

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



**COVID-19 TEDAVİSİNDE KULLANILAN OSELTAMİVİR İLAÇ ETKEN
MADDESİNİN DNA BİYOSENSÖRÜ İLE ELEKTROKİMYASAL ANALİZİ**

Ali KEÇECİ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYASAL TEKNOLOJİLER ANABİLİM DALI**

1. DANIŞMAN

Doç. Dr. Yeliz İPEK

2. DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Berna KOÇAK

TUNCELİ-2023

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**COVID-19 TEDAVİSİNDE KULLANILAN OSELTAMİVİR İLAÇ ETKEN
MADDESİNİN DNA BİYOSENSÖRÜ İLE ELEKTROKİMYASAL ANALİZİ**

Ali KEÇECİ
(200160010)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYASAL TEKNOLOJİLER ANABİLİM DALI

1. DANIŞMAN
Doç. Dr. Yeliz İPEK
2. DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Berna KOÇAK

TUNCELİ-2023

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

COVID-19 TEDAVİSİNDE KULLANILAN OSELTAMİVİR İLAÇ ETKEN
MADDESİNİN DNA BİYOSENSÖRÜ İLE ELEKTROKİMYASAL ANALİZİ

Ali KEÇECİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYASAL TEKNOLOJİLER ANABİLİM DALI

Bu tez 22/06/2023 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **oy birliği** ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Tuğba TABANLIGİL CALAM
(Gazi Üniversitesi)
BAŞKAN

Dr. Öğr. Üyesi Nedim GÜRLER
(Munzur Üniversitesi)
ÜYE

Doç. Dr. Yeliz İPEK
Munzur Üniversitesi
DANIŞMAN

Bu tez Enstitümüz Kimyasal Teknolojiler Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

Doç. Dr. Murat KORUNUR

Enstitü Müdürü

Bu çalışma Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü tarafından **YLMUB022-09** no'lu proje ile desteklenmiştir.

NOT: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı "Fikir ve sanat eserleri kanunu"ndaki hükümlere tabidir.

19/06/2023

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Ali KEÇECİ

Danışman
Doç. Dr. Yeliz İPEK

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmamda, bana yol gösteren, bilgi, birikim ve desteğini esirgemeyen tez danışmanım Doç. Dr. Yeliz İPEK'e ve tez 2. danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Berna KOÇAK'a, en içten teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, her kararında yanımda duran, maddi manevi desteğini esirgemeyen aileme en içten teşekkürlerimi borç bilirim.

Ali Keçeci
TUNCELİ-2023



İÇİNDEKİLER

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	I
TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	V
TABLolar LİSTESİ.....	VII
SEMBOLLER LİSTESİ.....	VIII
KISALTMALAR LİSTESİ.....	IX
ÖZET.....	X
ABSTRACT.....	XI
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Elektroanalitik Yöntemler.....	3
1.2. Voltametri.....	4
1.3. Voltametrik Teknikler.....	5
1.3.1. Dönüştürümlü voltametri (DV).....	5
1.3.2. Diferansiyel puls voltametrisi (DPV).....	6
1.3.3. Karedalga voltametrisi (KDV).....	7
1.4. Voltametride Kullanılan Elektrotlar.....	7
1.4.1. Çalışma elektrotları.....	7
1.4.2. Voltametride kullanılan referans (karşılaştırma) elektrotları.....	9
1.4.3. Yardımcı elektrot.....	10
1.5. Elektrokimyasal Sensörler.....	11
1.6. Elektrokimyasal Biyosensörler.....	11
1.6.1. Amperometrik biyosensörler.....	12
1.6.2. Potansiyometrik elektrokimyasal biyosensörler.....	12
1.6.3. Kondüktrometrik biyosensörler.....	13
1.6.4. Biyokatalitik biyosensörler.....	13
1.6.5. Afinite biyosensörleri.....	14
1.7. DNA'nın Yapısı.....	15
1.8. DNA Biyosensörleri.....	15
1.8.1. DNA biyosensörlerinin geliştirilmesinde kullanılan immobilizasyon yöntemleri ..	16
1.9. İlaç-DNA Etkileşimi Temelli Biyosensörler.....	17
1.10. COVID-19 Tedavisinde Kullanılan İlaç Etken Maddeleri.....	18
1.10.1. Favipiravir.....	18
1.10.2. Molnupiravir.....	20
1.10.3. Lopunavir.....	20
1.10.4. Remdesivir.....	20
1.10.5. Oseltamivir.....	21
2. MATERYAL VE METOT.....	23
2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	23
2.2. Kullanılan Cihazlar.....	23
2.3. Modifiye Elektrodun Hazırlanması.....	25
2.4. Tablet ve İdrar Numunelerinin Hazırlanması.....	26
2.5. Modifiye Elektrodun Karakterizasyonu.....	26
3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	28
3.1. Optimum Çalışma Parametrelerinin Belirlenmesi.....	28
3.1.1. Optimum pH'ın belirlenmesi.....	28
3.1.2. Kullanılacak ölçüm tekniğinin belirlenmesi.....	28

3.1.3. DPV tekniğinin parametrelerinin optimizasyonu.....	29
3.2. Oseltamivirin CKE, GA ₂ /CKE, GA ₂ -Guanin/CKE Elektrotlarının Yüzeyinde Elektrokimyasal Davranışı	29
3.3. Optimum pH'ın Belirlenmesi	33
3.4. Modifiye Elektrodun Hazırlanması.....	35
3.5. Elektrot Karakterizasyonu	37
3.5.1. Fourier transform infrared analizi (FTIR)	37
3.5.2. Stereo mikroskop incelemesi	38
3.5.3. Tarama hızı ile elektrot karakterizasyonu.....	39
3.6. OST'nin Elektrokimyasal Analizi.....	45
3.7. Tablet ve İdrar Numunelerinde OST Analizi	46
4. SONUÇ VE ÖNERİLER	50
5. KAYNAKÇA.....	52
ÖZGEÇMİŞ	



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1.	Oseltamivirin kimyasal yapısı.....	22
Şekil 2.1.	Ivium pocketSTAT potansiyostat/ galvanostat empedans analizörü.....	24
Şekil 2.2.	Elektrokimyasal hücrenin yerleştirildiği, manyetik karıştırma ve inert gaz ile süpürme standı (C4 hücre standı).....	25
Şekil 3.1.	CKE elektrot kullanarak pH 11,0 BR tamponu çözeltisi içerisinde (-) 1,5-(+)1,5 V potansiyel aralığında elde edilen DPV voltamogramı (a) ve ortama $1,5 \times 10^{-5}$ mol·L ⁻¹ OST eklenmesiyle (-)1,5 V-(+)1,5 V potansiyel aralığında kaydedilen DPV voltamogramı (b).....	30
Şekil 3.2.	GA ₂ /CKE elektrot kullanarak pH 11,0 BR tamponu çözeltisi içerisinde elde edilen DPV voltamogramı (a) ve ortama $1,5 \times 10^{-5}$ mol·L ⁻¹ OST eklenmesiyle kaydedilen DPV voltamogramı (b).....	31
Şekil 3.3	GA ₂ -Guanin/CKE elektrot kullanarak pH 11,0 BR tamponu çözeltisi içerisinde elde edilen DPV voltamogramı (a) ve ortama $1,5 \times 10^{-5}$ mol·L ⁻¹ OST eklenmesiyle kaydedilen DPV voltamogramı (b).....	32
Şekil 3.4.	Döngüsel Voltametri (DV) tekniği kullanılarak elde edilen pH-pik akımı grafiği.....	33
Şekil 3.5.	Diferansiyel puls voltametrisi (DPV) tekniği kullanılarak elde edilen pH-pik akımı grafiği.....	34
Şekil 3.6.	Kare dalga voltametrisi (KDV) tekniği kullanılarak elde edilen pH-I _p grafiği.....	34
Şekil 3.7.	GA ₂ /CKE elektrodu ile pH 11,0 BR tamponu içerisinde 0,0 V-1,4 V potansiyel aralığında DV, KDV ve DPV teknikleri ile elde edilen voltamogramlar.....	37
Şekil 3.8.	Guanin, GA ₂ ve GA ₂ -Guanin ince filmlerinin FTIR analizi.....	38
Şekil 3.9.	GA ₂ /CKE elektrodu mikroskop görüntüleri.....	39
Şekil 3.10.	GA ₂ -Guanin/CKE elektrodu mikroskop görüntüleri.....	39
Şekil 3.11.	CKE elektrodunun 10^{-3} mol·L ⁻¹ K ₃ Fe(CN) ₆ ve 10^{-1} mol·L ⁻¹ KNO ₃ içeren 10 mL çözelti içerisine daldırılarak, 0,0 V-1,4 V potansiyel aralığında ve 5-1000 mVs ⁻¹ tarama hızı aralığında elde edilen log v-log I _p grafiği.....	40
Şekil 3.12.	GA ₂ -Guanin/CKE elektrodunun 10^{-3} mol·L ⁻¹ K ₃ Fe(CN) ₆ ve 10^{-1} mol·L ⁻¹ KNO ₃ içeren 10 mL çözelti içerisine daldırılarak, 0,0 V-1,4 V potansiyel aralığında ve 5-1000 mVs ⁻¹ tarama hızı aralığında elde edilen log v-log I _p grafiği.....	42
Şekil 3.13.	GA ₂ -Guanin/CKE elektrodunun 10^{-3} mol·L ⁻¹ K ₃ Fe(CN) ₆ ve 10^{-1} mol·L ⁻¹ KNO ₃ içeren 10 mL çözelti içerisine daldırılarak, 0,0 V-1,4 V potansiyel aralığında ve 5-1000 mVs ⁻¹ tarama hızı aralığında elde edilen ve guaninin yükseltgenme pikine göre çizilen log v-log I _p grafiği.....	44
Şekil 3.14.	CKE elektrodunun 10^{-3} mol·L ⁻¹ K ₃ Fe(CN) ₆ ve 10^{-1} mol·L ⁻¹ KNO ₃ içeren 10 mL çözelti içerisine daldırılarak, 0,0 V-1,4 V potansiyel aralığında ve 5-1000 mVs ⁻¹ tarama hızı aralığında elde edilen v ^{1/2} -I _p grafiği.....	43

Şekil 3.15.	GA ₂ -Guanin/CKE (%5 GA ₂ +0.25 mg·mL ⁻¹ guanin ile modifiye edilmiş) elektrodunun 10 ⁻³ mol·L ⁻¹ K ₃ Fe(CN) ₆ ve 10 ⁻¹ mol·L ⁻¹ KNO ₃ içeren 10 mL çözelti içerisinde daldırılarak, 0,0 V-1,4 V potansiyel aralığında ve 5-1000 mVs ⁻¹ tarama hızı aralığında elde edilen $v^{1/2}$ - I_p grafiği.....	44
Şekil 3.16	GA ₂ -Guanin/CKE elektrodu kullanılarak, pH 11,0 BR tampon çözeltisi içerisinde OST'nin DPV tekniği ile analizi.....	46
Şekil 3.17.	GA ₂ -Guanin/CKE elektrodu kullanılarak, pH 11,0 BR tampon çözeltisi içerisinde tablet çözeltisi eklenerek OST'nin DPV tekniği ile analizi.....	48
Şekil 3.18.	GA ₂ -Guanin/CKE elektrodu kullanılarak, 9 mL pH 11,0 BR tampon ve 1 mL idrar karışımından oluşan çözeltisi içerisinde OST'nin DPV tekniği ile analizi.....	49



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 3.1. Farklı birleşimlere sahip GA ₂ -Guanin/CKE elektrotları ve DPV tekniğinin uygulanması ile elde edilen guanin pik akımları.....	36
---	----



SEMBOLLER LİSTESİ

A	: Amper
cm	: Santimetre
E	: Potansiyel
I	: Akım
L	: Litre
mL	: Mililitre
mV	: Mili volt
pH	: Hidrojen potansiyeli
s	: Saniye
V	: Volt



KISALTMALAR LİSTESİ

CKE	: Camsı karbon elektrot
COVID-19	: Koronavirüs salgını 2019
DCE	: Damlayan civa elaktrot
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DPV	: Diferansiyel puls voltametri
DV	: Dönüşümlü voltametri
FAV	: Favipiravir
GA₂	: Glutardialdehit
HPLC	: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
IUPAC	: Uluslararası saf ve uygulamalı kimya
KDV	: Kare dalga voltametri
KPE	: Karbon pasta elektrot
LOD	: Gözlenebilme sınırı
LOQ	: Tayin edilebilme sınırı
LPV	: Lopunavir
MBP	: Moleküler baskılı polimer
MOL	: Molnupiravir
OST	: Oseltamivir
PGE	: Kalem grafit elektrot
rGO	: İndirgenmiş grafen oksit
RMD	: Remdesivir
RNA	: Ribonükleik asit
RTV	: Ritonavir
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
SHE	: Standart hidrojen elektrot
SPCE	: Perde baskılı karbon elektrot

ÖZET

COVID-19 tedavisi için çeşitli antiviral ilaçlar kullanılmaktadır ve çeşitli ilaçlar araştırılmaktadır. Favipiravir (FAV), alfa-interferon, umifenovir, remdesivir (RMD), ribavirin, lopinavir (LPV)-ritonavir, oseltamivir (OST) vb. ilaç etken maddeleri kullanılarak COVID-19 için umut verici klinik sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmada COVID-19 tedavisinde kullanılan ilaç etken maddesi OST'nin elektrokimyasal teknikler kullanılarak, kantitatif analizi gerçekleştirilmiştir. Böylece ilaç üretim aşamalarında ilaç dozunun kalite kontrolü ve etken maddenin idrarla atılımını takip edip ilaç tasarımı çalışmalarında kullanılacak bir elektrokimyasal sensör geliştirilmiştir. Bu amaçla camı karbon elektrot çalışma elektrodu olarak modifiye edilip, kullanılmıştır. Camı karbon elektrot tek başına OST'nin varlığını algılayamaz. Bu nedenle, OST ile etkileşime girdiği belirlenen ve DNA yapısında bulunan guanin bazı, ajan olarak kullanılmıştır. Camı karbon elektroda, bir çapraz bağlayıcı olan glutardialdehit kullanılarak DNA yapısında bulunan guanin bazı immobilize edilmiştir (GA₂-Guanin/CKE elektrodu).

OST'nin elektrokimyasal olarak analizine olanak sağlayan sensör, hızlı, düşük maliyetli ve yüksek doğruluk derecesine sahip analiz olanağı sunmuştur. Diferansiyel puls voltametri tekniği kullanılarak, Britton-Robinson tamponu (BR; pH 11,0) içerisinde yaklaşık +0,45 V'da (Ag/AgCl'ye karşı) iyi tanımlanmış tersinmez bir yükseltgenme sinyali analiz için kullanılmıştır.

Geliştirilen bu elektrot ve yöntem, farmasötik formülasyonda ve insan idrar numunelerinde bulunan OST miktarını bulmak için başarıyla uygulanmıştır. BR tampon çözeltisi, tablet numunesi ve idrar numunesi için iki çalışma aralığı saptanmış olup, LOD değerleri sırasıyla $7,16 \times 10^{-9}$ mol·L⁻¹, $9,05 \times 10^{-9}$ ve $6,19 \times 10^{-6}$ mol·L⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Önerilen sensör için geri kazanım oranı %86,6-%103,5 aralığında değişmektedir.

Anahtar kelimeler: Oseltamivir, elektrokimyasal sensör, camı karbon elektrot, DNA temelli biyosensör, COVID-19

ABSTRACT

Electrochemical Analysis of Oseltamivir Drug Active Agent Used in the Treatment of COVID-19 with DNA Biosensor

Various antiviral drugs are used for the treatment of COVID-19, and various drugs are under investigation. Promising clinical results have been obtained in the treatment of COVID-19 by using favipiravir (FAV), alpha-interferon, umifenovir, remdesivir (RMD), ribavirin, lopinavir (LPV)-ritonavir, oseltamivir (OST) etc. drug active agents. In this study, quantitative analysis of OST, the drug active ingredient used in the treatment of COVID-19, was carried out using electrochemical techniques. Thus, an electrochemical sensor has been developed that can be used in the quality control of the drug dose in drug production stages and can be used in drug design studies by monitoring the urinary excretion of the active substance. For this purpose, a modified glassy carbon electrode was used as a working electrode. The glassy carbon electrode alone can not detect the presence of OST. Therefore, guanine base, which was determined to interact with OST and found in the DNA structure, was used as an agent. The guanine base in the DNA structure was immobilized on the glassy carbon electrode by using glutardialdehyde, a crosslinker (GA₂-Guanine/CKE electrode).

The sensor, which enables the electrochemical analysis of OST, offered a fast, low-cost and high-accuracy analysis opportunity. Using the differential pulse voltammetry technique, a well-defined irreversible oxidation signal at approximately +0,45 V (vs. Ag/AgCl) in Britton-Robinson buffer (BR; pH 11,0) was used for analysis.

This developed electrode and method has been successfully applied to find the amount of OST present in pharmaceutical formulation and human urine samples. Two working ranges were determined for the BR buffer solution, tablet sample, and urine sample, with the lowest detection limits (LOD) calculated as $7,16 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $9,05 \times 10^{-9}$ and $6,19 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively. The recovery rate for the proposed sensor ranges between 86,6% and 103,5%.

Keywords: Oseltamivir, electrochemical sensor, glassy carbon electrode, DNA based biosensor, COVID-19

1. GİRİŞ

Maddenin elektrik enerjisi uygulandığı zaman, kimyasal ve fiziksel değişikliklerle tepki vermesini ve kimyasal enerjinin elektrik enerjisine dönüştürülmesini inceleyen bilim dalına elektrokimya denir (Yardım, 2009). Elektrokimyasal reaksiyonlar, redoks denilen yükseltgenme–indirgenme tepkimeleridir. Elektrokimyasal redoks tepkimelerinin gerçekleştirildiği düzeneğe elektrokimyasal hücre denir (Turan, 2009). Elektrokimyasal hücre, içerisinde incelenen maddenin çözünmüş olduğu ve elektrolitik özellik sağlayan çözünmüş tuz/tuzlar içeren bir çözelti, maddenin redoks tepkimesi verdiği elektrotları ve bu elektrotların birbirine bağlandığı dış bir devreden oluşur (Şengiz, 2016).

Bir maddenin elektrokimyasal tepkimelerini ölçebilmek için; analitin (incelenen madde) içerisinde bulunduğu bir çözelti, analitin kimyasal dönüşüme maruz kaldığı bir elektrot sistemi (sensör çalışmaları için üçlü elektrot sistemi) ve elektrotların birbirine bağlandığı bir transistör sistemi gereklidir (Yardım, 2009). Üçlü elektrot sisteminde referans elektrot, çalışma elektrodu ve yardımcı elektrot bulunur (Budak, 2020). Elektriksel iletkenliği sağlayan elektrolitik çözelti olarak genellikle tampon çözeltiler kullanılır. Elektroanalitik kimyada, analizi üzerinde çalışılacak çözelti için uygun bir nicel analiz yöntemi gerekir. Elektroanalitik teknikler kullanılarak oldukça düşük tayin limitlerine ulaşılabilmektedir. Ayrıca; ara yüzeydeki yük aktarımı stokiyometrisi ve hızı, kimyasal reaksiyonların hızı, adsorpsiyon derecesi, kütle transfer hızı ve denge sabiti gibi bilgiler açısından sistem karakterize edilebilir (Yardım, 2009).

Elektroanalitik kimyada analitin çözeltisinin elektrokimyasal özelliklerini belirlemek amacıyla farklı analitik yöntemler kullanılabilir. Elektroanalitik teknikler analite özgü olduğundan, çok düşük tayin sınırlarına ulaşılabilmektedir. Elektroanalitik teknikler genel olarak statik teknikler ve dinamik teknikler olarak iki temel sınıfta incelenir. Dinamik tekniklerde akım yokluğunda, statik tekniklerde ise akım varlığında ölçümler yapılır. Potansiyometrik ölçümlerden oluşan statik yöntemler, analitik çalışmalarda yüksek seçicilik ve yüksek hız sağladığı için kullanışlıdır. Elektrokimyasal hücrelerdeki akımın şiddeti, analiz çalışmaları için önemlidir. Ölçüm yapılırken, hücre potansiyelinin kontrol edilmesi gerekmektedir. Bu tekniklerin hem duyarlılığı yüksektir, hem de geniş çalışma konsantrasyonu aralığı sunar. Ayrıca bu analizler nano veya mikro seviyesindeki konsantrasyonlara sahip maddelerin analizi için de uygulanabilmektedirler. Bazı elektrokimyasal yöntemler kullanılarak doğru akım varlığında, dönüşümlü voltametri

(DV), difarensiyel puls voltametri (DPV) gibi tekniklerle de çalışma elektrodunun ölçüm yapabildiği ve iki potansiyel değeri aralığında analitin redoks tepkimesi ile oluşan piklerin akım şiddeti ölçülmektedir (Yanık, 2020).

“Elektrokimyasal reaksiyonlar, elektrokimyasal hücrede gerçekleştirilen ve elektron transferi sayesinde yükseltgenme–indirgenme olayının meydana geldiği redoks tepkimeleridir” (Skoog ve ark., 1998). Elektrokimyasal hücreler enerji üretiyorsa "galvanik hücre", elektriği harcıyorsa "elektrolitik hücre" adını alır. Bir hücrenin deneysel koşulları değiştirilerek hem galvanik hem de elektrolitik hücre gibi kullanılabilir. Elektrokimyasal hücrelerde ikili veya üçlü elektrot sistemi kullanılabilir. Yapılacak çalışmaya uygun elektrolitik çözelti içerisine daldırılırlar. Bu elektrotlar hücrenin dışında bir elektrik devresi ile birbirine bağlanır. Elektrokimyasal hücrede katotta indirgenme reaksiyonu, anotta ise yükseltgenme reaksiyonu meydana gelir (Skoog ve ark., 1998). Elektrokimyasal teknikler potansiyometrik ve potansiyostatik olarak iki farklı grupta toplanabilir. Örnek olarak, pH metre kullanılarak çözeltideki protonların ölçülmesi potansiyometrik teknik iken, meydana gelen redoks tepkimelerinin ölçülmesi potansiyostatik tekniklerdir. Elektrokimyasal tekniklerin avantajları:

- ✓ Elektrokimyasal tekniklerde tepkime hızı kontrol edilebilir.
- ✓ Elektrokimyasal teknikler, genellikle kimyasal maddelerin aktiflikleri konusunda bilgi verir.
- ✓ Elektrokimyasal tekniklerde kullanılan ekipman ve cihazlar oldukça ucuzdur.
- ✓ Elektrokimyasal tekniklerde çok az kimyasal madde kullanıldığı için çevreye zarar vermezler.

Elektrokimyasal tekniklerin dezavantajları:

- ✓ Elektrokimyasal tepkimeler bunun için yapılmış özel hücrelere gereksinim duyarlar.
- ✓ Elektrokimyasal tepkimeler heterojendir.
- ✓ Elektrokimyasal tepkimelerde kullanılan elektrolitler bir kez kullanılırlar (Erol, 2020).

Elektrokimyasal tepkimelerin kimyasal tepkimelere göre avantajı, geniş bir bakış açısıyla değerlendirildiğinde voltaj veya akımın ayarlanabilir olması sonucu ortaya çıkan serbestlik derecesinden kaynaklanmaktadır. Elektroaktif türlerin enerjisini oda sıcaklığında, sürekli ve kontrollü bir şekilde değiştirmek ve oluşacak ürünleri oldukça seçici bir reaktivite aralığında elde etmek mümkündür (Zoski, 2006; Bilge Yücel, 2021).

1.1. Elektroanalitik Yöntemler

Maddenin elektriksel etki altındaki davranışlarını ve iletken ara yüzeylerde elektrik enerjisi uygulandığı zaman meydana gelen tepkimeleri inceleyen ve kimyanın bir yan dalı olan bilim dalına elektrokimya denir. Maddelerin elektrokimyasal tepkilerini onları analiz etmek amacıyla kullanılan yöntemlere de elektroanalitik metotlar denir. Elektroanalitik yöntemler, farklı redoks basamağına sahip türlerin aynı anda hızlı bir şekilde analiz edilebilmesi, yöntemlerin uygulanmasında kullanılan ekipmanların ve bilgisayar yazılımlarının geleneksel analiz cihazları olan kromatograflar ve spektrofotometrelere göre çok daha ekonomik kullanımı kolay olmalarından dolayı oldukça üstündür. Birçok farklı elektroanalitik yöntem bir cihazda uygulanabilmektedir (Sultan, 2013).

Elektroanalitik yöntemler, kalitatif ve kantitatif analizlerin yapılabilmesinde analitin elektrokimyasal tepkilerinden yararlanır (Henden ve ark., 2001). Elektroanalitik tekniklerde, çözelti içerisinde bulunan bir maddeye elektriksel bir etki uygulanır ve bu etkiye karşı verilen tepki ölçür. Genellikle etki olarak akım verilmekte ve elektrokimyasal sistem hakkında bilgi edinilmektedir. Elektrokimyasal yöntemler potansiyel, akım ve zaman gibi değişkenler içermekte ve uygulanan teknik bu değişkenlere göre isimlendirilmektedir (Duran, 2009). Elektroanalitik teknikler başta endüstriyel esaslı materyaller olmak üzere, ilaç etken maddelerine, biyolojik sıvı ve biyolojik analiz örneklerine uygulanmaktadır (Bilge Yücel, 2021). Elektrokimyasal ölçüm tekniklerinin kullanıldığı birçok alanlardan bazıları; biyomedikal analiz cihazları, çevresel izleme ve sanayi ölçekli kalite kontrol birimleridir. Elektrokimyasal analizler, çoğu kimyasal süreçlerin aksine homojen değil, elektrot yüzeyi-çözelti arayüzeyinde gerçekleşen heterojen süreçlerdir (Wang, 2000). Elektroanalitik metotlarda akım veya potansiyel kontrollü bir şekilde değiştirilebilmekte ve farklı ölçümler gerçekleştirilebilmektedir (Erol, 2020).

Elektroanalitik metotlardan dinamik metotlar çoğunlukla ya potansiyel kontrollü veya akım kontrollüdür. Potansiyel veya akımın kontrollü bu metotlarda parametreler büyük veya küçük genlikli olarak uygulanır. Çoğunlukla büyük genlikli teknikler kullanılmaktadır. Elektroanalitik yöntemlerde, ara yüzeyde veya çözelti içerisinde gerçekleşen tepkimelerin incelendiği yöntemler bulunur. Ara yüzey tepkimelerinin incelendiği yöntemlerde; kimyasal ve fiziksel değişimler, elektrot yüzeyi ve bu yüzeyle

temasta olan ince ve durağan bir çözelti tabakası arasında gerçekleşir. Ara yüzeyler için kullanılan yöntemlerden biri olan voltametri; yüksek hassasiyet, seçicilik ve uygulama kolaylığı gibi özellikleriyle oldukça sık kullanılmaktadır (Yıldız ve ark., 1997; Skoog ve ark., 1998; Wang, 2000). Voltametri, elektroanalitik yöntemler arasında en çok kullanılan yöntemdir (Doğan Topal, 2011).

Elektroanalitik yöntemlerin en önemli üstünlükleri; genellikle bir maddenin ya da iyonun sadece bir yükseltgenme basamağının tayin edilebilir olması, kullanılan cihazların göreceli olarak ucuz olması ve kimyasal maddelerin aktiviteleri hakkında sunmasıdır (Yardım, 2009).

1.2. Voltametri

1920'lerin başında, Çekoslovak kimyacı Jaroslav Heyrovsky tarafından polarografi tekniğine dayanarak voltametri tekniği geliştirilmiştir. Polarografi, çalışma elektrodu olarak bir damlayan civa elektrodu kullanılması yönüyle diğer voltametrik yöntemlerden farklıdır (Bostancı, 2016).

Voltametri, çalışma elektrodu veya bir indikatörün polarize olduğu şartlar altında, analit ile ilgili bilgi edinme esasına dayanan ve uygulanan değişken potansiyel karşısında değişen akımın ölçüldüğü elektroanalitik yöntemleri ifade etmek için kullanılan bir terimdir (Skoog ve ark., 1996). İkili veya üçlü elektrot sistemleri kullanılarak ölçülen akım-potansiyel grafikleri elde edilmektedir. Çeşitli potansiyel fark kaynakları kullanılabilirdiği gibi farklı malzemelerden oluşmuş çalışma elektrotları da kullanılmaktadır (Sultan, 2013).

Voltametrizde en çok mikroelektrotlar kullanılmaktadır. Polarizasyonu arttırmak için yüzey alanı küçük olan bu elektrotlar tercih edilebilmektedir (Skoog ve ark., 1998; Yıldız ve Genç, 1993). Voltametrizde kullanımı tercih edilen çalışma elektrotlarının yüzey alanı ölçüsü birkaç milimetre kare veya birkaç mikrometrekare olmaktadır (Yardım, 2009). Gerilim zamanla değişmekle birlikte, mikroçalışma elektrodu ile yardımcı elektrot arasına uygulanan gerilime karşı, çalışma elektrodu ile yardımcı elektrot arasındaki akım değişimi ölçülür (Şengiz, 2016). Değişen potansiyel farkın değerlerine karşı akım grafiğe geçirildiğinde akımpotansiyel eğrisi denilen bir eğri ortaya çıkar (Yılmaz, 2021). Diğer bir ifadeyle ölçülen akım değeri ile uygulanan potansiyel arasında çizilen grafiğe voltamogram denir (Şengiz, 2016).

Voltametrizde analite uygun elektrokimyasal teknikler kullanıldığında oldukça düşük derişimlerde yüksek hassasiyette hızlı bir analiz gerçekleştirilebilmektedir. Voltametrizde en çok kullanılan teknikler dönüşümlü voltametri, diferansiyel puls voltametrisi ve kare dalga voltametrisidir (KDV). Bu voltametrik yöntemler arasından özellikle diferansiyel puls ve kare dalga voltametri yöntemleri kolay uygulanabilme, düşük maliyet ve kısa analiz süresine sahip olma gibi üstün özellikleri edeniyile ilaç analizde tercih edilmektedir. Bu elektrokimyasal metotlarda, redoks tepkimeleri baz alındığı için geleneksel analitik metotlara nispeten oldukça hassas ve seçici analizler yapılabilmektedir (Yanık, 2020).

Yüzeyde gerçekleşen adsorpsiyon olayının incelenmesi ve çeşitli yöntemlerle modifiye edilmiş elektrotların yüzeylerinde gerçekleşen elektron transfer mekanizmalarının aydınlatılması gibi konularda yaygın bir şekilde voltametri tekniklerinden yararlanılmaktadır. Voltametrizde kullanılan çalışma elektrotları; altın, platin, rutenyum benzeri inert metallar, camsı karbon, pirolitik grafit, bor katkılı elmas, iridyum oksit ve çinko oksit gibi yarı iletken malzemelerden elde edilmiş elektrotlardır (Özkan ve ark.,1998; Panzer, 1972; Tjaden ve ark., 1976; Shearer ve ark., 1972). Dönen, titreşen veya sabit tipleri bulunan katı elektrotların disk, tel ve levha biçiminde olanları da vardır (Doğan Topal, 2011).

1.3. Voltametrik Teknikler

1.3.1. Dönüşümlü voltametri (DV)

Elektrokimyasal çalışmaların birçoğunda döngüsel voltametri mutlaka kullanılmaktadır. Bu nedenle en yaygın kullanılan voltametri tekniğidir. Kalitatif analizde yaygın olarak tercih edilmektedir (Yanık, 2020). Dönüşümlü voltametri tekniğinde, ileri yönde uygulanan potansiyel değişimi hedeflenen potansiyel değerine ulaştıktan sonra ters yönde doğrusal olarak azalacak şekilde başlangıç potansiyeline dönmektedir. Bu teknik analitin yükseltgenme–indirgenme tepkimelerinin aynı anda incelenebilmesine olanak tanır (Erol, 2020).

Dönüşümlü voltamogramlar, bir maddenin indirgenip yükselttiği potansiyelleri, yükseltgenip indirgendiği adım sayısını, redoks tepkimesinin tersinir olup olmadığını, elektrot reaksiyonuna bir çözelti reaksiyonunun eşlik edip etmediğini, indirgenme ya da

yükseltgenme sonucunda oluşan ürünleri kararlılığını ve elektrot yüzeyinde reaksiyona giren maddelerin yüzeye adsorbe olup olmadığını inceleme konusunda yararlıdır (Turan, 2009). Dönüşümlü voltametri de ileri ve geri yönde yapılan taramalarda tarama hızları değiştirilebilir. Üçlü elektrot sisteminin kullanıldığı bu teknikte durgun bir çözeltilerde tarama süreleri 1 ms den başlayıp 100 s ve üzeri değerlere kadar çıkabilir (Yılmaz, 2021).

İleri ve geri yönde yapılan tarama bir kez yapılabildiği gibi birçok kez tekrar tekrar ölçüm de yapılabilir. Bu yöntemle elde edilen potansiyel–akım grafiklerine dönüşümlü voltamogram denir (Yıldız ve ark., 1997). Döngüsel voltametri taraması deneyde istenen olayı gözlemleyebilmek için tek bir döngüyle tamamlanabileceği gibi, ard arda yapılan taramalarla da tamamlanabilir (Erol, 2020).

1.3.2. Diferansiyel puls voltametri (DPV)

Özellikle sensör çalışmalarında en çok tercih edilen tekniklerden biridir. Bu teknikte yavaşça yükselen bir doğru akım sinyali üzerine yükseklikleri sabit voltaj pulslarının eklenmesi ile oluşan uyarıcı bir sinyal kullanılmaktadır. Sensör çalışmalarında hassasiyeti arttırabilmek amacıyla en uygun puls genliği ve potansiyelin belirlenmesi gerekmektedir. Genellikle piklerin birbirinden ayırt edilebilmesi için 50 mV'luk bir potansiyel fark uygundur. DPV tekniği, eser miktarlardaki maddelerin tayini için tercih edilen bir tekniktir. Bu teknikte, akımının ölçüldüğü noktalarda kapasitif akımın minimum olması önemli bir avantajdır (Erol, 2020). DPV'nin diğer bir avantajı ise, 0,04 V ile 0,05 V aralığındaki yarı dalga potansiyelli maddelerle yapılan ölçümlerde dahi ayrı pikler verebilmesidir (Yılmaz, 2021). Akım, uyarma sinyalinden önce ve uyarma sinyalinin bitiminde olmak üzere iki defa ölçülür. Uygulanan pulsun belli bir zaman öncesi ve sonrasında, puls başına elde edilen akımdaki fark, doğrusal olarak artan potansiyelin fonksiyonu olarak kaydedilir (Turan, 2009). Sisteme uygulanan potansiyele karşı ölçülen akımın farkı grafiğe geçirildiğinde elde edilen diferansiyel grafik, pik şeklindedir ve bu pikin yüksekliği analitin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır (Yanık, 2020). Tersinir bir tepkimede pik potansiyeli ile yarı reaksiyonun standart potansiyeli birbirine yakındır. Doğru akım ve normal puls polarografilerinde yan yana analizler için, genelde yarı dalga potansiyelleri arasındaki farkın 120–240 mV olması gerekirken, diferansiyel puls polarografisinde bu farkın, 30–60 mV olması yeterlidir (Turan, 2009). Analit saptama limitlerinde 10^{-7} – 10^{-8} mol·L⁻¹ gibi düşük konsantrasyonlara ulaşmaya olanak sağlar.

Normal puls tekniğine göre daha duyarlıdır (Sultan, 2013). Diferansiyel puls voltametrisinin yüksek derecede hassas olması faradayik akımın artması ve faradayik olmayan yükleme akımının azalmasından kaynaklanır (Turan, 2009).

1.3.3. Kare dalga voltametri (KDV)

Kare dalga voltametri, uygulanan potansiyelin şekli açısından diferansiyel pulslara benzerlik gösterir. Bununla birlikte bu yöntem bir diferansiyel puls yöntemi olarak görülemez. Akım, değişen zamanla birlikte kare şeklinde değişir. Periyodun bir yarısında potansiyel negatif değer alırken, diğer yarısında pozitif değer alır (Yanık, 2020). Kare dalga voltametri de diferansiyel puls voltametri gibi hızlı ve hassas bir yöntemdir (Yılmaz, 2021). Düşük derişimlerde çalışmalar yapılabileceği gibi analitin analizinde en uygun yöntem deneysel çalışmalarla belirlenebilir. DPV tekniğinde olduğu gibi tayin sınırları 10^{-7} – 10^{-8} mol·L⁻¹ civarında olabilmektedir (Erol, 2020). Voltamogramın tamamı 10 milisaniyeden kısa bir sürede elde edilebilir. Ölçüm hızı son derece yüksek olduğu için analizin kesinliğini artırma amaçlı birkaç voltametrik taramanın ortalaması alınabilmektedir (Yanık, 2020).

1.4. Voltametri Kullanan Elektrotlar

Voltammetride iki ya da üç elektrot içeren sistemler kullanılabileceği gibi genelde üç elektrotlu sistemler kullanılır (Sultan, 2013). Elektrokimyasal bir hücre içerisindeki analiti içeren ve destek elektrolit adı verilen yüksek derişimli bir çözeltiye daldırılmış üç elektrot; çalışma elektrodu, referans elektrot ve yardımcı elektrotur (Şengiz, 2016).

1.4.1. Çalışma elektrotları

Çalışma elektrodunun potansiyeli referans elektroda göre belirlenirken analit derişimine göre değişir. Analitin yükseltgenme–indirgenme tepkimeleri çalışma elektrodunun üzerinde gerçekleşir. Voltammetride en çok kullanılan çalışma elektrotları civa, platin, altın, gümüş, bizmut, karbona dayalı katı elektrotlar (camsı karbon elektrot, grafit elektrot, bor katkılı elmas elektrot gibi) ve farklı malzemelerle modifiye edilmiş elektrotlardır (Şengiz, 2016). Voltammetride kullanılan elektrotların hem kimyasal hem de

elektiriksel özellikleri kullanılabilirlikleri üzerinde etkili kriterlerdir. Sabit veya döndürülerek kullanılan çalışma elektrotlarının fiziksel ve kimyasal özellikleri nedeniyle çalışabildikleri potansiyel aralıkları farklıdır (Sultan, 2013). Bu çalışma aralığı ayrıca kullanılan çözücüye, kullanılan elektrolit türüne ve ortamın pH değerine göre değişebilmektedir (Budak, 2020). Genel olarak kullanılan çalışma elektrotlarının, polarizasyonu arttırmak için, yüzey alanları küçük tutulur (Sultan, 2013). Mikroelektrotlar sayesinde analitin çok az bir miktarı tepkimeye girmektedir. Bu da analitin tekrar tekrar voltamogramının alınabilmesini sağlamaktadır (Erol, 2020). Çalışma elektrodu belirlenirken; potansiyel aralığı, elektrik iletkenliği, tekrarlanabilir bir yüzeyinin olması, mekanik özellikleri, fiyatı, ulaşılabilirliği ve toksik olup olamaması en önemli parametrelerdir (Doğan Topal, 2011).

a) **Karbon elektrotlar**

Ucuz olmaları, geniş potansiyelde bir çalışma aralığına sahip olmaları, dayanıklı olmaları, temizleme işleminin kolay olması gibi üstünlükleri nedeniyle elektrokimyasal analizlerde yaygın olarak kullanılırlar (Erdem ve Ozsoz, 2001a; 2001b; Wang ve ark., 1996a; 1996b). Karbon elektrotlar, $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ HClO}_4$ ortamında, (+0,2 V) ile (+1,8 V) aralığı ile, $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ KCl}$ ortamında (-1,0 V) ile (+1,2 V) potansiyel aralığında çalışabilir (Şengiz, 2016). Karbonun yüzey aktivitesi yüksektir ve bu özelliği nedeniyle organik bileşikler kolayca yüzeyie yapışıp elektrodu kirletebilir. Elektrodun modifiye edilmesi amacıyla yüzeyine çeşitli maddelerin tutturulabilmesi, karboksil grupları, hidroksil ve hidrojen, gibi fonksiyonel grupların karbon yüzeyinde bağlar oluşturabilmesi nedeniyle kolaydır.

Karbon elektrotların çeşitleri: Karbon elektrotların başlıcaları; camsı karbon elektrot (CKE), kalem grafit elektrot (KGE), perde baskılı karbon elektrot (SPCE) karbon pasta elektrodu (KPE) olarak verilebilir (Şengiz, 2016).

Karbon Pastası Elektrodu (KPE): Grafit yapısındaki aromatik ve düzlemsel halkalar zayıf π bağları ile birbirine bağlanır. Bu moleküllerden oluşan tabakların arasında hızlı bir elektron alışverişi bulunur. KPE'nin yüzey temizliği kolaydır, maliyeti oldukça düşüktür ve düşük düzeyde artık akımlar oluşturur. Bu özellikleri nedeniyle yaygın olarak kullanılır. Bu elektrodu elde etmek için grafit tozları silikon yağı, bromonaftalen, parafin yağı ve mineral yağı gibi bağlayıcı maddeler kullanılarak birbirine bağlanır. Elektrodun elektrokimyasal aktivitesi, pastanın bileşimine göre değişkenlik gösterebilir. Elektron transfer hızı, bağlayıcı olarak kullanılan organik sıvının miktarı ile ters orantılı olarak

değişir. KPE'nin dezavantajı, fazla miktarda organik çözügen bulunan çözeltilerde kullanıldığında karbon pastasının çözeltide dağılmasıdır (Şengiz, 2016).

Camsı Karbon Elektrot (CKE): Formaldehit/fenol polimerlerinin veya poliakrilonitrilin basınç altında ve 1000°C–3000°C sıcaklıklarda karbonize edilmesi sonucu camsı karbon oluşur. Bu elektrotların elektriksel ve mekanik özelliklere iyi olduğu için geniş bir çalışma potansiyeli aralığına sahiptir. Ayrıca yüzeyi pürüzsüz ve kolay temizlenebilir olduğundan tekrarlanabilir bir yüzey sağlamak daha kolaydır. Bütün bu özelliklerinin yanında inert bir davranış göstererek kimyasal tepkimelere girmez. Karbon pastası elektrotlarına görece daha sert ve kırılğan bir malzeme olduğu için yüzeyi pürüzsüzdür. Bu pürüzsüz ve düzgün yüzey sayesinde elektrokimyasal cevap özelliği KPE'a göre daha iyidir ve fiziksel olarak da daha dayanıklıdır (Şengiz, 2016).

Perde baskılı karbon (grafit) elektrotlar (SKPE): DNA mikroçip çalışmalarında kolayca kullanılabilen bir elektrot tipi olması nedeniyle son yıllarda bilimsel çalışmalarda tercih edilen bir elektrot türüdür (Lucarelli ve ark., 2002; Marazza ve ark., 1999).

Kalem Grafit Elektrot (KGE): Mekanik kalemler için tasarlanmış grafit kalem uçlarıdır. Ucuz olması, kolay bulunabilir olması, düşük tayin sınırlarına ulaşabilmesi, tekrarlanabilirliğinin iyi olması ve tek kullanımlık olması gibi önemli özelliklere sahip olması nedeniyle kullanım sıklığı artmaktadır (Şengiz, 2016).

1.4.2. Voltametri de kullanılan referans (karşılaştırma) elektrotları

Referans elektrotlar hücredeki elektrolitik çözeltinin bileşiminden ve dış etkilerden bağımsız bir potansiyel değerine sahiptir. Elektrokimyada kullanılan ilk referans elektrot hidrojen gazı ile yapılmış Standart Hidrojen Elektrot (SHE)'tur. Bu elektrot, elektrokimyasal çalışmalarda referans elektrot olarak kullanılmasının yanı sıra, laboratuvar çalışmalarında pH belirleyici olarak da kullanılmıştır (Evans, 1991; Pietrzyk ve Frank 1979; Skoog ve ark, 1996; Yıldız ve Genç, 1993). Elektrokimyacılar genellikle SHE kullanımındaki zorluklar nedeniyle Ag/AgCl veya Hg/HgCl (doğun kalomel elektrodu) referans elektrot olarak tercih etmektedirler (Şengiz, 2016).

Referans elektrotların özellikleri:

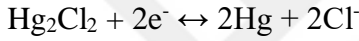
- Hazırlanışları kolaydır
- Dış etkenlerden (sıcaklık, basınç gibi) bağımsızdır
- Gerilimi sabit kalır

- Nersnt eşitliğine uygun davranır ve tersinir tepkimeler gösterir
- Polarize olmaz (Şengiz, 2016).

Referans elektrot tipleri:

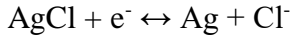
a) Standart hidrojen elektrot (SHE): SHE'nin potansiyel değeri sıfır kabul edilir ve standart potansiyeli bilinmeyen bir elektrodun potansiyelini ölçmek için kullanılır (Tural ve ark., 2006). Bir tuz köprüsü yardımıyla SHE yarı hücreye bağlanır. Bu elektrot anot veya katot görevi üstlenebilir. Anot rolü üstlendiğinde hidrojen yükseltgenerek iyonlaşır, katot rolü üstlendiğinde ise tersi tepkime meydana gelir. Şartlar sağlandığında SHE tersinir redoks tepkimesi gösterir. Üretimi ve kullanımını zor bir elektrot olduğu için tercih edilmemektedir (Tural ve ark., 2006; Şengiz, 2016).

b) Kalomel elektrot: Metalik civa ile temasta olan Hg_2Cl_2 'den (kalomel) oluşur ve genellikle $3 \text{ mol} \cdot L^{-1}$ konsantrasyonda KCl çözeltisi içerir. Bu elektrotta aşağıdaki reaksiyon gerçekleşir:



Burada elektrot potansiyeli klorür iyonlarının konsantrasyonuna bağlıdır. Bu elektrodu hazırlamak kolaydır. $25^\circ C$ sıcaklıkta doymuş kalomel elektrot (DKE)'un SHE'ye göre potansiyeli $+0,244 \text{ V}$ olarak belirlenmiştir. Büyük sıcaklık katsayısı ve değişen sıcaklıklarda potasyum klorür ile kalomel arasındaki çözünme dengesinin yeniden kurulmasının uzun sürmesi potansiyelinin değişmesini zorlaştırır (Şengiz, 2016).

c) Gümüş-gümüş klorür referans elektrot: Doymuş KCl çözeltisi içerdiğinde SHE'a göre potansiyeli $+0,222 \text{ V}$ 'tur. Oldukça yaygın kullanılan bir referans elektrottur. Gümüş elektrodun, gümüş klorür ile doymuş potasyum klorür çözeltisine daldırılmasıyla elde edilir. Aşağıdaki redoks tepkimesini gerçekleştirir:



Kalomel elektrotla karşılaştırıldığında çok daha yüksek sıcaklıklara sahip ortamlarda kullanılabilir olması ve daha inert olması gibi özelliklerinden dolayı oldukça kullanışlı bir referans elektrot türüdür (Şengiz, 2016).

1.4.3. Yardımcı elektrot

Yardımcı elektrotlar genellikle ucu yay şeklinde kıvrılarak çözelti ile temas eden yüzey alanı arttırılmış bir platin telden oluşur. Yardımcı elektrot elektriğin çalışma elektrotuna iletilmesini sağlayan elektrotlardır. Bu elektrot devreyi tamamlayarak çalışma

elektrodu ile bir çift oluşturur ancak ölçülen gerilimin belirlenmesinde herhangi bir rolü yoktur (Bostancı, 2016). Elektrik sinyalinin kaynağından çıkıp elektrolitik çözülden geçerek çalışma elektroduna iletilmesini sağlayan yardımcı elektrodun diğer adı ise karşıt elektrottur (Sultan, 2013). Elektrokimyasal çalışmalarda elektrodun polarizasyon potansiyelinin ölçümünde meydana gelen hata oranının yükselmesini engellemek için önemlidir (Budak, 2020).

1.5. Elektrokimyasal Sensörler

Sensörler sıcaklık, mesafe, basınç gibi değişkenlerde meydana gelen farklanmaları algılayabilen ve ölçüm yapabilen alet veya cihazlardır. İncelenen örnek sensörün varlığından etkilenmemelidir. Sensörler tersinir özellik göstermeli ve devamlı ölçüm yapabilir özellikte olmalıdır. Genel olarak sensörler bazı temel bölümlerden oluşur: Algılayıcı, sinyal dönüştürücü ve elektronik bölüm (Erol, 2020). En temel ifadeyle sensör, mekanik hareketlilik, ışık, ısı, ses, elektriksel veya manyetik bir etkiyi ölçülebilen ve kaydedilebilen elektriksel sinyale dönüştürebilen aygıtlardır (Khanna, 2011).

1.6. Elektrokimyasal Biyosensörler

Elektrokimyasal ölçüm sistemleri küçük boyutlu, taşınabilir ve ekonomiktir. Bulanık ortamlarda çalışabilme özelliği elektrokimyasal biyosensörlerin dikkat çeken en önemli özelliklerinden biridir (Thevenot ve ark., 2001; Kuralay ve ark., 2014). Günümüzde yaygın olarak kullanılan elektrokimyasal biyosensörler, bir veya birden fazla biyolojik katalizör taşıyan modifiye elektrotların kullanıldığı sistemlerdir. Klasik elektrokimyasal yöntemlerde sadece elektroaktif maddeler analiz edilir. Ancak teknolojinin gelişmesiyle birlikte biyolojik materyaller de sensör sistemleri içerisine dahil edilmiştir. Biyolojik materyallerin sensör sistemlerine dahil edilmesi ile birçok maddenin analizi mümkün hale gelmiştir. Ancak biyomateryal çevre koşullarından (pH, sıcaklık, iyon şiddeti gibi) etkilenirse biyosensörün çalışma ömrü kısalmaktadır. Biyosensörlerin tanıma katmanında yer alan biyomalzemelere de biyoreseptör adı verilir. Elektrokimyasal biyosensörler geniş bir kullanım alanına sahiptir (Yanık, 2020). Dönüştürücü kısım olarak elektrokimyasal yöntemlerin kullanıldığı biyosensörler, analit ile elektrot arasındaki elektrokimyasal etkileşimin etkisini çevirir. Bu tür etkiler, sıfır akım altında kendiliğinden reaksiyon veya

indüklenen elektriksel kuvvet ile ortaya çıkabilir (Sultan, 2013). Elektrokimyasal biyosensörlerin bazı özellikleri, termal, optik, piezoelektrik biyosensörlere kıyasla ilaç endüstrisinden çevreye kadar geniş bir uygulama alanı bulmalarını sağlar. Bu özellikler basit, taşınabilir, hızlı yanıt, yüksek hassasiyet, ucuz, spesifik ve seçicidir. Kimyasal değişimi konsantrasyonla orantılı olarak elektrik sinyallerine dönüştürme prensibi ile çalışan elektrokimyasal biyosensörler, genellikle altın, karbon, gümüş ve platin gibi çalışma elektrotları kullanılarak tasarlanmaktadır (Keskin ve Arslan, 2020).

1.6.1. Amperometrik biyosensörler

Bir maddenin elektrokimyasal redoks reaksiyonu sonucunda oluşan akımın ölçülmesi prensibine dayalı olarak analiz yapabilen biyosensörlerdir. Çalışma elektrodu üzerine sabit bir potansiyel uygulanır ve bu voltaj değerinde hücre içinden geçen akım değeri ölçülerek kaydedilir (Erol, 2020). Ölçülen akım değeri en az 10^{-9} – 10^{-6} amper olmalıdır (Doğan Topal, 2011). Elde edilen elektrik akımı miktarı, elektroaktif analitin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır (Sultan, 2013). Amperometrik biyosensörün potansiyometrik biyosensörlerden en büyük farkı, ürünlerden sinyal üreten elektroaktif malzemenin çalışan elektrot yüzeyinde tüketilmesidir (Keskin ve Arslan, 2020). Amperometrik biyosensörlerin en önemli üstün özellikleri, oldukça hassas, ucuz ve hızlı tepki veren sensörler olmalarıdır (Erol, 2020).

1.6.2. Potansiyometrik elektrokimyasal biyosensörler

Çalışma ve referans elektrodu arasındaki potansiyel farkın ölçülmesi veya iki referans elektrodun arasına geçirilmiş bir membranın koyulması ile meydana gelen potansiyelin ölçümü prensibine dayanarak çalışırlar (Sultan, 2013). Potansiyometrik sistemlerde akım önemli değildir. Sensörün ara yüzey bölgesindeki elektrot veya membranın potansiyeli ölçülür. Ölçülen potansiyel farkı değeri analit miktarı konusunda bilgilendirme yapar (Doğan Topal, 2011). Potansiyometrik biyosensörlerin tasarımında yer alan elektrotlar, pH'a ya da tek değerlikli iyonlara karşı hassas olan cam elektrotlar, iyon seçici olan ve anyonlar veya katyonlara karşı hassas olan seçici elektrotlar veya amonyak, karbondioksit, gibi vb. gazların analizi için gazlara karşı duyarlı olan elektrotlardır (Keskin ve Arslan, 2020).

1.6.3. Kondüktometrik biyosensörler

Adından da anlaşılacağı gibi kondüktometrik biyosensörler, elektrolitik hücre çözeltisi ya da çalışma elektrodu yüzeyinde bulunan ince film ara tabakanın elektriksel iletkenliğindeki değişimi saptama ve analit miktarı ile oranlayarak analiz etme prensibi ile çalışırlar. Aslında seçici olma özelliği taşımayan bu yöntem, teknolojideki ilerlemelerle birlikte elektrot yüzeyine uygulanan modifikasyonlar sonucu seçicilik özelliği edinmesini de sağlamıştır (Stradiotto ve ark., 2003; Thevenot ve ark.,1999). Havanın nemini ölçme ve bazı gazların konsantrasyonlarını belirleme işlemlerinde kondüktometrik biyosensörler tercih edilmektedir. Potansiyometrik ve amperometrik biyosensörlere nispeten kullanım alanları daha azdır. Ancak analiz sırasında referans elektrot kullanma ihtiyacının olmaması, ışığa karşı duyarlı olmamaları, düşük potansiyellerde çalışabilmeleri bu biyosensörlerin olumlu yönleridir (Keskin ve Arslan, 2020).

Elektrokimyasal biyosensörler biyolojik algılayıcı materyale göre iki başlık altında incelenir: Biyokatalitik biyosensörler ve Afinite biyosensörleri (Erol, 2020).

1.6.4. Biyokatalitik biyosensörler

Enzim, bakteri ve dokuların biyoreseptör görevi gördüğü biyosensörler biyokatalitik biyosensörlerdir. Bu tip biyosensörler kendi içerisinde enzim ile modifiye edilmiş ve doku ve bakteri ile modifiye edilmiş elektrotlar ile oluşturulan biyosensörler olarak iki farklı grup altında değerlendirilmektedir (Erol, 2020).

a) Enzim temelli elektrotlar: Enzimler canlı organizmalarda katalizör görevi üstlenerek, kimyasal reaksiyonları katalizler. Bu katalizörlerin seçici olması onların birçok alanda tanıma yüzeyi olarak kullanılmalarını sağlar. Bir enzimin tabaka halinde uygun bir elektrotla birleştirilmesi sonucu, enzim temelli elektrotlar elde edilir. Bu bir membran ve elektrot arasına enzim çözeltisinin immobilize edilmesiyle gerçekleştirilmektedir (Erol, 2020).

b) Doku ve bakteri elektrotları: Bazı durumlarda; örneğin bazı sistemlerde enzimin saf halde bulunamaması veya saflaştırılmış enzimlerin kararlı olmaması ve pahalı olmaları gibi sebepler nedeniyle kullanılamamaları da söz konusu olabilmektedir. Bu biyosensörlerin kullanımına ilişkin bazı sınırlamalar söz konusu olabilmektedir. Enzimlerin yerine bitki dokuları veya bakteriyel hücreler kullanılabilir. Bu tür sensörlerin

çalışma prensibi de enzim temelli sensörler ile genel olarak benzerdir (Erol, 2020).

1.6.5 Afinite biyosensörleri

Seçici bağlanma prensibi ile tasarlanmış elektrokimyasal biyosensörlerdir. Çalışma elektrodu üzerine reseptör, antikor, polinükleotit gibi biyomoleküller immobilize edilir ve bu moleküller sadece analitlerle etkileşime girerek seçici bir bağlanma meydana getirirler. Bu bağlanma ile meydana gelen elektrokimyasal yanıt ölçülür. Oldukça hassas ve seçici elektrokimyasal biyosensörler tasarlanabilmektedir. Afinite biyosensörleri üç grupta incelenir: Antikor bazlı biyosensörler (immünosensörler), reseptör bazlı biyosensörler ve genetik materyallerden elde edilen nükleik asit bazlı biyosensörler (Erol, 2020).

a) Antikor temelli biyosensörler (immünosensörler): Canlı organizmaya giren bilinmeyen moleküller (antijen vb) antikorlara bağlanır. Bu bağlanma özelliği kullanılarak antikor veya antijen konsantrasyonundaki değişiklik belirlenir ve bu sayede analiz yapılır. Bu tür tepkimeler çoğunlukla tersinmezdir. Tersinmezlik nedeniyle bu tüy sensörler tek kullanımlık olmaktadır. Pahalı olmaları nedeniyle mecbur kalınmadıkça tercih edilmezler (Erol, 2020).

b) Reseptör temelli biyosensörler: Hücresele reseptörler hücresele membrana yerleştirilerek hedef analiti bağlaması sağlanır. Analit ve reseptör arasındaki bağlanma seçicidir ve bağlanma sonucu elektrodun iletkenlik değerindeki değişim belirlenerek analit miktarı bilgisine ulaşılabilmektedir (Erol, 2020).

c) Nükleik asit temelli biyosensörler: RNA ve DNA'nın elektrot üzerine immobilize edilmesi ve analitin bu yapılara bağlanması sonucunda sinyal değişimlerinin belirlenmesine dayanan biyosensörlerdir. İki yolla sinyal değişimi ölçülür: Birincisi, analitin DNA'nın sarmal yapısı arasına tutunması sonucu elektrot davranışındaki değişimin belirlenmesi, ikincisi ise DNA'nın yapısında bulunan guanin veya adenin bazındaki aktivitenin değişiminin ölçülmesidir. Bu tip sensörler oldukça hassas ve hızlı ölçüm yapabilir (Stradiotto ve ark., 2003; Wang, 2000; Erol, 2020; Thevenot ve ark., 1999).

1.7. DNA'nın Yapısı

DNA'nın yapısı, sarmal bir şekilde kıvrılmış, bir ip merdiven görünümüne sahiptir. Dış kenarları, deoksiriboz (şeker) ve fosfat moleküllerini içermektedir. Ester bağları fosfat ve şeker gruplarını ester bağları ile birbirine bağlar. DNA'nın yapısında bulunan bütün nükleotitlerde fosfat ve şeker grupları aynı olmakla birlikte, taşıdıkları bazlar farklıdır (Bostancı, 2016). DNA molekülünün yapısında guanin ve adenin adı verilen pürin bazları ve timin ve sitozin adı verilmiş olan pirimidin bazları birbirine hidrojen bağları ile bağlıdır. Timin ve adenin birbirine iki hidrojen bağı ile bağlanırken sitozin ve guanin birbirine üç hidrojen bağı ile bağlanır. DNA molekülünün yapısında bulunan guanin ve adenin bazının elektrokimyasal olarak aktif olduğunu ilk defa Palecek tespit etmiştir (Palecek, 1960). Günümüzde DNA'nın nitel ve nicel analizi yapılabildiği gibi DNA'nın kendisi biyosensörlerde algılayıcı molekül olarak da kullanılmaktadır (Cai ve ark., 1996; Brabec, 1983; Brabec ve Koudelka, 1980).

1.8. DNA Biyosensörleri

Algılayıcı yüzey olarak DNA'nın veya DNA yapısındaki guanin ve adenin bazlarının kullanıldığı biyosensörler DNA biyosensörleri olarak adlandırılır. Elektrokimyasal DNA biyosensörleri, pratik olmaları, seçici olmaları, hızlı ve tekrarlanabilir sonuçlar vermeleri gibi üstün özellikleri nedeniyle bilim insanları tarafından elektroanalitik çalışmalarda giderek artan bir eğilim ile kullanılmaktadır (Jelen et al., 2002; Palecek ve Fojta, 2001; Erdem, 2007). DNA ile etkileşen analitlerin (karsinojenikler, ilaçlar vb.) analiz edilebilmesinde veya dizisi bilinmeyen hibridizasyonların izlenmesinde kullanışlıdır. Ayrıca biyolojik silahlar, gıda analizleri ve zararlı mikroorganizmaların tespitinde ve bulaşıcı hastalıkların tanısı için de kullanımı üzerinde çalışılmaktadır (Yılmaz, 2021). DNA'nın hibridizasyonu özel bir mekanizmadır. Bu nedenle bu tip biyosensörlerin seçiciliği yüksektir.

Nükleik asitler kullanılarak elde edilen tanıma tabakaları antikolar ve enzimlerden daha karardır, kolayca elde edilebilirler ve tekrar edilebilirlikleri yüksektir (Özsöz ve ark., 2002). Guanin bazı diğer üç baza göre elektron yoğunluğunun fazla olması ve yükseltgenme potansiyelinin düşük olması nedeniyle elektrokimyasal analiz sensörü çalışmalarında daha fazla tercih edilmektedir.

DNA biyosensörlerinin çalışma prensibi, baz dizisi bilinen bir oligonükleotidin çalışma elektrodu yüzeyine algılayıcı ajan olarak immobilize edilmesi ve hedef baz dizisinin veya maddenin saptanmasına dayanır (Erol, 2020; Molinier-Jumel ve ark., 1978). Bu tip sensörler, nükleik asit immobilizasyonu ile oluşturulmuş tanıma tabakasının bir transistör ile birleşmesi sonucunda elde edilir.

DNA biyosensörleri yapılırken algılayıcı yüzeye DNA, guanin veya adenin yapılarının proba güçlü bir şekilde bağlanması önemlidir. Çok çeşitli tutturma yöntemleri olmakla birlikte en çok uygulanan yöntemler; elektrostatik yöntemle tutturma, adsorpsiyon yoluyla tutturma ve kovalent bağlanma yoluyla tutturmadır (Bilge Yücel, 2021; Özkan ve ark. 2003). Transistör olarak genellikle geleneksel altın ve karbon elektrotlar kullanılmaktadır (Lucarelli ve ark., 2004). Bununla birlikte transistör olarak perde baskılı elektrotların kullanılması, yerinde DNA analizlerini kolaylaştırmıştır.

1.8.1. DNA biyosensörlerinin geliştirilmesinde kullanılan immobilizasyon yöntemleri

DNA temelli biyosensörlerde hibridizasyonun tayininin kolay gerçekleşmesi ve elektrodun tekrar kullanılabilmesi için, DNA molekülü, guanin bazı veya adenin bazının elektrot yüzeyine güçlü bir şekilde bağlanması hedeflenir. İmmobilizasyon işlemi birkaç farklı şekilde yapılabilmektedir.

a) Pasif adsorpsiyon yoluyla prob tutturulması (ıslak adsorpsiyon yöntemi); Bu yöntemin temel prensibi; immobilize edilecek olan maddeyi (prob) içeren çözelti içerisine, kullanılacak olan elektrodun daldırılması ve bu maddenin elektrot yüzeyine adsorbe olarak tutunmasıdır. Bu yöntem uygulama açısından kolay olmakla birlikte ve otomasyon sistemlerinde uygulanabilir. Düşük maliyetli ve analiz süresi de oldukça kısadır (Yanık, 2020).

b) Elektrostatik yolla prob tutturulması; Çalışma elektrodu yüzeyine pozitif potansiyel uygulanıp, negatif yüklü fosfat omurgası içeren DNA'nın elektriksel çekim nedeniyle elektrot yüzeyine tutunması prensibine dayanır. Kullanılan kimyasallar ucuz olduğu için yöntemin maliyeti düşüktür (Yanık, 2020).

c) Kovalent yolla prob tutturulması; Bu yöntemde prob dizileri elektrot yüzeyine bazı kimyasallar yardımıyla kovalent bağlanma yaparak tutturulur. Bu işlemle yapılan tutturma daha dayanıklı ve düzenli bir prob tabakası elde edilmesini sağlar. Bununla

birlikte kullanılan kimyasalların pahalı olması ve işlemlerin uzun sürmesi yöntemin dezavantajlarıdır (Yanık, 2020).

Kovalent bağlanmada, altın elektrotlar ve altın nanopartiküller için başlangıçta 3-merkaptopropiyonik asit veya sistein ile -SH grupları elektrot yüzeyine tutunur. -SH gruplarının altına karşı güçlü bir affinitesi vardır. Sonraki aşamada ise N-hidroksisüksinimit ve etil karbodiimit gibi kovalent ajanlar yardımıyla -NH₂ grubu ile işaretlenmiş probun yani genetik materyalin yüzeye sağlam tutunmasını sağlar. Altın elektrotlarda bu yöntem özel bir kaplama yöntemidir. Bu yöntemde propiyonik asit gibi gruplar, DNA'nın elektroda dikey ve düzenli olarak tutturulmasını sağladığı için hibritleşme kolay bir şekilde gerçekleşir. Eğer elektrot olarak karbon (grafit) esaslı elektrotlar kullanılırsa, kovalent bağlayıcı ajanlarla yapılan kaplamada -NH₂ grubu içeren prob yüzeye çok güçlü bir şekilde bağlanır (Coulet, 1991; Gülmez, 2005; Yardım, 2009).

1.9. İlaç-DNA Etkileşimi Temelli Biyosensörler

DNA biyosensörlerinin en çok kullanıldığı alanlardan biri de ilaç analizleridir. DNA ve yapısında bulunan guanin ve adenin bazıları özellikle antikanser ilaç molekülleri ile etkileştiği için bu tür ilaçların analizinde sıklıkla kullanılır. Bu durum yeni ilaçların tasarlanmasında çok büyük önem taşımaktadır (Jelen ve ark., 2002; Erdem ve Özsöz, 2002). DNA yapısı antikanser ilaçlar ile oluğa bağlanma (kovalent olmayan), interkalasyon, kovalent bağlanma, çapraz bağlanma şeklinde etkileşime girer ve sonuçta kompleks bir yapı oluşur. İlaç ve DNA arasındaki etkileşim hakkında bilgi edinmek için DNA'nın baz yapısında veya ilacın pikinde oluşan farklılıklar çeşitli elektrokimyasal teknikler uygulanarak gözlemlenir (Jelen ve ark., 2002; Erdem ve Özsöz, 2002).

Daunomisin, doksorubisin, bleomisin, mitaksantron gibi bazı ilaçlar DNA yapısına interkalasyon yaparak ilacın sinyalinde artışa sebep olurken, sisplatin, mitomisin-c, prokarbazin gibi ilaçlar ise DNA yapısındaki bağlarla çapraz bağ oluşturup, elektroaktif bazların (guanin ve adenin) sinyalinde veya piklerinin akım şiddetinde azalmaya sebep olurlar (Özkan ve ark., 2003; Erdem ve ark., 2007).

Eczacılıkta yeni ilaçların tasarlanmasında, DNA'nın metal komplekslerinin ilaç ya da çevresel atıklarla etkileşebiliyor olması ve bu etkileşimlerin ölçülebiliyor olması önemli bir etkidir. Antitümör ilaçlar genellikle etkilerini DNA yapısına bağlanarak göstermektedir. Böylece birçok bileşiğin antikanser ilacı olarak kullanılabilirliği hakkında

bilgi edinilebilir. Nükleer magnetik rezonans, denge diyalizleri, in vitro transkripsiyonun inhibisyonu, dairesel dikroizm, spektrofotometrik analizler, erime sıcaklığı profillerinin alınması ve floresans sönmesi DNA etkileşimlerini belirlemek için kullanılan diğer yöntemlerdir. Bunlar arasında floresans sönmesi en hızlı yanıt verendir. Bu metotlardan en hızlı yanıt verenler floresans özelliğe sahip bileşiklerdir. Bu özelliği bulunmayan bileşiklerin DNA etkileşiminin belirlenmesi mümkün değildi (Reydermon, 1997). Bu bileşiklerin bazı bölümleri, ilacın DNA'ya, hidrojen bağları, interkalasyon ve Van der Waals etkileşimlerinden biri ya da bütün etkileşimlerin birlikte olması sayesinde bağlanmaktadır. Bazı kısımları ise DNA'nın sadece belirli dizilerine bağlanmaktadır. İlaç molekülleri ile DNA veya DNA'nın elektroaktif bazları arasındaki etkileşimi ve bu etkileşimlerin analizi elektrokimyasal DNA biyosensörlerinin uygulama alanının genişlemesini sağlamıştır. Antikanser ilaçların bazılarında DNA etkileşiminin elektrokimyasal yöntemlere tayinlerinin kullanılması DNA biyosensörlerinin önemini arttırmaktadır.

1.10. COVID–19 Tedavisinde Kullanılan İlaç Etken Maddeleri:

1.10.1. Favipiravir

Japonya'da tedavi için onaylanmış bir pirazin karboksiamid türevidir ve çeşitli grip virüslerine karşı aktiftir. Favipiravir (FAV) ilaç etken maddesinin izlenebilirliğini sağlamak için hassas, güvenilir, hızlı, düşük maliyetli bir analitik yöntemin geliştirilmesine acil ihtiyaç vardır. FAV'ın belirlenmesi ile ilgili daha önce yayınlanmış çalışmalar incelendiğinde, Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi (Bulduk, 2020), spektrofotometrik yöntem (Megahed ve ark., 2021) ve elektrokimyasal yöntemlerin (Allahverdiyeva ve ark., 2021; Mohamed ve ark., 2021) kullanıldığı görülmüştür. HPLC ve spektrofotometrik yöntem için pahalı ekipmanlar ve yetmişmiş eleman gücüne ihtiyaç vardır. Ancak elektrokimyasal analiz yöntemi ile seçici, hassas, tekrarlanabilirliği ve stabilitesi yüksek elektrot geliştirilmesi halinde seri üretim yapılarak ilaç etken maddesi analizi kolay ve yaygın bir şekilde gerçekleştirilebilir.

Mohammed ve ark. (2021) MnO₂-rGO nanokompozit ile modifiye edilmiş ekran baskılı elektrot ile FAV'ın elektrokimyasal tayinini ilk kez gerçekleştirmiştir. Geliştirilen elektrot, geniş lineer aralığı ile birlikte düşük algılama ve kantifikasyon limitleri ile FAV'ın

hassas belirlenmesine yönelik olağanüstü elektrokatalitik aktivite göstermiştir. Ayrıca FAV, birlikte uygulanan ilaçların varlığında MnO_2 -rGO/SPE elektrodu kullanılarak seçici ve yüksek geri kazanım oranı ile analiz edilmiştir. FAV'ın oksidasyonu için elde edilen sonuçlara dayalı olarak, ilaç üretiminde ve insan sıvıları numunelerinde FAV'ın kantitatif tayini basit, hızlı, seçici ve hassas bir KDV tekniği ile gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, yüksek doğruluk, hassasiyet ve tekrarlanabilirlik gibi mükemmel özelliklerin yanı sıra, geliştirilen sensör, klinik çalışmada FAV'nin hassas belirlenmesi için uygun basit bir platform sunmaktadır.

Wang ve ark. (2022) antiviral ilaç FAV'ın tespiti için molibden disülfür (MoS_2) nanokürelerin ve moleküler baskılı polimerlerin (MIP'ler) çekirdek-kabuk nanokompozitine dayanan yeni bir elektrokimyasal sensör geliştirmiştir. MoS_2 @MBP çekirdek-kabuk nanokompoziti, monomer olarak o-fenilendiamin ve şablon olarak FAV kullanılarak MoS_2 modifiye elektrot üzerinde bir MBP tabakasının elektrodpozisyonu yoluyla hazırlanmıştır. MoS_2 @MBP çekirdek-kabuk nanokompozitinde hedef FAV'ın seçici bağlanması, nicel analiz için kullanılan konsantrasyona bağlı bir şekilde bir redoks sinyali üretmiştir. Optimum koşullar altında, sensörün $0,01 \sim 100 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ($1,57 \times 10^{-6} \sim 1,57 \times 10^{-2} \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) geniş bir çalışma aralığına ve $0,002 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ($3,14 \times 10^{-7} \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) minimum saptama limitine (LOD) sahip olduğu hesaplanmıştır. Sensörün uygulama çalışmasında, minimum $10 \mu\text{L}$ biyolojik numunede (idrar ve plazma) FAV saptanabilmiştir.

Akça ve ark., (2022) umut verici bir antiviral ajan olan FAV'ın elektrokimyasal analizi üzerinde yaptıkları çalışmada çalışma elektrodu olarak modifiye edilmemiş camı karbon elektrot kullanmışlardır. Döngüsel voltametri tekniğini kullanarak, pH 10,0'da Britton-Robinson (BR) tamponunda yaklaşık $+1,12 \text{ V}$ 'de (Ag/AgCl'ye karşı) bir adet ve irreversibl bir oksidasyon piki elde etmişlerdir. Aynı zamanda ortama sodyum dodesil sülfatı (SDS, anyonik yüzey aktif madde) da ekleyerek, FAV'ın sıyırma voltametik ölçümlerinin hassasiyetini önemli ölçüde arttırmışlardır. $3 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SDS içeren BR tamponunda (pH 10,0), $+1,17 \text{ V}$ 'da (Ag/AgCl'ye karşı 60 s birikimden sonra) kare dalga adsorptif sıyırma voltametrisini uygulayarak, konsantrasyon-akım arasında doğrusal ilişki bulmuşlardır. Saptama limitini $0,26 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($1,7 \times 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) olarak hesaplamış, çalışma aralığının ise $1,0$ ila $100,0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($6,4 \times 10^{-6}$ - $6,4 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) konsantrasyon aralığında olduğunu belirlemişlerdir. Önerilen yaklaşımın, ilaç formülasyonlarında ve insan idrarı örneklerindeki FAV'ı belirlemek için başarılı bir şekilde kullanmışlardır.

1.10.2. Molnupirevir

Molnupirevir'in (MOL) elektrokimyasal oksidasyonu için kare KDV tekniği uygulanmış ve Britton–Robinson pH 9,0 tamponu kullanılarak, rGO sensörü ile Ag/AgCl referans elektrodu varlığında 0,2 V'da iyi tanımlanmış bir pik elde edilmiştir.

Destek elektrolitinin pH'ı, cihaz parametreleri, elektropolimerizasyon döngüleri ve GO konsantrasyonu gibi MOL analizi için çeşitli işlem parametrelerini optimize etmiştir. Sensör, $0,03 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ LOD değeri ile $0,09\text{--}4,57 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ arasında doğrusal çalışma aralığı göstermiştir. Geliştirilen sensör, kapsül formülasyonlarında MOL miktarı tayini için başarıyla uygulanmıştır.

1.10.3. Lopunavir

Lopinavir/ritonavir (LPV/RTV), antiretroviral proteaz inhibitörleri olup, kombine olarak 23 yıldır insan immün yetmezlik virüsü (HIV) enfeksiyonu tedavisi için kullanılmaktadır. LPV, yarı ömrünün uzatılması ve farmakokinetik etkisinin artırılması amacıyla, RTV ile birlikte kullanılmıştır. LPV, viral 3-kimotripsine benzer proteaza karşı etkili olup, daha önce karşılaşılan SARS–CoV–1 ve MERS–CoV salgınlarında umut verici sonuçlar elde edilmiştir. Çin'de LPV/RTV'nin etkinliğini ve güvenliğini araştırmak için yapılan bir çalışmada, COVID–19 tanısı ile hastaneye yatırılan 199 yetişkin hastada hiçbir fayda gözlenmediği sonucuna varılmıştır (Cao ve ark. 2020; Lu ve ark. 2020).

1.10.4. Remdesivir

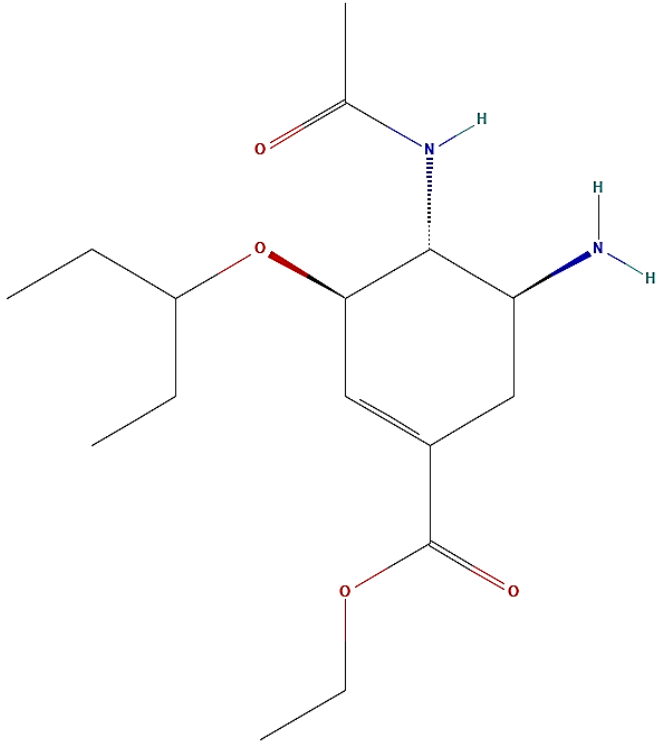
Antiviral etkili bir ilacın geliştirilmesi konusunda çalışmalar halen devam etmekle birlikte, yapılan klinik deneyler, remdesivir (RMD) ilacının etkinliğini de doğrulamıştır (Eastman ve ark., 2020; Grein ve ark., 2020; Beigel ve ark., 2020; Jorgensen ve ark., 2020). Hafif ve orta şiddette semptomları olan hastalarda COVID–19'a karşı özel etkinlik ve aktivite göstermiştir ve COVID–19'a karşı AB onaylı ilk ilaç olmuştur. Bununla birlikte RMD, solunum yetmezliği, kandaki eritrosit ve trombosit konsantrasyonlarında azalma, melanin salgısında aşırılık ve alerjik reaksiyonlar gibi bazı yan etkilere sahiptir (Azevedo ve ark., 2020; Singh ve ark., 2020; Wang ve ark., 2020; Al–Tannak ve ark., 2020). Ayrıca bir nitril grubu içerdiğinden miktarı fazla olduğu zaman yüksek toksisite gösterebilir. Bu

nedence, RMD'nin gerek ilaç tasarımı çalışmalarında içerik analizi, üretim aşamasında kalite kontrol amaçlı, gerekse hastaya verilen ve vücutta tutulan miktarının saptanmasında pratik, basit ve ekonomik olan elektrokimyasal yöntemlerin geliştirilmesi oldukça önemlidir (Azevedo ve ark., 2020; Singh ve ark., 2020; Wang ve ark., 2020; Al-Tannak ve ark, 2020). RMD'nin elektrokimyasal analizi konusunda sınırlı sayıda çalışma mevcuttur.

1.10.5. Oseltamivir

Hassan ve ark. (2013), ilaç etken maddesi oseltamivir fosfatın (Tamini) (OST), kesikli ve sürekli proseslerde kalite kontrol izlemesi için yeni bir potansiyometrik yöntem geliştirmişlerdir. Yöntem, (OST⁺) katyonunun, o–nitrofeniloktil eter (o–NPOE) ile plastikleştirilmiş bir poli(vinil klorür) matris membranındaki fosfomolibdat anyonuyla (PMA⁻) oluşturduğu kompleksin elektroaktif bir malzeme olarak kullanımına dayanmaktadır. Böylece ilaca yanıt veren potansiyometrik bir sensor geliştirmişlerdir. Sensörün performans özelliklerine bakıldığında; $5,2 \times 10^{-5} - 0,8 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ($21,34 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} - 3,23 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) konsantrasyon aralığı üzerinde OST için $9,1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ LOD değerine sahip olduğu tespit edilmiştir. İki kanallı bir akış enjeksiyon dzenedeğinde, boru şeklinde olup akış dedektörü ile birleştirilen OST–PMA–NPOE kompleksini içeren bir membran kullanılmıştır. Böylece sürekli bir proseste, ilacın $\sim 30 \text{ numune} \cdot \text{sa}^{-1}$ frekansında sürekli izlenmesi sağlanmışır.

OST'nin kimyasal yapısı **şekil 1.1.**'de gösterilmiştir.



Şekil 1.1. OST'nin kimyasal yapısı

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bu çalışmada kullanılan kimyasalların analitik saflığı yüksek olup Sigma Aldrich ve Merck markalı ürünler satış yetkilisi firmalardan sağlandı. Geniş bir pH aralığında (pH 2,0–pH 12,0) çalışıp en uygun pH değerini saptayabilmek için Britton-Robinson tampon çözeltisi (BR tamponu) elektrolitik çözelti olarak tercih edildi. BR tampon çözeltisinin hazırlanmasında 2,69 mL fosforik asit (H_3PO_4 , Isolab 959,062,2500), 2,29 mL asetik asit (CH_3COOH , Isolab 901,013,2500) ve 2,472 g borik asit (H_3BO_3 , Fisher Chemical)'in 1 L'lik balon joje içerisinde ultra saf suda çözünerek karıştırılması ve çözelti hacminin saf su ile 1 litreye tamamlanması ile hazırlandı. Hazırlanan çözeltinin pH değeri $1,0 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ konsantrasyonuna sahip NaOH (Sigma Aldrich, 06203) çözeltisinden pH metre ile pH kontrolü yapılarak ilave edilmesi ile ayarlandı. pH 2,0–pH 12,0 aralığında 11 farklı stok BR tampon çözeltisi hazırlandı ve bu çözeltiler çalışmalar süresince karanlık ortamda $+4 \text{ }^\circ\text{C}$ sıcaklıkta buzdolabında saklanmıştır. OST (bld: BD146326 100 mg) (ethyl (3R,4R,5S)-4-acetamido-5-amino-3-pentan-3-yloxycyclohexene-1-carboxylate) analitik saflıkta ticari olarak satın alınmış ve herhangi bir saflaştırma veya ön işlem uygulanmadan ultra saf su çözücüsüyle $10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ konsantrasyona sahip stok çözeltisi hazırlanmıştır ve $+4 \text{ }^\circ\text{C}$ sıcaklıkta buzdolabında saklanmıştır. Voltametrik ölçümler oda sıcaklığında ardışık olarak üç kez tekrarlanmıştır.

2.2. Kullanılan Cihazlar

Elektrokimyasal ölçümler, Ivium pocketSTAT potansiyostat/galvanostat empedans analizörü kullanılarak gerçekleştirildi.



Şekil 2.1. Ivium pocketSTAT potansiyostat/galvanostat empedans analizörü

Millipore Direct-3 QV'den elde edilen ultra saf su, elektrot yüzeylerini temizlemek ve stok ve tampon çözeltileri hazırlamak için kullanıldı. Tampon çözeltileri hazırlamak için bir Ohaus Starter 3000 pH metre kullanıldı.

Elektrokimyasal ölçümler için çalışma elektrodu olarak bir camsı karbon elektrot (CKE, CHI104) veya guanin/glutardialdehit ile modifiye edilmiş bir CKE, bir Ag/AgCl (3 mol·L⁻¹ KCl içeren) referans elektrodu (MF-2052, BASI) ve bir Pt tel karşıt elektrot kullanıldı. Elektrokimyasal çalışmalar yapılmadan önce CKE'nin yüzeyi temizlendi. Elektrot, parlatma pedi/kağıdı üzerinde bulunan sulu alüminyum oksit (alümina, Al₂O₃) mikropartikülleri (0,05 µm partikül boyutu) bulamacı ile manuel olarak temizlendi ve daha sonra ultra saf su ile iyice durulandı. Daha sonra elektrot, yüzeyinde kalan safsızlıkları ve kalıntıları temizlemek için ultra saf su içeren bir ultrasonik banyoda (JKWSTAR, VGT-800) 10 dakika sonikasyona tabi tutuldu. Tekrar durulama işlemi yapılarak elektrot temizliği DV tekniği ile kontrol edildi. Elektrokimyasal hücrenin yerleştirildiği, manyetik karıştırma ve inert gaz ile süpürme standı **Şekil 2.2'**de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Elektrokimyasal hücrenin yerleştirildiği, manyetik karıştırma ve inert gaz ile süpürme standı (C4 hücre standı)

2.3. Modifiye Elektrodun Hazırlanması

Elektrokimyasal olarak OST, CKE üzerinde redoks tepkimesi vermeyen bir maddedir. Bu nedenle OST'nin CKE kullanarak elektrokimyasal olarak algılanabilmesi için guanin bazı ile etkileşimine bakılmış ve guanin bazının yükseltgenme pikine ait akımın OST varlığında azaldığı belirlenmiştir. Guanin ve OST ilaç etken maddesinin arasındaki etkileşimi ölçebilmenin iki yolu vardır. Birincisi guanini elektrot yüzeyine immobilize etmek ve ikincisi elektrokimyasal hücrede bulunan elektrolitik çözelti içerisinde guanin eklemek. Bu çalışmada sensör olarak kullanımının daha pratik olması açısından guaninin camı karbon elektrodunun elektroaktif yüzeyine immobilizasyonu üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Çalışmada kullanılan çözeltiler kimyasal olarak bozunmaya uğramaması için +4 °C'de buzdolabında saklanmıştır. Elektrodu modifiye etmek için başlangıçta optimum guanin ve glutardialdehit (GA₂) konsantrasyonunu saptamak önemlidir. Bu nedenle %7, %5, %2,5, %0,5 ve %0,25'lik glutardialdehit çözeltileri ayrı ayrı hazırlanmış ve guanin miktarları 3 mg·mL⁻¹, 1 mg·mL⁻¹, 0,5 mg·mL⁻¹ ve 0,25 mg·mL⁻¹ olacak şekilde her bir çözeltinin içerisinde farklı miktarlarda guanin eklenmiştir. Elde edilen süspansiyonların bozunmaya uğramaması için çalışmalar sırasında +4 °C'de buzdolabında saklanmıştır ve CKE'nin modifiye edilmesi işlemlerinde kullanılmıştır. Elde edilen guanin–glutardialdehit karışımlarından 5 µL alınarak dökme–kurutma yöntemi ile elektrodun elektroaktif yüzeyine damlatılmış ve çözelti +4 °C'de kurumaya bırakılmıştır. 5

saat süren kurutma işleminin ardından modifiye edilmiş elektrot elektrokimyasal ölçüm yapmak için uygun hale gelmiştir. Glutardialdehit bir çapraz bağlayıcı olduğu için guanini elektrot yüzeyine bağlamıştır. Kurutma işleminin uzun sürmesi nedeniyle hava akış hızı $90 \text{ km}\cdot\text{sa}^{-1}$ olan kurutma cihazı (CVS Nilüfer DN7011) kullanılarak, hava ($30 \text{ }^\circ\text{C}$) akımında kurutma işlemi uygulanmış ve kurutma süresi 30 dk'ya düşürülmüştür. Elektrot modifikasyonu için en uygun guanin ve glutardialdehit konsantrasyonlarını belirlemek üzere her bir elektrot için DV, KDV ve DPV teknikleri ile guanin pikinin oksidasyon akımı ölçülmüştür. En yüksek akımın elde edildiği guanin ve glutardialdehit konsantrasyonu ve ölçüm tekniği belirlenmiştir. Böylece elektrot modifikasyonu için optimum guanin konsantrasyonu, glutardialdehit konsantrasyonu ve en yüksek pik akımını veren ölçüm tekniği belirlenmiştir.

2.4. Tablet ve İdrar Numunelerinin Hazırlanması

F.Hoffmann–La Roche Ltd. firması tarafından üretilen ve OST ilaç etken maddesi içeren Tamiflu[®] (75 mg OST/kapsül) ülkemizde SARS–CoV2 tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca influenza virüsleri A ve B'nin (pandemik H1N1 dahil) neden olduğu enfeksiyonun tedavisi için de kullanılan bir antiviral nöraminidaz inhibitörüdür. Farmasötik tabletler ticari olarak satın alınmış ve OST'nin elektrokimyasal analizi için geliştirilen GA₂–Guanin/CKE elektrodunun uygulanabilirliğini belirlemek için kullanılmıştır.

İdrar örneği 5 yaşındaki sağlıklı bir çocuktan alınmıştır ve içerisinde bulunan katı parçacıkları çöktürmek için 8000 devirde 30 dk santrifüjlenmiştir. Santrifüj edildikten sonra çöktürülen uzak olacak şekilde üst kısımdan alınan 1 mL idrar örneği elektrokimyasal çalışmalarda girişim etkisini belirlemek ve idrar örneklerinde OST'nin analiz edilebilirliğini araştırmak için elektrokimyasal hücre içerisinde bulunan 9 mL BR tampon çözeltisine eklenmiş ve standart ekleme yöntemi kullanılarak OST analizleri yapılmıştır.

2.5. Modifiye Elektrodun Karakterizasyonu

Modifiye elektrodun kimyasal ve fiziksel yapısını karakterize etmek için modifiye elektrot yüzeyi sırasıyla Fourier Transform Infrared (FTIR) analizi ve Sony IMX485 sensör, koaksiyel lamba ve Nikon monoküler C-Mount lens ile donatılmış bir stereo mikroskop ile incelenmiştir.

GA₂-Guanin/CKE elektrodunun aktif çalışma yüzey alanını hesaplamak amacıyla 10 mL, 10⁻³ mol·L⁻¹ potasyum ferrosiyandır (K₃[Fe(CN)₆]) ve 10⁻¹ mol·L⁻¹ potasyum nitrat (KNO₃) içeren elektrolitik çözelti kullanılmıştır. Döngüsel voltametri tekniği ile farklı tarama hızlarında ölçümler yapılmıştır.

OST ilaç etken maddesinin modifiye elektrodun yüzeyinde gerçekleşen yükseltgenme olayında elektrot yüzeyine difüzyon yoluyla mı ulaştığı yoksa elektrot yüzeyine adsorbe mi olduğunu anlamak için 5–1000 mV·s⁻¹ tarama hızı aralığında DV tekniği kullanılarak ölçümler yapılmıştır. Elde edilen veriler kullanılarak log v –log I_p grafiği çizilmiş ve çizilen doğrunun eğimi yorumlanmıştır.



3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Optimum Çalışma Parametrelerinin Belirlenmesi

3.1.1. Optimum pH'ın belirlenmesi

Daha hassas ve düşük ilaç konsantrasyonlarını ve bunların DNA etkileşimi sergileyip sergilemediklerini saptayabilmek için guaninin elektrokimyasal ölçümleri sırasında maksimum akımı gösteren en uygun ölçüm koşullarını belirleme çalışmaları yapılmıştır. Buna göre ilk olarak çalışma ortamının pH'ının optimizasyonu üzerinde çalışılmıştır. pH 2,0, pH 3,0, pH 4,0, pH 5,0, pH 6,0, pH 7,0, pH 8,0, pH 9,0, pH 10,0, pH 11,0 ve pH 12,0 asitlik değerlerine sahip Britton–Robinson tampon çözeltileri hazırlanmıştır. Her bir tampon çözelti içerisinde modifiye edilmiş elektroda DV, KDV ve DPV ölçüm teknikleri uygulanarak guanin oksidasyonunun pik akımı belirlenmiştir. En yüksek pik akımları pH 11,0'de ölçülmüş olup, pH 12,0'de modifiye elektrotla yapılan ilk ölçümden sonra elektrodun yüzeyinde kaplanmış olan filmin desorbisyona uğradığı görülmüştür. Bu nedenle en yüksek pik akımının elde edildiği pH 11,0 sonraki çalışmalarda kullanılacak optimum pH değeri olarak tercih edilmiştir.

3.1.2. Kullanılacak ölçüm tekniğinin belirlenmesi

GA₂–Guanin/CKE modifiye elektrodu pH 11,0 Britton–Robinson tampon çözeltisi ile elektrokimyasal ölçümlere tabi tutulmuştur. Bunun için, CKE'un temiz olup olmadığı döngüsel voltametri, diferansiyel puls voltametrisi ve kare dalga voltametrisi ölçüm teknikleri ile kontrol edilmiştir. Ölçüm sırasında herhangi bir yükseltgenme veya indirgenme piki görülmediği için elektrodun temiz olduğu anlaşılmış ve ardından %5 Glutardialdehit–0,25 mg·mL⁻¹ guanin karışımı ile modifiye edilmiştir. Döngüsel voltametri (DV), diferansiyel puls voltametrisi (DPV) ve kare dalga voltametrisi (KDV) teknikleri uygulandığında negatif potansiyellerde herhangi bir elektrokimyasal tepkime saptanmamakla birlikte, 0,0–2,0 V potansiyel aralığında bir oksidasyon piki elde edilmiştir (Şekil 1). Literatür taraması yapıldığında guanin bazı ile yapılan elektrokimyasal çalışmalarda da benzer olarak bir oksidasyon pikinin elde edildiği görülmüştür (Elik ve ark., 2017; Nawaz ve ark., 2006; Topal, 2011). pH çalışmasında yapılan ölçümler

sonucunda pH 11,0'de elde edilen ortalama pik akımları değerlendirildiğinde en yüksek pik akımı DPV tekniği ile elde edilmiştir. OST ilaç etken maddesinin elektrokimyasal analizi için DPV tekniği tercih edilmiştir.

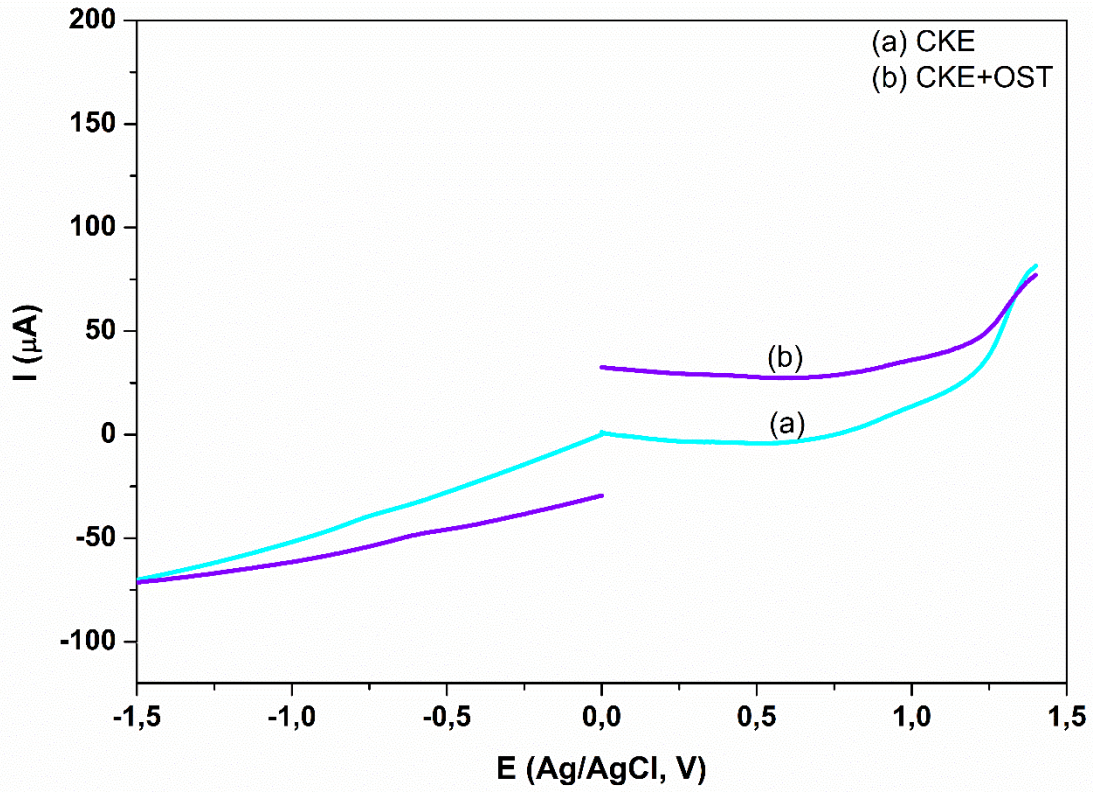
3.1.3. DPV tekniğinin parametrelerinin optimizasyonu

Modifiye elektrot (GA_2 -Guanin/CKE) pH 11,0 Britton-Robinson tampon çözeltisi içerisinde DV, KDV ve DPV teknikleri kullanılarak elektrokimyasal ölçümlere tabi tutulmuştur. Elde edilen ortalama pik akımları değerlendirildiğinde en yüksek pik akımın DPV tekniği ile elde edilmiştir. OST ilaç etken maddesinin elektrokimyasal analizi için DPV tekniği tercih edilmiştir. Bu teknikte kullanılan cihaz parametreleri pulse time, pulse amplitude ve E_{step} değerleridir.

Bu değerlerden ikisi sabit tutulup, her biri ayrı ayrı değiştirilerek en düzgün ölçüm sonucunu ve yüksek pik akımını veren değerler optimum çalışma koşulları olarak belirlenmiştir. Bu çalışma koşulları; Puls time: 10 ms, puls amplitude: $200 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ ve E_{step} : $2 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ olarak saptanmıştır. Tarama hızı benzer çalışmalarda $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ veya $50 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ olarak seçildiği için bu çalışmada tarama hızı $50 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ olarak tercih edilmiştir.

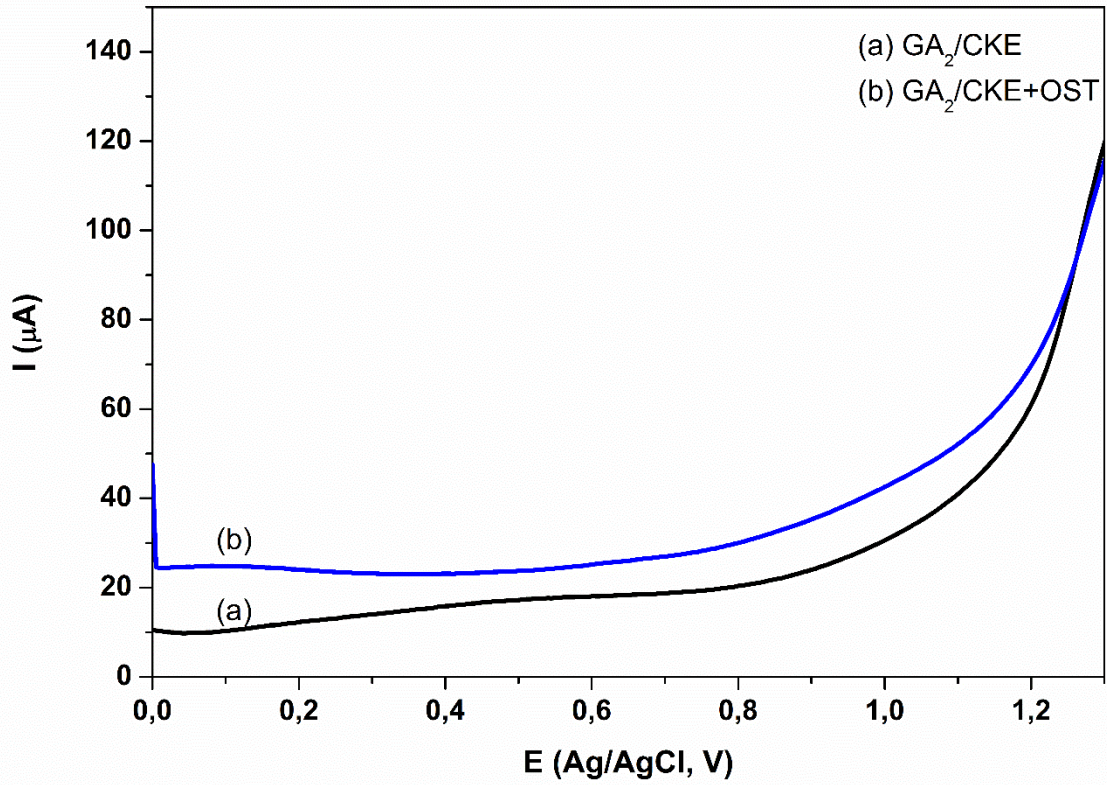
3.2. Oseltamivirin CKE, GA_2 /CKE ve GA_2 -Guanin/CKE Elektrotlarının Yüzeyinde Elektrokimyasal Davranışı

OST ilaç etken maddesinin CKE, GA_2 /CKE ve GA_2 -Guanin/CKE elektrotlarının yüzeyindeki redoks tepkimelerini gözlemleyebilmek için 10 mL BR tampon çözeltisi içerisine öncelikle yüzeyi parlatılıp temizlenmiş CKE elektrodu daldırılarak DPV voltamogramları kaydedilmiştir (**Şekil 3.1.**). Elde edilen voltamogramlarda anodik ve katodik bölgede herhangi bir redoks tepkimesi görülmemiştir. CKE elektrot kullanıldığında, OST ilaç etken maddesine ait herhangi bir redoks piki saptanmadığı için analiz edilmesi mümkün olmadığından etkileşime girebileceği başka bir ajana gereksinim duyulmuştur.



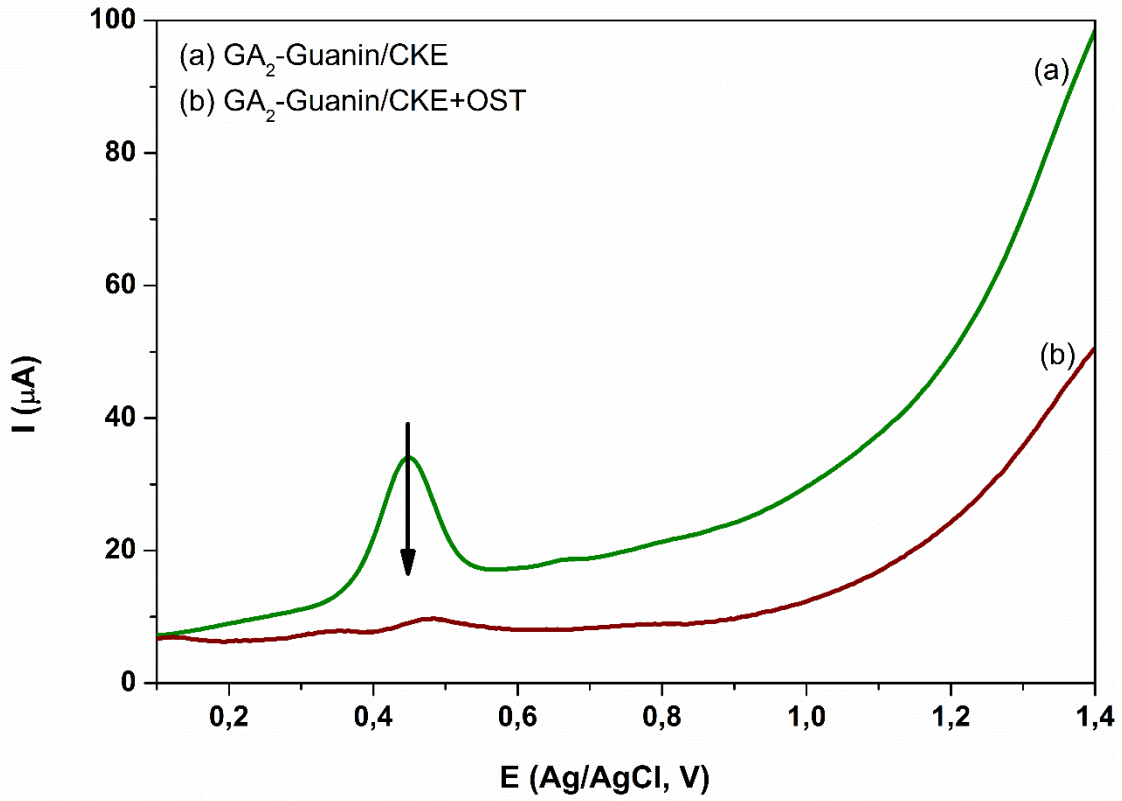
Şekil 3.1. CKE elektrot kullanarak pH 11,0 BR tamponu çözeltisi içerisinde (-)1,5 V-(+)1,5 V potansiyel aralığında elde edilen DPV voltamogramı (a) ve ortama $1,5 \times 10^{-5}$ mol·L⁻¹ OST eklenmesiyle (-)1,5 V-(+)1,5 V potansiyel aralığında kaydedilen DPV voltamogramı (b)

Elektrodu modifiye etmek için çapraz bağlayıcı olan GA₂ kullanılması uygun görüldüğünden, GA₂/CKE modifiye elektrodunun OST maddesi ile etkileşime girip redoks tepkimesi oluşturup oluşturmadığı incelenmiştir. Bunun için, 10 mL pH 11,0 BR tamponu içerisine GA₂/CKE elektrodu daldırılmış DPV voltamogramları kaydedildikten sonra, ortama $1,5 \times 10^{-5}$ mol·L⁻¹ OST eklenerek aynı işlem tekrarlanmıştır. Elde edilen voltamogramlar **Şekil 3.2**'de gösterilmiştir.



Şekil 3.2. GA₂/CKE elektrot kullanarak pH 11,0 BR tamponu çözeltisi içerisinde elde edilen DPV voltamogramı (a) ve ortama $1,5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ OST eklenmesiyle kaydedilen DPV voltamogramı (b)

Modifiye GA₂/CKE elektrodu kullanarak pH 11,0 BR tamponu çözeltisi içerisinde elde edilen DPV (a) voltamogramı ve ortama $1,5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ OST eklenmesiyle kaydedilen DPV voltamogramı (b), OST'nin GA₂ ile etkileşime girmediğini açıkça göstermektedir (**Şekil 3.2.**). GA₂ bağlayıcı olarak kullanıldığı için bu sonuç istenen bir durumdur. Bir sonraki aşamada GA₂ içerisine guanin eklenerek, OST'nin DNA ile etkileşimi üzerine incelemeler yapılmıştır. Bu şekilde elde edilen GA₂-Guanin/CKE modifiye elektroduna da aynı işlemler uygulanmış ve kaydedilen voltamogramlar **Şekil 3.3**'te gösterilmiştir.

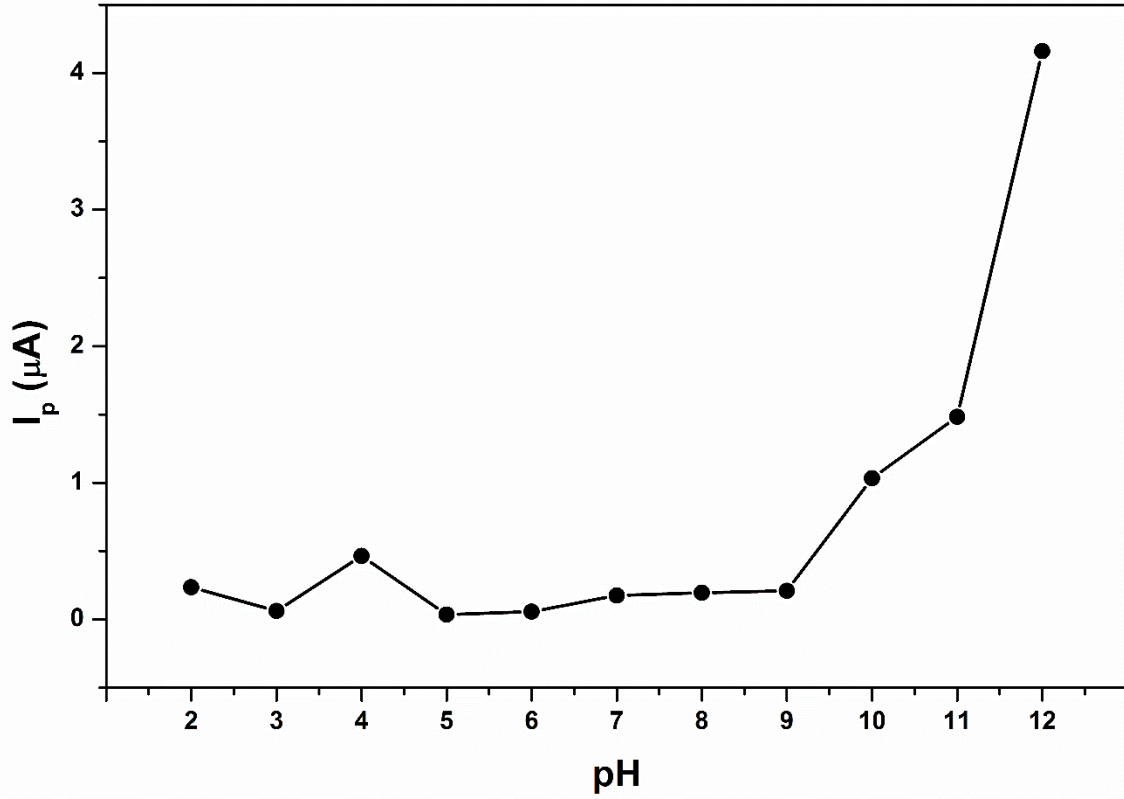


Şekil 3.3. GA_2 -Guanin/CKE elektrot kullanarak pH 11,0 BR tamponu çözeltisi içerisinde elde edilen DPV voltamogramı (a) ve ortama $1,5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ OST eklenmesiyle kaydedilen DPV voltamogramı (b)

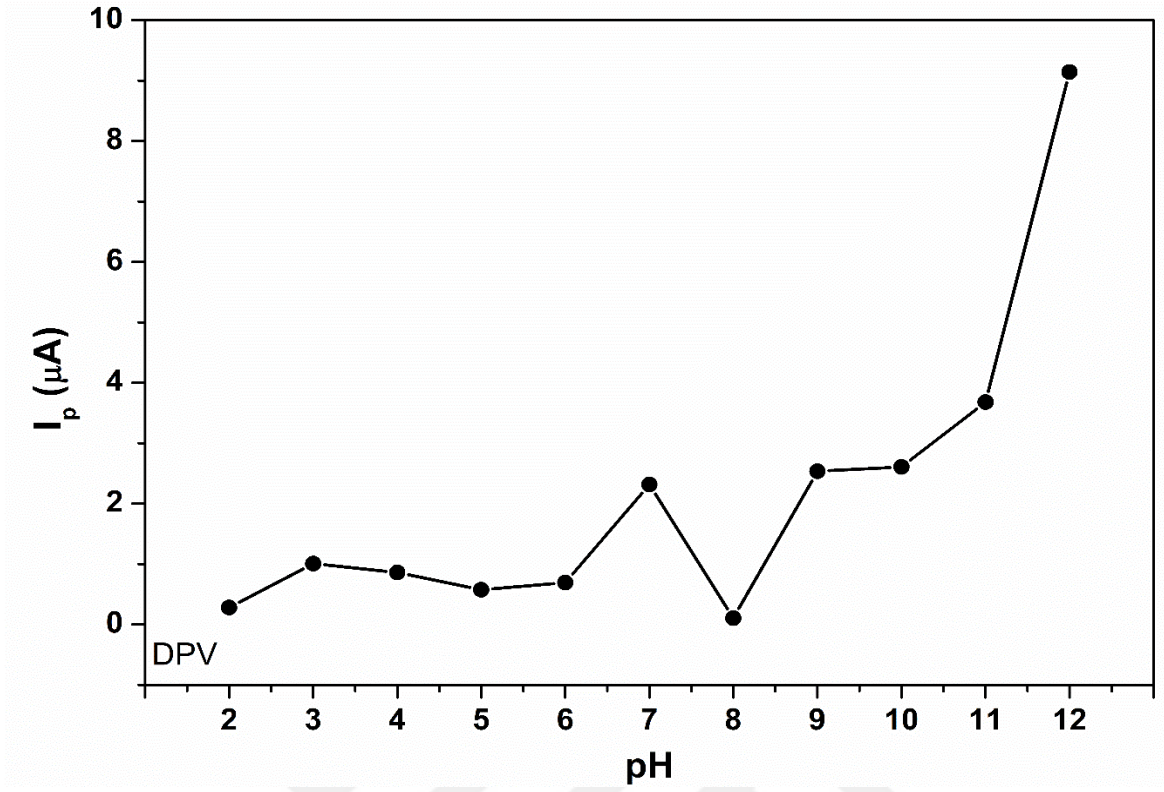
GA_2 -Guanin/CKE elektrot kullanarak pH 11,0 BR tamponu çözeltisi içerisinde elde edilen DPV diyagramında da görüldüğü üzere 0,45 V potansiyel uygulandığı zaman guaninden kaynaklanan bir oksidasyon piki elde edilmiştir. Ortama $1,5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ OST eklenmesiyle kaydedilen DPV voltamogramları guanin ve OST arasında etkileşim olduğunu ve OST'nin guanine bağlanarak redoks aktivitesini engellediğini bunun sonucunda da pik akımı şiddetinde azalma meydana geldiğini göstermiştir. Böylece GA_2 -Guanin/CKE elektrodun COVID-19 tedavisinde kullanılan OST ilaç etken maddesinin elektrokimyasal analizi için kullanılabileceği düşünülmüştür.

3.3. Optimum pH'ın Belirlenmesi

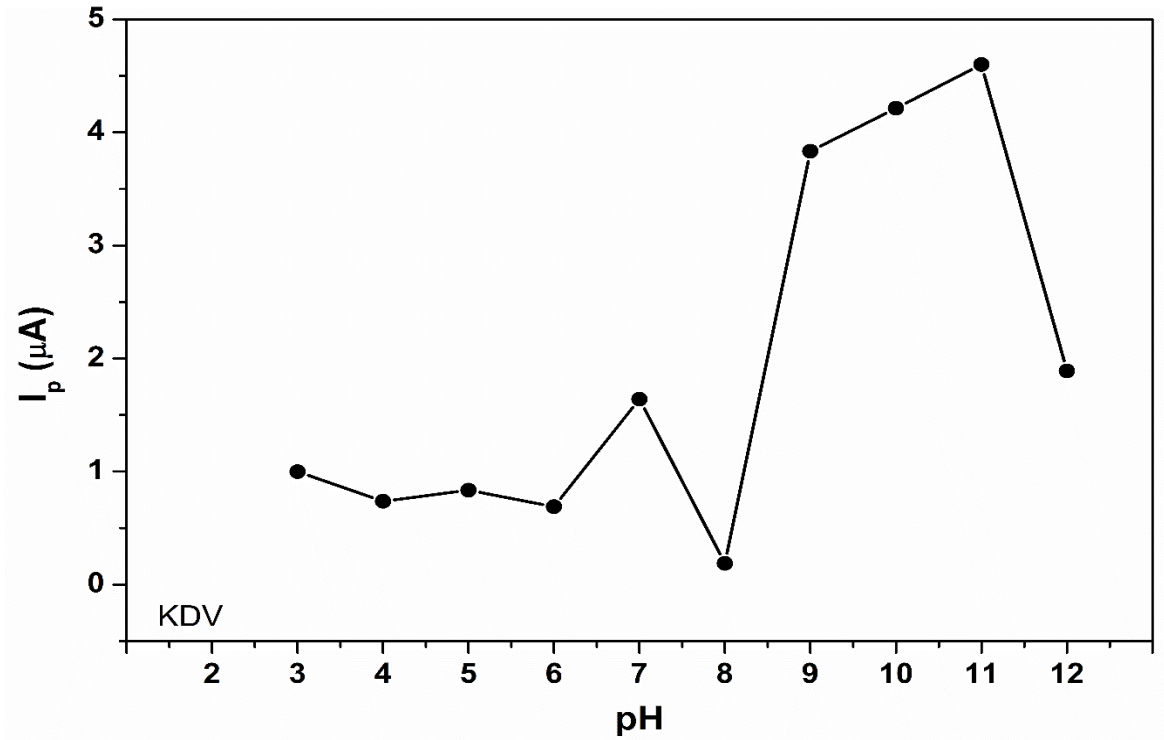
pH 2,0–12,0 değerlerine sahip BR tampon çözeltileri içerisinde $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ guanin içeren %5'lik GA_2 çözeltisi ile elde edilen GA_2 –Guanin/CKE elektroda DV, KDV ve DPV ölçüm teknikleri uygulanarak guanin oksidasyonunun pik akımı belirlendi. Ölçülen pik akımı değerleri kullanılarak pH– I_p grafikleri çizildi (Şekil 3.4., Şekil 3.5. ve Şekil 3.6.).



Şekil 3.4. Döngüsel voltametri (DV) tekniği kullanılarak elde edilen pH–pik akımı grafiği



Şekil 3.5. Diferansiyel puls voltametri (DPV) tekniği kullanılarak elde edilen pH–pik akımı grafiği



Şekil 3.6. Kare dalga voltametri (KDV) tekniği kullanılarak elde edilen pH– I_p grafiği

Şekil 3.4., Şekil 3.5. ve Şekil 3.6.'da pH–Ip grafikleri incelendiğinde, asidik bölgede pik akımı değerlerinin birbirine yakın ve oldukça düşük seviyede olduğu açıkça görülmüştür. Bazik ortamda yapılan deneylerde pik akımlarının pH arttıkça yükseldiği ancak, pH 12,0'den itibaren elektrot kaplamasının birkaç ölçümden sonra elektrot yüzeyinden ayrıldığı gözlemlenmiş ve bir süre sonra ölçüm yapılamadığı görülmüştür. Bu nedenle en yüksek pik akımının elde edildiği pH 11,0 tampon çözeltisinin, çalışma için en ideal pH değerini sağladığı düşünülmüş ve daha sonraki çalışmalarda pH 11,0 BR tampon çözeltisi elektrolitik çözelti olarak kullanılmıştır.

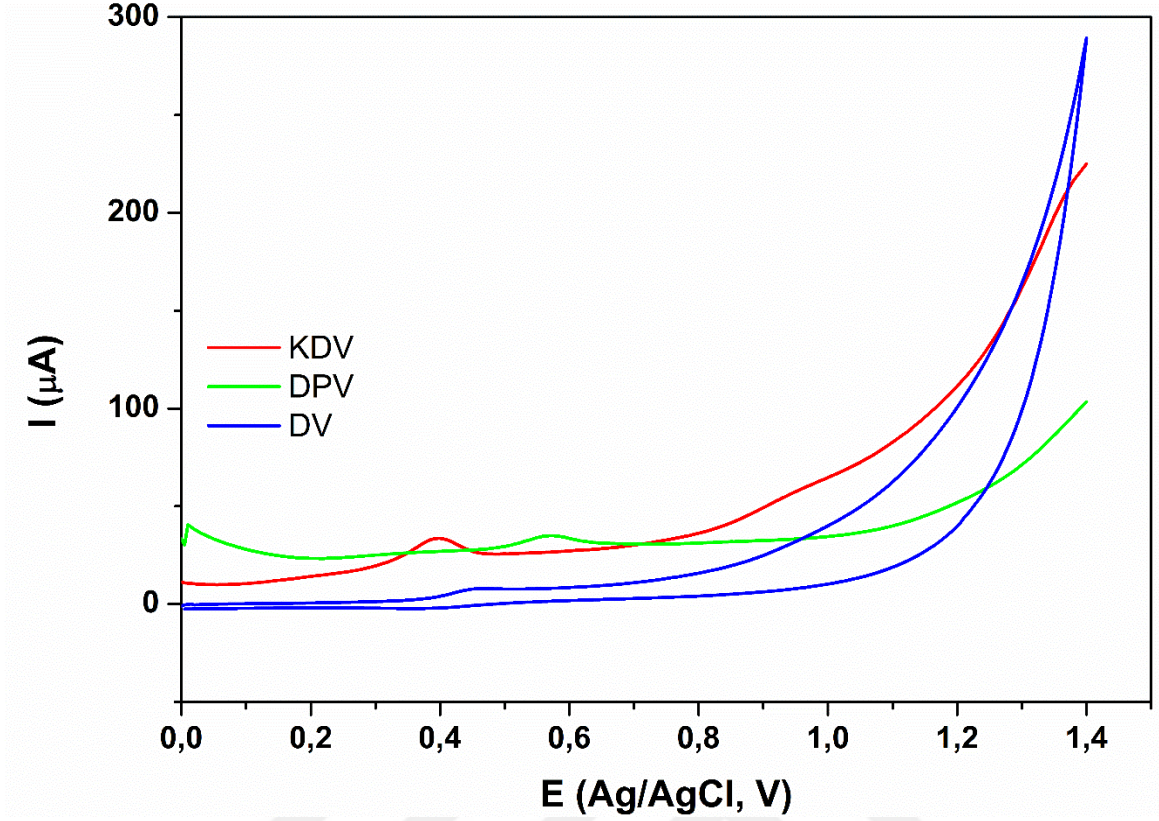
3.4. Modifiye Elektrodun Hazırlanması

Elektrodu modifiye etmek için en uygun GA₂ ve guanin konsantrasyonunu saptamak, düşük saptama limitine sahip, hassas bir sensör elde edebilmek için önemlidir. Bu nedenle %7, %5, %2,5, %0,5 ve %0,25'lik glutardialdehit çözeltileri ayrı ayrı hazırlanmış ve guanin miktarları 3 mg·mL⁻¹, 1 mg·mL⁻¹, 0,5 mg·mL⁻¹ ve 0,25 mg·mL⁻¹ olacak şekilde her bir GA₂ çözeltisinin içerisine farklı miktarlarda katlandırılmıştır. Elektrot modifikasyonu için en uygun guanin ve glutardialdehit konsantrasyonlarını belirlemek üzere her bir elektrot için 10 mL, pH 11,0 BR tamponu içerisinde DV, KDV ve DPV teknikleri ile uygulama yapılmış ve elde edilen guanin pikinin oksidasyon akımı ölçülmüştür. Sonuçlar **Tablo 1**'de verilmiştir. En yüksek akımın elde edildiği guanin ve glutardialdehit konsantrasyonu ve ölçüm tekniği belirlenmiştir. Böylece elektrot modifikasyonu için optimum guanin konsantrasyonu, glutardialdehit konsantrasyonu ve en yüksek pik akımını veren ölçüm tekniği belirlenmiştir. En düşük pik akımları DV tekniği ile ölçülmüş olmakla birlikte KDV ve DPV teknikleri ile elde edilen pik akımlarının birbirine yakın olduğu görülmüştür. Ancak en yüksek pik akımına DPV tekniği ile ulaşılmıştır (Şekil 3.7.). 0,25 mg·mL⁻¹ konsantrasyonuna sahip guanin içeren %5'lik GA₂ çözeltisi kullanılarak CKE modifiye edildiği zaman, diğer çözeltilerle modifiye edilen elektrotlara nispeten oldukça yüksek pik akımı ölçülmüştür.

Tablo 3.1. Farklı bileşimlere sahip GA₂-Guanin/CKE elektrotları ve DPV tekniğinin uygulanması ile elde edilen guanin pik akımları.*

GA ₂ konsantrasyonu (%)	Guanin miktarı (mg·mL ⁻¹)	Guaninin pik akımı (µA)
7	3	14,2
7	1	13,9
7	0,5	14,4
7	0,25	11,7
5	3	1,1
5	1	15,3
5	0,5	19,2
5	0,25	22,5
2,5	3	7,9
2,5	1	3,5
2,5	0,5	1,5
2,5	0,25	3,4
1	3	17,1
1	1	15,3
1	0,5	12,0
1	0,25	12,7
0,5	3	15,6
0,5	1	18,3
0,5	0,5	12,8
0,5	0,25	11,5

*: Her bir pik akımı iki farklı ölçüm sonucunun ortalaması alınarak hesaplanmıştır.

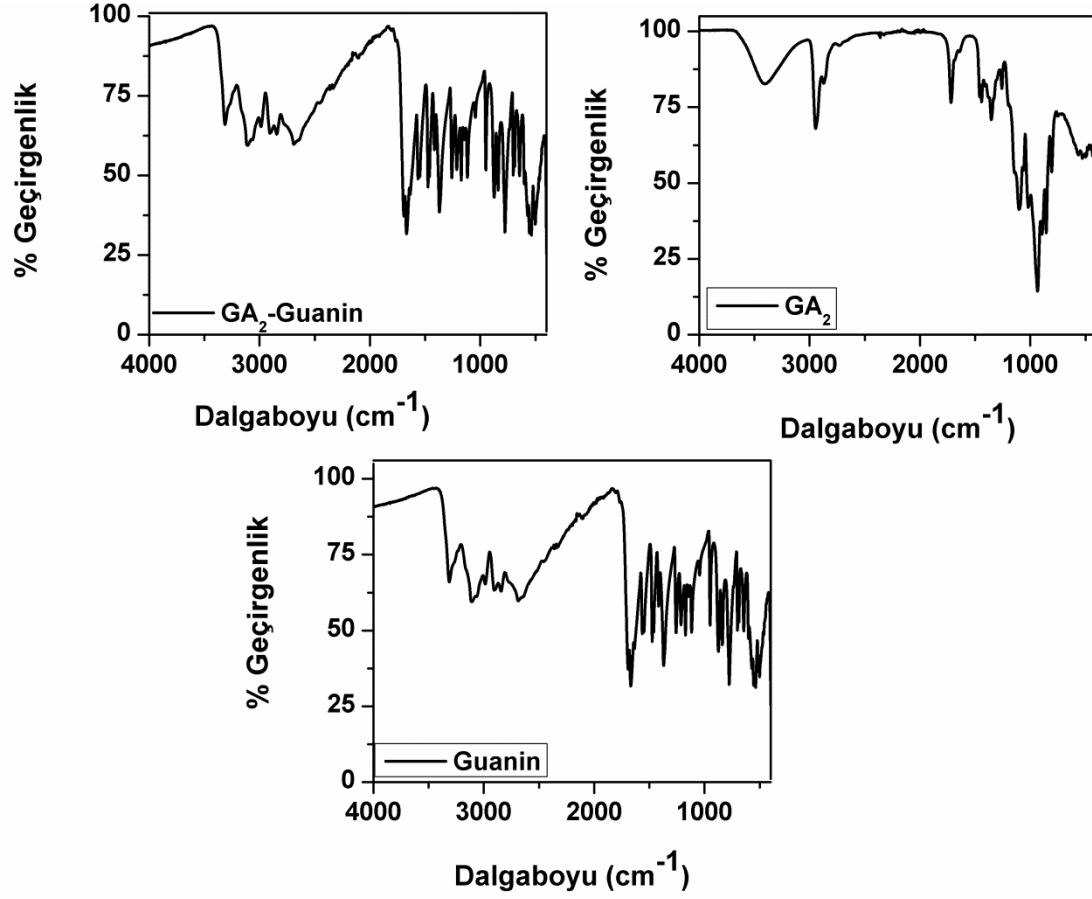


Şekil 3.7. GA₂/CKE elektrodu ile pH 11,0 BR tamponu içerisinde 0,0 V–1,4 V potansiyel aralığında DV, KDV ve DPV teknikleri ile elde edilen voltamogramlar

3.5. Elektrot Karakterizasyonu

3.5.1. Fourier transform infrared analizi (FTIR)

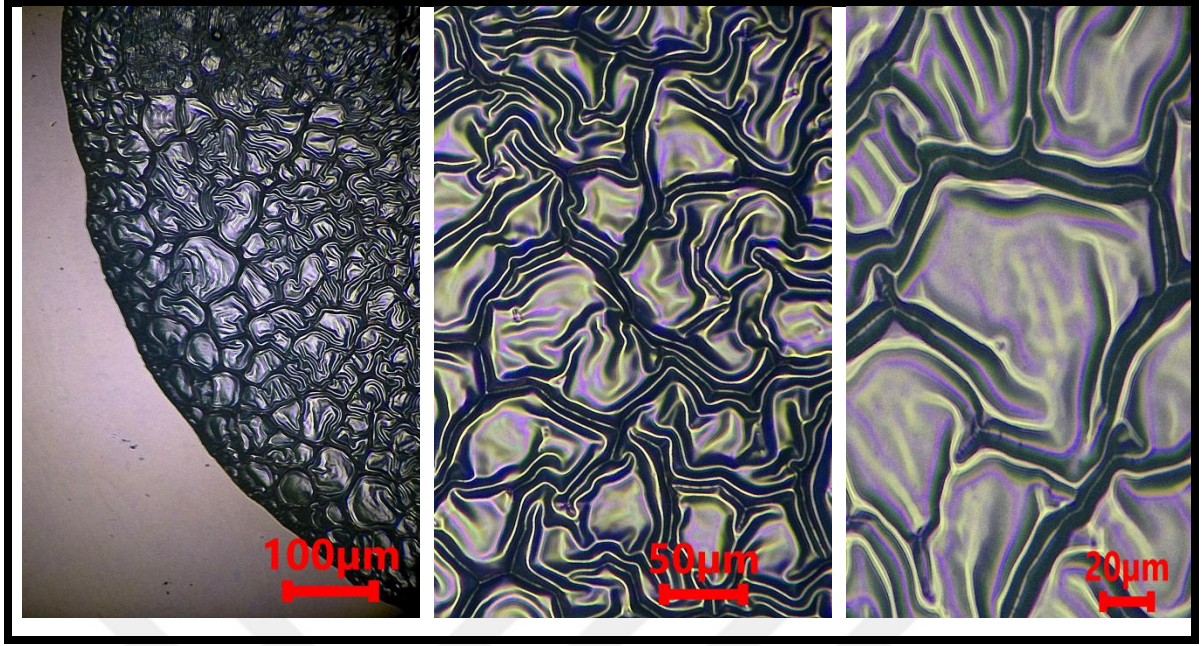
Bu çalışmada çubuk şeklindeki elektrodun uzun şeklinden dolayı FTIR analizinde kullanılamaması nedeniyle mikroskop lamı üzerine %5’lik GA₂ çapraz bağlayıcı çözeltisi, 0,25 mg·mL⁻¹ guanin içeren guanin ve 0,25 mg·mL⁻¹ guanin içeren %5’lik GA₂ çözeltisinden (GA₂–Guanin) ayrı ayrı 5 µL alınarak damlatma kurutma işlemleri uygulanmış ve ardından FTIR analizi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 3.8.’de gösterilmiştir. GA₂–Guanin analizinde guaninden kaynaklanan piklerin, GA₂’den gelen pikleri kapattığı görülmüştür. 2948 cm⁻¹ dalga boyundaki ve 1716 cm⁻¹ dalga boyundaki pikler sırasıyla, C–H gerilimi ve C–O esnemesini göstermektedir.



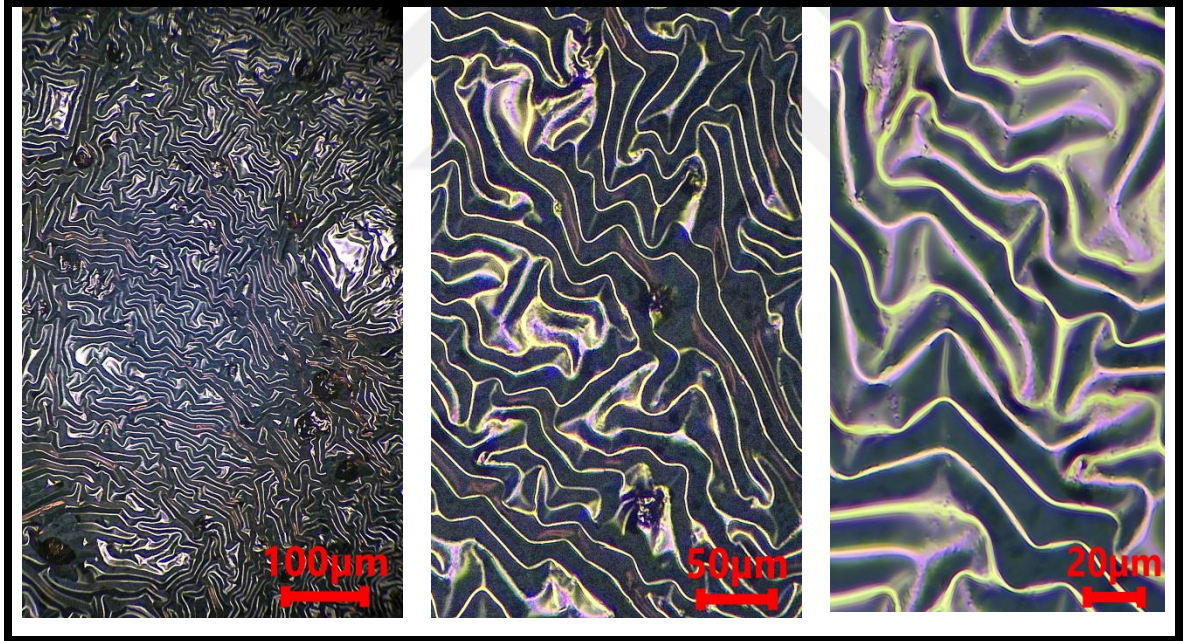
Şekil 3.8. Guanin, GA₂ ve GA₂-Guanin ince filmlerinin FTIR analizi

3.5.2. Stereo mikroskop incelemesi

GA₂/CKE ve GA₂-Guanin/CKE elektrotlarının taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntülerini incelemek üzere, mikroskop lamı üzerine 5 µL %5'lik GA₂ ve 0,25 mg·mL⁻¹ guanin içeren %5'lik GA₂ çözeltileri ayrı ayrı damlatılıp kurutulduktan sonra ince bir tabaka altın kaplanmıştır. Aynı numuneler stereo mikroskop kullanılarak farklı büyütmelerde mikroskop görüntüleri de elde edilmiştir (Şekil 3.9. ve Şekil 3.10.). Bu görüntüler incelendiğinde her iki elektrot yüzeyinde belirgin ve tek tip görünümlü bir film oluştuğu görülmüştür. Bu filmlerin fiziksel yapısı pürüzlü olmakla birlikte, guanin içeren filmde daha fazla kıvrımlı bir yapı elde edildiği açıktır. Kıvrımlı yüzey oluşması, elektrot yüzeyindeki elektroaktif bölgenin yüzey alanını arttırmış olabilir.



Şekil 3.9. GA₂/CKE elektrodu mikroskop görüntüleri.

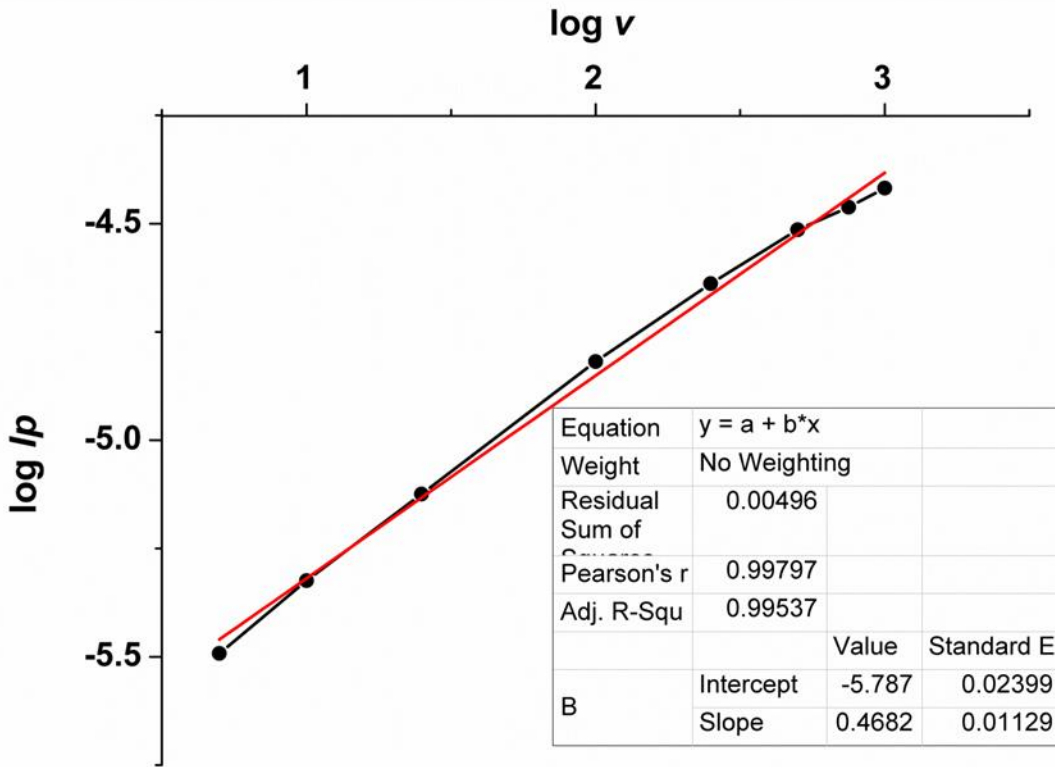


Şekil 3.10. GA₂-Guanin/CKE elektrodu mikroskop görüntüleri.

3.5.3. Tarama hızı ile elektrot karakterizasyonu

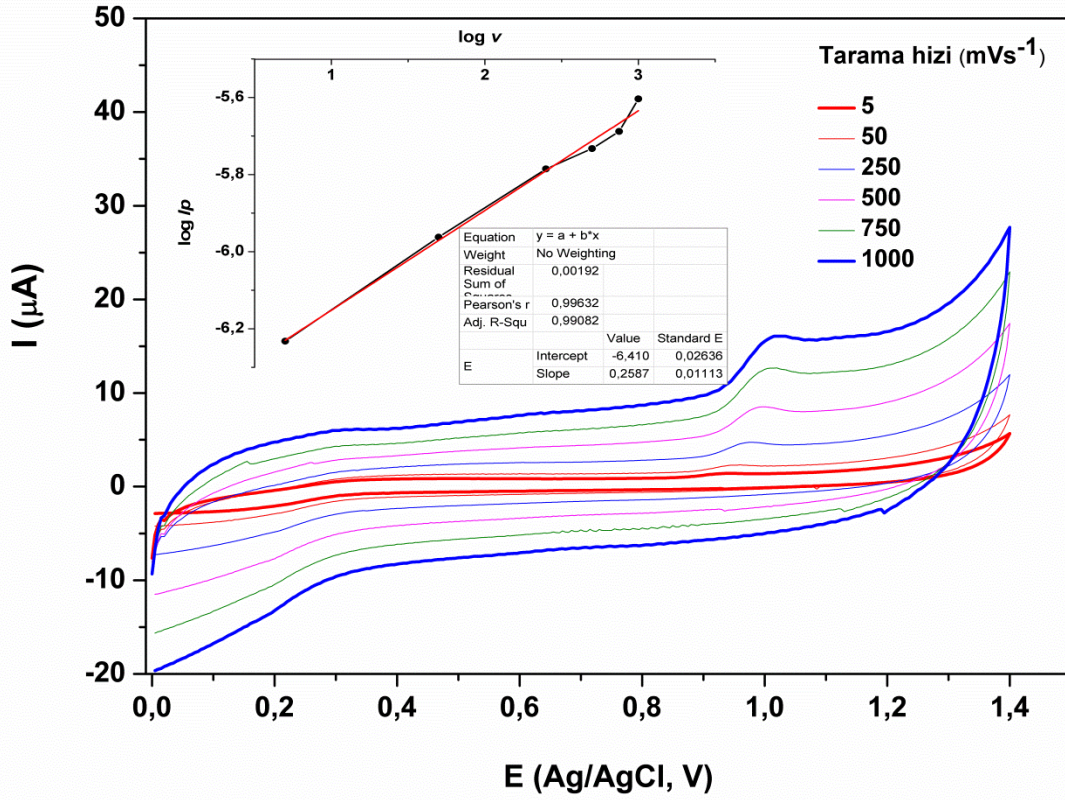
$10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ve $10^{-1} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ KNO}_3$ içeren elektrolitik çözelti içerisinde değişen tarama hızları ile DV ölçümleri yapılmıştır. Elektrot olarak CKE kullanılmış olup, 0,0 V–1,4 V potansiyel aralığında ve 5–1000 mVs^{-1} tarama hızı aralığında farklı trama

hızları ile kaydedilen voltamogramlarda $K_3Fe(CN)_6$ 'e ait yükseltgenme piki dikkate alınarak $\log v$ - $\log I_p$ grafiği çizilmiştir. Bu grafikte eğim değerinin 0,5 olması elektrot yüzeyinde gerçekleşen redoks aktivitesinin difüzyon kontrollü olduğunu, 1,0 olması ise aktivitenin adsorpsiyon kontrollü olduğunu ifade eder. **Şekil 3.11.**'de görüldüğü gibi 5–1000 mVs^{-1} tarama hızı aralığında yapılan ölçümler sonucu eğim değerinin 0,46 $A/(mVs^{-1})$ olduğu görülmüştür. Bu sonuç elektrot yüzeyinde difüzyon kontrollü bir redoks tepkimesinin gerçekleştiğini ifade etmektedir.



Şekil 3.11. CKE elektrodunun $10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} K_3Fe(CN)_6$ ve $10^{-1} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} KNO_3$ içeren 10 mL çözelti içerisine daldırılarak, 0,0 V–1,4 V potansiyel aralığında ve 5–1000 mVs^{-1} tarama hızı aralığında elde edilen $\log v$ - $\log I_p$ grafiği

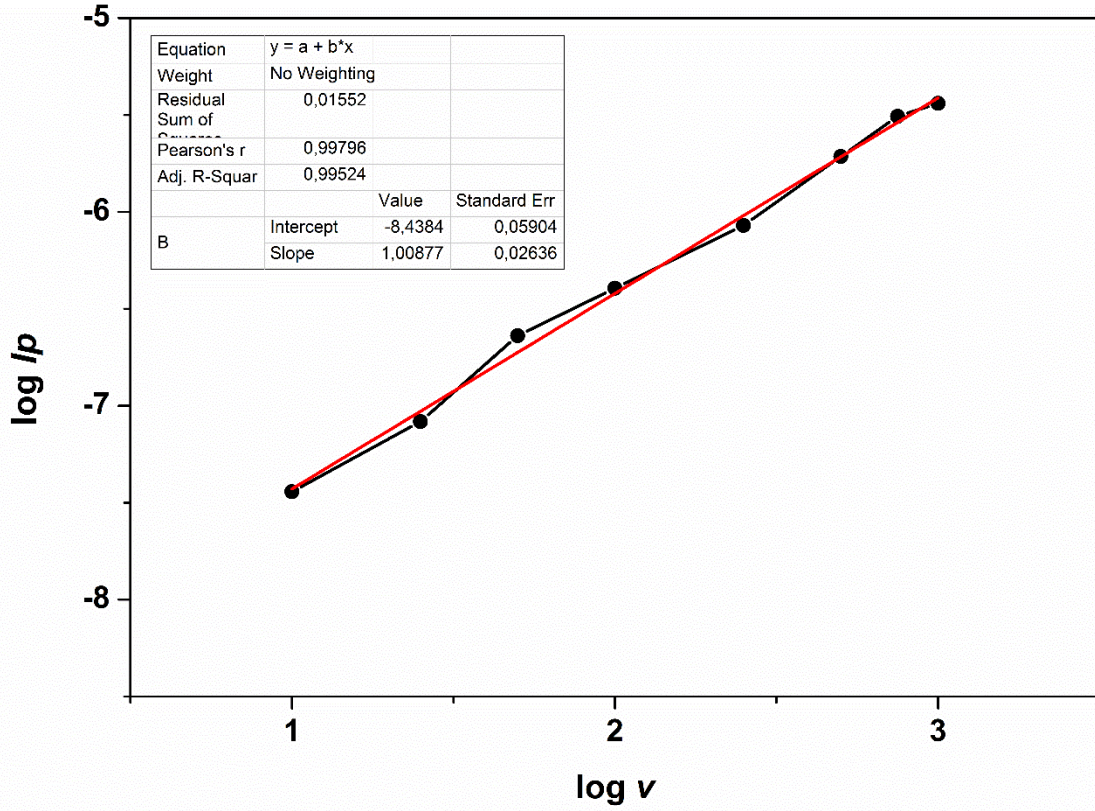
Aynı işlem GA_2 -Guanin/CKE modifiye elektroduna uygulandığı zaman $K_3Fe(CN)_6$ ait yükseltgenme pikinin artan tarama hızına karşılık yanıtı incelenmiştir. GA_2 -Guanin/CKE modifiye elektrodunun $10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} K_3Fe(CN)_6$ ve $10^{-1} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} KNO_3$ içeren 10 mL çözelti içerisinde, 0,0 V–1,4 V potansiyel aralığında ve 5–1000 mVs^{-1} tarama hızı aralığında elde edilen $\log v$ - $\log I_p$ grafiği **Şekil 3.12.**'de gösterilmiştir.



Şekil 3.12. GA₂-Guanin/CKE elektrodunun 10⁻³ mol·L⁻¹ K₃Fe(CN)₆ ve 10⁻¹ mol·L⁻¹ KNO₃ içeren 10 mL çözelti içerisinde daldırılarak, 0,0 V–1,4 V potansiyel aralığında ve 5–1000 mVs⁻¹ tarama hızı aralığında elde edilen log v–log I_p grafiği

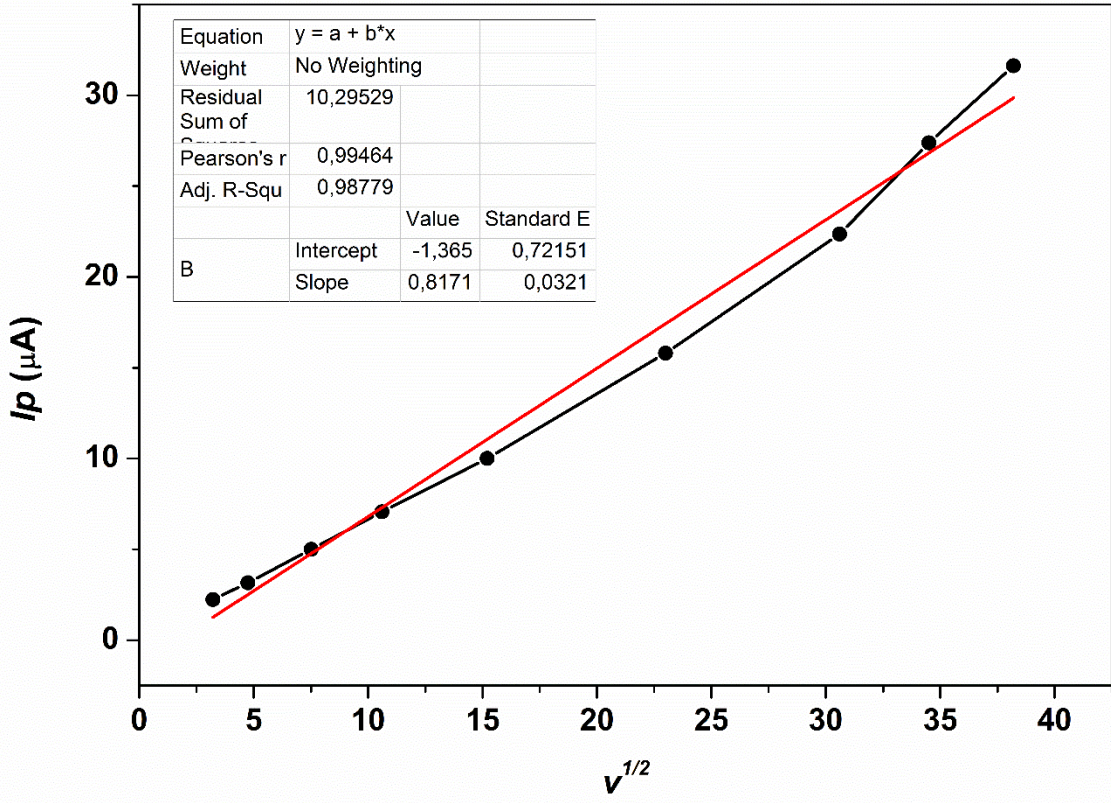
CKE ve GA₂-Guanin/CKE elektrodunun 10⁻³ mol·L⁻¹ K₃Fe(CN)₆ ve 10⁻¹ mol·L⁻¹ KNO₃ içeren 10 mL çözelti içerisinde daldırılarak, 0,0 V–1,4 V potansiyel aralığında ve 5–1000 mVs⁻¹ tarama hızı aralığında yapılan ölçümlerle elde edilen log v–log I_p grafikleri incelendiğinde doğru eğiminde değişim olduğu görülmüştür. CKE için eğim değeri yaklaşık 0,47 iken, GA₂-Guanin/CKE elektrodunun log v–log I_p grafiğinin eğimi yaklaşık 0,26 olarak elde edilmiştir. Eğim değeri 0,5'e yaklaştıkça difüzyon kontrollü tepkime durumuna da yaklaşmaktadır. Bu durumda elektrodun kaplanması iyonların yüzeye olan difüzyonunu zorlaştırmıştır.

Bu çalışmada eğim, guanine ait yükseltgenme pikine göre grafiğe geçirilip hesaplandığında; 1,00 olduğu görülür (Şekil 3.13). Bu durum guaninin elektrot üzerinde yükseltgenmesinin adsorbsiyon kontrollü olduğunu ifade eder. Bu sonuç, elektrodun modifikasyonu için guaninin elektrot yüzeyine kararlı bir şekilde adsorbe olduğunu da göstergesidir.

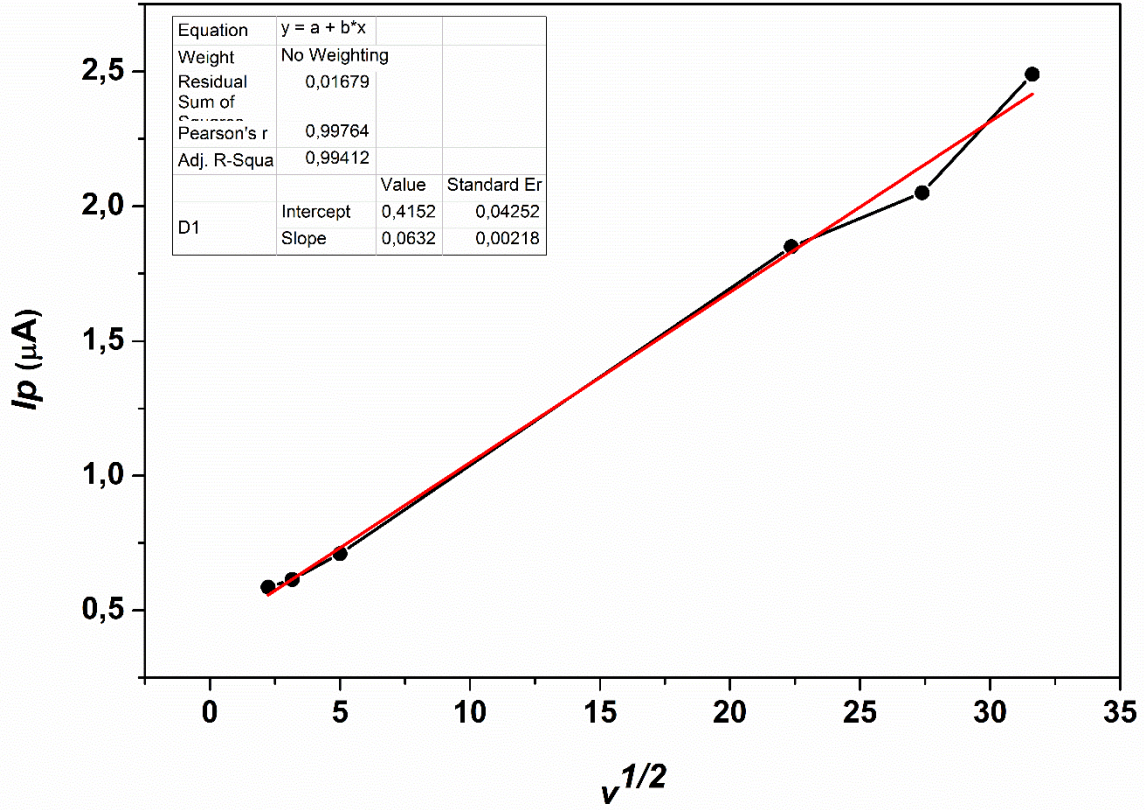


Şekil 3.13. GA₂-Guanin/CKE elektrodunun 10⁻³ mol·L⁻¹ K₃Fe(CN)₆ ve 10⁻¹ mol·L⁻¹ KNO₃ içeren 10 mL çözelti içerisinde daldırılarak, 0,0 V–1,4 V potansiyel aralığında ve 5–1000 mVs⁻¹ tarama hızı aralığında elde edilen ve guaninin yükseltgenme pikine göre çizilen log v–log I_p grafiği

Elektrodun aktif yüzey alanının belirlenmesi için CKE ve GA₂-Guanin/CKE elektrodu ayrı ayrı 10⁻³ mol·L⁻¹ K₃Fe(CN)₆ ve 10⁻¹ mol·L⁻¹ KNO₃ içeren 10 mL çözelti içerisinde daldırılarak, elektrokimyasal davranışları 0,0 V–1,4 V potansiyel aralığında ve 5–1000 mVs⁻¹ tarama hızı aralığında test edilmiştir. Elde edilen voltamogramlar kullanılarak v^{1/2}–I_p grafipleri çizilmiştir (Şekil 3.14. ve Şekil 3.15.)



Şekil 3.14. CKE elektrodun $10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ve $10^{-1} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ KNO}_3$ içeren 10 mL çözelti içerisine daldırılarak, 0,0 V–1,4 V potansiyel aralığında ve 5–1000 mVs^{-1} tarama hızı aralığında elde edilen $v^{1/2}$ – I_p grafiği



Şekil 3.15. GA₂-Guanin/CKE (%5 GA₂+0.25 mg·mL⁻¹ guanin ile modifiye edilmiş) elektrodunun 10⁻³ mol·L⁻¹ K₃Fe(CN)₆ ve 10⁻¹ mol·L⁻¹ KNO₃ içeren 10 mL çözelti içerisine daldırılarak, 0,0 V–1,4 V potansiyel aralığında ve 5–1000 mVs⁻¹ tarama hızı aralığında elde edilen v^{1/2}-I_p grafiği

CKE ve GA₂-Guanin/CKE'un yüzey alanı burada elde edilen v^{1/2}-I_p(A) grafiği ile Randles-Sevcik denkleminde (**Eşitlik 1**) (Bard ve Faulkner, 2001) hesaplanmıştır.

$$I_p = 2,69 \times 10^5 ACn^{3/2} D^{1/2} v^{1/2} \quad \text{(Eşitlik 1)}$$

Burada, I_p: Pik akımı (A), A: Elektroaktif alan (cm²), C: K₃Fe(CN)₆ çözeltisinin molar konsantrasyonu (mol·L⁻¹), n: Redoks reaksiyonunda aktarılan elektron sayısı (n=1), D: 10⁻³ mol·L⁻¹ K₃Fe(CN)₆ redoksunun difüzyon katsayısı (D=7,6×10⁻⁶ cm²·s⁻¹) ve v: Tarama hızı (V·s⁻¹). Randles-Sevcik'e göre hesaplanan CKE ve GA₂-Guanin/CKE'un aktif yüzey alanları sırasıyla şu şekildedir: 0,49 cm²; 0,030 cm². Mikroskop görüntülerinde GA₂-Guanin/CKE'un yüzeyinde oldukça kıvrımlı bir yapı olduğu ve bunun da elektrot yüzey alanını arttırmış olabileceği ifade edilmişti. Ancak, fiziksel olarak yüzey alanı artmış olsa bile Randles-Sevcik denkleminde elde edilen verilere göre GA₂-Guanin/CKE'un aktif yüzey alanı, CKE'a kıyasla oldukça azalmıştır. CKE modifiye edilmeden OST analizinde kullanılmadığı için, GA₂-Guanin filmi ile kaplanması elektrodun aktif yüzey alanını azaltsa

bile yine de seçici ve hassas bir analiz yapılmasını sağlamaktadır.

3.6. OST'nin Elektrokimyasal Analizi

OST'nin farklı konsantrasyonlarda voltametrik tayini, DPV yöntemi kullanılarak pH 11,0 BR tampon çözeltisi içinde GA₂-Guanin/CKE elektrodu ile gerçekleştirilmiştir.

Şekil 3.16., OST'nin farklı konsantrasyonlardaki DPV voltamogramlarını göstermektedir. Çalışmada en düşük OST konsantrasyonu ölçülmüş, 0,45 V'ta guanine ait bir oksidasyon piki oldukça net ve belirgin olarak görülmüştür. pH 11,0 BR elektrolitik solüsyondaki OST konsantrasyonu arttıkça, guanine ait yükseltgenme pikinin akım şiddeti kademeli olarak azalmıştır. OST'nin farklı konsantrasyonlarına karşı guaninin pik akımı şiddeti değerlerinin grafiği çizildiğinde, iki lineer çalışma aralığı elde edilmiştir. 1. çalışma aralığı $3,14 \times 10^{-7}$ – ve $5,05 \times 10^{-6}$ mol·L⁻¹ ve 2. çalışma aralığı $1,02 \times 10^{-5}$ – ve $5,02 \times 10^{-5}$ mol·L⁻¹ konsantrasyonları arasındadır (**Şekil 3.16.**, iç grafik).

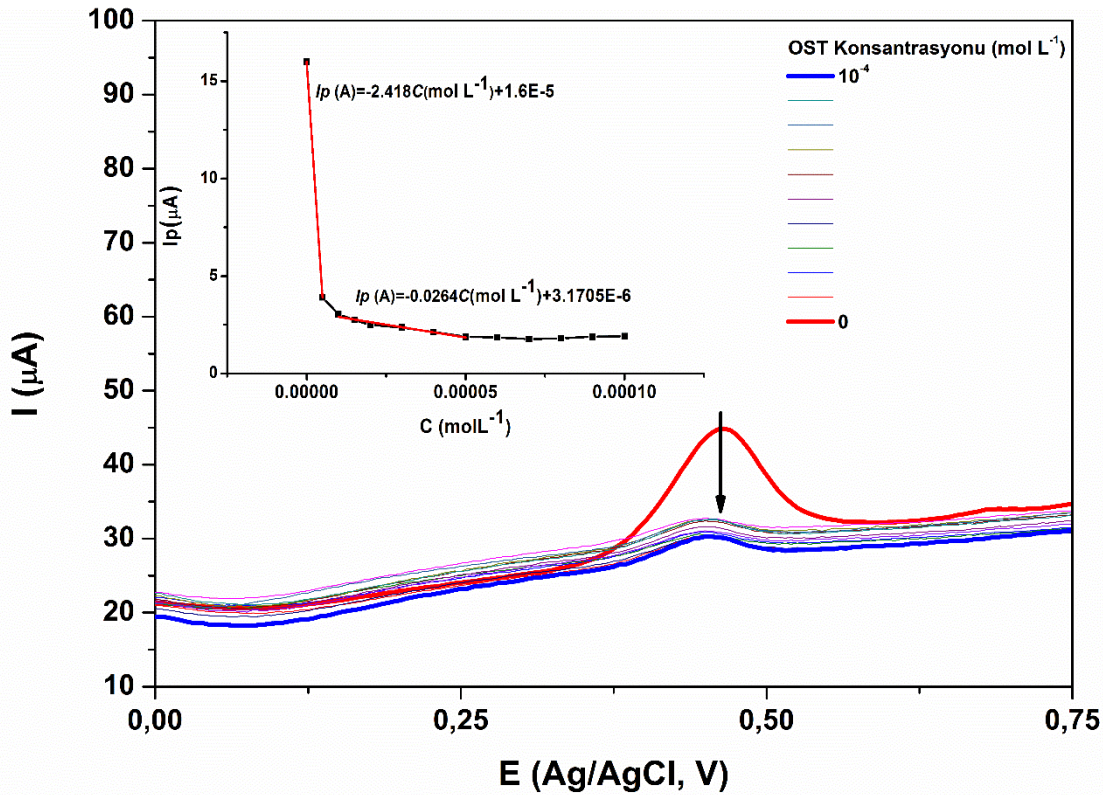
Kalibrasyon çizgisi çizilirken guanine ait oksidasyon pikinin akım şiddeti (I_p) dikkate alınmıştır. **Şekil 3.16.**'de görülebileceği gibi, pik akımı OST konsantrasyonundaki artışla azalmıştır. Bu çalışma aralıkları için lineer denklem ve regresyon katsayısı sırasıyla: I_p (A) = -2,418 C (mol·L⁻¹) + 1,6 × 10⁻⁵, R² = 0,99 ve I_p (A) = -0,0264 C (mol·L⁻¹) + 3,6 × 10⁻⁶, R² = 0,94'tür. OST'nin saptama limiti LOD1 ve LOD2 sırasıyla $7,16 \times 10^{-9}$ mol·L⁻¹ ve $6,56 \times 10^{-7}$ mol·L⁻¹ olarak, tayin limiti LOQ1 ve LOQ2 ise sırasıyla $2,36 \times 10^{-8}$ mol·L⁻¹ ve $2,16 \times 10^{-6}$ mol·L⁻¹ olarak belirlenmiştir. LOD için sinyal-gürültü oranının 3, LOQ için sinyal-gürültü oranının 10 olduğu varsayılarak, aşağıdaki **Eşitlik 2** ve **Eşitlik 3** kullanılmış ve hesaplamalar yapılmıştır (Kaya ve ark. 2022; Manjunatha 2020; Mathad ve ark. 2022; Koçak ve İpek 2022):

$$\text{LOD}=3s/m \quad (\text{Eşitlik 2})$$

$$\text{LOQ}=10s/m \quad (\text{Eşitlik 3})$$

Geliştirilen elektrodun OST analizinde gün içi tekrar edilebilirlik çalışmaları için her bir OST konsantrasyonu ile 6 ayrı ölçüm yapılmış ve ortalama % bağıl standart sapma 3,4 olarak hesaplanmıştır. Günlerarası tekrar edilebilirlik değeri iki farklı günde her bir OST konsantrasyonu için tekrar edilmiştir. Farklı günlerde ölçülen pik akımları arasında % bağıl standart sapma değerlerinin ortalaması 7,8 olarak hesaplanmıştır. Geri kazanım

oranları birinci lineer aralık ve ikinci lineer aralık için hesaplandığı zaman sırasıyla %100 ve %103,5 değerlerine ulaşmıştır.



Şekil 3.16. GA₂–Guanin/CKE elektrodu kullanılarak, pH 11,0 BR tampon çözeltisi içerisinde OST'nin DPV tekniği ile analizi.

3.7. Tablet ve İdrar Numunelerinde OST Analizi

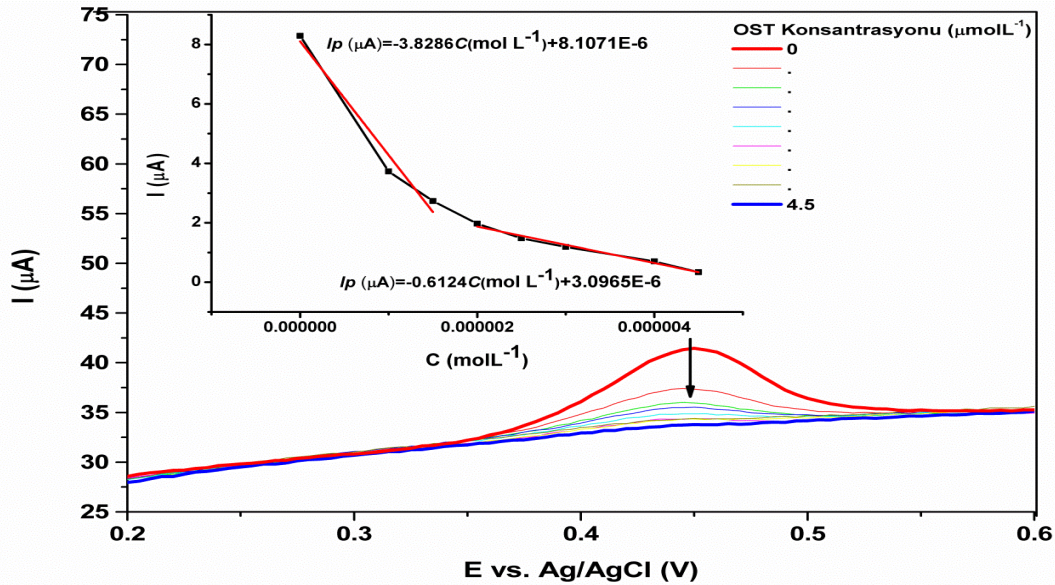
GA₂–Guanin/CKE elektrodunun uygulanabilirliği tablet numunesinde bulunan ve idrar numunesinde bulunan OST'nin analizi yapılarak test edilmiş ve tablet ve idrarda bulunan diğer maddelerin girişim etkisi yapıp yapmadığı incelenmiştir. Bunun için ülkemizde SARS–CoV2 tedavisinde kullanılan ilaç etken maddesi OST olan Tamiflu (75 mg OST/kapsül) ticari kapsül satın alınmış ve kapsül içerisinde bulunan toz madde ultra saf su içerisinde çözündürülerek numune hazırlanmıştır. OST'nin farklı konsantrasyonlarda voltametrik tayini, DPV yöntemi kullanılarak pH 11,0 BR tampon çözeltisi içinde GA₂–Guanin/CKE elektrodu ile gerçekleştirilmiştir.

Şekil 3.17., OST'nin farklı konsantrasyonlardaki DPV voltamogramlarını göstermektedir. Çalışmada, modifiye elektroda bağlanmış guaninin 0,45 V'ta bir

oksidasyon piki belirgin olarak tespit edilmiştir. pH 11,0 BR elektrolitik solüsyondaki OST konsantrasyonu arttıkça, guanine ait yükseltgenme pikinin akım şiddeti kademeli olarak azalmıştır. OST'nin farklı konsantrasyonlarına karşı guaninin pik akımı şiddeti değerlerinin grafiği çizildiğinde, iki lineer çalışma aralığı elde edilmiştir (Şekil 3.17, iç grafik). 1. çalışma aralığının $1,1 \times 10^{-8}$ – ve $1,5 \times 10^{-6}$ mol·L⁻¹ ve 2. çalışma aralığının $2,0 \times 10^{-6}$ – ve $4,5 \times 10^{-6}$ mol·L⁻¹ konsantrasyonları arasında olduğu belirlenmiştir.

Kalibrasyon çizgisi çizilirken guanine ait oksidasyon pikinin akım şiddeti (I_p) dikkate alınmıştır. Şekil 3.17.'de görülebileceği gibi, pik akımı hücre içerisindeki OST konsantrasyonunun artışıyla azalmıştır. Bu çalışma aralıkları için lineer denklem ve regresyon katsayısı sırasıyla: I_p (A) = -3,8286 C (mol·L⁻¹) + 8,1071 × 10⁻⁶, R² = 0,95 ve I_p (A) = -0,6124 C (mol·L⁻¹) + 3,0965 × 10⁻⁶, R² = 0,98'dir. Birinci doğrusal çalışma aralığı ve ikinci doğrusal çalışma aralığında, OST'nin saptama limiti LOD1 ve LOD2 sırasıyla $9,05 \times 10^{-9}$ ve 10^{-9} mol·L⁻¹ ve $5,66 \times 10^{-8}$ mol·L⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Yine aynı çalışma aralıklarında tayin limiti LOQ1 ve LOQ2 ise sırasıyla $2,99 \times 10^{-8}$ mol·L⁻¹ ve $1,87 \times 10^{-7}$ mol·L⁻¹ olarak belirlenmiştir.

Geliştirilen elektrodun tablet numunesinde bulunan OST analizinde günüçi tekrar edilebilirlik çalışmaları için her bir OST konsantrasyonu ile 3 ayrı ölçüm yapılmış ve ortalama % bağıl standart sapma 8,8 olarak hesaplanmıştır. Geri kazanım oranları birinci doğrusal çalışma aralığı ve ikinci doğrusal çalışma aralığı için sırasıyla %86,6 ve %98,4 olarak hesaplanmıştır.

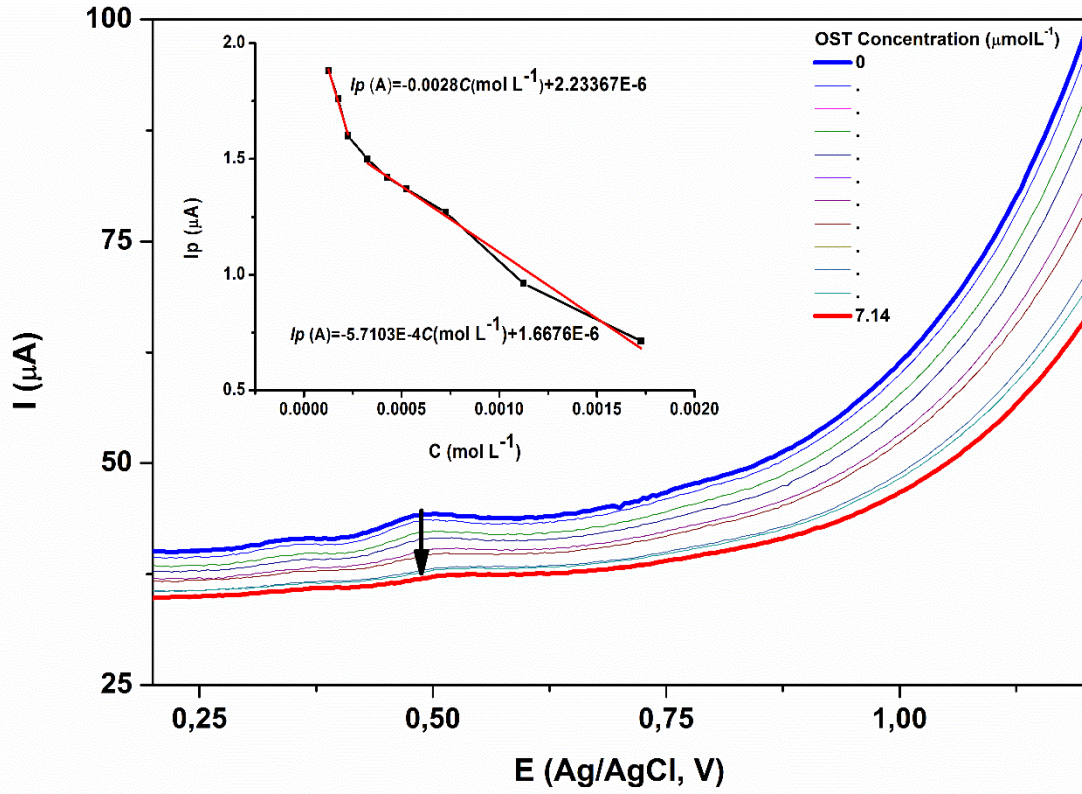


Şekil 3.17. GA₂-Guanin/CKE elektrodu kullanılarak, pH 11,0 BR tampon çözeltisi içerisinde tablet çözeltisi eklenerek OST'nin DPV tekniği ile analizi.

İdrar örneklerinin hazırlanmasında 5 yaşında sağlıklı bir bireyden alınan idrar materyali kullanıldı. 1 mL idrar örneğine 9 mL BR tampon solüsyonu (pH 11,0) eklenerek toplam hacim 10 mL'ye tamamlandı. Bu solüsyona standart OST stok solüsyonu eklendikten sonra DPV voltamogramları kaydedildi. Geri kazanım çalışmaları doğrudan kalibrasyon yöntemiyle gerçekleştirilmiş ve guaninin pik akımı–OST konsantrasyonu grafiği çizilmiştir.

GA₂–Guanin/CKE elektrodu kullanılarak, 9 mL pH 11,0 BR tampon ve 1 mL idrar karışımından oluşan çözeltisi içerisinde OST'nin farklı konsantrasyonları DPV tekniği ile analiz edilmiş ve kaydedilen voltamogramlar **Şekil 3.18.**'de gösterilmiştir. Çalışmada en düşük OST konsantrasyonu ölçülmüş, 0,50 V'ta guanine ait bir oksidasyon piki oldukça net ve belirgin olarak görülmüştür. İdrar numunesindeki OST konsantrasyonu arttıkça, guanine ait yükseltgenme pikinin akım değeri orantılı olarak azalmıştır. OST'nin farklı konsantrasyonlarına karşı guaninin pik akımı değerlerinin grafiği çizildiğinde, iki doğrusal çalışma aralığı elde edilmiştir. 1. çalışma aralığı $1,3 \times 10^{-4}$ – ve $2,2 \times 10^{-4}$ mol·L⁻¹ ve 2. çalışma aralığı $3,3 \times 10^{-4}$ – ve $1,7 \times 10^{-3}$ mol·L⁻¹ konsantrasyonları arasındadır (**Şekil 3.13.**, iç grafik).

Şekil 3.18., iç grafikte yer alan kalibrasyon grafiği çizilirken guanine ait oksidasyon pikinin akım şiddeti (I_p) dikkate alınmıştır. Kalibrasyon grafiğinde çalışma aralıklarını gösteren iki farklı doğrusal çalışma bölgesi tespit edilmiştir. Bu çalışma aralıkları için doğrusal denklem ve regresyon katsayısı sırasıyla: I_p (A) = -0,0028 C (mol·L⁻¹) + 2,23367 × 10⁻⁶, R² = 0,99 ve I_p (A) = -5,7103 C (mol·L⁻¹) + 1,6676 × 10⁻⁶, R² = 0,99'dur. OST'nin saptama limiti 1. doğrusal çalışma aralığı ve 2. doğrusal çalışma aralığı (LOD1 ve LOD2) için sırasıyla $6,19 \times 10^{-6}$ mol·L⁻¹ ve $3,03 \times 10^{-5}$ mol·L⁻¹ olarak, tayin limiti LOQ1 ve LOQ2 ise sırasıyla $2,04 \times 10^{-5}$ mol·L⁻¹ ve $1,00 \times 10^{-4}$ mol·L⁻¹ olarak belirlendi.



Şekil 3.18. GA₂–Guanin/CKE elektrodu kullanılarak, 9 mL pH 11,0 BR tampon ve 1 mL idrar karışımından oluşan çözeltisi içerisinde OST'nin DPV tekniği ile analizi.

Geliştirilen elektrodun idrar numunesi içerisinde OST analizinde kullanılabilirliğini göstermek için gün içi tekrar edilebilirlik çalışmaları yapılmıştır. Güncü tekrar edilebilirlik çalışmaları için her bir OST konsantrasyonu ile iki ayrı ölçüm yapılmış ve ortalama % bağıl standart sapma 2,7 olarak hesaplanmıştır. Geri kazanım oranları hesaplandığı zaman birinci lineer bölge ve ikinci lineer bölge için sırasıyla %98,8 ve %98,7 olarak hesaplanmıştır.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada COVID-19 tedavisinde kullanılan OST antiviral ilaç etken maddesinin analizi için elektrokimyasal sensörle ölçüm tekniği önerilmiştir. Bunun için camsı karbon elektrot DNA yapısında bulunan guanin bazı ile modifiye edilmiştir. Guanin elektrot yüzeyine çapraz bağlayıcı bir polimer olan glutardialdehit ile immobilize edilmiştir (GA₂-Guanin/CKE elektrodu). Guanin yaklaşık 0,45 V potansiyel uygulandığında iyi tanımlanmış, tersinmez bir yükseltgenme piki göstermiştir. Elektrokimyasal hücre ortamında (pH 11,0, BR tamponu) OST bulunduğu zaman, guanin ile etkileşime girerek bu yükseltgenme tepkimesini inhibe etmiştir. Böylece yükseltgenme pikinin akım şiddeti OST konsantrasyonu ile ters orantılı olarak değişim göstermiştir. Bu değişimden yola çıkarak OST'in kantitatif analizi için hızlı, ekonomik ve doğruluğu yüksek bir elektrokimyasal sensör geliştirilmiştir. OST'nin elektrokimyasal olarak tayin edilmesi için yapılan çalışmalarda DV, KDV ve DPV teknikleri üzerinde inceleme yapılmış olup, en yüksek pik akımı DPV tekniği kullanıldığı zaman elde edilmiştir. Deneysel parametreler olan pH, ölçüm tekniği ve bu tekniğin parametreleri, guanin konsantrasyonu, glutardialdehit konsantrasyonu guaninin oksidasyon tepkimesini destekleyerek yüksek pik akımı elde edilmesini sağlayacak şekilde optimize edilmiştir.

Çalışmada COVID-19 tedavisinde kullanılan OST ilaç etken maddesinin DNA'nın yapısında bulunan guanin bazı ile etkileşime girdiği ve yükseltgenmesini engellediği görülmüştür. OST'nin bu davranışı, analiz edilebilmesi için olanak sağlamıştır.

GA₂-Guanin/CKE elektrodu ve önerilen analiz yöntemi, farmasötik formülasyonda ve insan idrar numunelerinde bulunan OST miktarını bulmak için başarıyla uygulanmıştır. BR tampon çözeltisi, tablet numunesi ve idrar numunesi için ikişer çalışma aralığı saptanmış olup en düşük saptama limitleri sırasıyla $7,16 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $9,05 \times 10^{-9}$ ve $6,19 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Önerilen sensör için geri kazanım oranı %86,6-%103,5 aralığında değişmektedir. Hassan ve ark. (2013), yaptıkları çalışmada OST için $9,1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ saptama limitine sahip elektrokimyasal sensör geliştirmişlerdir. OST'nin elektrokimyasal analizi için şimdiye kadar çok yapılmış başka çalışma tespit edilememekle birlikte geliştirilen en düşük saptama limitine bu çalışmada ulaşılmıştır.

Önerilen elektrokimyasal DNA sensörü, hızlı, hassas, ekonomik, tablet ve idrar numuneleri için yüksek derecede seçici ve güvenilir olmasına rağmen guaninin kolay bozulabilen hassas bir yapıya sahip olması bu sensörün zayıf olduğu noktadır. Sensörün

modifiye edilmiş çalışma elektrodu serin ve kuru ortamda saklanmalıdır. Konu üzerinde yapılacak ileri çalışmalarda, OST ile etkileşime girebilen ve redoks aktivitesi gösteren farklı maddeler (tercihen inorganik maddeler) elektrodu modifiye etmek için kullanılabilir.



5. KAYNAKLAR

- Allahverdiyeva, S., Yunusoğlu, O., Yardım, Y., Şentürk, Z., 2021. "First electrochemical evaluation of favipiravir used as an antiviral option in the treatment of COVID-19: A study of its enhanced voltammetric determination in cationic surfactant media using a boron-doped diamond electrode". *Analytica chimica acta*, 1159, 338418.
- Al-Tannak, N.F., Novotny, L., Alhunayan, A., 2020. "Remdesvir–Bringing Hope for COVID-19 Treatment". *Sci. Pharm.*, 88, <https://doi.org/10.3390/scipharm88020029>.
- Atmaca, L., 2020. Antineoplastik ilaçların DNA ile etkileşmelerinin uv-görünür bölge spektroskopisi ile incelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- Azevedo, T.C.P.D., Azevedo, P.C.P.D., Silveira Filho, R.N., Carvalho, A.R.V.S.D., Cezarotti Filho, M.L., Barbosa, F.T., Sousa-Rodrigues, C.F.D., Matos-Rocha, T.J., Ramos, F.W.D.S., 2020. "Use of remdesivir for patients with Covid-19: a review article". *J Revista da Associação Médica Brasileira*, 66, 838-841.
- Bard, A.J., Faulkner, L.R., 2001. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, 2nd edition, John Wiley and Sons, New York, USA.
- Beigel, ve ark., 2020. "Remdesivir for the Treatment of COVID-19–Preliminary Report". *New Engl. J. Med.*
- Bilge Yücel, S., 2021. Bazı antikanser ilaçların DNA ile etkileşmesinin elektrokimyasal biyosensörlerle icelenmesi. *Doktora Tezi*, Ankara Üniversitesi, Ankara.
- Bostancı, E., 2016. İlaç dna etkileşiminin elektrokimyasal sensörler ile incelenmesi ve geliştirilmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas.
- Brabec, V., 1983. Conformational changes in DNA induced by its adsorption at negatively charged surfaces–The effects of base composition in DNA and the chemical nature of the adsorbent. *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 11: 245–255.
- Brabec, V., 1981. Nucleic acid analysis by voltammetry at carbon electrodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 128: 437-449s.
- Brabec, V., Koudelka, J., 1980. Oxidation of deoxyribonucleic acid at carbon electrodes. The effect of the quality of the deoxyribonucleic acid sample. *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 7: 793–805.
- Budak, F., 2020. Eritromisinin elektrokimyasal davranışlarının dna biyosensörleri ile incelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas.
- Bulduk, İ., 2020. "HPLC-UV method for quantification of favipiravir in pharmaceutical formulations", *Acta Chromatographica*.

- Cai, X., Rivas, G., Farias, P.A.M.; Shiraishi, H., Wang, J., Fojta, M., Palecek, E.,** 1996. Trace measurements of plasmid DNAs by adsorptive stripping potentiometry at carbon paste electrodes. *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 40: 41–47.
- Cao, B., ve ark.,** 2020. “A trial of lopinavir-ritonavir in adults hospitalized with severe covid-19”. *N. Engl. J. Med.*, 382, 1787-1799. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001282> .
- Cin, I.,** 2007, Elektrokimyasal Genosensör ile DNA Dizi Tayini, *Yüksek Lisans Tezi*, Ege Üniversitesi, İzmir.
- Chaubey, A. and Malhotra, B.D.,** 2002. Mediated biosensors. *Biosensors & Bioelectronics*, 17: 441-456.
- Coulet, P. R.,** 1991. What is a Biosensor?, Chapter 1; Biosensor Principles and Applications. *L.J. Blum and P.R. Coulet (Ed)*, M. Dekker Inc., New York, 7s.
- Coulet, P. R.,** 1991. What is a Biosensor?, Chapter 1; Biosensor principles and applications,. Marcel Dekker Inc., New York, USA.
- Doğan Topal, B.,** 2011. Bazı antiviral ve antineoplastik ilaç etken maddelerinin DNA ile etkileşimi ve elektrokimyasal analizleri. *Doktora Tezi*, Ankara Üniversitesi, Ankara.
- Drummond, T.G., Hill, M.G., Barton, J.K.,** 2003. Electrochemical DNA sensors. *Nature Biotechnolog*, 10 (21): 1192-1199.
- Duran, T.,** 2009. "2-Aminopiridin'in Camı Karbon Elektrot Yüzeyinde Temas Açısı Ölçüm Tekniğiyle Özelliklerinin İncelenmesi", *Yüksek Lisans Tezi*, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 2-3, 17-21, 32s.
- Eastman, R.T., Roth, J.S., Brimacombe, K.R., Simeonov, A., Shen, M., Patnaik, S., Hall, M.D.,** 2020. “Remdesivir. A Review of Its Discovery and Development Leading to Emergency Use Authorization for Treatment of COVID-19”. *ACS Cent. Sci.*, 6, 672-683.
- Erdem, A., Özsöz, M.,** 2002. Review: Electrochemical DNA biosensors based on DNA-Drug interactions. *Electroanalysis*, 14, 965-974s.
- Erdem, A.,** 2007, Nanomaterial- based electrochemical DNA sensing strategies. A Review, *Talanta*, 74: 318–325s.
- Erdem A., Ozsoz M.,** 2001a. Voltammetry of the anticancer drug mitoxantrone and DNA. *Turk. J. Chem*, 25: 469-475.
- Erol, A.,** 2020. İlaç-dna etkileşimine dayalı elektrokimyasal biyosensörlerin tasarımı ve uygulamaları. *Yüksek Lisans Tezi*, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın.
- Evans, A.,** 1991. Potentiometry and ISE, ACOI, London, 106-198s.

- Farre, M., Kantiani, L., Perez, S., Barcelo, D.,** 2009. Sensors and biosensors in support of EU Directives. *Trends Anal Chem*, 28: 170-185s.
- Gülmez, A.B.,** 2005. DNA'nın Elektrokimyasal Algılanmasında Kullanılan Yeni Sensör Tasarımları, *Yüksek Lisans Tezi*. Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Grein, J., ve ark.,** 2020. "Compassionate Use of Remdesivir for Patients with Severe COVID-19". *New Engl. J. Med.*, 382, 2327-2336.
- Henden, E., Gökçel, H.İ., Ertaş, F.N.,** 2001. Eser Analiz Yaz Okulu, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilim Dalı, 151-160s.
- Hyung, S.K., Soo, H.B., Byung, M.L.,** 2005. Effects of chemical carcinogenes and physicochemicals factors on the UV spectrophotometric determination of DNA. *J. Toxicol. Environ. Health Part A-68*, 23-24: 2081-2095s.
- Izutsu, K.,** 2002. Electrochemistry in nonaqueous solutions. Wiley-VCH Verlag GmbH, 206-214s.
- Jakubowski, M., Trzcinka-Ochocka, M.,** 2005. Biological monitoring of exposure: Trends and key developments. *J. Occup. Health*, 47: 22-48s.
- Jelen, F., Erdem, A., Palecek, E.,** 2002, Cyclic Voltammetry of Echinomycin and its Interaction with Double-Stranded and Single-Stranded DNA Adsorbed at the Electrode. *Bioelectrochemistry*, 55: 165-167s.
- Jorgensen, S.C.J., Kebriaei, R., Dresser, L.D.,** 2020. "Remdesivir: Review of Pharmacology, Pre-Clinical Data and Emerging Clinical Experience for COVID-19". *Pharmacology. J. Hum Pharm. Drug. Ther.*, 40.
- Karadeniz, H., Gulmez, B., Sahinci, F., Erdem, A., Irem Kaya, G., Unver, N., Kivcak, B., Ozsoz, M.,** 2003. Disposable electrochemical biosensor for the detection of the interaction between DNA and lycorine based on guanine and adenine signals. *J. Pharm. and Biomed. Anal.*, 33: 295-302s.
- Keskin, M., Arslan, F.,** 2020. Biyosensörler. *Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*
- Khanna, V. K.,** 2011. Nanosensors: Physical, Chemical and Biological. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Klug, W.S., Cumming, M.R.** 2007. Concepts of Genetics (Çeviri Editörü: Cihan Öner, Genetik Kavramlar) Palme yayınevi, Ankara.
- Kuralay, F., Demirci, S., Kiristi, M., Oksuz, L., Uygun, Oksuz, A.,** 2014. Poly(3,4-ethylene dioxythiophene) coated chitosan modified disposable electrodes for DNA and DNA-drug interaction sensing. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 123, 825-830s.

- Lucarelli, F., Palchetti, I., Marazza, G., Mascini, M.,** 2002. Electrochemical DNA biosensor as a screening tool for the detection of toxicants in water and wastewater samples, *Talanta*, 56: 949-957s.
- Lucarelli, F., Marazza, G., Turner, A.P.F., Mascini, M.,** 2004. Carbon and gold electrodes as electrochemical transducer for DNA hybridization sensors. *Biosens. Bioelectron.*, 19: 515-530s.
- Madden, E.F.,** 2003. The role of combined metal interactions in metal carcinogenesis: a review. *Rev. Environ. Health*, 18: 91-109s.
- Marazza, G., Chianella, I., Mascini, M.,** 1999. Disposable DNA electrochemical biosensors for environmental monitoring, *Anal. Chim. Acta*, 387: 297-307s.
- Megahed, S.M., Habib, A.A., Hammad, S.F., Kamal A.H.,** 2021. "Experimental design approach for development of spectrofluorimetric method for determination of favipiravir; a potential therapeutic agent against COVID-19 virus: Application to spiked human plasma Spectrochim". *Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 249, 119241.
- Mohamed, M. A., Eldin, G. M., Ismail, S. M., Zine, N., Elaissari, A., Jaffrezic-Renault, N., Errachid, A.,** 2021. "Innovative electrochemical sensor for the precise determination of the new antiviral COVID-19 treatment Favipiravir in the presence of coadministered drugs". *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 895, 115422.
- Molinier-Jumel, C., Malfroy, B., Reynaud, J.A., Aubel-Sadron, G.,** 1978. Electrochemical study of DNA-Anthracyclines interaction. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 84 (2): 441-449.
- Ozsoz, M., Erdem, A., Kara, P., Kerman, K., Özkan, D.,** 2002. Electrochemical biosensor for the detection of interaction between arsenic trioxide and DNA based on guanine signal. *Electroanalysis*, 15: 613-619s.
- Ohe, T., Watanabe, T., Wakabayashi, K.,** 2004. Mutagens in surface waters: a review, *Mutat. Res.*, 567: 109-149s.
- Özkan, S. A., Uslu, B., Aboul-Enein, H. Y.,** 2003. Analysis of pharmaceuticals and biological fluids using modern electroanalytical techniques. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 33(3), 155-181.
- Özkan, S.A., Özkan, Y., Şentürk, Z.,** 1998. Electrochemical reduction of metronidazole at activated glassy carbon electrode and its determination in pharmaceutical dosage forms. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 17: 3299 - 3305s.
- Panzer, R.E.,** 1972. Behaviour of carbon electrodes in aqueous and non - aqueous system. *J. Electrochem. Soc.*, 119 - 864s.

- Palecek, E., Fojta, M.,** 2001. Electrochemists are Developing Fast and Easy Methods for Determining Nucleic Acid Sequences and DNA Damage. *Analytical Chemistry*, 73: 74A-83A.
- Pietrzyk, D.J., Frank, C.W.,** 1979. *Analytical Chemistry*. Academic pres, 2.Baskı, 700, Newyork.
- Radhika, K., Maha, Z.-F.,** 2008. Oxidative dna damage following photo excitation of daunomycin: direct role of oxygen. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 198, 200-204s.
- Shearer, C.M., Christenson, K., Mujherji, A., Papariello, C.J.,** 1972. Peak voltammetry at glassy carbon electrode of acetaminophen dosage forms. *J. Pharm. Sci.*, 61: 1627s.
- Singh, A.K., Singh, A., Singh, R., Misra, A.,** 2020. "Remdesivir in COVID-19: A Critical Review of Pharmacology". Pre-Clinical and Clinical Studies. *Diab. Met. Synd.*, 14, 641-648.
- Skoog, D. A., West, D. A., Holler, F. J.,** 1996. Analitik Kimyanın Temelleri, Prof. Dr. E.Kılıç ve Prof. Dr. Fitnat Köseoğlu, (Derl.), Bilim Yayıncılık, 303s.
- Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, T. A.** Çeviri editörleri; Kılıç, E., Köseoğlu, F., Yılmaz, H. 1998. Enstrumantal Analiz İlkeleri, Bilim Yayıncılık, 5. Baskı, 940, Ankara.
- Skoog, D. A., West, D. A. and Holler, F. J.,** 1996. Analitik Kimyanın Temelleri, Prof. Dr. E.Kılıç ve Prof. Dr. Fitnat Köseoğlu, (Derl.), Bilim Yayıncılık, 303.
- Steenken, S., Jovanovic,S.V.,** 1997. How easily oxidizable is DNA? One-electron reduction potentials of adenosine and guanosine radicals in aqueous solution. *J.Am.Chem.Soc.*, 119: 617-618s.
- Stradiotto, N.R., Yamanaka, H., Zanoni, M.V.B.** 2003. Electrochemical sensors: A powerful tool in analytical chemistry. *J. Braz. Chem. Soc.*, 14: 159-173.
- Sultan, S. C.,** 2013. Nanoyapı temelli elektrokimyasal dna biyosensörlerin geliştirilmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla.
- Şengiz, C. B.,** 2016. Karbon nanotüp-kitosan modifiye grafit tabanlı sensörlerin tasarımı ve antikanser ilaç-dna etkileşiminin elektrokimyasal tayinine yönelik uygulamaları. *Yüksek Lisans Tezi*, Ege Üniversitesi, İzmir.
- Tjaden, U.R., Lankelma, J., Poppe, H., Muusze, R.G.,** 1976. Anodic coulometric detection with a glassy carbon electrode in combination with reversed phase high performance liquid chromatography. *J.Chromatogr*, 125: 275 – 286s.
- Thevenot, D.R., Toth, K., Durst, R.A., Wilson G.S.** 1999. Electrochemical biosensors: recommended definitons and classification. *Pure Appl. Chem.*, 71: 2333-2348.

- Tomschik, M., Jelen, F., Havran, L., Trnkova, L., Nielsen, P.E., Palecek, E.,** 1999. Reduction and oxidation of peptide nucleic acid and DNA at mercury and carbon electrodes. *J. Electroanal. Chem.*, 476: 71-80
- Turan, A.,** 2009. İlaç-DNA etkileşimini ve DNA analizleri için elektrokimyasal sensörlerin geliştirilmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Ege Üniversitesi, İzmir.
- Türe, M.,** 2008. FenilefrinHidroklorür'ün Elektrokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi ve Ticari İlaç Formlarından Miktarının Belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*. Çanakkale On Sekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale, 99s.
- Wang, J.,** 2000. Analytical Electrochemistry. Second Edition. John Wiley & Sons., Inc., New York, USA.
- Wang, J.,** 1997. DNA electrochemical biosensors for environmental monitoring. A Review, *Anal. Chim. Acta*, 347: 1-9s.
- Wang, Y., ve ark.,** 2020. "Remdesivir in Adults with Severe COVID-19: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Multicentre Trial". *Lancet*, 395, 1569-1578. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31022-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31022-9).
- Wogan, G.N., Hevht, S.S., Felton, J.S., Conney, A.H., Loeb, L.A.,** 2004. Environmental and chemical carcinogenesis. *Seminars in Cancer Biology*, 14: 473-486s.
- Ohe, T., Watanabe, T., Wakabayashi, K.,** 2004. Mutagens in surface waters: a review, *Mutat. Res.*, 567: 109-149s.
- Ozsoz, M., Erdem, A., Kara, P., Kerman, K., Özkan, D.,** 2002. Electrochemical biosensor for the detection of interaction between arsenic trioxide and DNA based on guanine signal. *Electroanalysis*, 15: 613-619s.
- Yanık, S.,** 2020. İlaç-dna etkileşimlerinin tayinine yönelik elektrokimyasal nanobiyosensörlerin tasarımı ve uygulamaları . *Doktora Tezi*, Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale.
- Yardım, Y.,** 2009. Elektrokimyasal DNA biyosensörlerinin bazı kullanım alanlarının guanin ya da adenin sinyali üzerinden incelenmesi. *Doktora Tezi*, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van.
- Yıldız, A., Genç, Ö., Bektaş, S.,** 1997. Enstrümental Analiz Yöntemleri. 2. baskı. *Hacettepe Üniversitesi Yayınları*, A-64, Ankara.
- Yılmaz, Ş.,** 2021. Tetrasiklinin ve oksitetrasiklinin DNA biyosensörleri ile incelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas.
- Zoski, C. G.,** 2006. Handbook of electrochemistry. *Elsevier*.

