ve epinephrine'nin hızlı, güvenilir ve duyarlı bir şekilde saptanması için elektroanalitik yöntemler geliştirilmiştir. Poly(1-methylpyrrole) modifiye camı karbon elektrot, 1-methylpyrrole'un pH' sı 7.4 olan 0.2 M KCl çözeltisinde elektropolimerizasyonu ile dönüşümlü voltammetri kullanılarak hazırlandı. pH' sı 4.0 olan 0.1 M fosfat tampon çözeltisinde (PBS), poly(1-methylpyrrole) ile modifiye edilen camı karbon elektrot, hem methyldopa ve hem de epinephrine'nin yükseltgenmesine mükemmel bir elektrokatalitik aktivite göstermiştir. Ayrıca, modifiye elektrot methyldopa ve epinephrine'nin yükseltgenme potansiyellerinde katodik yönde önemli bir kayma ve anodik akım cevaplarında büyük bir artış gösterdi. Elde edilen sonuçlar, poly(1-methylpyrrole) ile modifiye edilmiş elektrotun aynı zamanda askorbik asit ve ürik asit varlığında bile methyldopa veya epinephrine'nin saptanmasına uygulanabileceğini göstermiştir. Modifiye elektrot sistemi başarılı bir şekilde ilaç örneklerine uygulanmıştır.

**ANAHTAR KELİMELER:** Modifiye elektrotlar, sensör, voltammetri, methyldopa, epinephrine

## **ABSTRACT**

**MSc Thesis**

### **A NOVEL ELECTROCHEMICAL SENSOR FOR THE DETERMINATION OF SOME DRUGS**

**Serpil KARABULUT**

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

**Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Mehmet ASLANOGLU  
Year:2008, Page: 41**

In this study, electroanalytical methods were developed for rapid, reliable and sensitive determination of methyldopa and epinephrine in pharmaceuticals using a poly(1-methylpyrrole) modified glassy carbon electrode (GCE). The poly(1-methylpyrrole) modified glassy carbon electrode was prepared by the electropolymerization of 1-methylpyrrole in 0.2 M KCl at pH 7.4 using cyclic voltammetry. The poly(1-methylpyrrole) modified glassy carbon electrode exhibited an excellent electrocatalytic activity towards the oxidation of both methyldopa and epinephrine. The modified electrode showed a remarkable shift of the oxidation potentials of both methyldopa and epinephrine in the cathodic direction and a drastic enhancement of the anodic current response in 0.1 M phosphate buffer solution (PBS) at pH 4.0. The results obtained indicated that the poly(1-methylpyrrole) modified electrode could also be applied for the determination of methyldopa or epinephrine in the presence of ascorbic acid and uric acid. The modified electrode system has successfully been applied to the pharmaceutical formulations.

**KEY WORDS:** Modified electrodes, sensor, voltammetry, methyldopa, epinephrine

## TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında, hem teorik ve hem de deneysel olarak büyük yardımlarını gördüğüm danışmanım Doç. Dr. Mehmet ASLANOĞLU'na çok teşekkür ederim.

Ayrıca, laboratuardaki grup arkadaşlarım Sultan ve Ayşegül'e, hem deneylerdeki yardımlarından hem de sıcak arkadaşlık ortamından dolayı teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışmanın yapılmasında maddi desteği ve bana burs imkânını sağlayan TÜBİTAK' a özellikle teşekkür ederim.

Son olarak, desteğini daima gösteren sevgili eşime ve aileme teşekkür ederim.

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Poly(1- methylpyrrole)' un 0.1 M PBS pH 4.0 tampon çözeltisindeki farklı tarama hızlarındaki dönüşümlü voltammogramları.....	6
Şekil 2.2.	Poly(1- methylpyrrole)' ün SEM görüntüleri görüntüleri.....	7
Şekil 3.1.	$5.0 \times 10^{-5}$ M methyl dopa'nın (a) Yalın elektrot (b) Poly(1-methylpyrrole)/GCE yüzeylerindeki dönüşümlü voltammogramları destek elektrolit: 0.1 M PBS, pH 4.0, Tarama hızı 50 mV/s, denge süresi 5 s.....	8
Şekil 3.2.	$1.35 \times 10^{-4}$ M methyl dopa'nın poly(1-methylpyrrole)/GCE yüzeyinde farklı tarama hızlarındaki dönüşümlü voltammogramları destek elektrolit: 0.1 M PBS ve pH 4.0 tarama hızları: 50mV/s ile 200mV/s arasında denge süresi 5 s.....	9
Şekil 3.3.	Şekil 3.3. Methyl dopa için önerilen elektrokimyasal reaksiyon.....	10
Şekil 3.4.	pH 4.0 olan 0.1M PBS' de poly(1-methylpyrrole) GCE' de artan methyl dopa konsantrasyonları. Methyl dopa konsantrasyonları a) $3.0 \cdot 10^{-5}$ M b) $5 \cdot 10^{-5}$ M c) $7 \cdot 10^{-5}$ M d) $8 \cdot 10^{-5}$ M e) $1 \cdot 10^{-4}$ M f) $1.25 \cdot 10^{-4}$ M.....	11
Şekil 3.5.	pH 4.0 olan 0.1 M PBS' de $1.5 \cdot 10^{-4}$ M methyl dopa ve $2.25 \cdot 10^{-4}$ M askorbik asit karışımının a) yalın GCE b) poly(1- methylpyrrole)/GCE' de dönüşümlü voltammetrisi	12
Şekil 3.6.	pH 4.0 olan 0.1 M PBS' de poly(1-methylpyrrole)/GCE' de $2.25 \times 10^{-4}$ M askorbik asit varlığında artan methyl dopa konsantrasyonlarının dönüşümlü voltammetrisi, methyl dopa konsantrasyonları a) $1.0 \times 10^{-4}$ M b) $1.1 \times 10^{-4}$ M c) $1.2 \times 10^{-4}$ M d) $1.3 \times 10^{-4}$ M e) $1.4 \times 10^{-4}$ M denge süresi: 5 s. tarama hızı: 50 mV/s.....	13
Şekil 3.7.	pH 4.0 olan 0,1 M PBS' de poly (1-methylpyrrole)/GCE' de ascorbic asit ve methyl dopa' nın artan konsantrasyonlarının dönüşümlü voltammetrisi, askorbik asit konsantrasyonları; a) $1,0 \times 10^{-4}$ M b) $1.5 \times 10^{-4}$ M c) $2.0 \times 10^{-4}$ M d) $2.5 \times 10^{-4}$ M, methyl dopa'nın konsantrasyonları; a) $4.0 \times 10^{-5}$ M b) $5.0 \times 10^{-5}$ M c) $6.5 \times 10^{-5}$ M d) $8.0 \times 10^{-5}$ M denge süresi: 5 s. tarama hızı: 50 mV/s.....	14
Şekil 3.8.	pH 4.0 olan 0.1 M PBS' de poly(1-methylpyrrole)/GCE' de ürik asit, methyl dopa ve askorbik asit artan konsantrasyonlarının dönüşümlü voltammetrisi, askorbik asit konsantrasyonları; a) $1.50 \times 10^{-4}$ M b) $2.0 \times 10^{-4}$ M c) $2.5 \times 10^{-4}$ M d) $3.0 \times 10^{-4}$ M, methyl dopa konsantrasyonları; a) $5.0 \times 10^{-5}$ M b) $7.0 \times 10^{-5}$ M c) $9 \times 10^{-5}$ M d) $1.1 \times 10^{-4}$ M, Ürik asit konsantrasyonları; a) $1.50 \times 10^{-4}$ M b) $2.0 \times 10^{-4}$ M c) $2.25 \times 10^{-4}$ M d) $2.5 \times 10^{-4}$ M, denge süresi: 5 s. tarama hızı: 50 mV/s.....	15
Şekil 3.9.	pH 4.0 olan 0.1 M PBS' de $2 \times 10^{-5}$ M epinephrine a) yalın elektrotta b) poly(1-methylpyrrole)/GCE' de dönüşümlü voltammetrisi denge süresi: 5 s. tarama hızı: 50 mV/s.....	17
Şekil 3.10.	pH 4.0 olan 0.1 M PBS' de $9 \times 10^{-5}$ M epinephrine 25 mV/s' den 150 mV/s' ye kadar artan tarama hızlarının dönüşümlü voltammetrisi, denge süresi: 5s.....	18
Şekil 3.11.	pH 4.0 olan 0.1 M PBS' de poly(1- methylpyrrole)/GCE' de epinephrine reaksiyonları.	19
Şekil 3.12.	pH 4.0 olan 0.1 M PBS' de poly(1-methylpyrrole)' de epinephrine' in artan konsantrasyonlarının dönüşümlü voltammetrisi epinephrine konsantrasyonları; a) $1.0 \times 10^{-5}$ M b) $2.5 \times 10^{-5}$ M c) $4.0 \times 10^{-5}$ M d) $5.0 \times 10^{-5}$ M e) $6.0 \times 10^{-5}$ M f) $7.0 \times 10^{-5}$ M g) $8.0 \times 10^{-5}$ M, denge süresi: 5 s. tarama hızı: 50 mV/s.....	20
Şekil 3.13.	pH 4.0 olan 0.1 M PBS' de $4.0 \times 10^{-5}$ M epinephrine ve $1.5 \times 10^{-5}$ M ascorbic asit karışımının dönüşümlü voltammetrisi a) yalın elektrot b) poly(1-methylpyrrole)/GCE denge süresi: 5 s. tarama hızı: 50 mV/s.....	21
Şekil 3.14.	pH 4.0 olan 0.1 M PBS' de poly(1-methylpyrrole)/GCE' de $1.5 \times 10^{-4}$ M ascorbic asit varlığında artan epinephrine konsantrasyonlarının dönüşümlü voltammetrisi, epinephrine konsantrasyonları; a) $4.0 \times 10^{-5}$ M b) $6.0 \times 10^{-5}$ M c) $8.0 \times 10^{-5}$ M d) $1.0 \times 10^{-4}$ M denge süresi: 5 s. tarama hızı: 50 mV/s.....	22
Şekil 3.15.	pH 4.0 olan 0.1M PBS' de poly(1-methylpyrrole)/GCE' de epinephrine ve ascorbic asidin artan konsantrasyonlarının dönüşümlü voltammetrisi ascorbic asit konsantrasyonları; a) $3.0 \times 10^{-4}$ M b) $4.5 \times 10^{-4}$ M c) $5.5 \times 10^{-4}$ M d) $6.5 \times 10^{-4}$ M e) $7.5 \times 10^{-4}$ M epinephrine konsantrasyonları; a) $7.50 \times 10^{-5}$ M b) $1.25 \times 10^{-4}$ M c) $1.50 \times 10^{-4}$ M d) $1.750 \times 10^{-4}$ M e) $2.0 \times 10^{-4}$ M denge süresi 5s. tarama hızı: 50 mV/s.....	23

Şekil 3.16. pH 4.0 olan 0.1 M PBS' de poly(1-methylpyrrol)/ GCE' de ürik asit, epinephrine ve askorbik asidin artan konsantrasyonlarının dönüşümlü voltammetrisi, askorbik asit konsantrasyonları; a)  $5.0 \times 10^{-5}$  M b)  $7.5 \times 10^{-5}$  M c)  $1.0 \times 10^{-4}$  M epinephrine konsantrasyonları; a)  $3.5 \times 10^{-5}$  M b)  $5.0 \times 10^{-5}$  M c)  $7.5 \times 10^{-5}$  M Ürik asit konsantrasyonları; a)  $1.25 \times 10^{-5}$  M b)  $2.5 \times 10^{-4}$  M c)  $5.0 \times 10^{-4}$  M denge süresi: 5s. tarama hızı: 50mV/s..... 24



## ÇİZELGELER DİZİNİ

**Sayfa No**

Çizelge 3.1. Methyldopa tabletlerinin analizi..... 17

## SİMGELER DİZİNİ

PBS	Fosfat tampon çözeltisi
M	Molar
Mv	Mili volt
mV/s	Mili volt/saniye
S	Saniye
GCE	Camsı karbon elektrot
V	Volt
Poly	Polimer
I <sub>pa</sub>	Anodik pik akımı
E	Potansiyel
USP	Tescillenmiş Amerikan Farmakolojik Yöntemi

**1. KURAMSAL TEMELLER**

Methyldopa ve epinephrine, sinir hareketlerini organlara taşıyan kimyasal maddeler olduklarından dolayı kalp hastalıklarında ve kalp ameliyatlarında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Hoffman ve ark., 1996; Yao ve ark., 2007). Ayrıca, methyldopa'nın hipertansiyon hastalarında da kullanıldığı bilinmektedir. Epinephrine ise, daha çok kalp atışlarının uyarılması, bronşit, astım, göz hastalıkları ve diğer alerjik durumlarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Ren ve ark., 2006). Bu nedenle, bu ilaçların doğru ve hassas bir şekilde saptanması hem bilimsel ve hem de tıbbi olarak oldukça önemlidir. Davidson (1984) 292 nm'de germanyum dioksit varlığında, diferansiyel ultraviyole spektroskopisi metyhdopa'nın saptanmasını gerçekleştirmiştir. Methyldopa'nın saptanması için florometrik ve kromatografik yöntemler de kullanılmıştır (Rona ve ark., 1987; Oliveria ve ark., 2002). Methyldopanın saptanması ayrıca, görünür bölgede potasyum bromat (Mohamed ve ark., 1984), vanilin (Salem, 1985), demir klorür (Zivanovic ve ark., 1993), semikarbazid hidroklorür (Nagaraja ve ark., 2001), barbitürük asit (Aman ve ark., 1998), metaperiyodat (Nagaraja ve ark., 1998), polifenol oksidaz enzimi (Vieira ve ark., 1998) ve neotetrazolyum klorür (Issopoulos ve ark., 1993) ile reaksiyonu ile gerçekleştirilmiştir. Riberio ve ark. (2005) akış enjeksiyonlu spektrofotometrik yöntemle methyldopa'nın molibdat ile kompleksleşmesi sonucu 410 nm'de sarı renkli bir ürün elde ederek tayin etmişlerdir. Epinephrine'nin saptanması için ise, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (Vaarmann ve ark., 2002; Zhang ve ark., 2003; Li ve ark., 1993), florometry (Fatma, 1993; Zhu ve ark., 2003; Yang ve ark., 1993), kemülinesans (Zheng ve ark., 2001; Yao ve ark., 2006), kapiler elektroforez (Philip ve ark., 1998) ve spektrofotometrik (Nagaraja ve ark., 2001) yöntemler kullanılmıştır. Ancak bu yöntemler, hem karmaşık ve hem uzun bekleme sürelerinden dolayı ve hem de elde edilen renkli ürünlerin kararsız olmasından dolayı çeşitli dezavantajları vardır. Ayrıca kullanılan bu yöntemlerin duyarlılığı ve

speksifikliği oldukça dūşüktür. Elektrokimyasal yöntemler, düşük maliyetli ve duyarlılığının yüksek olmasından dolayı ilaçların saptanması için daha uygun yöntemlerdir. Ancak, methyldopa ve epinephrine ilaçlarını normal bir elektrot ile elektrokimyasal yöntemlerle saptamak da kolay değildir. Çünkü methyldopa ve epinephrine ilaçlarının tersinmez voltammetrik davranışları ve yüksek aşırı potansiyele sahip olmalarından dolayı normal bir elektrot ile de saptanması mümkün değildir (Yao ve ark., 2007). Diđer bir etki ise, askorbik asit ve ürik asit varlığında methyldopa ve epinephrine'nin saptanması zorlaşır. Çünkü askorbik asit ve ürik asit, methyldopa veya epinephrine ilaçlarına benzer elektrokimyasal davranışlar sergilemesinden dolayı pik potansiyelleri çakışarak tek bir madde varmış gibi voltammetrik pik verir. Ancak, methyldopa ve epinephrine gibi ilaçları elektrokimyasal olarak tayin edebilmek için bu ilaçlara spesifik cevap veren bir sensör elde etmek gerekir. Aslanođlu ve ark. (2007) poly(3-acetylthipohene) ile modifiye edilmiş bir elektrot sistemi geliştirerek hem ilaç ve hem de kan örneklerinde dopamine'nin saptanmasına imkân vermişlerdir. Bu çalışmada, poly(1-methylpyrrole) ile modifiye edilmiş bir camı karbon elektrot sistemi geliştirilmiş ve dönüşümlü voltammetrik yöntemler kullanılarak methyldopa ve epinephrine ilaçlarının hızlı, güvenilir ve tekrarlanabilir bir şekilde saptanmasına uygulanmıştır. Ayrıca, elde edilen elektrot sistemi, askorbik asit ve ürik asit varlığında bile methyldopa veya epinephrine ilaçlarının saptanmasına imkân vermiştir.

### 1.1. Dönüşümlü Voltammetri

Voltammetri, bir indikatör veya çalışma elektrodunun polarize olduğu şartlar altında, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak akım ölçülmesinden faydalanarak, analit hakkında bilgi edinilen bir grup elektroanalitik yöntemlere verilen isimdir. Dönüşümlü voltammetri (CV), önemli ve yaygın bir şekilde kullanılan bir elektroanalitik yöntemdir. Kantitatif amaçla kullanımı seyrek olmakla beraber, yükseltgenme/indirgenme reaksiyonlarının incelenmesinde, reaksiyon ara ürünlerin gözlenmesinde ve elektrotlarda oluşan türlerin oluşum sonrası reaksiyonlarını yakalamada çok yaygın olarak uygulanabilmektedir. Dönüşümlü voltammetride uygulanan potansiyel, önce bir yönde, sonra ters yönde taranırken akım ölçülür. Dönüşümlü voltammetrik deneylerde, çözeltide çalışma elektroduna

bir gerilim uygulanır ve çalışma elektrotu yüzeyinde oluşan akım uygulanan potansiyele karşı grafiğe geçirilir.

### **1.2. Elektropolimerizasyon**

Elektropolimerizasyon bir çözültide bulunan monomerin elektrot yüzeyini kaplayarak film tabakası oluşturmasıdır. Bu şekilde elde edilen polimer film tabakası çeşitli ilaçların analizinde kullanılabilmesi için elde edilen hem filmin iletken olması ve hem de söz konusu ilaca duyarlı olması lazımdır. İletken olmayanlar bu çalışmamızda yer almamaktadır.

Elektropolimerizasyon çözücü, monomer konsantrasyonu, elektrolit çeşidi, sıcaklık, elektrot malzemesi ve uygulanan elektriksel şartlar gibi birçok deneysel değişken içerir.

### **1.3. İletken Polimerler**

İletken polimerler, indirgenme/yükseltgenme özelliğine sahip olan çok büyük halkalı bir şekilde kojuge olan elektroaktif polimerler olarak adlandırılır. Genel olarak dört çeşit iletken polimer türü bilinmektedir.

#### **1.3.1. Ticari iletken polimerler**

En çok kullanılan ticari iletken polimerler, iletken olmayan bir polimer matriksine iletkenliğini yüksek olan toz halinde karbon veya bir metalin ilave edilmesi ile elde edilen bir kompozitlerdir. Bu tür kompozitlerin uygulamaları değişken olup, genellikle antiseptiklere uygulanırlar.

#### **1.3.2. İyonik iletken polimerler**

Burada iletkenlik iyonlarının hareket etmesinin sonucudur. Hareketli lityum iyonları içeren polietilen oksit bu çeşit polimere örnek olabilir. Bu tür polimerler daha çok pil endüstrisinde kullanılmaktadır.

### 1.3.3. Redoks polimerleri

Redoks polimerleri hareketsiz elektroaktif merkezler içerir. Bu merkezlerin birbiriyle temas etmesi gerekmez. Fakat birinin merkezinden diğerinin merkezine yük transferi ile iletkenlik sağlanabilir. Bu mekanizmada elektronlar bir redoks merkezinden diğerine bir yalıtkan bariyer ile tünelleme yaparlar. Bu tünellemelerin olasılıklarını arttırmak için redoks merkezlerinin sayısının çok olması gerekir.

### 1.3.4. Kojuge polimerler

Bu polimerler, uzun bir  $\pi$ -ağı oluşturmak için değişerek oluşan tek veya çift bağlar içerirler. Bu  $\pi$ -ağı içindeki elektronları hareketi iletkenliğini kaynağını oluşturur.

## 1.4. Elektrokimyasal Biyosensörler

Bir ortamda bulunan birkaç madde içindeki spesifik bir maddeyi algılayabilen bir sistemdir. Bu sistem aynı zamanda elektrotlar kullanarak da kurulabilir. Elektrot yüzeyleri daha sonra çeşitli voltammetrik yöntemlerle incelenebilir. Genel olarak elektrotların yüzeyleri kimyasal olarak modifiye edilebilir. Bir elektrot iletken ya da yarı iletken olabilir. Bu elektrotun yüzeyi seçilmiş bir madde ile kaplanabilir. Seçilen bu madde tek bir molekülden olduğu gibi çoklu molekül ya da iyonik, polimerik bir türde olabilir. Bu şekilde yüzeyi kimyasal olarak kaplanan elektrotlara kimyasal modifiye elektrot denir. Bu yüzeyler; yük transferi reaksiyonları veya potansiyel farklarından kaynaklanabilir. Tüm bu süreçler kimyasal filmin kimyasal, elektrokimyasal veya optik özelliği gösterebilir. Genel olarak ince tabakalar elektrot yüzeyinde oluşturulur. Bu ince tabaka tek tabaka olacağı gibi birkaç mm şeklinde çoklu tabaka şeklinde de olabilir. Kimyasal olarak modifiye edilen elektrotlar voltammetrik veya potansiyometrik olarak yük transferinde kullanılabilir.

Biyosensörleri esas alan analiz sistemlerinin avantaj ve dezavantajlarını belirleyen temel özellikler; biyosensörlerdeki biyoaktif bileşen spesifik ve kararlı olmalıdır. Biyoaktif bileşenin spesifik olması girişim yapabilecek türleri içeren karmaşık içerikli ölçüm ortamlarında detaylı ön işlem yapılmaksızın analize imkân

verir. Biyoaktif bileşenin kararlı olması ise çok sayıda analize imkân vereceği için biyosensörün ekonomik olmasına zemin hazırlar.

Biyosensör cevaplarının doğru, duyarlı ve tekrarlanabilir olması büyük önem taşır. Cevapların doğruluğu beklenen esas parametredir. Duyarlık, biyolojik sistemlerden gelen unsurlar kullanıldığı için genelde çoğu klasik yöntemden daha iyidir. Tekrarlanabilir sonuçlar alınması ise bir ölçüde daha önce sözü edilen parametrelerle de ilişkilidir. Cevap zamanının kısa olması ise genelde biyosensörlerin tercihli olarak kullanımlarına yol açan en önemli faktörlerden biridir. Ölçüm ünitesinin ucuz ve taşınabilir olması değişik alanlarda yaygın kullanımına imkân verir.

Biyosensörler düşük maliyette seri olarak büyük miktarlarda üretilebilirler. Özellikle tek kullanımlık şekilde standardize edilebilen biyosensör türleri, kullanım kolaylığını arttırabildiği gibi kullanacak kişilerin de detaylı bir tecrübeye sahip olmasını gerektirmez. Bu nedenle yaygın kullanım olanakları ortaya çıkar. Doğal olarak tüm biyosensörlerin bu özelliklerin tümünü üzerinde taşıması söz konusu değildir. Ancak doğru, duyarlı ve tekrarlanabilir cevaplar kesinlikle beklenen özelliklerdir. Bunların dışındaki parametrelerde değişiklikler biyosensörlerin diğer yöntemlere avantaj ve dezavantajları olarak karşımıza çıkmaktadır.

**2. MATERYAL ve YÖNTEM****2.1. Materyal**

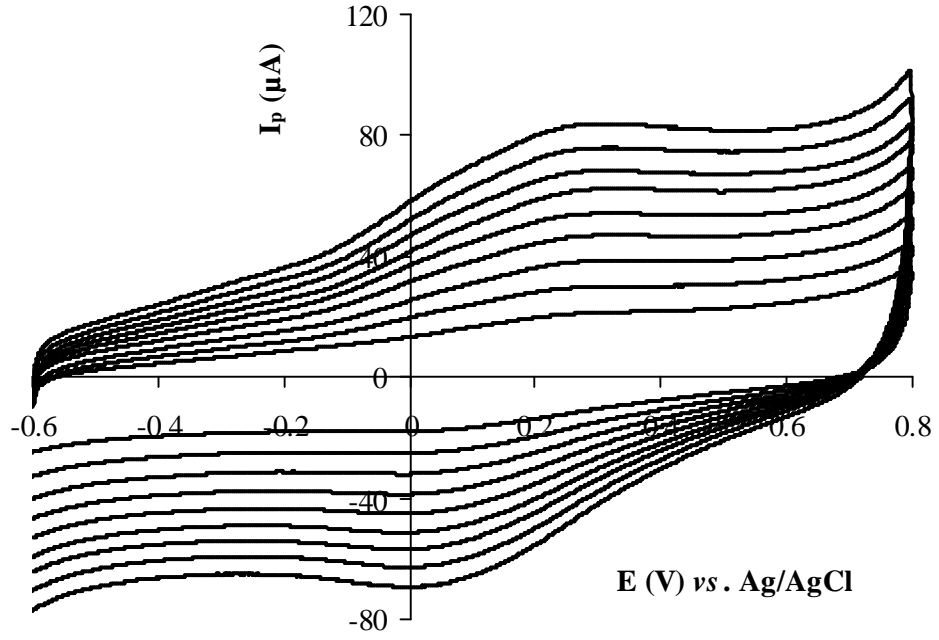
Methyldopa, epinephrine, askorbik asit, ürik asit ve 1-methylpyrrole Fluka (Almanya) firmasından alınmıştır. Potasyum klorür (KCl) ise, Merck (Almanya) firmasından alınmıştır. 1-methylpyrrole çözeltisi 0.2 M KCl kullanılarak pH 7.4' de hazırlanmıştır. Methyldopa, epinephrine, askorbik asit ve ürik asit çözeltileri pH 4.0 olan 0.1 M fosfat tamponunda hazırlandı. Voltammetrik deneyler EcoChemie Autolab 12 potansiyostat (Utrecht, Hollanda) veya Epsilon (BAS elektroanalitik sistemler, ABD) voltammetrik cihazlar kullanılarak deneyler yapıldı. Camsı Karbon elektrotlar çalışma elektrotu, Pt tel yardımcı elektrot ve Ag/AgCl ise referans elektrot olarak kullanıldı.

**2.2. Yöntem****2.2.1. Elektropolimerizasyon**

Elektrokimyasal modifikasyondan önce, yalnız camsı karbon elektrot, bir temizleme pedinde 0.05µm boyutundaki alümina ile temizlendi. Sonra saf su ile yıkandı ve % 50 HNO<sub>3</sub> ( Nitrik asit ) ve % 50 aseton içeren çözeltiliye daldırıldı. Sonra tekrar 10 dakika suda bekletildi. Elektrot temizlendikten sonra, pH 7.2 olan PBS içinde -0.6 V ile +0.8 V arasında dönüşümlü voltammetri uygulanıp 5 defa tarama yapılarak GCE aktifleştirildi. Daha sonra GCE, belirli bir konsantrasyonda 1-methylpyrrole'un pH 7.4 olan 0.2 M KCl çözeltisine daldırıldı ve -1.5 V ile + 2.0 V potansiyel aralığında dönüşümlü voltammetri ile polimer oluşumu tamamlana kadar tarama yapıldı. Sonra elde edilen modifiye camsı karbon elektrot (GCE), pH'ı 4.0 olan 0.1 M PBS'de 100 mV/sn'de - 0.6 V ile +0.8 V arasında dönüşümlü voltammetri ile elektro aktif hale getirildi.

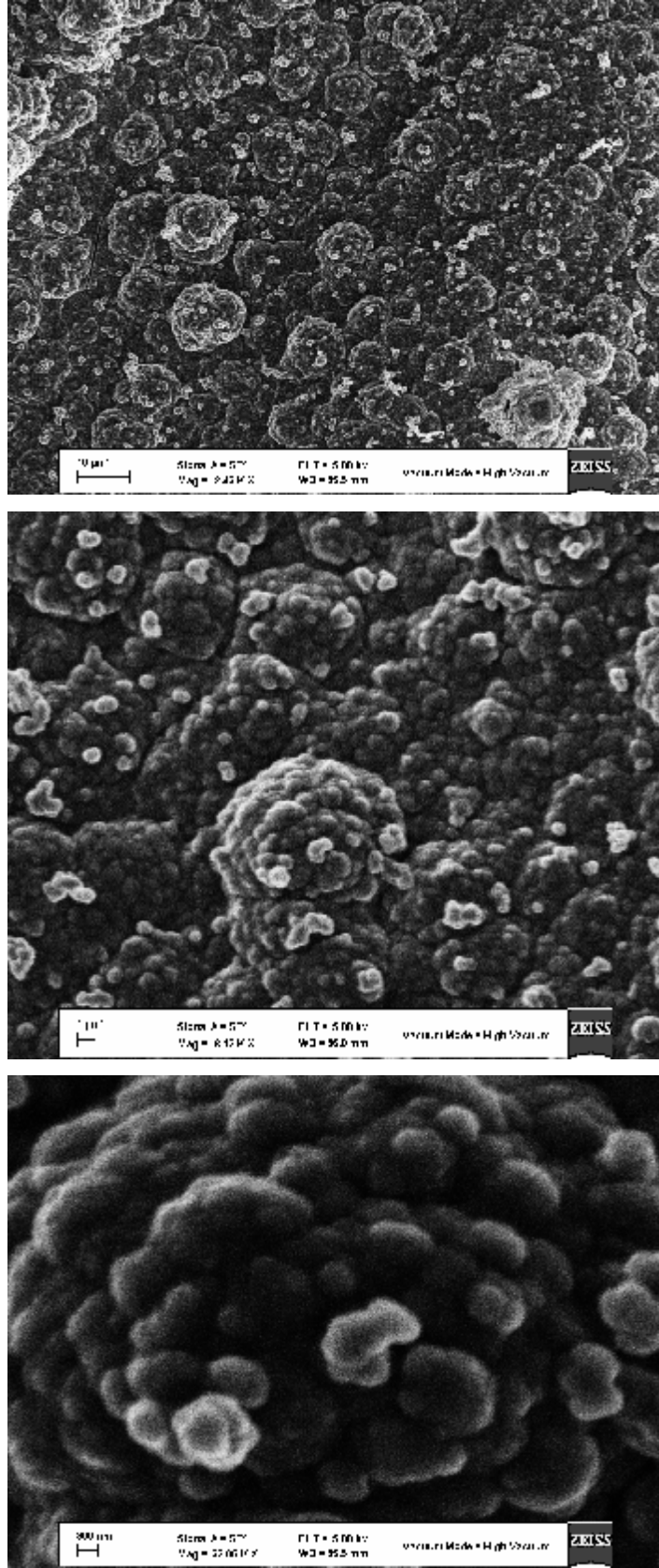


Şekil 2.1.'de poly(1-methylpyrrole)/GCE'nun pH' sı 4.0 olan 0,1 M PBS' de -0.6 V ile +0.8 V arasındaki farklı tarama hızlarındaki dönüşümlü voltammogramları yer almaktadır. Modifiye elektrodun yüzeyindeki film tabakasının akımı, tarama hızı ile doğru orantılı olarak artmıştır. Bu durum, elektrot prosesinin yüzey kontrollü olduğunu göstermiştir.



Şekil 2.1. Poly(1- methylpyrrole)' un 0.1 M PBS pH' sı 4.0 tampon çözeltisindeki farklı tarama hızlarındaki dönüşümlü voltammogramları

Şekil 2.2.'de poly(1-methylpyrrole)/GCE'nin taramalı elektron mikroskopundan (SEM) elde edilen görüntüler yer almaktadır. Camsı karbon elektrot yüzeyinde poly(1-methylpyrrole) dışı doğru büyüyerek film tabakasının oluşumu açıkça görülmektedir.



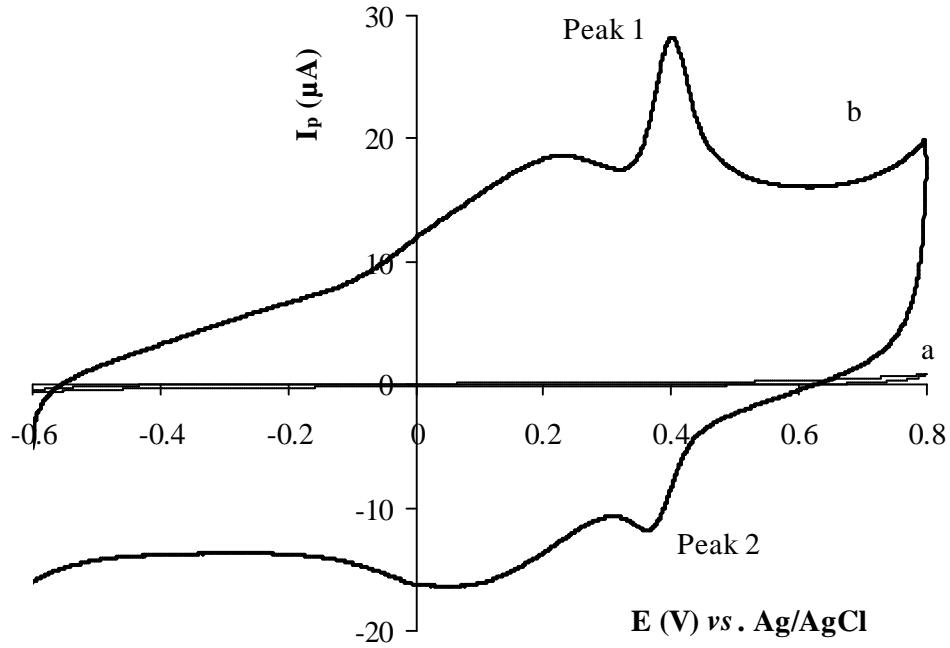
Şekil 2.2. Poly (1- methylpyrrole)' ün SEM görüntüleri ( Bu çalışma Harran Üniversitesi merkezi laboratuvarından alınmıştır. )

### 3. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

#### 3.1. Methyldopa Araştırma Sonuçları

##### 3.1.1. Methyldopa' nın voltammetrik davranışı

Methyldopa'nın voltammetrik davranışı Şekil 3.1.' de pH' sı 4.0 olan 0,1 M PBS'de yalın ve poly(1-methylpyrrole) ile modifiye edilmiş camı karbon elektrodunda gösterilmektedir.

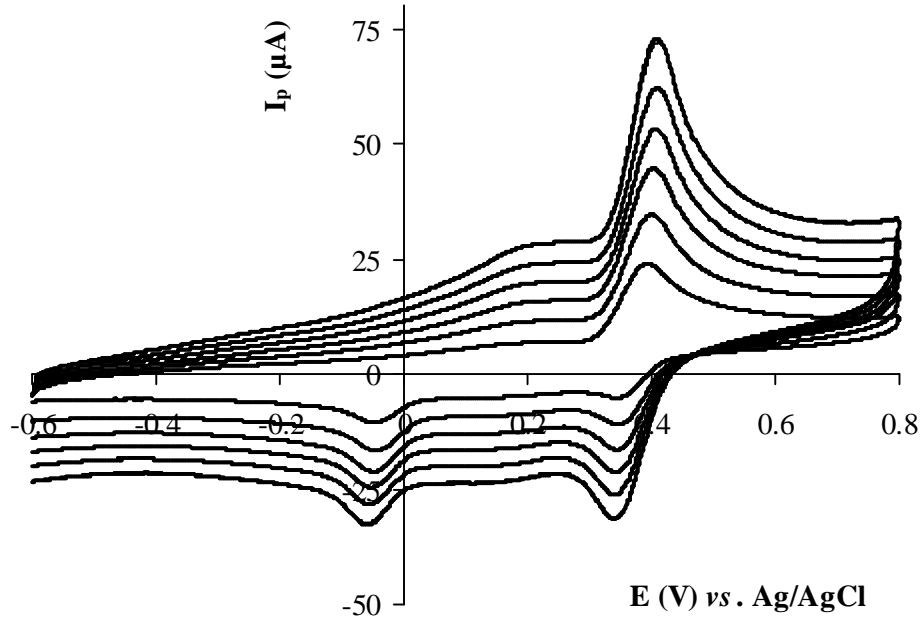


Şekil 3.1.  $5.0 \times 10^{-5}$  M methyldopa'nın (a) Yalın elektrot (b) Poly(1-methylpyrrole)/GCE yüzeylerindeki dönüşümlü voltammogramları destek elektrolit: 0.1 M PBS, pH' sı 4.0, tarama hızı 50 mV/s, (denge süresi 5 s.)

Yalın elektrot yüzeyinde, methyldopa'ya ait belirgin şekilde görülmedi. Bu durum normal bir elektrot sistemiyle methyldopa'nın tayinin mümkün olamayacağını göstermektedir. Ayrıca elde edilen voltammogramda akımın ne kadar düşük olduğu açıkça görülmektedir. Buna karşın, poly(1-methylpyrrole)/GCE yüzeyinde ise methyldopa'ya ilişkin olarak iyi tanımlanmış ve keskin 2 tane pik görülmektedir.

Methyldopa'ya ait olan bu yükseltgenme ve indirgenme piklerinin potansiyelleri sırasıyla 0.402 V ile 0.368 V civarında ortaya çıkmıştır. Anodik ve katodik pik potansiyeli arasındaki fark 34 mV olarak hesaplanmıştır. Bu durum, methyldopa'nın elektrokimyasal reaksiyonunun  $2e^-$  transferiyle gerçekleştiğini göstermektedir. Ayrıca, anodik ve katodik pik potansiyelleri arasındaki farkın düşük olması, poly(1-methylpyrrole)/GCE'nin methyldopa'nın elektron transferini hızlandırması ile açıklanabilir. Yalın elektrot ile modifiye elektrotunu karşılaştırdığımızda modifiye elektrot yüzeyinde methyldopa'nın elektrokimyasal yanıtı daha belirgindir. Polimer film tabakası yüzeyinde elektron transferi tersinir ve pik akımında önemli bir artış görüldü. Bu olay, Poly(1-methylpyrrole)/GCE'nin methyldopa'nın elektrokimyasal reaksiyonunda elektrokatalitik etki yaptığını göstermiştir.

Methyldopa'nın elektrokimyasal prosesini araştırmak için methyldopa'nın farklı tarama hızlarında dönüşümlü voltammogramları incelendi. Şekil 3.2' de methyldopa'nın farklı tarama hızlarındaki dönüşümlü voltammogramları gösterilmiştir.

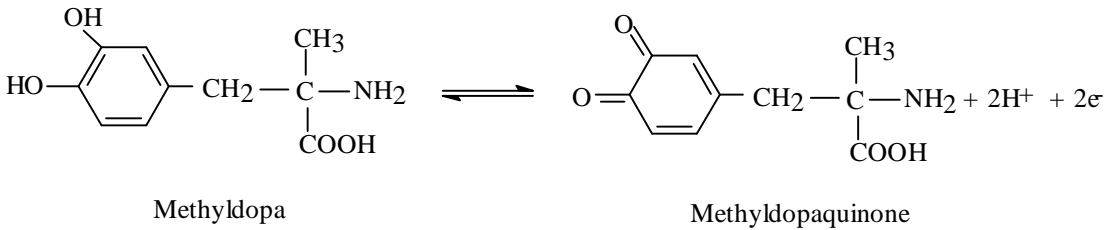


Şekil 3.2.  $1.35 \times 10^{-4}$  M methyldopa'nın poly(1-methylpyrrole)/GCE yüzeyinde farklı tarama hızlarındaki dönüşümlü voltammogramları destek elektrolit: 0.1 M PBS ve pH' sı 4.0 tarama hızları: 50mV/s ile 200mV/s arasında (denge süresi 5 s.)

Şekilde 3.2.'de methyldopa'nın farklı tarama hızlarındaki voltammogramlarından da görüldüğü gibi pik potansiyelinde herhangi bir kaymanın olmadığı gözlemlendi. Tarama hızları 50 mV/sn'den başlayarak 200 mV/sn'ye doğru arttırıldığımızda pik akımının tarama hızı ile doğru orantılı olarak arttığı gözlemlendi. Bu da poly(1-methylpyrrole)/GCE yüzeyinde methyldopa'nın elektrokimyasal oksidasyonunun yüzey kontrollü olduğunu yani methyldopa'nın polimer film tabakası tarafından yüzeyde tutulduğunu göstermektedir.

### 3.1.2. Methyldopa'nın pik potansiyeline pH etkisi

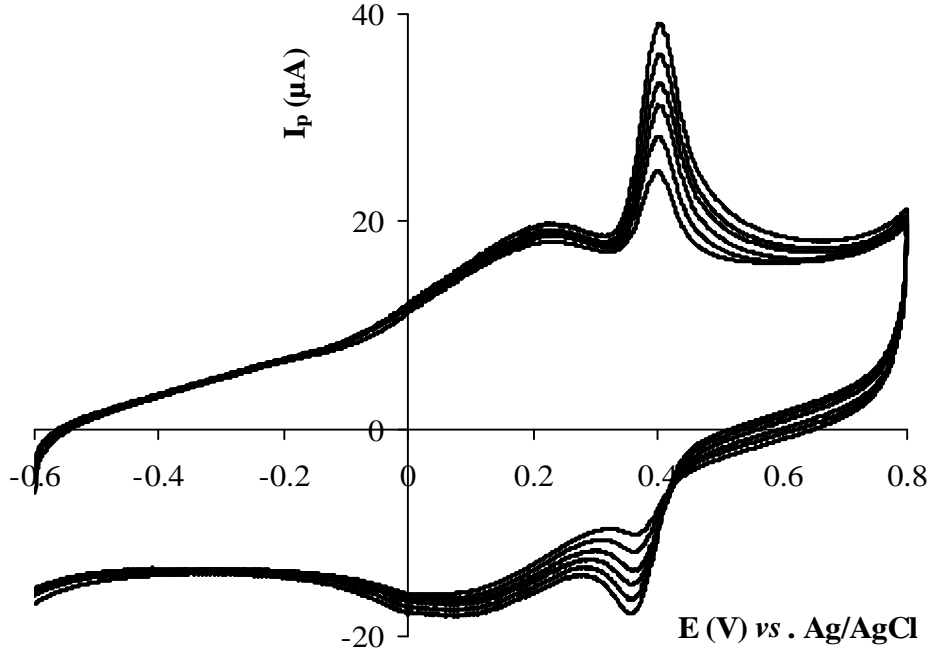
0.1 M PBS' de poly(1-methylpyrrole) ile modifiye edilen camı karbon elektrot yüzeyinde methyldopa'nın farklı pH değerlerindeki dönüşümlü voltamogramları incelenerek, pH' sının pik potansiyeline etkisi incelendi. pH' sının artması ile pik potansiyelinin negatif potansiyele doğru kaydığı gözlemlendi. Bu durum, methyldopa'nın elektrokimyasal reaksiyonunun proton transferini de içerdiğini göstermektedir. Farklı pH değerlerine karşı pik potansiyeli grafiğinin eğimi 58,5 mV/pH olarak hesaplandı. Bu durumda, methyldopa'nın elektrokimyasal reaksiyonunda proton ve elektron sayılarının eşit olduğunu göstermektedir. Methyldopa'nın poly(1-methylpyrrole)/GCE yüzeyindeki önerilen elektrokimyasal reaksiyonu Şekil 3.3'te verilmiştir. Bu reaksiyonda, methyldopa'nın önce yükseltgenerek methyldopaquinone oluşturduğu ve reaksiyonun  $2e^-$  transferi ile birlikte  $2H^+$  transferinin de içerdiği önerilmiştir. Dönüşümlü voltammetrideki katodik pik ise methyldopaquinone' nin methyldopa'ya tersinir olarak dönüştüğünü göstermektedir.



Şekil 3.3. Methyldopa için önerilen elektrokimyasal reaksiyon

### 3.1.3. Methyldopa'nın tayini için kalibrasyon eşitliği

pH' sı 4.0 olan 0.1 M PBS' de poly(1-methylpyrrole)/GCE yüzeyinde methyldopa'nın farklı konsantrasyonlarının dönüşümlü voltammogramları Şekil 3.4.' te verilmiştir.

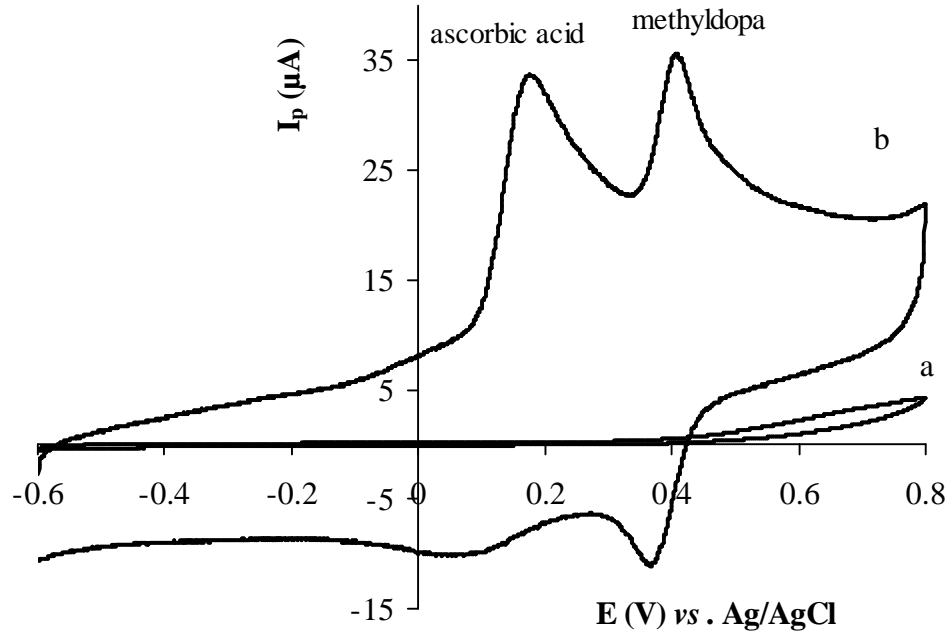


Şekil 3.4. pH' sı 4.0 olan 0.1M PBS' de poly(1-methylpyrrole) GCE' de artan methyldopa konsantrasyonları. Methyldopa konsantrasyonları a)  $3.0 \times 10^{-5}$  M b)  $5 \times 10^{-5}$  M c)  $7 \times 10^{-5}$  M d)  $8 \times 10^{-5}$  M e)  $1 \times 10^{-4}$  M f)  $1.25 \times 10^{-4}$  M

Şekil 3.4' te görüldüğü gibi, poly(1-methylpyrrole)/GCE yüzeyinde methyldopa'nın konsantrasyonu artıkça, pik akımları da düzgün bir şekilde artmıştır. Elde edilen sonuçlar, methyldopa'nın anodik pik akımlarının  $5 \times 10^{-6}$  M ile  $1.5 \times 10^{-4}$  M arasında konsantrasyon aralığında doğrusal olduğunu göstermiştir. Methyldopa için kalibrasyon eşitliği  $I_{pa} (\mu A) = 0.88341 + 0.17027 C (\mu M)$  olarak hesaplanmıştır. Korelasyon katsayısı ise 0.9972 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, methyldopa'nın saptama sınırı  $1.26 \times 10^{-7}$  M olarak belirlendi.

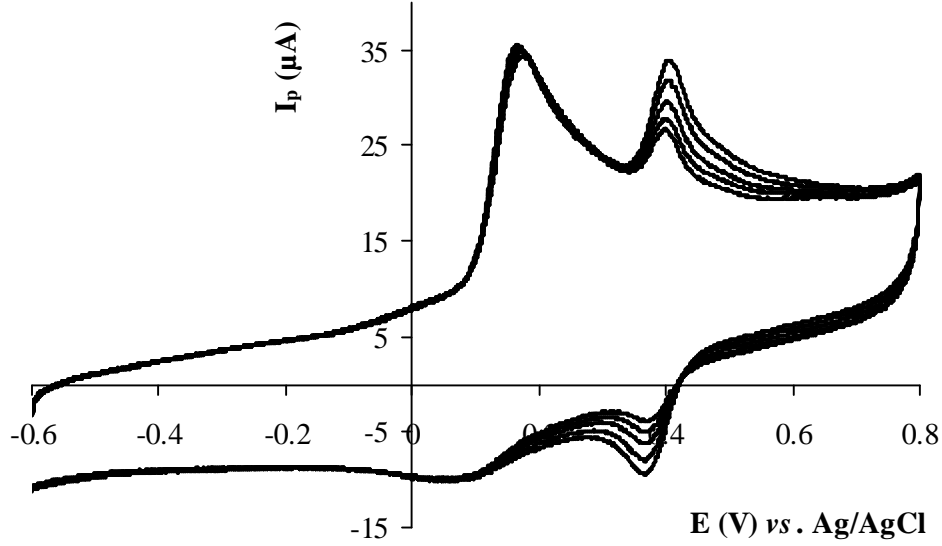
### 3.1.4. Askorbik asit ve ürik asit varlığında methyldopa'nın saptanması

Methyldopa'nın askorbik asit ve ürik asit içeren bir numunede, yalın bir elektrot kullanılarak saptanması mümkün değildir. Çünkü bu türler birbirlerine yakın potansiyel değerlerinde yükseltgenirler. Bu problemi çözebilmek için bu çalışmada poly(1-methylpyrrole)/GCE kullanılmıştır. Şekil 3.5.' te askorbik asit ve methyldopa'nın yalın GCE ve poly(1-methylpyrrole)/GCE yüzeylerindeki dönüşümlü voltammogramları görülmektedir. Yalın GCE yüzeyinde, methyldopa için kayda değer herhangi bir pik gözlenememiş ve sadece geniş bir pik elde edilmiştir. Ancak, poly(1-methylpyrrole)/GCE yüzeyinde ise askorbik asit ve methyldopa'ya ait 2 adet keskin ve iyi tanımlanmış pik görüldü. Poly(1-methylpyrrole)/GCE yüzeyinde askorbik asit ve methyldopa'nın yükseltgenme pik potansiyelleri sırasıyla 0.170 V ve 0.402 V civarında elde edilmiştir. Böylece, elde edilen elektrot sisteminin askorbik varlığında bile methyldopa'ya duyarlı bir şekilde cevap verdiği görülmektedir.



Şekil 3.5. pH' sı 4.0 olan 0.1 M PBS' de  $1.5 \times 10^{-4}$  M methyldopa ve  $2.25 \times 10^{-4}$  M askorbik asit karışımının a) yalın GCE b) poly(1- methylpyrrole)/GCE' de dönüşümlü voltammetrisi

Şekil 3.6.' da askorbik asit sabit tutularak faklı konsantrasyonlardaki methyldopa'nın dönüşümlü voltammogramları görülmektedir.

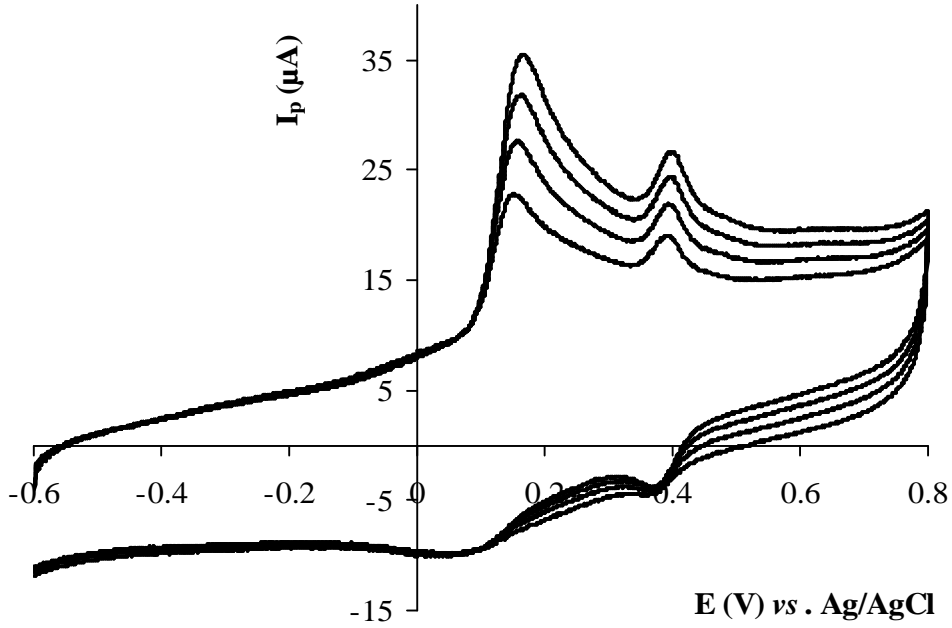


Şekil 3.6. pH' sı 4.0 olan 0.1 M PBS' de poly(1-methylpyrrole)/GCE' de  $2.25 \times 10^{-4}$  M ascorbic asit varlığında artan methyldopa konsantrasyonlarının dönüşümlü voltammetrisi, methyldopa konsantrasyonları a)  $1.0 \times 10^{-4}$  M b)  $1.1 \times 10^{-4}$  M c)  $1.2 \times 10^{-4}$  M d)  $1.3 \times 10^{-4}$  M e)  $1.4 \times 10^{-4}$  M. (denge süresi: 5 s. tarama hızı: 50 mV/s)

Askorbik asit varlığında methyldopa'nın anodik pik akımı methyldopa'nın konsantrasyonunun artmasıyla birlikte doğrusal olarak arttı. Askorbik asit varlığında methyldopa'nın tayininde askorbik asidin herhangi bir girişim yapmadığı görülmektedir.

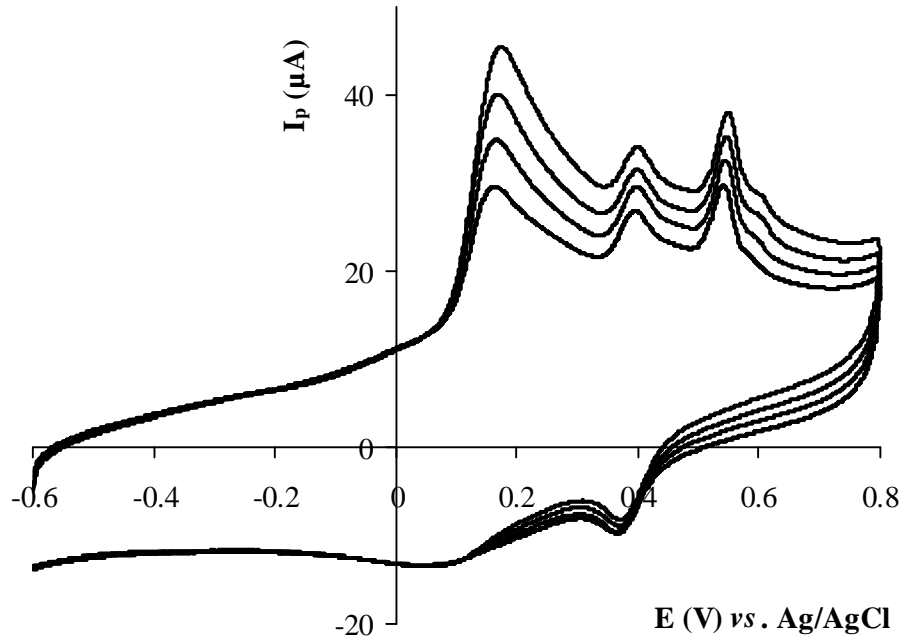
Şekil 3.7.' de poly(1-methylpyrrole)/GCE methyldopa ve askorbik asit konsantrasyonları eş zamanlı olarak arttırıldı. Her iki türün de konsantrasyonu artarken herhangi bir girişimin söz konusu olmaması ve konsantrasyonlarına karşı pik akımlarının doğrusal olarak artması gösteriyor ki, poly(1-methylpyrrole) ile modifiye edilen camısı karbon elektrot sistemi kullanılarak, askorbik asit ve methyldopa birlikte tayin edilebilirler.





Şekil 3.7. pH' sı 4.0 olan 0,1 M PBS' de poly (1-methylpyrrole)/GCE' de ascorbic asit ve methyl dopa' nın artan konsantrasyonlarının dönüşümlü voltammetrisi, ascorbic asit konsantrasyonları; a)  $1.0 \times 10^{-4}$  M b)  $1.5 \times 10^{-4}$  M c)  $2.0 \times 10^{-4}$  M d)  $2.5 \times 10^{-4}$  M, methyl dopa' nın konsantrasyonları; a)  $4.0 \times 10^{-5}$  M b)  $5.0 \times 10^{-5}$  M c)  $6.5 \times 10^{-5}$  M d)  $8.0 \times 10^{-5}$  M (denge süresi: 5 s. tarama hızı: 50 mV/s.)

Şekil 3.8.' de poly(1-methylpyrrole)/GCE yüzeyinde methyl dopa, askorbik asit ve ürik asit'in konsantrasyonlarının eş zamanlı olarak artmasına ilişkin dönüşüm voltammogramları görülmektedir. Dönüşümlü voltammetride methyl dopa'nın anodik pik potansiyeli 0.402 V, askorbik asidin anodik pik potansiyeli 0.170 V ve ürik asidin anodik pik potansiyeli ise 0.545 V civarında ortaya çıkmıştır.



Şekil 3.8. pH' sı 4.0 olan 0.1 M PBS' de poly(1-methylpyrrole)/GCE yüzeyinde uric asit, methyldopa ve ascorbic asit artan konsantrasyonlarının dönüşümlü voltammetrisi, ascorbic asit konsantrasyonları; a)  $1.50 \times 10^{-4}$  M b)  $2.0 \times 10^{-4}$  M c)  $2.5 \times 10^{-4}$  M d)  $3.0 \times 10^{-4}$  M, methyldopa konsantrasyonları; a)  $5.0 \times 10^{-5}$  M b)  $7.0 \times 10^{-5}$  M c)  $9 \times 10^{-5}$  M d)  $1.1 \times 10^{-4}$  M, Uric asit konsantrasyonları; a)  $1.50 \times 10^{-4}$  M b)  $2.0 \times 10^{-4}$  M c)  $2.25 \times 10^{-4}$  M d)  $2.5 \times 10^{-4}$  M, (denge süresi: 5 s. tarama hızı: 50 mV/s.)

Görüldüğü gibi, methyldopa, askorbik asit ve ürik asidin pik akımları bu üç konsantrasyonları ile doğrusal olarak artmıştır. Elde edilen sonuçlar, poly(1-methylpyrrole)/GCE yüzeyinde askorbik asit ve ürik asit varlığında bile methyldopa'yı tayin etmek mümkün olduğunu göstermiştir.

### 3.1.5. Methyldopa için analitiksel uygulamalar

İlaç örneklerinde methyldopanin tayini poly(1-methylpyrrole)/GCE ile gerçekleştirildi. Önerilen metot kullanılarak methyldopa tabletleri analiz edildi. Methyldopa tabletleri 0.1 M PBS ile seyreltildi. Tabletler standart ekleme metodu kullanarak analiz edildi. Sonuçlar çizelge 3.1.' de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Methyldopa tabletlerinin analizi

	İçerik(mg)	Önerilen yöntem	Ref [15]	USP yöntemi
Methyldopa	250	245.8 ± 4.3	240.4 ± 4.8	249.1 ± 7.5

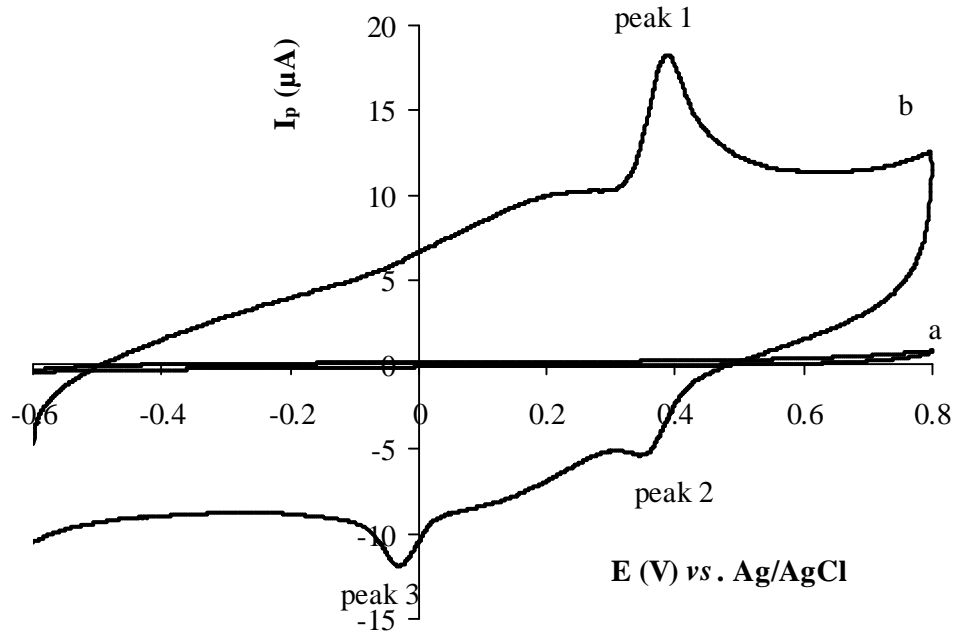
Ortalama ± standart sapma ( $n = 5$ ).

Önerilen yöntem ile, methyldopa tabletlerinin analizinde ortalama geri kazanım % 98.32 ve bağıl standart sapma % 1.72 olarak elde edildi. Çizelgeden de görüldüğü gibi, elde edilen değer, tablet içeriği ile uyumludur. Nükleer manyetik rezonans yönteminde geri kazanım % 96.16 ve bağıl standart sapma % 1.99 olarak bulunurken, USP yönteminde geri kazanım % 99.64 ve bağıl standart sapma % 3.01 olarak saptanmıştır. Önerilen yöntem ile elde edilen sonuçlar, NMR yöntemine nazaran, USP yöntemi ile daha fazla uyumludur. Methyldopa tabletlerinde methyldopa'nın saptanması için önerilen bu metot hem kolay, hem de kullanışlı ve hem de daha duyarlıdır.

### 3.2. Epinephrine Araştırma Sonuçları

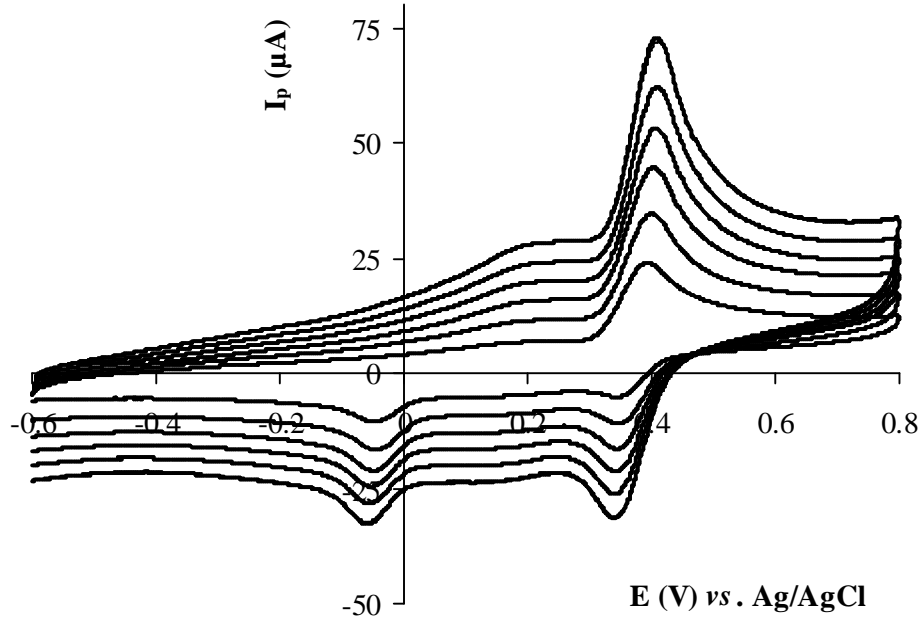
#### 3.2.1. Epinephrine'nin voltammetrik davranışı

Epinephrine'nin pH' sı 4.0 olan 0.1 M PBS içindeki, yalın ve poly(1-methylpyrrole) ile modifiye edilen karbon elektrot yüzeyindeki dönüşümlü voltammogramları Şekil 3.9.' da görülmektedir. Görüldüğü gibi, yalın camsı karbon elektrotu yüzeyinde epinephrine'nin yükseltgenmesine ilişkin voltammogram epinephrine' nin elektrot reaksiyonunu açıklamak için ve ayrıca ortamdaki epinephrine konsantrasyonunu tayin etmek için kullanışlı değildir. Buna karşın, poly(1-methylpyrrole)/GCE yüzeyinde epinephrine için üç tane iyi tanımlanmış voltammetrik pik gözlenmiştir. Poly(1-methylpyrrole)/GCE yüzeyinde epinephrine için 0.389 V civarında bir yükseltgenme piki gözlenirken, 0.359 V ve 0.065 V civarında gözlenen iki adet indirgenme piki elde edilmiştir. Epinephrine'nin anodik ve katodik pik potansiyelleri arasındaki fark 30 mV olup, elektrot prosesinin  $2e^-$  ile gerçekleştiği ortaya çıkmaktadır.



Şekil 3.9. pH' sı 4.0 olan 0.1 M PBS' de  $2 \times 10^{-5}$  M adrenalinin a) yalın elektrotta b) poly(1-methylpyrrole)/GCE' de dönüşümlü voltammetrisi (denge süresi: 5 s.tarama hızı: 50 mV/s. )

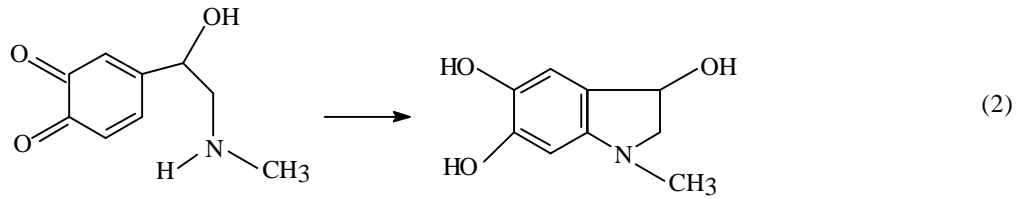
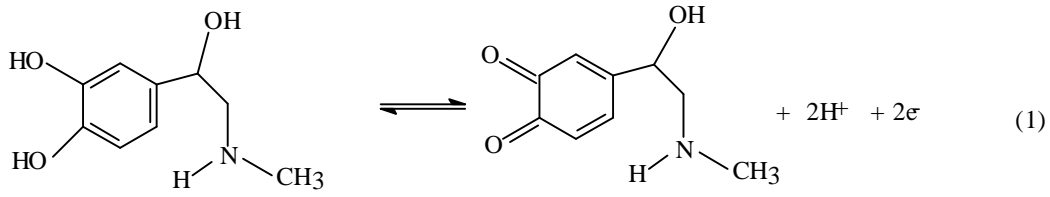
Ayrıca, yalın karbon elektrotu ile karşılaştırıldığında, poly(1-methylpyrrole) yüzeyinde polimer filmin katalitik etki yaparak, epinephrine'nin daha düşük potansiyelde yükseltgenmesini sağlamıştır. Polimer filmin etkisiyle yine akımdaki büyük artış açıkça görülmektedir. Bu da, yalın elektrot yüzeyine nazaran, iletkenliği daha yüksek olan polimer film tabakasında, reaksiyonun daha hızlı olduğu görülmektedir ve film tabakasının yalın elektrot yüzeyine göre daha büyük bir alan sağlaması şeklinde açıklanabilir. Poly(1-methylpyrrole)/GCE yüzeyinde epinephrine'nin yükseltgenmesine tarama hızının etkisi Şekil 3.10'da verilmiştir. 25 mV/sn ile 150 mV/sn tarama hızının elde anodik akım ile doğru orantılı olması elektrot reaksiyonun yüzey kontrollü yani polimer film tabakası tarafından kontrol edildiğini göstermektedir.



Şekil 3.10. pH' sı 4.0 olan 0.1 M PBS' de  $9 \times 10^{-5}$  M epinephrine 25 mV/s' den 150 mV/s' ye kadar artan tarama hızlarının dönüşümlü voltammetrisi, (denge süresi: 5s.)

Poly(1-methylpyrrole)/GCE yüzeyinde epinephrine'nin pik potansiyeline pH' sının etkisi ayrıca incelenerek, elektrot reaksiyonunda proton transferinin olup olmadığı incelendi. Çözeltinin pH değeri arttıkça, pik potansiyeli negatif yöne kaymıştır. Bu da epinephrine'nin elektrot reaksiyonunda  $H^+$  iyonun etkisinin olduğunu göstermektedir. 0.1 M PBS çözeltisinin pH değerlerine karşı epinephrine pik potansiyellerinin grafiğinin eğimi yaklaşık 59 mV/pH olarak belirlenmiş, bu durumda reaksiyonda transfer edilen elektronların sayısı kadar protonun yer aldığı gözlenmiştir. Reaksiyonda transfer edilen elektronların sayısı 2 olduğuna göre, transfer edilen proton sayısının 2 olduğu söylenebilir. Böylece, epinephrine' nin elektrot reaksiyonu aşağıdaki şekilde yazılabilir. Burada pik 1 epinephrine'nin  $2e^-$  transferi ile epinephrinequinone moleküllerine yükseltgenmesi ile açıklanabilir. Pik 2 ise epinephrinequinone'nun tersinir olarak indirgenmesiyle tekrar epinephrine'nin oluşumunu göstermektedir. Pik 3 ise, (ikinci reaksiyonda) halka kapanması ile epinephrinechrome oluşumunu göstermektedir. Böylece, poly(1-methylpyrrole)/GCE yüzeyinde epinephrine'nin davranışının elektrokimyasal-kimyasal (EC) olduğu

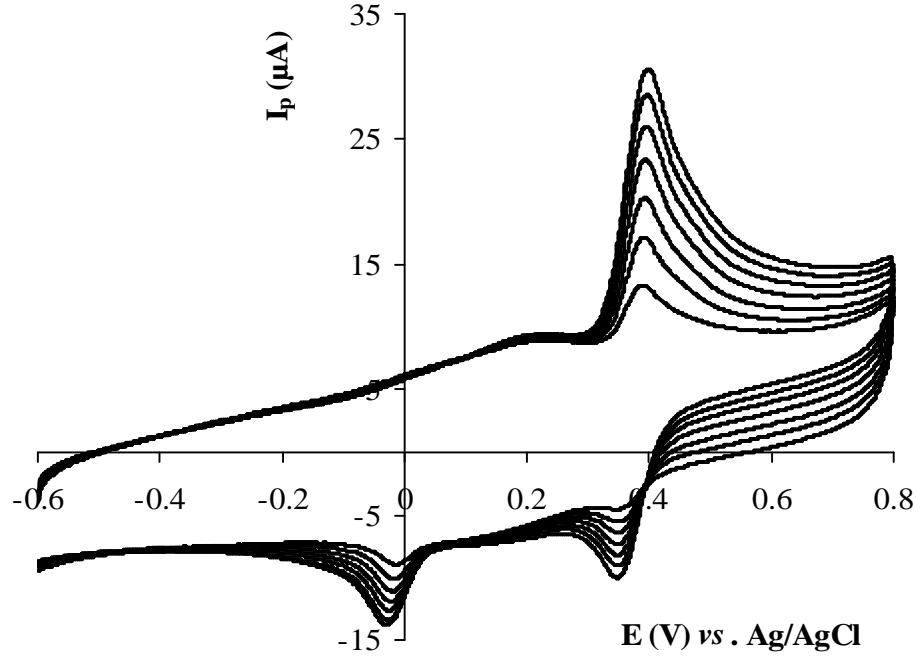
söylenbilir. Şekil 3.11' de poly(1-methylpyrrole)/GCE yüzeyinde epinephrine reaksiyonları görülmektedir.



Şekil 3.11. pH' sı 4.0 olan 0.1 M PBS' de poly(1- methylpyrrole)/GCE' de epinephrine reaksiyonları.

### 3.2.2. Epinephrine'nin tayini için kalibrasyon eşitliği

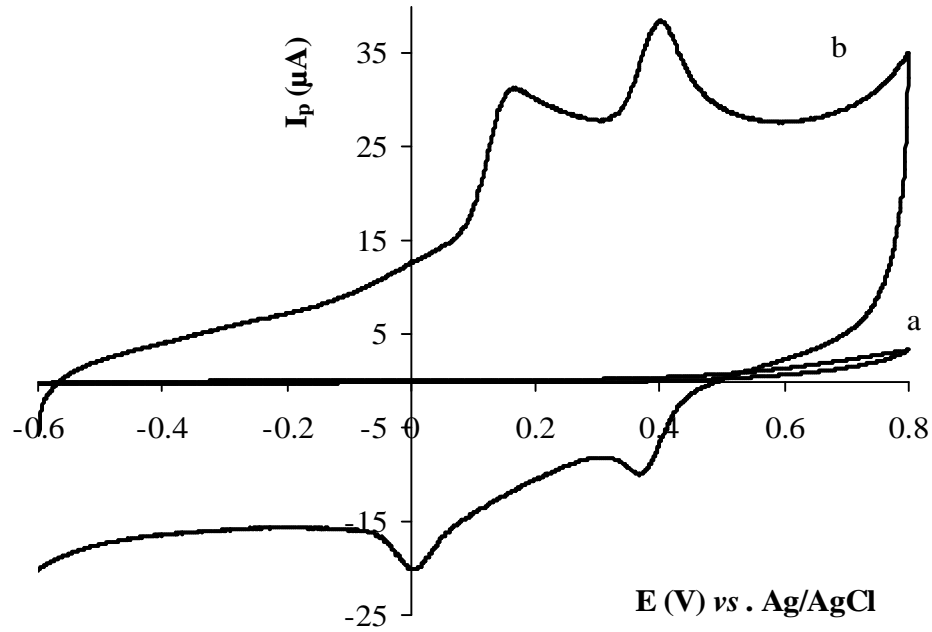
Poly(1-methylpyrrole)/GCE yüzeyinde epinephrine'nin kalibrasyon eşitliğini elde etmek için, farklı konsantrasyonlarda epinephrine'nin dönüşümlü voltammogramları alındı. Epinephrine'nin artan konsantrasyonlarına ilişkin dönüşümlü voltammogramları Şekil 3.12'de verilmiştir. Poly(1-methylpyrrole)/GCE yüzeyinde epinephrine'nin anodik pik akımı,  $1.0 \times 10^{-6}$  M ile  $5.0 \times 10^{-4}$  M arasındaki epinephrine konsantrasyonları ile doğru orantılı olarak artmıştır. Kalibrasyon eşitliği ise,  $I_{pa} (\mu\text{A}) = 0.99207 + 0.257868 (\mu\text{M})$  olarak hesaplanmıştır. Kalibrasyon denklemi için korelasyon katsayısı 0.9988 olarak bulunmuştur. Epinephrine için en düşük saptama sınırı,  $5.6 \times 10^{-7}$  M olarak hesaplanmıştır.  $5.0 \times 10^{-5}$  M epinephrine için 6 taramanın bağıl standart sapma %2.3 olarak hesaplanmıştır. Bu da, elde edilen modifiye elektrotun tekrarlanabilirliği ve kararlılığının mükemmel olduğunu açıkça göstermektedir.



Şekil 3.12. pH' sı 4.0 olan 0.1 M PBS' de poly(1-methylpyrrole)' de epinephrine artan konsantrasyonlarının dönüşümlü voltammetrisi epinephrine konsantrasyonları; a)  $1.0 \times 10^{-5}$  M b)  $2.5 \times 10^{-5}$  M c)  $4.0 \times 10^{-5}$  M d)  $5.0 \times 10^{-5}$  M e)  $6.0 \times 10^{-5}$  M f)  $7.0 \times 10^{-5}$  M g)  $8.0 \times 10^{-5}$  M, (denge süresi: 5 s. tarama hızı: 50 mV/s.)

### 3.2.3. Askorbik asit ve ürik asit varlığında epinephrine tayini

Bir numunede epinephrine ile birlikte askorbik asitin bulunması halinde, bu iki türün anodik potansiyelleri birbirine çok yakın bir bölgede gerçekleştiğinden dolayı, askorbik asit, epinephrine tayinini etkiler. Bu durumda, yalnız bir elektrot kullanarak, epinephrine' ni elektrokimyasal yöntemlerle tayin etmek mümkün değildir. Yine, bu çalışmada poly(1-methylpyrrole) modifiye elektrot sistemi kullanılarak, bu problem çözülmeye çalışıldı. Şekil 3.13.' te askorbik asit ve epinephrine karışımının yalnız ve poly(1-methylpyrrole)/GCE yüzeylerindeki dönüşümlü voltammogramları verilmiştir. Yalnız elektrot yüzeyinde 0.6 V civarında geniş bir pik elde edilirken, poly(1-methylpyrrole)/GCE yüzeyinde ise, keskin ve çok iyi tanımlanmış iki adet yükseltgenme piki gözlenmiştir. 0.170 V ve 0.393 V civarında gözlenen bu iki yükseltgenme piki sırasıyla, askorbik asit ve epinephrine'nin yükseltgenmelerine ait piklerdir.

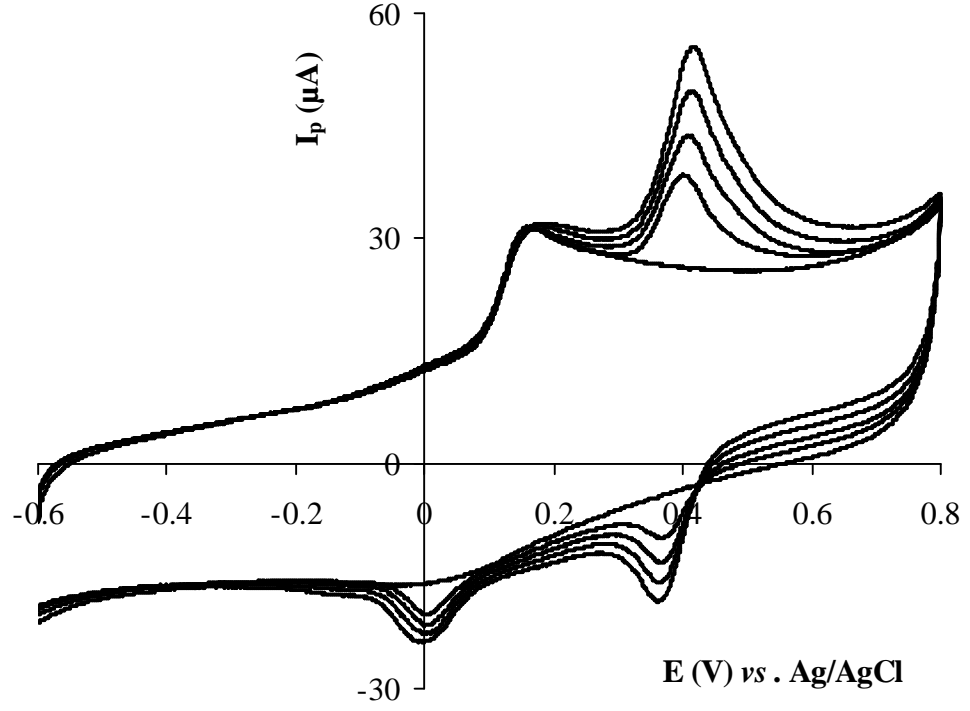


Şekil 3.13. pH' sı 4.0 olan 0.1 M PBS' de  $4.0 \times 10^{-5}$  M epinephrine ve  $1.5 \times 10^{-5}$  M askorbik asit karışımının dönüşümlü voltammetrisi a) yalın elektrot b) poly(1-methylpyrrole)/GCE (denge süresi: 5 s. tarama hızı: 50 mV/s.)

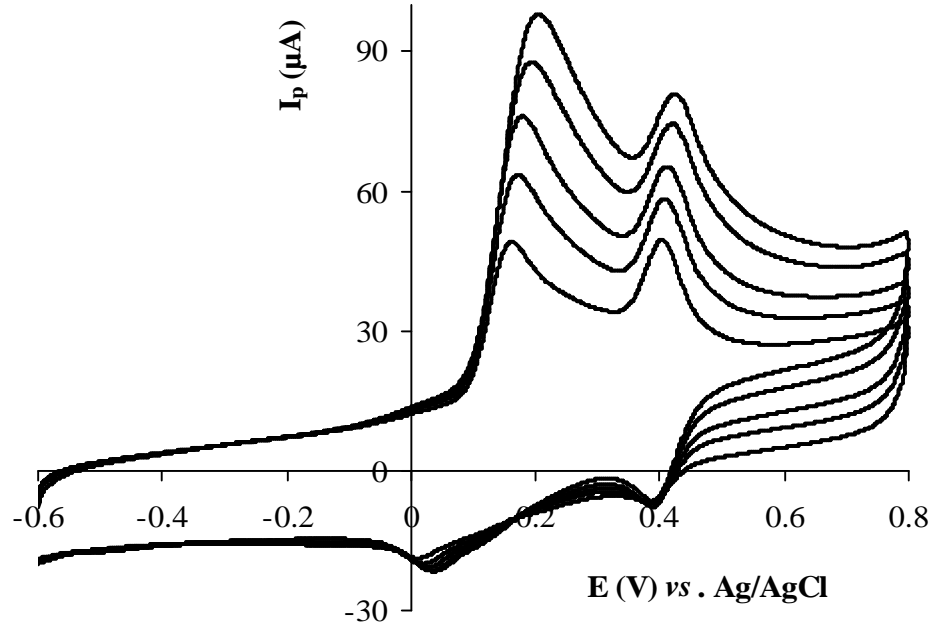
Şekil 3.14. ise sabit konsantrasyondaki askorbik asit varlığında epinephrine'nin artan konsantrasyonlarına ilişkin dönüşümlü voltammogramları görülmektedir. Sabit askorbik asit varlığında, epinephrine'nin anodik akımı analitik konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak artmıştır. Bu durum gösteriyor ki, askorbik varlığında poly(1-methylpyrrole)/GCE kullanarak epinephrine'nin saptanması kolay bir şekilde gerçekleştirilebilir. Şekil 3.15.' te ise, poly(1-methylpyrrole)/GCE yüzeyinde askorbik asit ve epinephrine'nin eş zamanlı artan konsantrasyonlarına ilişkin voltammogramları verilmiştir. Her iki türün anodik akım cevapları analitik konsantrasyonları ile doğru orantılı olarak artması, her askorbik asit ve epinephrine'nin aynı anda saptanabileceğini açıklar. Ayrıca, ortamda ürik asit bulunması halinde, yalın bir elektrot kullanarak askorbik asit, epinephrine ve ürik asit karışımının saptanması yine mümkün olmayacaktır. Ancak, poly(1-methylpyrrole)/GCE kullanarak, bu üç türü kolay bir şekilde saptamak mümkündür. Şekil 3.16.' da, askorbik asit, epinephrine ve ürik asitin farklı konsantrasyonlarına ait voltammogramları verilmiştir. Açıkça görülüyor ki, askorbik asit, epinephrine ve



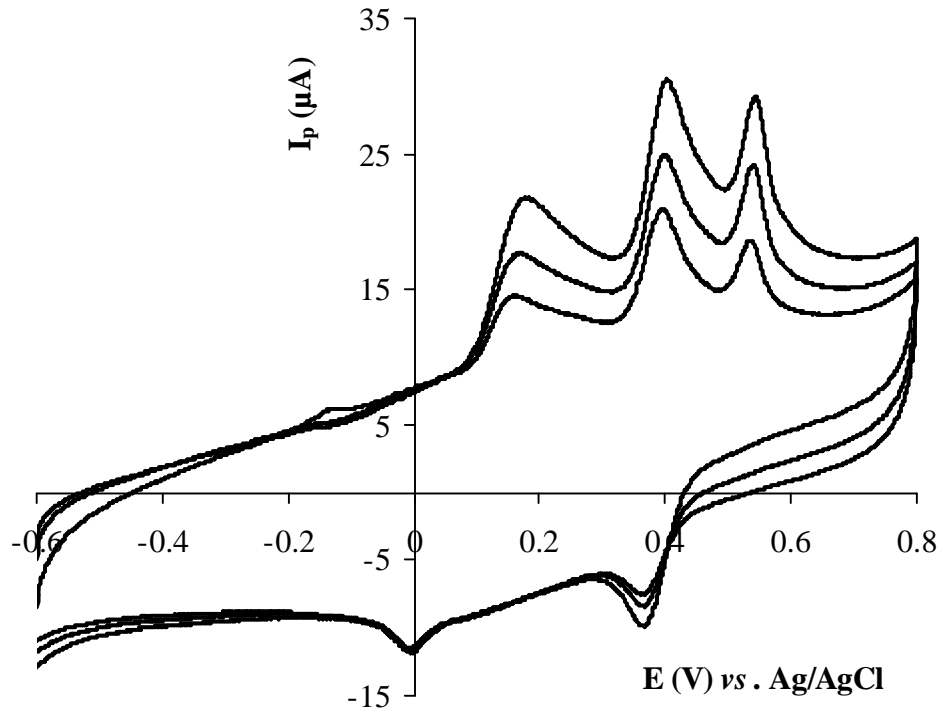
ürük asitin, yalın bir elektrot yüzeyinde tayini mümkün olmayan böyle bir karışımın, modifiye elektrot yüzeyinde birbirlerini etkilemediği ve poly(1-methylpyrrole)/GCE sistemi kullanılarak tayin işlemleri kolay bir hal almaktadır.



Şekil 3.14. pH' sı 4.0 olan 0.1 M PBS' de poly(1-methylpyrrole)/GCE' de  $1.5 \times 10^{-4}$  M askorbik asit varlığında artan epinephrine konsantrasyonlarının dönüşümlü voltammetrisi, Epinephrine konsantrasyonları; a)  $4.0 \times 10^{-5}$  M b)  $6.0 \times 10^{-5}$  M c)  $8.0 \times 10^{-5}$  M d)  $1.0 \times 10^{-4}$  M (denge süresi: 5 s. tarama hızı: 50 mV/s.)



Şekil 3.15. pH' sı 4.0 olan 0.1M PBS' de poly(1-methylpyrrole)/GCE' de epinephrine ve askorbik asidin artan konsantrasyonlarının dönüşümlü voltammetrisi ascorbic asit konsantrasyonları; a)  $3.0 \times 10^{-4}$  M b)  $4.5 \times 10^{-4}$  M c)  $5.5 \times 10^{-4}$  M d)  $6.5 \times 10^{-4}$  M e)  $7.5 \times 10^{-4}$  M epinephrine konsantrasyonları; a)  $7.50 \times 10^{-5}$  M b)  $1.25 \times 10^{-4}$  M c)  $1.50 \times 10^{-4}$  M d)  $1.750 \times 10^{-4}$  M e)  $2.0 \times 10^{-4}$  M (denge süresi 5s. tarama hızı: 50 mV/s)



Şekil 3.16. pH' sı 4.0 olan 0.1 M PBS' de poly(1-methylpyrrol)/ GCE' de askorbik asit, epinephrine ve ürik asidin artan konsantrasyonlarının dönüşümlü voltammetrisi, askorbik asit konsantrasyonları; a)  $5.0 \times 10^{-5}$  M b)  $7.5 \times 10^{-5}$  M c)  $1.0 \times 10^{-4}$  M epinephrine konsantrasyonları; a)  $3.5 \times 10^{-5}$  M b)  $5.0 \times 10^{-5}$  M c)  $7.5 \times 10^{-5}$  M uric asit konsantrasyonları; a)  $1.25 \times 10^{-5}$  M b)  $2.5 \times 10^{-4}$  M c)  $5.0 \times 10^{-4}$  M (denge süresi: 5s. tarama hızı: 50mV/s.)

### 3.2.4. Epinephrine için analitiksel uygulamalar

Epinephrine içeren tabletler, pH' sı 4.0 olan 0.1 M fosfat tampon çözeltisinde çözünmesiyle elde edilen çözelti önerilen yöntem ile analiz edildi. Standart ekleme metodu kullanarak analiz edildi. Poly(1-methylpyrrole) modifiye elektrotu ile elde edilen veriler ile epinephrine'nin tablet içeriği uyum sağlamaktadır. Geri kazanım % 97.5 ve bağıl standart sapma % 2.4 olarak hesaplanmıştır. Veriler, aynı zamanda HPLC yöntemi ile de uyum içindedir. HPLC yönteminde geri kazanım ortalama % 96.9' dur. Bu sonuçlar, önerilen bu yöntemin ilaç örneklerinde epinephrine'nin tayini için tekrarlanabilir ve kararl bir yöntem olduğunu göstermektedir.

## 4. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

### 4.1. Sonuçlar

Bu çalışmada, poly(1-methylpyrrole) ile modifiye edilmiş camı karbon elektrot kullanılarak ilaç örneklerinde methyldopa ve epinephrine'nin hızlı, güvenilir ve duyarlı bir şekilde saptanması için elektroanalitik yöntemler geliştirilmiştir. Poly(1-methylpyrrole) modifiye camı karbon elektrot, 1-methylpyrrole'un pH' sı 7.4 olan 0.2 M KCl çözeltisinde elektropolimerizasyonu ile dönüşümlü voltammetri kullanılarak hazırlandı. pH' sı 4.0 olan 0.1 M fosfat tampon çözeltisinde (PBS), poly(1-methylpyrrole) ile modifiye edilen camı karbon elektrot, hem methyldopa ve hem de epinephrine'nin yükseltgenmesine mükemmel bir elektrokatalitik aktivite göstermiştir. Ayrıca, modifiye elektrot methyldopa ve epinephrine'nin yükseltgenme potansiyellerinde katodik yönde önemli bir kayma ve anodik akım cevaplarında büyük bir artış gösterdi. Elde edilen sonuçlar, poly(1-methylpyrrole) ile modifiye edilmiş elektrotun aynı zamanda askorbik asit ve ürik asit varlığında bile methyldopa veya epinephrine'nin saptanmasına uygulanabileceğini göstermiştir. Modifiye elektrot sistemi başarılı bir şekilde ilaç örneklerine uygulanmıştır.

### 4.2. Öneriler

Bu tür ilaçların analizi için ayrıca iletkenliği daha fazla olan karbon nanotüp modifiye elektrot sistemi kullanılarak incelenmelidir.

## KAYNAKLAR

- AMAN T., KHAN I. U., ASLAM N., and AHMED I., 1998. Spectrophotometric Determination of Methyldopa in Pure and Pharmaceutical Preparations, *Analytical letters*, 31: 1007-1020.
- ASLANOGLU M., ABBASOGLU S., KARABULUT S., and KUTLUAY A., 2007. Electrochemical Determination of Dopamine in the Presence of Ascorbic Acid Using a Poly(3-Acetylthiophene) Modified Glassy Carbon Electrode *Acta Chimica Slovenica*, 54:834-839.
- DAVIDSON A.G., and PHARM J., 1984. Difference spectrophotometric assay of 1,2-diphenolic drugs in pharmaceutical formulations II: Germanium dioxide reagent , *Journal of pharmaceutical sciences*, 73:1582-1584.
- HOFFMAN B.B., LEFKOWITZ R.J., GILMAN A.G., HARDMAN J.G., LIMBIRD L.E., MOLINOFF P.B., and RUDDON R.W., 1996. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, MacGraw-Hill, New York, 9th edn., chap. 12.
- LI H., LUO W., and HU X. M., 1999. Determination of Enantiomeric Purity for Epinephrine by High Performance Liquid Chromatography, *Determination of Enantiomeric Purity for Epinephrine by High Performance Liquid Chromatography*, *Chinese Journal Chromatografic*, 17:403-405.
- MOHAMED W. I., and SALEM F. B., 1984. Spectrophotometric and Titrimetric Determination of Certain Adrenergic Drugs, *Analytical letters*, 17:191-203.
- NAGARAJA P., MURTHY K.C.S., RANGAPPA K.S., and GOWDA N.M.M., 1998. Spectrophotometric methods for the determination of certain catecholamine derivatives in pharmaceutical preparations *Talanta*, 46:39-44.
- NAGARAJA P., VASANTHA R. A., and SUNITHA K. R., 2001. A sensitive and selective spectrophotometric estimation of catechol derivatives in pharmaceutical preparations, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *Talanta*, 55:1039-1046.
- NAGARAJA P., VASANTHA R. A., MURTHY K. C. S., and RANGAPPA K. S., 2001. Chemical Analytical, Spectrophotometric determination of some aromatic vic-diols in the pharmaceutical formulations, 46:569-578.
- OLIVERIA C.H., BARRIENTOS-ASTIGARRAGA R.E., SUCUPIRA M., GRAUDENZ G.S., MUSCARA M.N., NUCCI G. DE., and CHROMATOGR J. B., 2002. Quantification of methyldopa in human plasma by high-performance liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry: Application to a bioequivalence study, *Journal of chromatography*, 768:341-348.
- PHILIP B., ANDREA M., ALISON, R. K. P., and DAVID D.Y. C., 1998. Analyst Quantitative assay for epinephrine in dental anesthetic solutions by capillary electrophoresis, *The Analyst*, 123:1461-1463.
- REN W., LUO H. Q., and LI N. B., 2006. Sensors Electrochemical Behavior of Epinephrine at a Glassy Carbon Electrode Modified by Electrodeposited Films of Caffeic Acid, *Sensors*, 6:80-89.
- RIBEIRO P.R.S., NETO J.A.G., PEZZA L., and PEZZA H.R., 2005. Flow-injection spectrophotometric determination of methyldopa in pharmaceutical formulations, *Eclética Química*, *Talanta*, 67:240-244.

- RONA K., GACHALYI B., VERECZKEY L., NADAS B., and KALDOR A., 1987. Comparative bioavailability study of two preparations of alpha-methyl dopa after single, oral doses, *Journal Pharmacology Ther. Toxicol*, 25:515-518.
- SALEM F. B., 1985. Colorimetric Determination of Certain Sympathomimetic Amines, *Analytical letters*, 18:1063-1075.
- SALEM, F.B., 1993. Spectrophotometric and Fluorimetric Determination of Catecholamines, *Analytical letters*, 26:281-294.
- VAARMANN A., KASK A., and MAEORG U., 2002. Novel and sensitive high-performance liquid chromatographic method based on electrochemical coulometric array detection for simultaneous determination of catecholamines, kynurenine and indole derivatives of tryptophan, *Journal Chromatography Bio Analytical Technol Biomed Life Science*, 769: 145-153.
- VIEIRA I. C., FATIBELLO O., and FILHO, 1998. Spectrophotometric determination of methyl dopa and dopamine in pharmaceutical formulations using a crude extract of sweet potato root as enzymatic source, *Analytica Chimica Acta, Talanta*, 46: 559-564.
- YANG J. H., ZHANG G. L., WU X., HUANG F., LIN C. G., CAO X. H., SUN L. M., and DING Y., 1998. Fluorimetric determination of epinephrine with o-phenylenediamine, *Journal Analytical Chimica Acta*, 363:105-110.
- YAO H., SUN Y. Y., LIN X. H., CHEN J. H., and HUANG L. Y., 2006. Flow-injection chemiluminescence determination of catecholamines based on their enhancing effects on the luminol-potassium periodate system, *Luminescence*, 21:112-117.
- YAO H., SUN Y., LIN X., TANG Y., LIU A., LI G., LI W., and ZHANG S., 2007. Selective Determination of Epinephrine in the Presence of Ascorbic Acid and Uric Acid by Electrocatalytic Oxidation at Poly(eriochrome Black T) Film-modified Glassy Carbon Electrode, *Analytical Sciences*, 23: 677-682.
- ZHENG X. W., GUO Z. H., and ZHANG Z. J., 2001. Identification of isoflavone conjugates in red clover (*Trifolium pratense*) by liquid chromatography-mass spectrometry after two-dimensional solid-phase extraction, *Analytical Chimica Acta*, 441:81-97.
- ZHU X., SHAW P. N., and BARRETT D. A., 2003. Catecholamines derivatized with 4-fluoro-7-nitro-2,1,3-benzoxadiazole: characterization of chemical structure and fluorescence properties, *Analytical Chimica Acta*, 478: 259-269.
- ZIVANOVIC L., VASILJEVIC S., and RADULOVIC D., 1991. Colorimetric assay of methyl dopa bulk drug and tablets as its Fe(III) complex, *Boll Chim Farm*, 130:162-165.

## **ÖZGEÇMİŞ**

13 Mart 1982 tarihinde Şanlıurfa' da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Şanlıurfa' da tamamladı. Yüksek öğrenimini 2004 yılında Harran Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Kimya bölümünde tamamladı. Halen aynı üniversitenin kimya bölümünde yüksek lisans eğitimine devam etmektedir.

## ÖZET

Bu çalışmada, poly(1-methylpyrrole) ile modifiye edilen bir camı karbon elektrot kullanarak hem methyldopa ve hem de epinephrine için hızlı, tekrarlanabilir ve duyarlı bir yöntem geliştirilmiştir. Poly(1-methylpyrrole)/GCE sistemi pH'ı 4.0 olan 0.1 M fosfat tampon çözeltisinde hem methyldopa ve hem de epinephrine'nin yükseltgenmesine karşı mükemmel bir elektrokatalitik etki göstermiştir. Yalın bir camı karbon elektrot ile karşılaştırıldığında, modifiye elektrot sistemi methyldopa ve epinephrine'nin yükseltgenme potansiyellerinde katodik yönde önemli bir kayma ve anodik pik akımlarında şiddetli bir artış meydana getirmiştir. Elde edilen sonuçlar, methyldopa'nın anodik pik akımlarının  $5 \times 10^{-6}$  M ile  $1.5 \times 10^{-4}$  M arasında konsantrasyon aralığında doğrusal olduğunu göstermiştir. Methyldopa için kalibrasyon eşitliği  $I_{pa} (\mu A) = 0.88341 + 0.17027 C (\mu M)$  olarak hesaplanmıştır. Korelasyon katsayısı ise 0.9972 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, methyldopa'nın saptama sınırı  $1.26 \times 10^{-7}$  M olarak belirlendi. Poly(1-methylpyrrole)/GCE yüzeyinde epinephrine'nin anodik pik akımı,  $1.0 \times 10^{-6}$  M ile  $5.0 \times 10^{-4}$  M arasındaki epinephrine konsantrasyonları ile doğru orantılı olarak artmıştır. Kalibrasyon eşitliği ise,  $I_{pa} (\mu A) = 0.99207 + 0.257868 C (\mu M)$  olarak hesaplanmıştır. Kalibrasyon denklemi için korelasyon katsayısı 0.9988 olarak bulunmuştur. Epinephrine için en düşük saptama sınırı,  $5.6 \times 10^{-7}$  M olarak hesaplanmıştır. Poly(1-methylpyrrole)/GCE sistemi, hem askorbik asit ve hem de ürik asit varlığında bile methyldopa veya epinephrine'nin saptanmasına imkân vermiştir. Poly(1-methylpyrrole) ile modifiye edilen camı karbon elektrotu methyldopa ve epinephrine'nin saptanması için ilaç örneklerine başarılı bir şekilde uygulanmıştır.



## SUMMARY

In this study, a reproducible method for the determination of both methyl dopa and epinephrine has been developed using a poly(1-methylpyrrole) modified glassy carbon electrode. The poly(1-methylpyrrole)/GCE system showed an excellent electrocatalytic activity on the oxidation of both methyl dopa and epinephrine in 0.1 M phosphate buffer solution at pH 4.0. Compared with a bare glassy carbon electrode, the modified electrode exhibits a remarkable shift of the oxidation potentials of methyl dopa and epinephrine in the cathodic direction and a drastic enhancement of the anodic current responses. The results showed that the response of anodic peak currents of methyl dopa at poly(1-methylpyrrole) was linear with the concentration of methyl dopa in the range of  $5.0 \times 10^{-6} \sim 1.5 \times 10^{-4}$  M. The linear regression equation was  $I_{pa} (\mu A) = 0.88341 + 0.17027 C (\mu M)$  with a correlation coefficient of 0.9972. Furthermore, the detection limit was found to be  $1.26 \times 10^{-7}$  M. The response of anodic peak currents of epinephrine at poly(1-methylpyrrole) was linear with the concentration of epinephrine in the range of  $1.0 \times 10^{-6} \sim 5.0 \times 10^{-4}$  M. The linear regression equation was  $I_{pa} (\mu A) = 0.99207 + 0.25786 C (\mu M)$  with a correlation coefficient of 0.9988. The detection limit for epinephrine was determined to be  $5.6 \times 10^{-7}$  M. The poly(1-methylpyrrole)/GCE system has also enabled the determination methyl dopa or epinephrine in the presence of both ascorbic acid and uric acid. The poly(1-methylpyrrole) modified glassy carbon electrode has successfully been applied for determination of methyl dopa and epinephrine in drug samples.