



**T.C.
BATMAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANA BİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**HODGKİN LENFOMA TEDAVİSİNDE KULLANILAN
BRENTUKSİMAB VEDOTİN'İN ELEKTROKİMYASAL
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ VE MİKTAR TAYİNİ İÇİN
BOR-KATKILI ELMAS ELEKTROT UYGULAMASI**

Abdülsemet KARADOĞAN

**Aralık-2024
BATMAN**

**T.C.
BATMAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANA BİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**HODGKİN LENFOMA TEDAVİSİNDE KULLANILAN
BRENTUKSİMAB VEDOTİN'İN ELEKTROKİMYASAL
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ VE MİKTAR TAYİNİ İÇİN
BOR-KATKILI ELMAS ELEKTROT UYGULAMASI**

Abdülsemet KARADOĞAN

**Danışman
Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT**

Diğer Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT Doç. Dr. Funda AYDIN Dr. Öğr. Üyesi Hayriye ARAL

**Aralık-2024
BATMAN**

TEZ KABUL VE ONAYI

Abdülsemet KARADOĞAN tarafından hazırlanan “Hodgkin Lenfoma Tedavisinde Kullanılan Brentuksimab Vedotin’in Elektrokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi ve Miktar Tayini için Bor-Katkılı Elmas Elektrot Uygulaması” adlı tez çalışması 29/11/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Batman Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Kimya Ana Bilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT

.....

Danışman

Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT

.....

Üye

Doç. Dr. Funda AYDIN

.....

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Hayriye ARAL

.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Dr. Öğr. Üyesi Ömer Murat ÖTER
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYANI

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını beyan eder, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sorumluluğu kabullendiğimi bildiririm.

ETHICAL DECLARATION

I declare that all the information in this thesis has been obtained within the framework of ethical behavior and academic rules, and that the source of any statements and information that do not belong to me in this study prepared in accordance with the thesis writing rules has been fully cited, and I declare that I accept all kinds of legal responsibility in case of any contrary situation.

İmza

Abdülsemet KARADOĞAN

Tarih: 29/11/2024

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HODGKİN LENFOMA TEDAVİSİNDE KULLANILAN BRENTUKSİMAB VEDOTİN'İN ELEKTROKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ VE MİKTAR TAYİNİ İÇİN BOR-KATKILI ELMAS ELEKTROT UYGULAMASI

Abdülsemet KARADOĞAN

Batman Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Ana Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT

2024, 44 Sayfa

Sunulan tez çalışmasında, Hodgkin lenfoma tedavisinde kullanılan bir antikanser ilaç olan Brentuksimab vedotin'in elektrokimyasal tayini için Bor-katkılı elmas elektrodun kullanımına dayanan yeni bir elektroanalitik teknik geliştirilmiştir. Geliştirilen bu elektroanalitik teknikte, sülfürik asit ortamında elektrokimyasal olarak aktive edilen bor-katkılı elmas elektrot üzerinde, özellikle bazik ortamda Brentuksimab vedotin'in döngülü voltametri tekniği ile yaklaşık +1.35 V civarında tersinmez bir dalga verdiği görülmüştür. Brentuksimab vedotin'in kantitatif tayini için geliştirilen teknikte, Britton-robinson (pH =8.0) destekleyici elektrolit ortamında bor-katkılı elmas elektrot üzerinde 9.99 µg/mL ile 49.95 µg/mL derişim aralığındaki doğrusal denklem $I_p(\mu A)=0.026 C_{[BV]} (\mu g/mL) -0.269$, $r=0.997$ ($n=9$) olarak belirlenmiştir. Geliştirilen yöntemin en düşük tayin alt sınırı 0.98 µg/mL olarak hesaplandı. Ayrıca geliştirilen metod idrar numunelerine standart ekleme-geri kazanma işlemi uygulanarak metodun doğruluk çalışması yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda idrar örneklerinde bulunan Brentuksimab vedotin için % 94.25'lik yüksek bir geri kazanım sonucu elde edilmiştir. Bu da idrarda bulunan Brentuksimab vedotin'in tayini için geliştirdiğimiz elektrokimyasal metodun yüksek doğrulukla sonuç üretebildiğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Brentuksimab Vedotin, Hodgkin Lenfoma, Bor-Katkılı Elmas Elektrot, Voltametri, Kanseri, İdrar

ABSTRACT

MASTER THESIS

INVESTIGATION OF THE ELECTROCHEMICAL PROPERTIES OF BRENTUXIMAB VEDOTIN USED IN THE TREATMENT OF HODGKIN LYMPHOMA AND APPLICATION OF A BORON-DOPED DIAMOND ELECTRODE FOR QUANTITATIVE DETERMINATION

Abdülsemet KARADOĞAN

Batman University Graduate Education Institute

Chemistry Department of Science

Advisor: Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT

2024, 44 Pages

In the presented thesis study, a new analytical method based on the use of a boron-doped diamond electrode for the electrochemical determination of Brentuximab vedotin, an anticancer drug used in the treatment of Hodgkin's lymphoma, was developed. In this developed electroanalytical technique, it was observed that Brentuximab vedotin produced an irreversible wave at approximately +1.35 V in a basic medium on a boron-doped diamond electrode that had been electrochemically activated in a sulfuric acid environment using the cyclic voltammetry technique. In the technique developed for the quantitative determination of Brentuximab vedotin, the linear equation in the concentration range of 9.99 µg/mL to 49.95 µg/mL on a boron-doped diamond electrode in a Britton-Robinson (pH =8.0) supporting electrolyte medium was determined as $I_p(\mu A) = 0.026 C[BV] (\mu g/mL) - 0.269$, $r = 0.997$ ($n = 9$). The lowest detection limit of the developed method was calculated as 0.98 µg/mL. In addition, the accuracy study of the developed method was carried out by applying a standard addition-recovery process to urine samples. As a result of the analysis, a high recovery result of 94.25% was obtained for Brentuximab vedotin found in urine samples. This has shown that the electrochemical method we developed for the determination of Brentuximab vedotin in urine can produce results with high accuracy.

Keywords: Brentuximab Vedotin, Hodgkin's Lymphoma, Boron-Doped Diamond Electrode, Voltammetry, Cancer, Urine

ÖN SÖZ

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenden fazlasını sunan, her sorun yaşadığımda yanına çekinmeden gidebildiğim, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen ve gelecekteki mesleki hayatımda da bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağımı düşündüğüm kıymetli ve danışman hoca statüsünü hakkıyla yerine getiren Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT'e teşekkürü bir borç biliyor ve şükranlarımı sunuyorum.

Bu süreçte yalnızca çalışmalarımda değil, yaşamımın tüm zor anlarında yanımda olarak bana destek veren, hayatımdaki özel yerleriyle her zaman ilham kaynağım olan eşim Goncağül KARADOĞAN ve oğlum Atlas Duha KARADOĞAN'a yürekten teşekkür ederim.

Abdülsemet KARADOĞAN
BATMAN-2024

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
ÖN SÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
TABLolar LİSTESİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Kanser Hakkında Temel Bilgiler	3
1.1.1. Brentuksimab vedotin hakkında bilgi	7
2. ELEKTROKİMYA.....	10
2.1. Katı Elektrotların Varlığında Voltametri	10
2.1.1. Voltametrik teknikler	17
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	22
3.1. Kimyasallar ve Çözeltiler.....	22
3.1.1. Kimyasallar.....	22
Bu tez çalışmasında deneylerde kullanılan kimyasallara ve üretici firmalara ait bilgiler Tablo 3.1’de verilmiştir.	22
3.2. Cihaz	23
3.3. Brentuksimab Vedotin için Standart Çözeltilerin ve Aparatların Hazırlanması ..	24
3.3.1. Brentuksimab vedotin solüsyonlarının hazırlanması	24
3.3.2. Voltametrik yöntem	24
3.3.3. İdrar numunelerinin analize hazırlanması	25
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA	26
4.1. Bor Katkılı Elmas Elektrot Üzerinde Brentuksimab Vedotin’in Elektrokimyasal Özelliklerinin Araştırılması	26
4.1.1. Döngüsel voltametri sonuçları.....	26
4.1.2. Voltametrik teknik belirleme	27
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	37
KAYNAKLAR	39

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Brentuksimab vedotin'in yapısı.....	7
Şekil 2.1. Elektroanalitik yöntemlerin yapısı (Wang, 2000)	11
Şekil 2.2. Tipik bir iki elektrotlu elektrokimyasal hücre (Bard ve Zoski, 2000).....	12
Şekil 2.3. Voltametrik gözlemler için bir hücrenin bu şematik diyagramında, çalışma elektrotu, referans elektrotu ve karşı elektrot, hücre kapağındaki açıklıklar aracılığıyla yerleştirilir (Bard ve Zoski, 2000).....	13
Şekil 2.4. Halen kullanımda olan bazı katı elektrot örnekleri (Uslu ve Özkan, 2007a).....	14
Şekil 2.5. Tipik olarak kullanılan voltametrik yöntemlerin kapsamlı bir sınıflandırması (Skoog, vd. 2013).....	18
Şekil 2.6. Çalışma elektrodu, referans elektrodu ve karşıt elektrot, üç elektrotlu hücreyi oluşturan elektrotlardır (Skoog, vd. 2013).....	19
Şekil 2.7. Geri dönüşümlü (a), yarı geri dönüşümlü (b) ve geri dönüşsüz (c) elektrokimyasal reaksiyon türleri CV yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir (Skoog, vd. 2013).....	20
Şekil 2.8. SWV için potansiyel dalga biçimi (A) ve ilgili akım yanıtı (B) (Skoog, vd. 2013).....	21
Şekil 3.1. Elektrokimyasal analiz cihazı (A) ve üç elektrotlu hücre ünitesi (B).....	23
Şekil 4.1. 4.5 mg/mL BV için 100 mV s ⁻¹ 'deki döngüsel voltamogramların ilk üç döngüsü (1-3) (a) ve 4.5 mg/mL BV için çeşitli tarama hızlarında (25-500 mV/s) gerçekleştirilen döngüsel voltamogramlar (b).	27
Şekil 4.2. 9.99 µg/mL BV'nin BDD elektrot yüzeyinde yalın ve 0.5 M sülfürik asit ortamında çeşitli elektrokimyasal ön işlemlerden sonra pH 8.0'de 0,04 M BR destekleyici elektrolit çözeltisi içinde kaydedilen kare-dalga voltamogramları. Biriktirme gerilimi/süresi: 0.3 V/60 saniye. Kare-dalga voltametri parametreleri: Adım gerilimi: 0.005 V, Amplitüt: 0.04 V, ve Frekans: 40 Hz.	29
Şekil 4.3. BR tamponundaki (pH 4,0-12,0) (a) 36.36 µg/mL BV'nin kare-dalga voltamogramları ve aynı zamanda bu BDD elektrodu üzerinde pH'nin anodik pik gerilimi ve anodik pik akımı ile olan değişim eğrileri (b).	30
Şekil 4.4. BV'nin BDD elektrot üzerinde (a) biriktirme potansiyeli ve (b) biriktirme süresi için kaydedilen kare-dalga voltamogramları.	31
Şekil 4.5. BV'nin BDD elektrot üzerinde (a) Adım gerilimi, (b) Amplitüt ve (c) Frekans için kaydedilen kare-dalga voltamogramları.	33
Şekil 4.6. BDD elektrot üzerinde BR (pH:8.0) destekleyici elektrolit ortamında farklı BV derişimlerinde [1: 9.99, 2: 11.99, 3: 19.98, 4: 24.97, 5: 29.97, 6: 34.96, 7: 39.97, 8: 44.95 ve 9: 49.96 µg/mL] kaydedilen kare-dalga voltamogramları	34
Şekil 4.7. BDD elektrot üzerinde BV'nin idrar numunelerinde analizi için standart ekleme tekniği kullanılarak kaydedilen kare-dalga voltamogramları. 0: Saf idrar numunesi, 1: 4.03 µg/mL (ilave edilen miktar), ilaveden sonra final çözeltide bulunan BV düzeyi; 2: 9.99 µg/mL, 3: 11.99 µg/mL, 4: 14.98, 5: 19.99, 6: 24.97 ve 7: 29.97	36

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1.1. Bazı Antikanser ilaç grupları.....	6
Tablo 3.1. Kimyasallar ve üretici firmalar.....	22

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

A :	Amper
M :	Molarite
V :	Volt
mV :	Milivolt
mVs :	Milivolt saniye
mL :	Mililitre
mg :	Miligram
μ g :	Mikrogram
μ A :	Mikroamper
μ L :	Mikrolitre
mV s ⁻¹ :	Saniye başına milivolt
i_p :	Pik akımı
i_{pa} :	Anodik pik akımı
i_{pc} :	Katodik pik akımı
E :	Gerilim
E_p :	Pik gerilimi
E_{pa} :	Anodik pik gerilimi
E_{pc} :	Katodik pik gerilimi
ΔE_p :	Pik potansiyelleri arasındaki fark
s :	Saniye
m :	Eğim
v :	Gerilim tarama hızı
n :	Redoks tepkimesinde aktarılan elektron sayısı
Hz :	Hertz

Kısaltmalar

APT :	Anodik ön işlem
ASV :	Anodik sıyırma voltametrisi
AdSV :	Adsorptif sıyırma voltametrisi
BR :	Britton-Robinson
BV :	Brentuksimab vedotin
BDD :	Bor katkılı elmas
BSS :	Bağıl standart sapma
CSV :	Katodik sıyırma voltametrisi
CPT :	Katodik ön işlem
CV :	Dönüşümlü voltametri
HPLC :	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
HL :	Hodgkin lenfoma
PBS :	Fosfat tamponlu tuzlu su
SWV :	Kare dalga voltametrisi
TS :	Tayin sınırı
TAS :	Tayin alt sınırı

1. GİRİŞ

Kanser, normal hücre bölünme döngüsünün gözden kaçırılarak anormal hücrelerin kontrolsüz büyümesinin olduğu bir hastalıktır. Milyonlarca insanı öldüren dünyadaki en ölümcül hastalıklardan biridir ve dolayısıyla 21. yüzyılın başlıca sağlık sorunlarından biridir (Tekade ve Sun, 2017). Kanserdeki süreç, yeni bir kılcak kan damarı ağının gelişmesiyle, yani anjiyogenezele düzensiz hücreler büyümesini içerir ve kanser dokularından gelen hipoksi, asidik pH, hipoglisemi, mekanik stres, inflamatuvar tepkiler ve mutasyonlar gibi çeşitli sinyallerle tetiklenir. Genetik ve fenotipik düzeylerdeki karmaşıklık nedeniyle kanser, çeşitli klinik mekanizmalar ve ilaç direnci sergiler (Orgogozo, Morizot ve Martin, 2015).

Sağlıklı hücreler, hücrenin bölünmesi, farklılaşması veya ölmesi yönünde emir veren sinyallere maruz kalır. Kanser hücreleri bu sinyallerden bu otomatik modeli geliştirir, bu da ölümcül olabilen kontrolsüz büyüme ve çoğalmaya neden olur (Tekade, vd. 2015). Kanser gelişimi tütün gibi dış faktörlere, kimyasallar, radyasyon, bulaşıcı organizmalar gibi çevresel faktörlere ve hücre benzeri genetik kusurlar, hormonal değişiklikler, bağışıklık koşulları ve mutasyonlar içindeki elementlere bağlıdır ve bunların tümü anormal hücre davranışına ve aşırı çoğalmaya neden olur (Dy, vd. 2017).

Kansere radikal bir tedavi sağlayacak mevcut terapötik ilaçların bulunmamasının en büyük nedeni, kanserin tekrarlamasıdır. Bugüne kadar insanlarda çok sayıda kanser vakası rapor edilmiştir. Başlıca türleri arasında bez adenokarsinomu (serviks, meme, prostat, yumurtalık, kolon, akciğer, pankreas), membran skuamöz hücreli karsinomu (deri, akciğerler), ürotelyal, adacık ve lösemi yer alır (Tekade, vd. 2015). Kanser ilk belirtileri arasında ateş, ağrı, bulantı, yorgunluk, kusma, ani kilo kaybı, öksürük, bilinç kaybı, ciltte anormallikler, bağırsak alışkanlıklarında değişiklik ve kaygı gibi semptomlar bulunur; bu belirtiler, kanserin türüne bağlı olarak farklılık gösterebilir. Kanser, kan testi, kolonoskopi, mamografi, radyografi, cerrahi biyopsi, manyetik rezonans görüntüleme, tüm vücut bilgisayarlı tomografi taraması ve biyoalgılama ile teşhis edilebilir (Van Vu, vd. 2017).

Kan bileşenlerinin tümör mikroçevresine sızdığı ve makromoleküllerin hızlı bir şekilde temizlenmesine izin vermeyen tümörlerde, artırılmış geçirgenlik ve tutma etkisi

(Enhanced Permeation and Retention Effect, EPR) gözlemlenir (Kumar, vd. 2016). Tümörün bir diğer önemli özelliği pH'dır ve olası nedeni hızlı hücre bölünmesidir, dolayısıyla enerji taleplerini karşılamak için daha yüksek metabolizma gerektirir. Tümör hücreleri aerobik ve anaerobik solunuma maruz kalır ve bu da laktik asit ve karbonik asit gibi asidik ortamı oluşturan yan ürünlerin oluşumuna yol açar (Tang, vd. 2017).

Kanser kemoterapi, radyoterapi, lazer tedavisi, cerrahi veya immünoterapi ile tedavi edilir ve bunların her biri bazı dezavantajlarla ilişkilidir. Özellikle kemoterapötik maddeler direnç gelişimi nedeniyle bir süre içerisinde etkinliklerini kaybederler, aynı zamanda oldukça toksiktirler ve yan etkilerle ilişkilendirilebilirler (Wang, vd. 2017). Antikanser ilaçların literatürde farklı teknikler ile tayinleri bulunmaktadır (Aslan vd., 2023a; Aslan vd., 2023b; Atay vd. 2023; Önal ve Levent 2023; Aslan ve Levent 2024; Aslan vd., 2024; Özer ve Levent 2024).

Yapılan kaynakça araştırmasına göre, Brentuximab vedotin (BV) hakkında farklı teknik ve yöntemlerin olduğu çeşitli çalışmalar bulunmasına karşın, hiçbir elektrokimyasal temelli çalışmaya rastlanılmamıştır.

Bu çalışmanın amacı, Hodgkin Lenfoma (HL) tedavisinde kullanılan BV'nin elektrokimyasal davranışlarını ve miktar tayinini bor katkılı elmas elektrot kullanarak gerçekleştirmektir. Elektrokimyasal davranışlar, ilacın elektriksel olarak nasıl tepkiler verdiğini ve bu tepkilerin elektriksel özelliklerini araştırmayı içerir. İlacın elektrokimyasal davranışlarının anlaşılması, ilacın stabilitesi, etkinliği ve emilimi gibi farmasötik özelliklerini değerlendirmek için önemlidir. Miktar tayini, ilacın belirli bir numunedeki konsantrasyonunun veya miktarının doğru bir şekilde ölçülmesi sürecini ifade eder. Elektrokimyasal yöntemler, ilacın miktarını tayin etmek için hassas ve seçici bir analitik araç olarak kullanılabilir. Bu çalışmada, ilacın elektrokimyasal davranışları ile ilgili parametrelerin belirlenmesi ve bu parametrelerin ilacın miktarının doğru bir şekilde tayin edilmesindeki etkisinin incelenmesi hedeflenmektedir. Elde edilen sonuçlar, ilacın elektrokimyasal davranışlarının ve miktar tayininin anlaşılmasına katkı sağlayarak, ilaç endüstrisinde ilaç formülasyonları, biyoyararlanım çalışmaları ve ilaç kalite kontrolü gibi alanlarda kullanılabilecek değerli bilgiler sunacaktır.

1.1. Kanser Hakkında Temel Bilgiler

Kanser, organizmanın herhangi bir bölgesinde anormal hücrelerin kontrolsüz proliferasyonu ile karakterize edilen bir hastalıktır. Bu anormal hücrelere "kanser hücreleri", "malign hücreler" veya "tümör hücreleri" denir ve normal hücrelerin aksine, çevresindeki sağlıklı dokulara invazyon yeteneği gösterirler. Kanserler genellikle, orijin aldığı dokuya veya organ sistemine göre isimlendirilir; örneğin, meme kanseri, akciğer kanseri ve kolorektal kanser bu gruba dahildir. Normal fizyolojik koşullarda, hasar görmüş veya işlevini yitirmiş hücreler programlı hücre ölümü (apoptoz) mekanizması ile elimine edilir. Ancak, kanser hücreleri bu mekanizmadan kaçarak yaşamaya devam eder ve kontrolsüz şekilde bölünmeye başlar. Bu durum, belirli bir bölgede tümör kütlesi (neoplazm) oluşumuna yol açar. Ayrıca, kanser hücreleri bu primer tümörden ayrılabilir, kan veya lenfatik sistemler aracılığıyla vücudun diğer bölgelerine taşınarak burada sekonder tümörler oluşturabilir. Bu sürece "metastatik yayılma" veya kısaca "metastaz" adı verilir. Örneğin, meme kanseri hücrelerinin kemik dokusuna metastaz yapması durumunda, hastaya "kemiğe metastatik meme kanseri" tanısı konulur (Anonymous, 2020).

Normal hücrelerin anormal şekilde çoğalmasına yol açan her türlü etken potansiyel olarak kansere sebep olabilir. Kanserin bazı etiyolojik nedenleri henüz tam olarak bilinmemekle birlikte, çevresel faktörler (örneğin, kimyasal maruziyet, radyasyon) ve yaşam tarzı alışkanlıkları (sigara kullanımı, sağlıksız beslenme) önemli risk faktörleri olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca, genetik yatkınlık da kanser gelişiminde kritik bir rol oynayabilir. Kanser vakalarının çoğunda, çevresel, yaşam tarzı ve genetik faktörlerin karmaşık bir etkileşimi söz konusudur; bu nedenle, birçok hasta bu çeşitli faktörlerin kombinasyonu sonucunda kanser geliştirmektedir. Kanserin risk faktörleri Kalıtım, İyonlaştırıcı radyasyon, Kimyasal maddeler, Östrojenler, Virüsler, Stres, Yaş ve Beslenme faktörleri; Et, enerji dengesi, yağ, protein, alkol, nitratlar olarak sıralanabilir (Anonymous, 2020).

Bazı kanser türleri kalıtım ile ilişkilidir; meme, yumurtalık ve kolorektal kanser gibi. Karsinojenlere uzun ve yoğun maruz kalma, kanser riskini artırsa da genetik yatkınlığı olan bireylerde kanser her zaman gelişmeyebilir. Ayrıca, bağışıklık sistemi potansiyel kanser hücrelerini yok ederek hastalığın önlenmesinde rol oynayabilir. İyonlaştırıcı radyasyon; uranyum, radon, ultraviyole ışınları ve alfa, beta, gama ile X

ışınları gibi radyasyon kaynakları, DNA zincirlerinde hasar oluşturarak mutasyonlara neden olabilir. Bu mutasyonlar, hücrelerin kontrolsüz çoğalmasını tetikleyerek kanser riskini artırabilir. Kimyasal maddeler; kanserojenler, genetik materyalde mutasyonlara neden olabilen kimyasal maddelerdir. Benzen, asbest, nikel, kadmiyum, vinil klorür, benzidin, N-nitrozaminler ve sigara dumanı bu maddelere örnek olarak verilebilir. Özellikle sigara dumanı, 66'dan fazla kanserojen madde içeriğiyle kansere yol açabilecek genetik değişikliklere zemin hazırlar. Östrojenler; östrojenler, menopoz sonrası semptomların azaltılması ve osteoporozun önlenmesi amacıyla kullanılmaktadır, ancak meme ve endometriyal kanser riskini artırıcı etkiler gösterebilir. Virüsler; bazı virüsler, malign hastalıkların oluşumunda etkili olabilir. Örneğin, Hepatit B virüsü karaciğer kanseri ile ilişkilendirilirken, insan papilloma virüsü ve Epstein-Barr virüsü onkojenik özellikler taşıyabilir. Stres; stres, timüs bezi ve bağışıklık sistemi üzerinde baskılayıcı etkiler yaratabilir ve hipotalamus-hipofiz-adrenal korteks yoluyla hormonal değişimlere yol açabilir. Bu süreç, kaygının malign tümör gelişimini tetiklemesine katkıda bulunabilir. Yaş; Kolorektal kanser riski yaşla birlikte yükselir ve 65 yaş üstü bireylerde, 40-64 yaş grubuna kıyasla 6 kat daha yaygındır. Bu durum, yaşlanmayla birlikte biriken genetik mutasyonların etkisini göstermektedir. Beslenme faktörleri – Et; kırmızı ve beyaz et tüketimi kolon kanseri riskini artırabilir. Bunun yanında, yüksek miktarda balık sosu tüketimi mide kanseri gelişimi için bir risk faktörü oluşturabilir. Enerji dengesi; vücut ağırlığı, vücut kitle indeksi ve relatif vücut ağırlığı, meme, endometrium, safra kesesi ve böbrek kanserleriyle olumlu bir ilişkiye sahiptir. Ayrıca, fiziksel hareketsizlik, yüksek enerji alımı ve büyük vücut kütlesi, hem erkeklerde hem de kadınlarda kolon kanseri riskini artırabilir. Yağ; yüksek doymuş yağ tüketimi, prostat kanseri riskinin artmasıyla ilişkilendirilmiştir. Protein; yüksek et tüketimi, kolon kanseri ve ileri evre prostat kanseri riskinin artışıyla ilişkilendirilmiştir. Alkol; alkol, ağız, yutak ve yemek borusu kanserlerinin gelişiminde önemli bir rol oynar ve tütünle birlikte sinerjik etkiler gösterebilir. Ayrıca, bira tüketimi kolorektal kanser riskini artırabilir. Nitratlar; nitratlar, sebzeler ve içme suyunda bulunurken, sodyum ve potasyum nitratlar gıdaların tuzlanması ve kürlenmesinde kullanılır. Nitrozaminler ise tütün ve tütün dumanında yer alır. Hem nitratlar hem de nitrozaminler, güçlü kanserojen maddelerdir (Anonymous, 2020).

Kanser belirtileri, türüne ve metastaz yaptığı organlara bağlı olarak değişir. Örneğin, meme kanseri memede bir yumru veya meme başı akıntısı şeklinde ortaya çıkabilirken, metastatik meme kanseri ağrı, aşırı yorgunluk veya nöbetler gibi

semptomlarla kendini gösterebilir. Bazı hastalar, kanser ilerlemeden önce herhangi bir belirti göstermez. Kanser belirtisi olabilecek yedi semptom şunlardır: bağırsak veya mesane alışkanlıklarındaki değişiklik, iyileşmeyen boğaz ağrısı, olağandışı kanama veya akıntı, kalınlaşma veya yumru, kronik hazımsızlık veya yutma zorluğu, ben veya siğil değişiklikleri, inatçı öksürük veya ses kısıklığı (Anonymous, 2020).

Kanserler, başladığı dokuya göre çeşitli türlere ayrılır. Karsinom; cilt ve iç organları kaplayan dokularda başlar, örnekler arasında akciğer, kolon, pankreas ve yumurtalık kanserleri bulunur. Sarkom; kemik, kas, yağ ve diğer bağ dokularında başlar ve osteosarkom, liposarkom gibi türleri içerir. Lösemi; kemik iliği gibi kan oluşturan dokularda başlar ve anormal kan hücrelerinin üretimine yol açar. Lenfoma ve Miyelom, bağışıklık hücrelerinde başlayan kanserlerdir. Merkezi sinir sistemi kanserleri, beyin ve omurilikte gelişen tümörleri kapsar (Anonymous, 2020).

Kanser tedavisi, hastanın kanser türü ve evresine göre değişiklik gösterir. Bazı hastalar yalnızca bir tedavi yöntemi alırken, çoğu kişi birden fazla tedavi kombinasyonuna başvurur. Tedavi türleri arasında cerrahi müdahale, radyasyon terapisi, kemoterapi, immünoterapi, hedefli terapi, hormon terapisi, kök hücre nakli ve kesin tıp yer alır. Cerrahi, kanseri vücuttan çıkarma işlemi iken, radyasyon terapisi kanser hücrelerini öldürmeyi amaçlar. Kemoterapi, ilaçlarla kanser hücrelerini hedef alır, immünoterapi ise bağışıklık sistemini kanserle savaşması için aktive eder. Hedefli terapi, kanser hücrelerinin büyüme ve yayılmasına yol açan değişiklikleri hedef alırken, hormon terapisi hormonla beslenen kanserlerin büyümesini durdurur. Kök hücre nakli, yüksek doz tedavi sonrası kan hücrelerini geri kazandırır, kesin tıp ise genetik analizler yardımıyla kişiye özel tedavi seçiminde bulunur (Anonymous, 2020).

Kanser tedavisinde kullanılan bazı ilaç grupları Tablo 1.1’de gösterilmiştir.

Tablo 1.1. Bazı Antikanser ilaç grupları

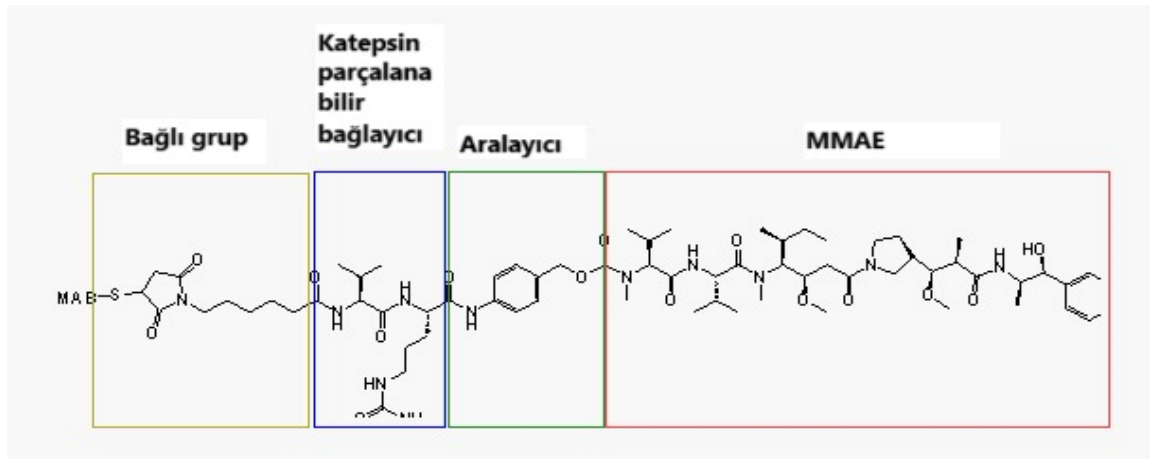
I. Alkilleyiciler	IV. Bitkisel kaynaklı ilaçlar
A.Azotlu hardallar	A.Vinka alkaloidleri
1.Mekloreタミン (azotlu hardal)	1.Vinkristin
2.Siklofosfamid	2.Vinblastin
3.Klorambusil	B.Epipodofilotoksinler
4.Melfalan	1.Etopozid
5.İfosfamid	2.Teniposid
B.Alkil sülfonatlar	C.Taksanlar
1.Busulfan	1.Paklitaksel
C.Nitrozoüreler	2.Dosetaksel
1.Karmustin	D.Kaptotesin türevleri
2.Lemustin	1.İrinotekan
3.Semustin	2.Topotekan
4.Streptozosin	V. Enzimler
D.Etileniminler	A.L-Asparaginaz
1.Tiotepa	VI. Stereoid Hormonlar ve Antagonistleri
E.Triazinler	A.Glukokortikoidler
1.Dakarbazin	B.Östrojen, antiöstrojenler
II. Antimetabolitler	1.Tamoksifen sitrat
A.Folik asit antimetabolitleri	2.Estramustin sodyum fosfat
1.Metotreksat	C.Androjenler, antiandrojenler
B.Pürin analogları	1.Flutamid
1.Tioguanin	D.Progestinler
2.Merkaptopurin	E.Lüteinleştirici hormon-salgılayan hormon antagonistleri
3.Fludarabin	1.Buserelin
4.Pentostatin	2.Leuprolid
5.Kladribin	F.Oktreotid asetat (Sandostatin)
C.Pirimidin analogları	VII. Monoklonal antikorlar
1.Sitarabin	1.Setuksimab
2.5-fluorourasil	2.Bevasizumab
D.Sitozin analogları	3.Brentuximab Vedotin
1.Desitabin	VIII. İmmünomodülatörler
2.Gemsitabin	A.Levamisol
III. Sitotoksik antibiyotikler	B.İnterferonlar
A.Antrasiklinler	1.İnterferon alfa-2a
1.Doksorubisin (Adriamisin)	C.İnterlökinler: aldeslöklin (interlökinler-2)
2.Daunorubisin (Daunomisin)	IX. Diğer antineoplastik ilaçlar
3.İdarubisin	A.Hidroksiüre
4.Epirubisin	B.Mitotan
B.Bleomisin	C.Heksametilmelamin
1.Bleomisin sulfat	D.Sisplatin
C.Mitomisin C	E.Karboplatin
D.Daktinomisin (Aktinomisin)	
E.Plikamisin (Mitramisin)	

1.1.1. Brentuksimab vedotin hakkında bilgi

HL, hastanın lenf düğümlerinde çok çekirdekli Reed-Sternberg hücrelerinin (RS hücreleri) bulunduğu, lenfosit adı verilen spesifik bir beyaz kan hücresi türünden kaynaklandığı bir lenfoma türüdür. Bu rahatsızlık, adını ilk kez 1832'de tanımlayan İngiliz doktor Thomas Hodgkin'den almıştır. Belirtiler arasında ateş, gece terlemesi ve kilo kaybı sayılabilir. Çoğunlukla ağrısız genişlemiş lenf düğümleri boyunda, koltuk altında veya kasıkta ortaya çıkar. Etkilenen kişiler kendilerini yorgun hissedebilir veya kaşınabilirler (Küppers, 2009).

HL'nın iki ana türü klasik HL ve nodüler lenfosit ağırlıklı HL'dır. HL vakalarının yaklaşık yarısı Epstein-Barr virüsüne bağlıdır ve bunlar genellikle klasik formdur. HL, lenf sistemi adı verilen bağışıklık sisteminin bir parçası olan lenf bezlerinde başlayan bir kanser hastalığıdır. Diğer risk faktörleri arasında bu durumun aile öyküsü ve HIV/AIDS olması yer alır. HL, vücutta lenfosit adı verilen beyaz kan hücrelerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Tanı, kanserin varlığının doğrulanması ve lenf nodu biyopsilerinde RS hücrelerinin tanımlanmasıyla gerçekleştirilir. Virüs pozitif vakalar, Epstein-Barr virüsü ile ilişkili lenfoproliferatif hastalıkların bir formu olarak sınıflandırılır (Küppers, 2009).

Brentuksimab vedotin (BV, $C_{6476}H_{9930}N_{1690}O_{2030}S_{40}$), genellikle HL ve sistemik anaplastik büyük hücreli lenfoma gibi bazı türlerde kanser tedavisinde kullanılan bir ilaçtır (Şekil 1.1). Bu ilaç, lenfoma hücrelerini hedef alarak öldüren bir tür hedefe yönelik tedavi olan bir immünoterapi türüdür. BV, CD30 adı verilen bir proteine bağlanarak kanser hücrelerini hedef alır ve içerdikleri zehirli bir maddeyi salar, böylece kanser hücrelerinin ölümüne yol açar (Heiser, vd. 2024).



Şekil 1.1. Brentuksimab vedotin'in yapısı

Brentuksimab vedotin üzerine yapılan son çalışmalar, ilacın yeni kombinasyon tedavilerinde ve farklı CD30 eksprese eden malignitelerdeki rolünü incelemektedir. Örneğin, BV'nin immün kontrol noktaları inhibitörleri veya diğer hedefe yönelik ajanlarla birlikte kullanılması, tedavi etkinliğini daha da artırabilecek potansiyel stratejiler arasında görülmektedir.

Literatür çalışmaları, BV'nin klinik etkinliğini ve güvenliğini desteklemekte olup, bu ajana dair araştırmaların gelecekte daha da genişlemesi beklenmektedir.

Bhatt (2014), B hücreli non-HL ve alt türlerinin tedavisi için yenilikçi terapötik yaklaşımlar tasarlamak, bu yaklaşımların etkinliğini değerlendirmek ve mevcut tedavilerin sınırlamalarını aşmayı hedefleyen klinik öncesi bulgular sunmayı hedeflemiştir. Çalışma, özellikle agresif ve nadir bir non-HL alt türü olan primer effüzyon lenfoma ile yüksek kemorezistans gösteren manto hücreli lenfoma üzerinde yoğunlaşmıştır. Çalışmada, primer effüzyon lenfoma hücrelerinin çoğunun CD30 antijeni eksprese ettiği ve bu antijenin immünoterapi için bir hedef olabileceği belirlenmiştir. BV (anti-CD30 monoklonal antikor), primer effüzyon lenfoma hücrelerinde hücre çoğalmasını azaltmış, apoptozu indüklemiş ve fare modellerinde tümör regresyonunu sağlamıştır. Sonuç olarak, bu çalışma, non-HL'nın tedavisinde yeni terapötik yaklaşımların klinik öncesi etkinliğini ortaya koymuş ve klinik uygulamalar için önemli veriler sunmuştur.

Hasanali (2015), tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, lenfoid malignitelerin tedavisinde CD30 ekspresyonu arttırılarak bu hedef üzerinden etkili bir terapinin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada, BV'nin (CD30'a karşı hedeflenmiş bir immünoterapötik ajan) kullanım alanını arttırmaya yönelik yeni stratejilerin tasarlanması hedeflenmiştir. Çalışmada, CD30 ekspresyonunun indüklenmesini sağlayan moleküler mekanizmalar ve farmakolojik ajanlar incelenmiş, ayrıca Epstein-Barr virüsü pozitif lenfoid malignitelerde CD30'un terapötik bir hedef olarak kullanımını değerlendiren öncü bulgular sunulmuştur. Sonuç olarak, bu çalışma, CD30 ekspresyonunu artırmanın moleküler mekanizmalarını tanımlamış ve bu hedefin indüklenmesi yoluyla BV'nin tedavi etkinliğini artırma potansiyeli olduğunu göstermiştir. Bu bulgular, özellikle Epstein-Barr virüsü pozitif lenfoid malignitelerde yeni ve etkili bir tedavi yaklaşımının geliştirilmesine önemli bir temel sağlamaktadır.

Kanada sağlık sistemi perspektifinden relaps ve refrakter HL tedavisinde kullanılan BV ilacının maliyet-etkinliğini değerlendiren bir çalışma Babashov (2012)

tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda, tedavinin yaşam boyu maliyetleri ve faydalarını simüle etmek için bir Markov karar analitik modeli geliştirilmiştir. Model, faz II klinik çalışmalardan elde edilen veriler ve Kanada (Ontario)'daki kanser kayıtları ile idari veritabanlarının bağlantılı olduğu cd-link verileri kullanılarak yapılandırılmıştır. Çalışma, tedavinin kişi başına 0,352 Kaliteye Ayarlanmış Yaşam Yılı kazancı sağladığını ve kişi başına 108.500 dolar ek maliyete yol açtığını ortaya koymuştur. Bu bulgular, kazanılan Kaliteye Ayarlanmış Yaşam Yılı başına 308.532 dolar olan bir artımlı maliyet-etkinlik oranına işaret etmektedir. Çalışma, artımlı maliyet-etkinlik oranı'nın tehlike oranı, ilaç doz başına maliyet ve fayda değerleri gibi parametrelere duyarlı olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak, analiz, BV tedavisinin mevcut Kaliteye Ayarlanmış Yaşam Yılı başına 100.000 dolar eşik değerini aşarak "zayıf kabul kanıtı" düzeyinde maliyet-etkin olduğunu ortaya koymaktadır. Ancak, ilacın birim doz maliyetinde önemli bir indirim yapılması durumunda artımlı maliyet-etkinlik oranı'nın düşerek tedaviyi maliyet-etkin hale getirebileceği vurgulanmaktadır.

2. ELEKTROKİMYA

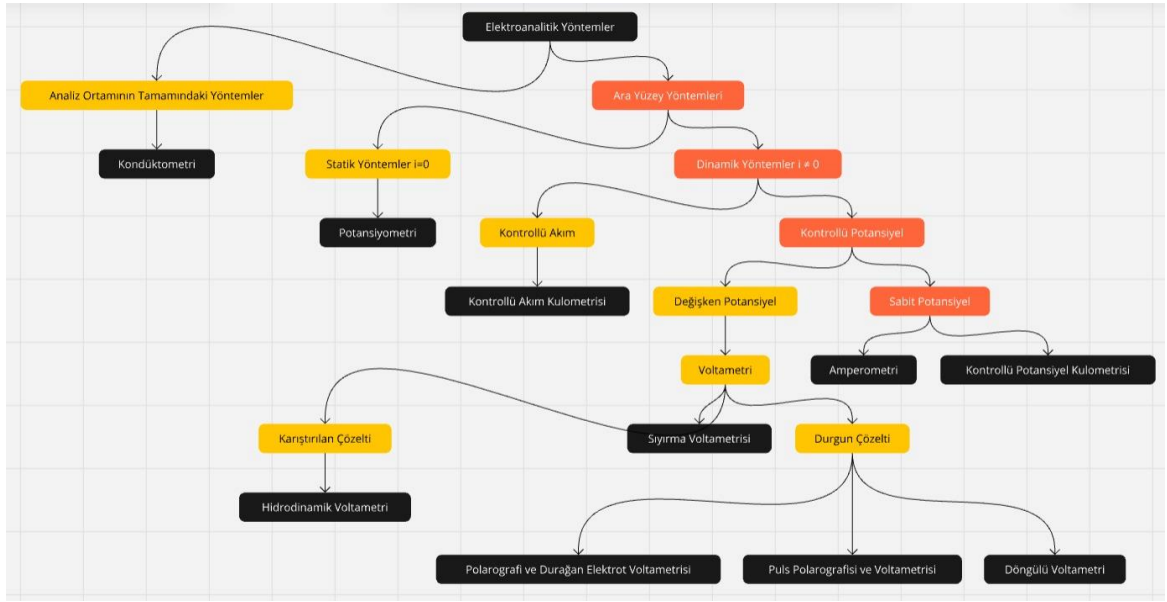
2.1. Katı Elektrotların Varlığında Voltametri

223 yıl önce, pratik elektrokimyanın başlangıcını gösteren ilk pil geliştirildi. Çek bilim adamı Jaroslav Heyrovsky, 101 yıl önce, İkinci Dünya Savaşı sırasında, civa asılı elektrotlu bir tür voltametri olan polarografiyi tasarladı (bunun sonucunda 1959'da kimya alanında Nobel Ödülü'ne layık görüldü). Bu aynı zamanda analizde klasik yaklaşımlardan araçsal yaklaşımlara geçişi de işaret ediyordu. Elektroanalitik kimyanın önemi arttı ve 20. yüzyılda olgunluğa ulaştı. Son elli yıl boyunca mikroelektronik ve bilgisayar teknolojisinin gelişmesiyle birlikte çeşitli metodolojiler yaratılmış, araçlar tasarlanıp üretilmiş ve sıkı bir teorik ve matematiksel çerçeve geliştirilmiştir (Lubert ve Kalcher, 2010; Bard ve Zoski, 2000).

Elektroanalitik teknikler kimyanın yanı sıra elektrik arasındaki etkileşime, özellikle akım, potansiyel veya yük dahil olmak üzere elektriksel değişkenlerin, özellikle bunların kimyasal özelliklerle bağlantısının ölçülmesine odaklanır. Artan hassasiyet; minimum tespit limitleri; hem organik hem de inorganik olan analit bileşiklerin yanı sıra geniş yelpazede analiz edilen numuneler; bazı durumlarda önemsiz bir matris etkisi; numunenin yanı sıra solvent tüketiminde azalma; bunları diğer tekniklerle birleştirme yeteneği (tekniklerin melezleştirilmesi); cihazların düşük fiyatının yanı sıra basit yapısı; ve ayrıca bunları otomatik çevrimiçi ve taşınabilir varyasyon analizlerinde kullanma yeteneği bu tekniklerin ayırt edici özellikleridir (Brainina, 2001; Farghaly, Abdel Hameed ve Abu-Nawwas, 2014).

Çeşitli elektroanalitik yaklaşımlar Şekil 2.1'de gösterilmektedir (Bard ve Faulkner, 2000; Wang, 2000). Gözlemlenen çeşitli sinyaller (potansiyel, akım, direnç ve empedans) çeşitli uygulamaları mümkün kılar.

Elektrokimyasal sensörler, bir sensör (elektrot) herhangi bir ölçüm cihazının kalbi olduğundan, elektroanalitik kimyanın, özellikle voltametri dahil potansiyometrinin ve amperometrinin oluşturulmasında önemli bir rol oynamıştır (Brett ve Oliveira-Brett, 2011).



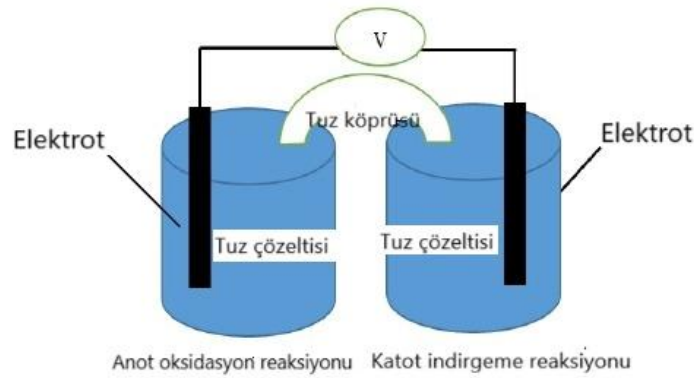
Şekil 2.1. Elektroanalitik yöntemlerin yapısı (Wang, 2000)

Dengeyi oluşturan iki yarı reaksiyonu içeren elektrokimyasal hücrelerin potansiyellerini izleyerek oksidasyon/indirgenme dengesini kolaylıkla analiz edebiliriz. Sonuç olarak, çeşitli elektrokimyasal hücre özelliklerini değerlendirmemiz gerekir. Elektrokimyasal hücre, bir elektrolit çözeltisine batırılmış, elektrot olarak bilinen iki iletkenenden oluşur.

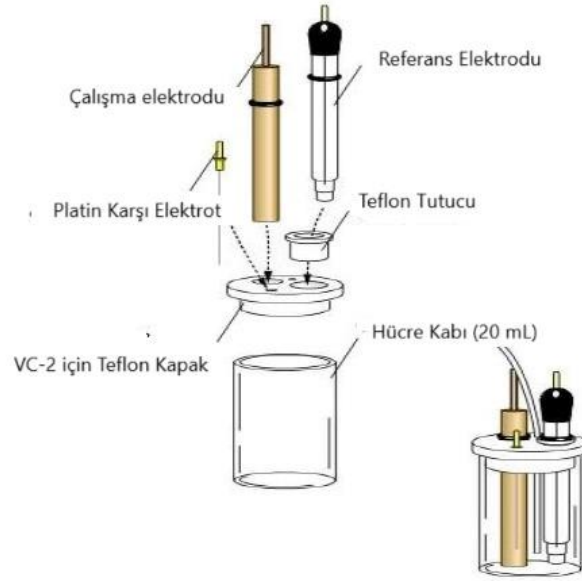
Bizim için önemli olan çoğu hücrede, iki elektrodun etrafındaki çözeltiler farklıdır ve reaktanlar arasında doğrudan bir reaksiyonu önlemek için ayrı tutulmalıdır. Şekil 2.2'de gösterilene benzer bir tuz köprüsü, çözeltiler arasında karışmayı önlemek için en sık kullanılan yöntemdir. Daha sonra elektrik, potasyum iyonlarının bir yönde ve klorür iyonlarının ters yönde taşınmasıyla bir elektrolit çözeltisinden diğerine aktarılır. Bununla birlikte bakır metali ve gümüş iyonları arasındaki doğrudan bağlantı engellenir (Skoog, vd. 2013).

Voltametrizde, numunenin (örneğin elektrot reaksiyonundan sorumlu iyon veya molekül) oksidasyonunu ve/veya indirgenmesini tetiklemek için polarize edilebilir çalışma elektroduna bir ön ayar sağlanır. Bu redoks reaksiyonunun bir sonucu olarak üretilen akımın büyüklüğü, analitin konsantrasyonunun bir ölçümü olarak kullanılabilir. Çağdaş sistemlerde, çalışma elektrotuna ek olarak, elektrokimyasal hücre referans elektrodu, yardımcı (karşıt) elektrot ve çözünen O_2 'yi ortadan kaldırmak için bir N_2 temizleme hattından oluşur. Üç elektrot hücresi (Şekil 2.3) kontrollü potansiyel araştırmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır.

Hücresinin çalışma, referans ve yardımcı elektrotları analit çözeltisine daldırılır. Hücre tipik olarak hacmi 5 ila 50 mililitre arasında değişen kapalı bir kaptır, dolayısıyla üç elektrotun tümünü içerir. Bunun aksine, çalışma elektrodu ilgili reaksiyonun gerçekleşmesine neden olan elektrottur. Referans elektrodu, çalışma elektrotlarının potansiyeliyle çelişen sabit ve istikrarlı bir potansiyel (numunenin bileşiminden bağımsız olarak) sunar. Potansiyele yönelik yeterli tamponlar, bir redoks çiftinin her iki bileşeninin (örneğin Ag/AgCl veya Hg_2Cl_2) tutarlı bir içeriği ile gerçekleştirilir. Akım taşıyan yardımcı elektrot olarak platin tel veya grafit çubuk dahil olmak üzere aktif olmayan iletken bir madde kullanılır. Hücre kapağındaki beş açıklık, 3 elektrodu ve deoksijenasyon gazını serbest bırakmak için kullanılan boruyu muhafaza ediyor. Üç elektrotlu hücre, yerleşik gaz kontrolü, manyetik karıştırıcı ve uygun kapağı içeren komple sistemler piyasadan satın alınabilir (Bard ve Zoski, 2000).



Şekil 2.2. Tipik bir iki elektrotlu elektrokimyasal hücre (Bard ve Zoski, 2000)



Şekil 2.3. Voltametrik gözlemler için bir hücrenin bu şematik diyagramında, çalışma elektrotu, referans elektrotu ve karşı elektrot, hücre kapağındaki açıklıklar aracılığıyla yerleştirilir (Bard ve Zoski, 2000)

Çalışma elektrodu olarak kullanılan malzemeler voltametrik tekniğin etkinliğini önemli ölçüde etkiler. Hedef numune matrisinin redoks davranışı, değerlendirme için gerekli potansiyel alandaki arka plan akımı, potansiyel çalışma mesafesi, elektriksel iletkenlik, yüzey üretilebilirliği, mekanik özellikler, fiyat, uygulanabilirlik ve ayrıca elektrot maddesinin toksik etkisini kapsayan hususların hepsi çalışma elektrodunu seçerken dikkate alınmalıdır (Özkan, Kauffmann ve Zuman, 2015).

Voltametrinin ilk kullanımı damlayan civa elektrodu ile yapıldı; Civa bazlı elektrodun ilk örneğine ve işlemine "polarografi" adı verildi. Civanın pürüzsüz ve yenilenmiş bir yüzeye sahip olması nedeniyle yüzey kirliliği en aza indirilerek yöntemin tekrarlanabilirliği artırılır. Ayrıca civa bazlı elektrotlar geniş bir negatif potansiyel aralığına sahip olduğundan, indirgenebilir fonksiyonel gruplar içeren çok sayıda metal iyonu ve organik maddeyi ölçmek için kullanılır (Heyrovsky, 2011; Zuman, 2011).

Bununla birlikte, oksidasyon veya oksidasyon/indirgenme özelliklerine sahip bileşikler analiz etmek için çeşitli elektrot maddeleri gerekli olacaktır. Sonuç olarak, "voltametri" kelimesi ilk kez 1940 yılında "katı elektrotlar" ve DME dışındaki çeşitli civa bazlı elektrotlar üzerinde yapılan araştırmaları karakterize etmek için kullanıldı.

Katı elektrot yüzeylerinde tekrarlanabilirlik yanıtlarının düzenlenmesinde zorluklar olmasına rağmen, katı elektrotlar, civa bazlı elektrotlara göre mekanik dayanıklılık ve kullanım kolaylığı sağlar. Analitik uygulamalarına ek olarak katı

elektrotlar, araştırmacıların farmakolojik, biyolojik ve çevresel açıdan önemli maddelerin redoks özelliklerini keşfetmelerine olanak tanıyarak bunların son derece karmaşık in vivo oksidasyon mekanizmalarını aydınlatır (Uslu ve Özkan, 2007a; Kalcher, vd. 2009; Svancara, vd. 2009; Cavalheiro, vd. 2012).

şekil 2.4. Voltametrizde tipik olarak kullanılan katı çalışma elektrotlarını göstermektedir.



şekil 2.4. Halen kullanımda olan bazı katı elektrot örnekleri (Uslu ve Özkan, 2007a)

Sabit, dönen ve titreşimli katı elektrot türleri vardır. Bu elektrotlar tel, plaka veya disk şeklini alabilir. Metal elektrotlar (Pt, Au, Bi, Pd, Rh, Cu, Ru, Ni, Cd, Sn, In) özel elektroanalitik amaçlar için kullanılır. Karbon bazlı elektrot maddeleri, geniş potansiyel aralığı, düşük fiyatı, zengin yüzey kimyası, düşük arka plan akımı, kimyasal inertliği ve çeşitli zor araştırmalara uygulanabilirliği nedeniyle elektroanalitik kimyada yaygın kullanım alanı kazanmıştır. Karbondan yapılmış elektrotlar, çeşitli farklı yaklaşımlardaki (elektrokimyasal dedektörler aracılığıyla HPLC ve CA) uygulamaların tespit edilmesi için de iyi bir şekilde kullanılabilir. Bunlar grafit, karbon fiber (CF), karbon macunu (CP), karbon nanotüp (CNT), bor-katkılı elmas (BDD), camsı karbon (GC), fulleren, serigrafi baskılı karbon (SPC), kalem grafit (PG), grafen (Gr) elektrotlarını kapsar.

1990'larda geliştirilen serigrafi baskı teknolojisi (SPE), tek kullanımlık elektrokimyasal sensörleri içeren yeni bir alan açtı. 1970'lerin ortalarında başlayan kimyasal modifiye elektrotların (CME) piyasaya sürülmesi, katı elektrotlarda önemli bir ilerlemeydi. Kullanımları, biyolojik olarak aktif çeşitli kritik kimyasalların belirlenmesinde hassasiyet ve seçicilik açısından büyük verimlilik sağlar (Diaz-Ballote, Alpuche-Aviles ve Wipf, 2007; Uslu ve Özkan, 2007a; Özkan, Kauffmann ve Zuman, 2015; Bard ve Zoski, 2000).

Fenol grupları içeren maddelerin elektrokimyasal oksidasyonu sırasında, geleneksel çıplak karbon esaslı elektrotların (grafit GC, CP) yüzeyinde BV'nin varlığıyla birlikte, polimerik bir film oluşumuna bağlı olarak akımda belirgin bir azalma gözlemlenebileceği ve bu filmin aynı zamanda ilgili elektrot tabakasının kademeli pasivasyonunu da artırabileceği belirtilmelidir (Ghanema, vd. 2007; Hoyer ve Jensen, 2007). Yukarıda açıklandığı gibi CME, analitin neden olduğu elektrot yüzeyi kirlenmesi sorununun üstesinden gelmek için potansiyel bir tekniktir (Chao ve Ma, 2014; Deng, vd. 2015; Moyo, Florence ve Okonkwo, 2015; Zhang, vd. 2018). Bununla birlikte, yüzey değişikliğinin, uzun hazırlık süresi, yanıtların kısa vadeli sabitliği, düşük tekrarlanabilirlik, yüksek masraf ve yüksek eğitilmiş işgücü gereksinimi gibi dezavantajları olabilir. Benzersiz ve ileriye dönük çıplak elektrot malzemelerinin kullanılması, voltametrik tekniğin hassasiyetini artırmak için ek bir tekniktir.

Son 20 yılda yapılan birçok kapsamlı inceleme, nispeten yeni bir karbon türü olan BDD'nin, analitik kimya ve çevresel araştırmalar gibi çeşitli alanlarda çevre dostu bir elektrot malzemesi olarak anlamlı bir ilgi çekmeyi amaçladığını göstermiştir. Ayrıca malzeme bilimi, biyoloji ve diğer bölgelerde de kullanım alanı bulabilir (Yang, Foord ve

Jiang, 2016; Cobb, Ayres ve Macpherson, 2018; Baluchová, vd. 2019; Muzyka, vd. 2019; Trellu, vd. 2019) .

BDD elektrodu, çeşitli metallerin (platin, altın) yanı sıra geleneksel sp^2 karbonu (camsı karbon, pirolitik grafit, karbon macunu ve diğerleri) içeren herhangi bir elektrot maddesi arasında en geniş potansiyel aralığına sahiptir. Diğer ayırt edici özellikler, düşük ve tutarlı voltametrik arka plan akımı, genellikle düşük çözünmüş oksijen duyarlılığı ve çoğu kirleticinin düşük adsorpsiyonu dahil (elmas oluşumundaki sp^3 hibritlenmiş karbon atomları nedeniyle) sinyal tekrarlanabilirliğini korumak için güçlü kimyasal ve fiziksel sağlamlıktır. Çok sayıda analit için yüzey terapilerinin yanı sıra elmastaki bor katkı miktarı dahil (mükemmel elektriksel iletkenlik ve morfoloji için), elektron taşınmasının kinetiğini etkileyen elmas dışı sp^2 karbonunun (sp^2 safsızlıkları) miktarı olan üç kritik değişkenin hepsinin BDD elektrodunun analitik başarısı (oksijen veya hidrojenle sonlanan yüzey işlevleri) üzerinde anlamlı bir etkiye sahip olduğunun dikkate alınması önemlidir. İkincisi muhtemelen elektrot yüzey özelliklerini değiştirebilecek tüm yönlerden en karmaşık olanıdır. İşlenmemiş (hazırlandığı gibi) BDD'nin (endüstriyel olarak mevcut veya laboratuvarında üretilmiş) bir yüzeyi öncelikle hidrofobiktir (hidrojenle sonlanmış).

Oksijen üretim reaksiyonu boyunca güçlü pozitif potansiyeller sağlayarak (anodik ön arıtma, APT), BDD hidrofilik (oksijen durdurulmuş) yapılabilir ve hem polarizasyon potansiyeline hem de süreye bağlı olarak büyük ölçüde negatif bir yüzey yüküne sahip olabilir. Bununla birlikte, BDD yüzeyinin yüksek iletkenliği sayesinde hidrofobik karakteri, hidrojen üretim reaksiyonunda (katodik ön işlem, CPT) optimal potansiyel değerleri seçilerek bir kez daha oluşturulabilir. Her elektroanalitik uygulama, BDD yüzeyini değiştirmeden hassasiyeti artırmak, seçiciliği artırmak ve kirlenme etkisini azaltmak için elektrokimyasal ön işlemden yararlanabilir (Lourencao, vd. 2020; Uçar ve Levent 2021; Clematis ve Panizza, 2021; Ali, Barzani ve Yardım, 2022; Barzani, vd. 2022; Kondo, 2022; Yence, vd. 2022; Coldibeli, vd. 2023; Altunkaynak vd., 2023; Kiliç vd., 2024; Yıldız ve Levent 2024).

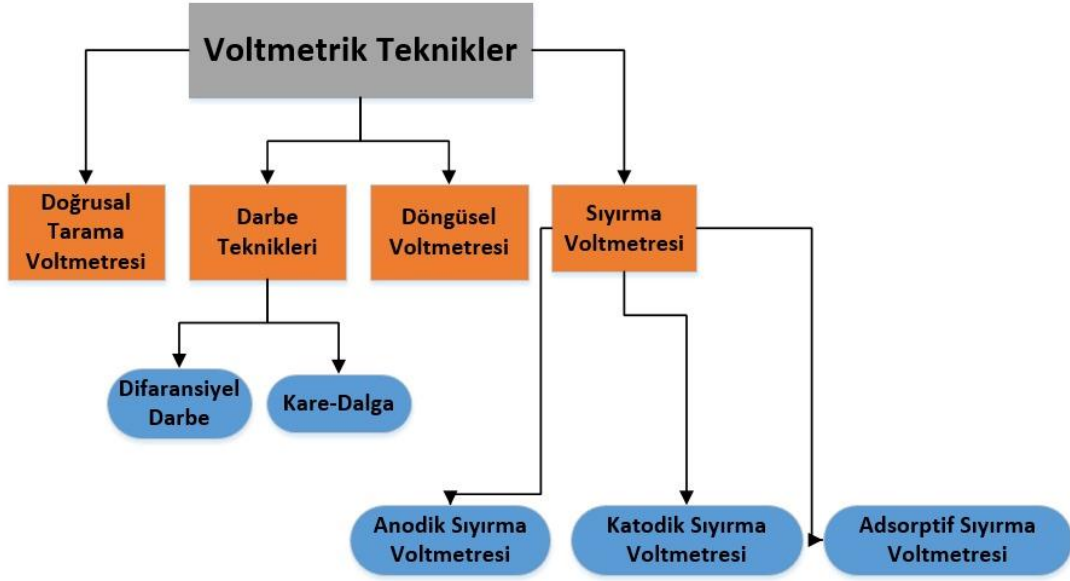
Son yıllarda tarımsal, çevresel, klinik, farmasötik ve gıda değerlendirmeleri uzmanlık alanında önemli olan bazı biyolojik olarak aktif bileşikleri belirlemek için çeşitli farklı polarizasyon yollarıyla ön işleme tabi tutulan BDD elektrotlarının uygulanmasıyla ilgilenen birkaç makale yayınlandı. (Yardım, vd. 2011; Yardım, Gülcan ve Şentürk, 2013a; Levent, Yardım ve Şentürk, 2014; Alpar, vd. 2017; Alpar, Yardım ve

Şentürk, 2018; Hoshyar, vd. 2021; Barzani ve Yardım, 2023; Altunkaynak vd., 2023; Kiliç vd., 2024; Yıldız ve Levent 2024).

2.1.1. Voltametrik teknikler

Elektrokimyasal çalışmalarda kullanılan voltametrik tekniklerin genel bir sınıflandırması Şekil 2.5'te gösterilmiştir.

Bu bölümde bu çalışmada kullanılan voltametrik yöntemlere kısaca değineceğiz (Fogg ve Wang, 1999; Bard ve Zoski, 2000; Özkan, Uslu ve Aboul-Enein, 2003; Özkan, 2009; Uslu ve Özkan, 2011; Özkan, Kauffmann ve Zuman, 2015). "Voltametri" kelimesi, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak bir elektrokimyasal hücredeki akımı tespit ederek numune hakkında bilgi elde ettiğimiz bir elektroanalitik teknik kategorisine karşılık gelir (Şekil 2.6). Bu bilgiyi elde etmek için nispeten küçük bir göstergenin veya çalışma elektrodunun polarizasyonunu teşvik eden bir ortam yaratılır. Amperometri, sabit bir potansiyelde bir analitin konsantrasyonuyla orantılı bir akımın izlenmesinde kullanılan yöntemdir. Voltametrinde ve amperometrinde çalışma elektrotları birkaç milimetre kareden biraz daha fazla yüzey alanları içerir ve bazı uygulamalarda, birkaç mikrometre kareden fazla olmayan veya daha az yüzey alanına sahiptirler. Bu polarizasyonu iyileştirmek için yapılır. Voltametri, çeşitli ortamlarda oksidasyon ve indirgeme prosedürleri ve yüzeydeki adsorpsiyon mekanizmaları, özellikle kimyasal olarak değiştirilmiş elektrot yüzeylerindeki elektron taşıma yolları hakkında temel araştırmalar yapmak için inorganik, fiziksel ve biyolojik kimyacılar tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır (Skoog, vd. 2013).



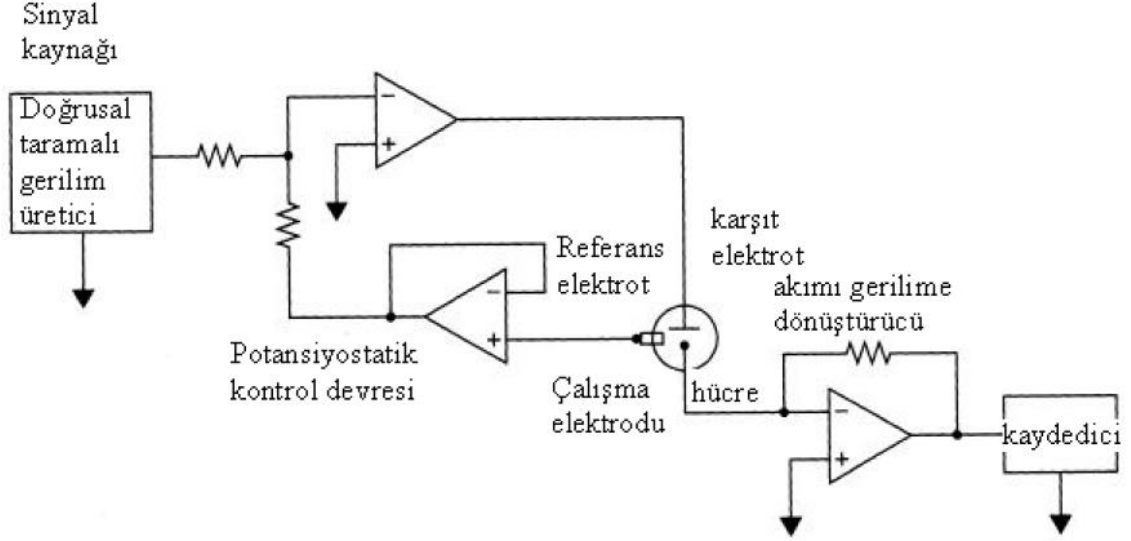
Şekil 2.5. Tipik olarak kullanılan voltametrik yöntemlerin kapsamlı bir sınıflandırması (Skoog, vd. 2013)

Çok sayıda voltametrik yöntemin analitik faydaları, hem inorganik hem de organik türleri kapsayan geniş ve faydalı bir doğrusal konsantrasyon aralığı üzerinden yüksek hassasiyet, çok çeşitli faydalı çözücüler ve elektrolitler, geniş bir sıcaklık aralığında çalışma imkanı, hızlı analiz süreleri (saniyeler içinde), birden fazla örneğin eş zamanlı tahmini, kinetik ve mekanik değişkenleri tanımlama yeteneği, iyi geliştirilmiş bir hipotez gibi avantajları içermekte olup bu nedenle haklı bir değerlendirme sunmaktadır.

Voltametrik tekniklerin kullanımı, çeşitli elektrokimyasal olayları kontrol eden prensiplerin anlaşılmasının temelini oluşturur. Bu teknikler, aşağıda belirtilenler de dahil olmak üzere, çeşitli teknolojik disiplinlerde son derece önemli bir rol oynamaktadır:

- Korozyon direnci için malzeme araştırması (Korozyon, birbirini takip eden elektrokimyasal işlemlerden kaynaklanır)
- Kimya endüstrisi için yeni elektrot süreci geliştirme (Örneğin, elektrokimyasal reaksiyonlar milyonlarca ton alüminyum, klor ve soda üretiminden sorumludur)
- Büyük miktarlarda enerji depolayabilen yeni tip pillerin geliştirilmesi (Protti, 2001).

Eser metallerin (veya daha spesifik olarak indirgenebilen veya oksitlenebilen bileşiklerin) g/L veya altındaki konsantrasyonlarda kantitatif olarak incelenmesi, voltametrinin en önemli uygulamalarından biridir. Bu, çözeltideki organik bileşikler de dahil olmak üzere ağır metallerin izlerinin voltametrik tespitiyle ilgili niteliksel ve niceliksel özellikleri kapsamaktadır.



Şekil 2.6. Çalışma elektrodu, referans elektrodu ve karşıt elektrot, üç elektrotlu hücreyi oluşturan elektrotlardır (Skoog, vd. 2013)

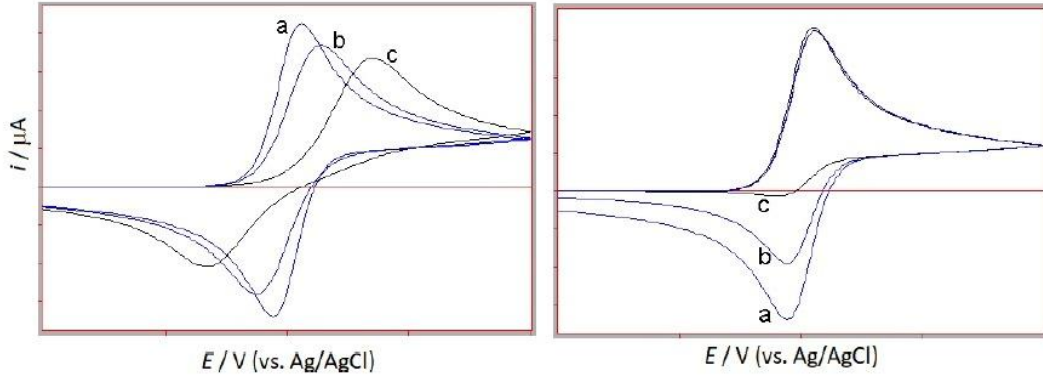
2.1.1.1. Döngüsel voltametri

Çoğunlukla CV olarak bilinen döngüsel voltametri, özellikle organik kimya alanında en sık kullanılan voltametrik yöntemler arasındadır. Çoğu durumda bu, elektroanalitik araştırmanın başlangıcında gelir. Karmaşık redoks reaksiyonlarının mekanizmasını, ara ürün reaksiyonlarını ve reaksiyon ürünlerinin stabilitesini incelemek için kullanılır. Düşük hassasiyeti ($\sim 10^{-5}M$) nedeniyle, miktar belirleme araştırmalarının sınırlı sayıda uygulama alanı bulunmaktadır (Özkan, 2011).

Bu yöntemde, seçilen çalışma elektroduna sağlanan potansiyel, önceden belirlenmiş tarama hızlarında bir değere (pozitif veya negatif tarafta) değiştirildikten sonra tersine çevrilir. Geri dönen potansiyel, başlangıç veya farklı potansiyele göre değiştirilebilir. Bu yöntemde akım, potansiyelin bir fonksiyonu olarak ölçülür. Bu koşullar altında elde edilen akım-potansiyel eğrisine "döngüsel voltamogram" adı verilir. Aynı mekanizma birkaç kez tekrarlandığında "tekrarlayan döngüsel voltamogram" üretilir. (Bard ve Zoski, 2000).

Döngüsel bir voltamogramı analiz ederken, anodik ve katodik tepe noktalarının tepe potansiyelleri (E_{pa} , E_{pc}) ve akımları (i_{pa} , i_{pc}) en önemli özelliklerdir. Yalnızca 25°C'de n elektron aracılığıyla tersinir bir redoks reaksiyonu için, ΔE_p ($E_{pc} - E_{pa}$) $0,0592/n$ V veya elektron başına 60 mV civarında olmalıdır. Şekil 2.7'de görüldüğü gibi, elektrot tepkisinin tersinirliği azalır, bu da anodik ve katodik tepe noktalarının farklı potansiyellerde ve daha

geniş aralıklarla kaydedilmesine neden olur. Bu pik, geri dönüşü olmayan bir elektrot reaksiyonunda kaybolur çünkü ürün çok kısa sürede yok edilir (Skoog, vd. 2013).



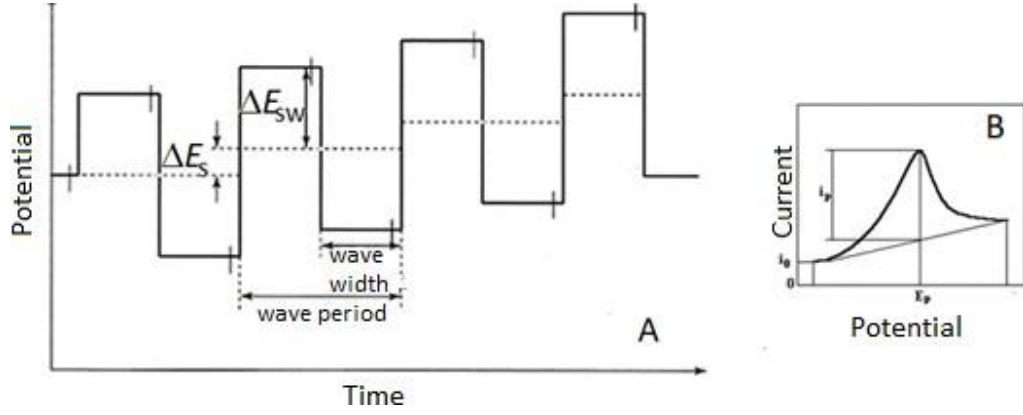
Şekil 2.7. Geri dönüşümlü (a), yarı geri dönüşümlü (b) ve geri dönüşümsüz (c) elektrokimyasal reaksiyon türleri CV yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir (Skoog, vd. 2013)

2.1.1.2. Kare dalga voltametrisi

Yıllar boyunca voltametrik tekniğin hızını ve hassasiyetini geliştirmek için çeşitli darbe yaklaşımları denenmiştir. Bu yöntemler, üretilen akıma karşı potansiyel aşamaların örneklenmesine dayanır. Çalışma elektroduna önceden belirlenmiş aralıklarla birkaç ardışık potansiyel aşaması uygulanır. Bu darbe yöntemlerinden biri kare dalga voltametrisi (SWV) olarak biliniyor ve hem yüksek hızlara hem de hassasiyete sahip. Bu faydalara ek olarak, indirgeme çok yavaş olmadığı için çözelti ortamından oksijenin uzaklaştırılmasına gerek yoktur (Fogg ve Wang, 1999).

SWV yönteminde birkaç farklı türde darbe kullanılır (Osteryoung, Kalousek ve Barker). (Şekil 2.8), en popüler SWV yöntemi olan Osteryoung SW voltametrisi için potansiyel bir dalga biçimini ve tipik bir SW voltamogramını göstermektedir. Bu yöntemle 10^{-7} - 10^{-8} M hassasiyette analizler yapılabilmektedir.

SWV yaklaşımı FIA, LC ve CE gibi akış sistemlerinin tespit sisteminde yüksek hızı nedeniyle kullanılmaktadır (Bard ve Zoski, 2000; Özkan, Uslu ve Aboul-Enein, 2003).



Şekil 2.8. SWV için potansiyel dalga biçimi (A) ve ilgili akım yanıtı (B) (Skoog, vd. 2013)

2.1.1.3. Sıyırma voltametrisi

Sıyırma yaklaşımları, yaygın olarak kullanılan tüm elektroanalitik yöntemler arasında en küçük tespit limitlerine ($\leq 10^{-9}$ M) sahiptir. Optimum hassasiyet ve seçicilik, çok az numune hazırlığıyla elde edilir.

Bu en popüler üç varyant, anodik sıyırma voltametrisi (ASV), katodik sıyırma voltametrisi (CSV) ve ayrıca adsorptif sıyırma voltametrisi (AdSV). Hepsinin yaygın olarak iki aşaması vardır. Başlangıçta numune çözeltisinde bulunan analit türleri çalışma elektrotlarının üzerinde veya içinde yoğunlaştırılır. Biriktirme olarak da bilinen bu önemli ön konsantrasyon aşaması, sonuçta elde edilebilecek olağanüstü düzeyde hassasiyete yol açar. Bu aşama, önceden belirlenmiş bir zamanda, belirli bir elektrot potansiyelinde gerçekleştirilir. Elektrot yüzeylerine analitin sabit akışını garanti etmek için çözeltinin karıştırılmasını veya elektrodun hareket ettirilmesini içerir.

İşlemin ikinci adımı boyunca, elektrot üzerindeki önceden konsantre edilmiş numuneyi tespit etmek veya elektrottan çıkarmak için bir potansiyel taraması kullanılır. Böyle bir sıyırma aşaması için çeşitli potansiyel dalga biçimleri seçilebilir (yani diferansiyel darbe, doğrusal tarama, kare dalga veya merdiven). Şarj akımına yönelik ayırım nedeniyle en sık görülenler kare dalganın yanı sıra diferansiyel darbedir. Bununla birlikte kare dalga, diferansiyel darbeye kıyasla daha hızlı tarama hızı ve daha yüksek hassasiyet gibi ek faydalar sağlar (Kalvoda, 1994; Zuhri ve Voelter, 1998; Fogg ve Wang, 1999; Özkan, Uslu ve Aboul-Enein, 2003; Özkan, 2009; Skoog, vd. 2013).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kimyasallar ve Çözeltiler

3.1.1. Kimyasallar

Bu tez çalışmasında deneylerde kullanılan kimyasallara ve üretici firmalara ait bilgiler Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3. 1. Kimyasallar ve üretici firmalar

Kimyasalların adı	Üretici adı
Brentuksimab vedotin	Seattle Genetics, Inc.
Asetik asit (100%, w/v)	Merck
Hidroklorik asit (37%, w/v)	Merck
Fosforik asit (85%, w/v)	Merck
Borik asit	Merck
Sodyum hidroksit	Merck
Sülfürik asit	Merck
Perklorik asit	Merck
Nitrik asit	Merck
Na ₂ HPO ₄ .7H ₂ O	Merck

3.1.1.1. Destekleyici elektrolitin hazırlanması

Britton-Robinson (BR) tamponu (0,04 M, pH 2,0-12,0), fosfat tamponu (0,1 M, pH 2,5, 7,4 ve 12) ve ayrıca asetat tamponu (0,1 M, pH 4,7), destekleyici elektrolitler olarak kullanıldı. Milli-Q (Millipore) arıtma cihazı kullanılarak hazırlanan çözeltiler, buzdolabında Pyrex® cam şişelerde muhafaza edildi.

BR tamponu için 0,04 M H₃BO₃, 0,04 M H₃PO₄ ve ayrıca 0,04 M CH₃COOH'dan oluşan bir çözelti, 5 M NaOH çözeltisi eklenerek uygun pH değerine ayarlandı.

Asetat tamponunu hazırlamak için 0,1 M CH₃COOH içeren çözeltiye 5 M NaOH ilave edildi ve daha sonra pH gerekli değere ayarlandı.

0,1 M Na₂HPO₄.7H₂O çözeltisine 5 M NaOH veya 5 M HCl çözeltisi eklendikten sonra fosfat tamponunun pH'ı gereken seviyeye ayarlandı.

3.2. Cihaz

Bu tez çalışmasında, Autolab PGSTAT 128 (Metrohm, Nova 2.1.7 yazılım) potansiyostat cihazı ile voltametrik deneyler gerçekleştirilmiştir. Voltametrik sistem bilgisayar teknolojisi ile desteklendiğinden cihazın kontrolü, veri toplama ve değerlendirme işlemleri kolaylıkla gerçekleştirilebilmektedir. Üçlü hücre sistemi BASi kullanılmıştır. Çalışma elektrodu BDD (3 mm disk çapına ve 1000 ppm'lik bor katkılama konsantrasyonuna sahip), yardımcı (Pt tel, BASi) ve referans (Ag/AgCl, BASi) elektrotlar kullanılmıştır. Thermo Scientific Orion 3-star pH metre destekleyici elektrolit çözeltilerinin pH ayarlaması için kullanılmıştır. Ayrıca, deneylerde farklı amaçlar için Precisa XB 220A hassas terazi, isolab ultrasonik banyo, İKA MS 3 basic vorteks, otomatik mikro pipetler (Pyrex®) Eppendorf ve thermo scientific Heraeus Labofuge 200 santrifüj cihazları kullanılmıştır. (Şekil 3.1), Elektrokimyasal analiz cihazı ile üç elektrotlu hücre ünitesini göstermektedir.



Şekil 3.1. Elektrokimyasal analiz cihazı (A) ve üç elektrotlu hücre ünitesi (B)

3.3. Brentuksimab Vedotin için Standart Çözeltilerin ve Aparatların Hazırlanması

3.3.1. Brentuksimab vedotin solüsyonlarının hazırlanması

Standart BV, Seattle Genetics, Inc.'ten (ABD) temin edildi ve herhangi bir ek saflaştırmaya tabi tutulmadan kullanıldı. Millipore Milli-Q sisteminden (Millipore, öz direnç $\geq 18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$) elde edilen ultra saf su ile Britton-Robinson tamponu (BR, 0,04 M, pH 2-12), asetat tamponu (ABS, 0,1 M, pH 4,7), fosfat tamponu (PBS, 0,1 M, pH 2,5, 7,4 ve 12,0) ve ayrıca, H_2SO_4 (0,5 M), HClO_4 (0,1 M), HNO_3 (0,1 M) çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan çözeltiler buzdolabında +4 °C'de muhafaza edildi.

3.3.2. Voltametrik yöntem

Deneye başlamadan önce BDD elektrodu, % 50'lik (v/v) etil alkol çözeltisi içerisinde 10 dakika ultrasonik banyoda tutuldu. Daha sonra 0.5 M sülfürik asit çözeltisinde sırasıyla anodik (+1.8 V/180 saniye) ve katodik (-1.8 V/180 saniye) yönde elektrokimyasal olarak aktive edildikten sonra seçilen destekleyici elektrolit ortamında dönüşümlü ve kare-dalga voltametri teknikleri ile voltamogramlar kaydedildi. Her bir yeni analiz için ölçümler arasında BDD elektrodu 0.5 M sülfürik asit çözeltisinde sırasıyla anodik (+1.8 V/60 saniye) ve katodik (-1.8 V/60 saniye) yönde elektrokimyasal olarak aktive edildikten sonra seçilen destekleyici elektrolit ortamında deneyler yapıldı. Bu deney protokolü BV'nin BDD elektrot yüzeyinde tekrarlanabilir sinyal oluşturmalarını sağladı. BV'nin elektrokimyasal özelliklerini belirlemek ve miktar tayini için elektroanalitik bir yöntem geliştirmek için optimizasyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. Bunun için ilk önce aşağıdaki deney protokolleri sırasıyla takip edildi.

1. Optimum destekleyici elektrolit ve pH belirlenir.
2. Belirlenen optimum destekleyici elektrolit ve pH ortamında BV'nin dönüşümlü voltametri deneyleri yapılır. Bu deneylerde ilk önce BDD elektrot üzerinde BV'nin çoklu döngülü voltamogramları kaydedilir. Daha sonra farklı gerilim tarama hızlarında dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak voltamogramlar kaydedilir.
3. Belirlenen optimum destekleyici elektrolit ve pH ortamında BV'nin BDD elektrot yüzeyindeki biriktirme parametre ölçümleri yapılır. Bunun için biriktirme

gerilimi (0 V ile 0.6 V aralığı) ve biriktirme süresi (0 ile 180 saniye aralığı) için voltamogramlar kaydedilir.

4. 1. ve 3. Deney protokollerinde saptanan koşullarda kare-dalga parametreleri belirlenir. Bunu için adım gerilimi (V), amplitüt (V) ve frekans (Hz) parametreleri için voltamogramlar kaydedilir.

5. Belirlenen tüm optimum parametre şartlarında BV'nin BDD elektrot üzerinde analitik çalışma aralığı için voltamogramlar kaydedilir.

6. Elektroanalitik tekniğin analitik uygulaması için idrar numunelerinde deneyler yapılır.

3.3.3. İdrar numunelerinin analize hazırlanması

Sağlıklı ve gönüllü bir kişiden voltametrik analiz deneylerinden önce idrar numunesi alındı. İdrar numunelerine herhangi bir ön işlem yapılmadan doğrudan kullanıldı. Voltametrik analiz için 10 mL'lik iki deney tüpü temin edildi. Bu deney tüplerinden birisi referans olarak seçildi. Deney tüplerinin birine bilinen miktarda BV ilave edilerek toplam hacim 5 mL olacak şekilde idrar numunesi ile tamamlandı. Diğer idrar deney tüpüne herhangi bir ilave yapılmadı. Bölüm 3.3.2'deki deney protokolü takip edilerek voltamogramlar kaydedildi. Standart ekleme tekniği kullanılarak idrar numunelerindeki BV'nin analizi ve %'de geri kazanım hesaplamaları yapıldı. Her bir analiz üç kez tekrarlanarak analizler gerçekleştirildi.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Bor Katkılı Elmas Elektrot Üzerinde Brentuksimab Vedotin'in Elektrokimyasal Özelliklerinin Araştırılması

BV'nin BDD elektrodu üzerindeki elektrokimyasal tepkisini araştırmak için döngüsel ve kare-dalga voltametri teknikleri kullanıldı.

4.1.1. Döngüsel voltametri sonuçları

Belirtilen yöntemle ön işleme tabi tutulan BDD elektrodu üzerindeki BV'nin elektrokimyasal davranışını anlamak için 4.5 mg/mL BV'nin birbiri takip eden üç döngüsel voltamogramı, pH 8.0'de 0,04 M BR tampon çözeltisi içinde kaydedildi. BV içermeyen CV'de karşılaştırma amacıyla grafiklerde sunuldu. Şekil 4.1a'da gösterildiği gibi, ilk döngü sırasında BV, yaklaşık +1.36 V gerilimde tersinmez bir dalga verdi. Ek olarak, ters taramada bir azalma zirvesinin olmaması, BV'nin BDD elektrodu üzerindeki elektrot reaksiyonlarının tamamen geri döndürülemez olduğuna dair kanıt sağladı. Ardışık voltamogramlar kaydedilirken, anodik pik sinyal şiddeti azaldı; bu süreç elektrot yüzeyinin devre dışı bırakılması (muhtemelen kirlenme) veya BV'nin ve/veya ilgili oksidasyon ürünlerinin yalnızca BDD elektrot yüzeylerinde adsorpsiyonu nedeniyle olabileceğini gösterdi.

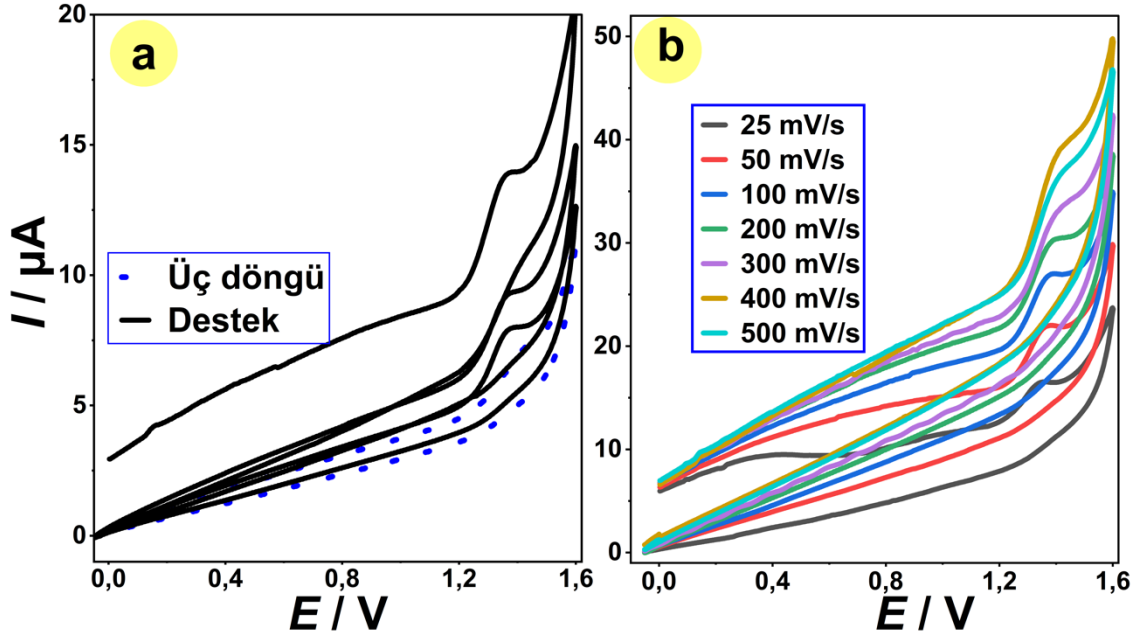
Tarama hızının BDD elektrodunda 4.5 mg/mL BV oksidasyonu üzerindeki etkisi, pH 8.0'de 0.04 M BR tampon çözeltisi içinde döngülü voltamogramlar kullanılarak araştırıldı (Şekil 4.1b). Tarama hızı arttıkça, oksidasyon tepe potansiyelinde daha büyük pozitif potansiyel değerlerine doğru küçük bir değişiklik oldu. Oksidasyon tepe akımı ile tarama hızı arasında aşağıdaki denklemler elde edildi. Bu denklemler 25 mV/s ile 500 mV/s ($n=7$) aralığındaki gerilim tarama hızlarındaki verilerden yararlanarak oluşturuldu.

$$I_p (\mu A) = 0.042v + 19.620, r=0.901$$

$$I_p (\mu A) = 1.207\sqrt{v} + 12.582, r=0.997$$

$$\log I_p = 0.773 \log v + 0.854$$

Anodik akım ile tarama hızı arasındaki doğrusal ilişki ve anodik akımın logaritmik değeri ile gerilim tarama hızının logaritmik değeri arasındaki eğimin 0.5 ile 1 aralığında olması BV'nin BDD elektrot yüzeyinde difüzyon katkılı adsorpsiyon özellikte davrandığını göstermektedir.



Şekil 4.1. 4.5 mg/mL BV için 100 mV s^{-1} 'deki döngüsel voltamogramların ilk üç döngüsü (1-3) (a) ve 4.5 mg/mL BV için çeşitli tarama hızlarında (25-500 mV/s) gerçekleştirilen döngülü voltamogramlar (b).

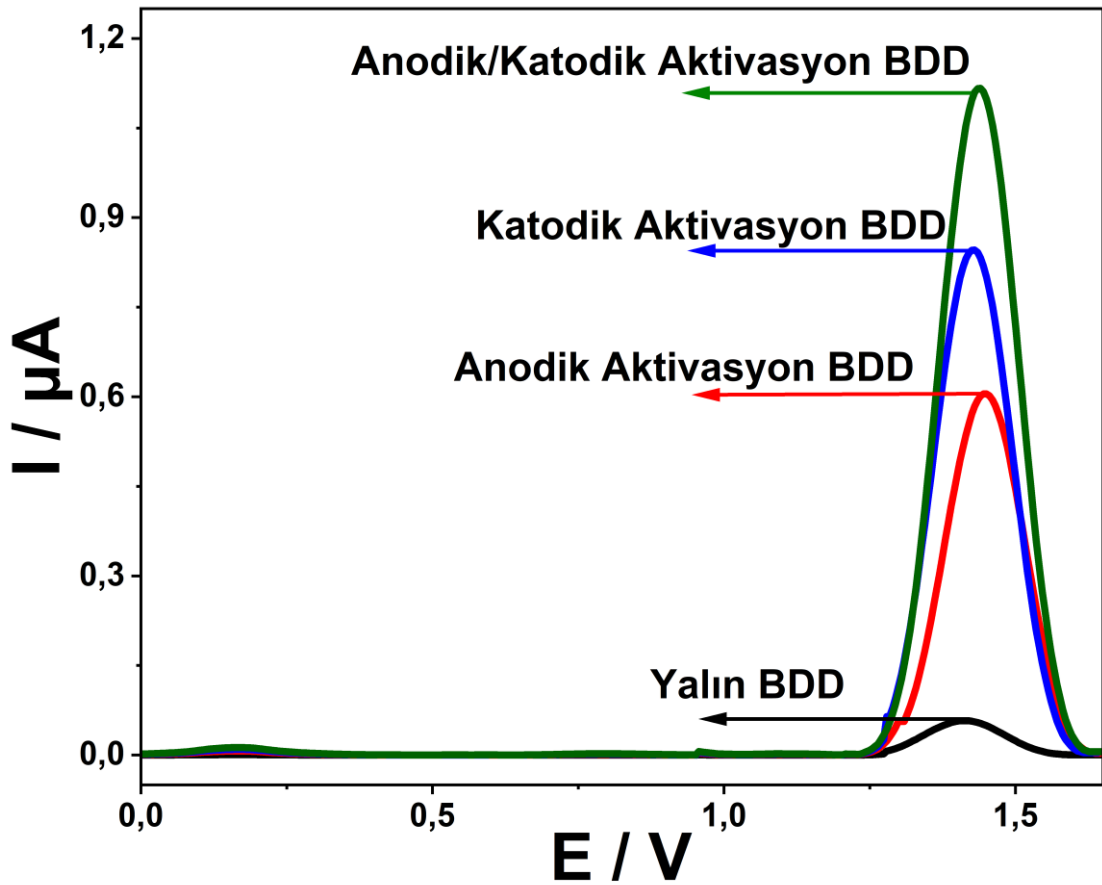
4.1.2. Voltametrik teknik belirleme

BV'nin miktar tayini için geliştirilen elektroanalitik teknik için diferansiyel-puls voltametri ve kare-dalga voltametri tekniklerinde BDD elektrodu kullanıldı. BV'nin BDD elektrot üzerinde kare-dalga voltametri tekniği kullanılarak yapılan deneylerde anodik sinyal şiddetinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu yüzden tez çalışmasının bundan sonraki aşamalarında kare-dalga voltametri tekniğinin kullanılmasına karar verildi.

4.1.1.1. Anodik sinyal üzerinde BDD elektrot aktivasyonu etkisi

Tez çalışmasının bu bölümünde BV'nin BDD elektrot yüzeyinde tekrarlanabilirliği yüksek ve duyarlı analitik sinyaller elde etmek için 0.04 M BR (pH=8.0) destekleyici elektrolit ortamında 0.5 M sülfürik asit ortamında elektrokimyasal

olarak aktive edildi. Aktivasyon sürecinde Bölüm 3.3.2 deney protokol aşamaları takip edildi. Şekil 4.2’de görüldüğü gibi BDD elektrodun 0.5 M sülfürik asit ortamında elektrokimyasal olarak aktive edildiğinde BV’nin anodik sinyal şiddetinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Farklı aktivasyon gerilim ve sürelerinde yapılan denemelerde anodik aktivasyondan hemen sonra katodik aktivasyon süreci uygulandığında BV’nin anaodik sinyal şiddeti daha yüksek gözlenmiştir. Tez çalışmasının bundan sonraki aşamalarında BDD elektrodu için anodik aktivasyon (+1.8 V) sürecinden sonra katodik aktivasyon (-1.8 V) ön işlemi yapıldıktan sonra voltametrik deneyler gerçekleştirilmiştir. Ön denemelerde çalışmalar, anodik oksidasyonun (özellikle daha yüksek konsantrasyonlarda), ön işlem olmaksızın BDD elektrot yüzeyinin hafif pasifleşmesine neden olduğunu, dolayısıyla ölçümlerin tekrarlanabilirliğini ve hassasiyetini etkilediğini gösterdi. BDD elektrodunu bu sorundan korumak için BR’de (pH 7,0) 9.99 µg/mL BV için üç ön arıtma yaklaşımının etkisi SWV tekniği ile incelenmiştir. İlk olarak, anodik ön işlem BDD elektrodunun (Anodik ön işlem (APT), 0,5 M H₂SO₄’te 180 saniye boyunca +1,8 V) davranışını incelemek için voltametrik testler yapıldı. Katodik olarak hazırlanan bir BDD elektrotunun verimliliği (Katodik ön işlem (CPT), 0,5 M H₂SO₄ çözeltisinde 180 saniye boyunca -1,8 V) işlemin ikinci adımında analiz edildi. Sonunda BDD elektroduna sırasıyla anodik ve katodik ön arıtma yöntemleri uygulandı ve voltametrik ölçüm sonuçları rapor edildi (Şekil 4.2). Son ön arıtma işlemi BDD elektroduna yerleştirildi; BV değerlendirmesi daha hassas ve tekrarlanabilir sonuçlar verdi. Diğer prosedürlerle karşılaştırıldığında bu prosedür, BV’nin elektrot yüzeyindeki elektron transfer hızını artırabilir. Bu nedenle bu metodoloji en etkili ön arıtma yaklaşımı olarak seçilmiş ve her test gününün başlangıcında kullanılan BDD elektroduna uygulanmıştır.



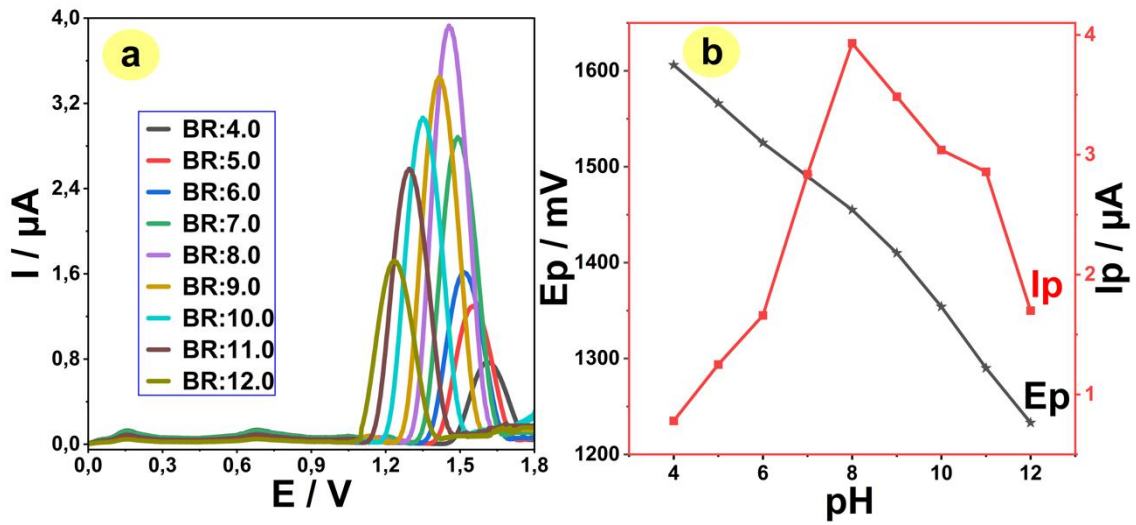
Şekil 4.2. 9.99 $\mu\text{g/mL}$ BV'nin BDD elektrot yüzeyinde yalın ve 0.5 M sülfürik asit ortamında çeşitli elektrokimyasal ön işlemlerden sonra pH 8.0'de 0,04 M BR destekleyici elektrolit çözeltisi içinde kaydedilen kare-dalga voltamogramları. Biriktirme gerilimi/süresi: 0.3 V/60 saniye. Kare-dalga voltametri parametreleri: Adım gerilimi:0.005 V, Amplitüt:0.04 V, ve Frekans: 40 Hz.

4.1.1.2. BDD elektrot üzerinde destekleyici elektrolit ve pH'ın etkisi

pH'ın anodik tepe noktalarının potansiyelleri ve BV akımları üzerindeki etkisi, farklı destekleyici elektrolitler kullanılarak ve değişken pH değerleri aracılığıyla kare-dalga voltametri tekniği ile araştırıldı. Şekil 4.3a'da, 0.04 M BR destekleyici ortamında pH 4 ile 12 aralığında BDD elektrot yüzeyinde 36.36 $\mu\text{g/mL}$ BV'nin 0 ile 1.8 V gerilim aralığındaki kare-dalga voltamogramları verilmiştir. Bu çalışma koşullarında BDD elektrot yüzeyinde pH arttıkça BV'nin anodik pik potansiyel değerlerinin daha negatif değerlere kaydığı tespit edilmiştir. Şekil 4.3'den görüleceği üzere $\text{pH} < 4.0$ 'dan küçük olduğunda BV'nin BDD elektrot yüzeyinde elektroaktif olmadığı anlaşılmaktadır. Ayrıca BDD elektrot yüzeyinde pH 8.0 değerine kadar arttırıldığında BV'nin anodik sinyal şiddetinin de arttığı görülmektedir (Şekil 4.3b). Bu pH değerinden sonra BDD elektrot

yüzeyinde BV'nin anodik sinyal şiddetinin azaldığı tespit edilmiştir. Tüm bu değerlendirmeler çerçevesinde, BDD elektrot yüzeyinde BV'nin elektrokimyasal özelliklerinin araştırılması ve miktar tayini çalışmaları için optimum destekleyici elektrolit BR ve pH değerinin 8.0 olmasına karar verilmiştir. Şekil 4.3b'ye göre, pH arttıkça potansiyel çalışma değerlerinde tek bir tepe gözlemlenirken (alan tepe potansiyelinin önemli ölçüde değişmediği), BV'nin tepe potansiyelleri pH aralığı 4.0-12.0 olan tepe noktalarına doğru hareket etmektedir, bu durum BDD elektrot yüzeyinde BV'nin reaksiyonuna protonların dahil edildiğini gösterir. Bu değişim 4.0 ile 12.0 pH aralığında doğrusal davranışlara sahip oldukları anlaşılmaktadır (Şekil 4.3b) ve anodik pik gerilimi ile pH arasındaki doğrusal değişim denklem ile ifade edilebilir: $E_p(\text{mV}) = -52.13 \text{ pH} + 1802.15$ $r=0.976$.

Bu formülün eğimine göre BV'nin BDD elektrodunda oksidasyonu pH'a bağlıdır. 52.13 mV/pH eğimleri 59.14 V teorik değerine yakın olduğundan (Bard, 2001), bulgular elektrot reaksiyonuna eşit sayıda elektron ve protonun dahil edildiğini göstermektedir.

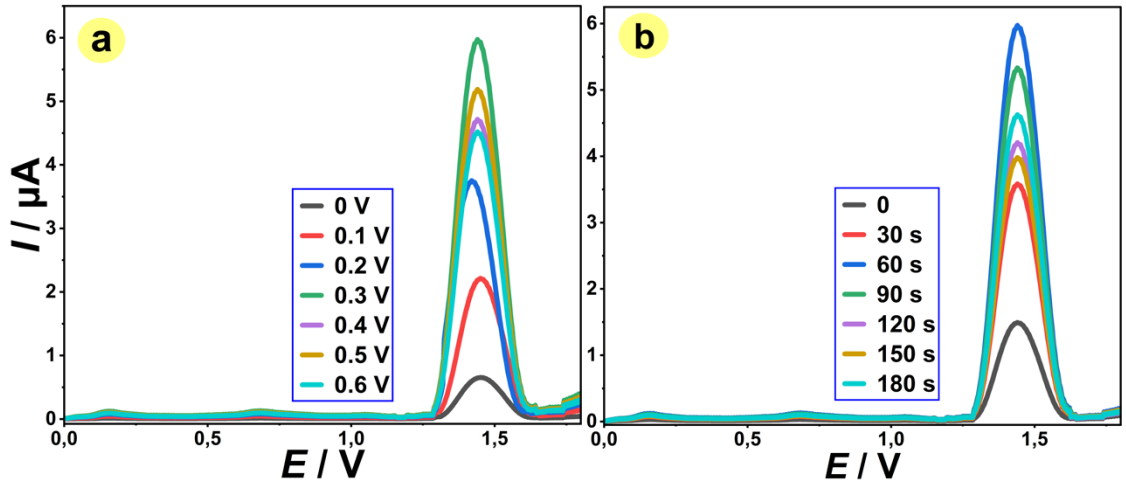


Şekil 4.3. BR tamponundaki (pH 4,0-12,0) (a) 36.36 μg/mL BV'nin kare-dalga voltamogramları ve aynı zamanda bu BDD elektrodu üzerinde pH'nın anodik pik gerilimi ve anodik pik akımı ile olan değişim eğrileri (b).

4.1.1.3. Anodik sinyal üzerinde biriktirme ve kare-dalga parametrelerinin etkisi

BV'in BDD elektrodu üzerindeki önemli adsorptif özellikleri dikkate alınarak, birkaç adsorptif adsorpsiyon mekanizması araştırıldı. 36.36 μg/mL'lik BV çözeltisi BR (pH 8.0) destekleyici elektrolit ortamında çalışarak, biriktirme potansiyeli (0 V ile 0.6

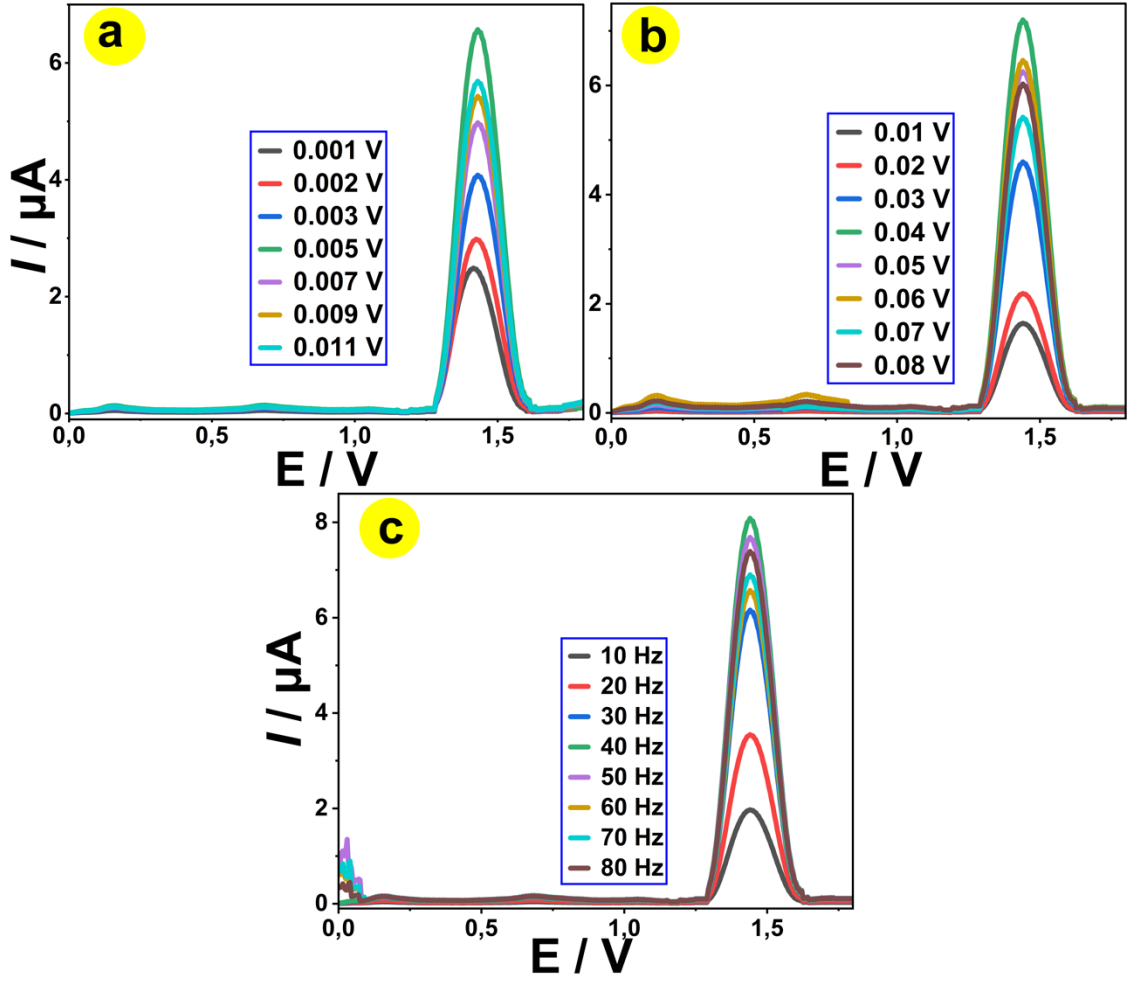
aralığı) ve biriktirme (0 saniye ile 180 saniye aralığı) sürelerinin etkisi çalışıldı. BDD elektrot üzerinde 60 saniye biriktirme süresinde 0 V ile 0.6 V gerilim değerleri arasında kare-dalga voltamogramları kaydedildi (Şekil 4.4a). Şekilden görüleceği üzere biriktirme gerilimi +0.3 V değerine kadar arttırıldığında BV'nin anodik pik sinyal şiddetinde artma olurken anodik pik gerilim değerinde analitiksel olarak belirgin bir değişiklik olmadı. Bununla beraber anodik pik sinyal şiddetinin 0.3 V gerilim değeri üzerindeki biriktirme gerilimlerinde analitiksel olarak belirgin bir değişim gözlenmemiştir. Bu nedenle, tez çalışmasının bundan sonraki bölümlerinde biriktirme gerilimi olarak +0.3 V seçilmiştir. BV +0.3 V sabit gerilimde tutularak 0 saniye ile 180 saniye değerleri arasında değişen şartlarda BDD elektrot üzerinde biriktirilerek kare-dalga voltamogramları kaydedildi (Şekil 4.4b). İlgili şekilde görüleceği üzere biriktirme süresi çalışmasının bulgularına göre anodik pik akımları birikimden 60 saniye sonra maksimum değerine ulaştı. Bundan sonraki biriktirme sürelerinde anodik pik akımlarında analitiksel olarak belirgin bir değişim olmadığı tespit edilmiştir. Tez çalışmasının bundan sonraki bölümlerinde biriktirme gerilimi +0.3 V ve biriktirme süresi 60 saniye olarak seçilmiştir.



Şekil 4.4. BV'nin BDD elektrot üzerinde (a) biriktirme potansiyeli ve (b) biriktirme süresi için kaydedilen kare-dalga voltamogramları.

Tez çalışmasının bu aşamalarında BV'nin miktar tayini için BDD elektrot üzerinde geliştirilen elektroanalitik teknikte kare-dalga voltametri parametreleri detaylı olarak çalışıldı. Bunun için adım gerilimi (0.00 V-0.011 V), amplitüt (0.01 V-0.08 V) ve frekans (10 Hz – 80 Hz) çalışıldı. Deneyler yapılırken optimum deneysel koşullarında çalışılan parametre değeri değiştirilerek diğer iki parametrenin değerleri sabit tutulmuştur. Bu deneylerde BDD elektrot yüzeyinde daha hassas ve düzgün voltamogramların elde

edilmesi hedeflenmiştir. İlk önce adım gerilimi için 0.001 V ile 0.011 V gerilim aralıklarında deneyler yapıldı. Adım gerilimi değerleri kare-dalga voltametrinde, mümkün olan en iyi hassasiyetin yanı sıra mümkün olan en yüksek anodik tepe akım değerini elde etmek için 20 Hz frekans ve +0.03 V amplitüt değerlerinde voltamogramlar kaydedildi (Şekil 4.5a). Adım gerilimi değeri +0.005 V değerine kadar doğrusal olarak artarken bundan sonra analitiksel olarak değişmediği tespit edilmiştir. 0.01 V ile 0.08 V amplitüt değerleri arasında BDD elektrot üzerinde BV'nin anodik pik sinyal şiddeti ve şekli +0.005 V adım gerilimi ve 20 Hz frekans değerinde kare-dalga voltamogramları kaydedildi (Şekil 4.5b). Şekilden görüleceği üzere +0.04 V amplitüt gerilim değerine kadar BDD elektrot üzerinde optimum deneysel koşullarda BV'nin anodik pik sinyal şiddeti artmaktadır. Bu değerden sonra amplitüt gerilim değeri +0.08 V gerilime kadar artırılarak voltamogramlar kaydedildi. Elde edilen bulgulara göre BV'nin anodik pik sinyal şiddetinde analitiksel olarak belirgin bir değişiklik gözlenmemiştir. BDD elektrot üzerinde BV'nin anodik sinyalindeki değişim için en son kare-dalga parametresi olarak 20 Hz ile 80 Hz frekans aralıklarında adım gerilimi +0.005 V ve amplitüt gerilimi +0.04 V değerinde sabit tutularak voltamogramlar kaydedildi (Şekil 4.5c). Frekans parametreleri için kaydedilen voltamogramlardan da görüleceği üzere 40 Hz değerine kadar BV'nin anodik pik sinyal şiddetinin arttığı görülmektedir. Bu frekans değerlerinden sonra BV'nin anodik pik sinyal şiddetinde analitiksel olarak belirgin bir değişiklik gözlenmemiştir.



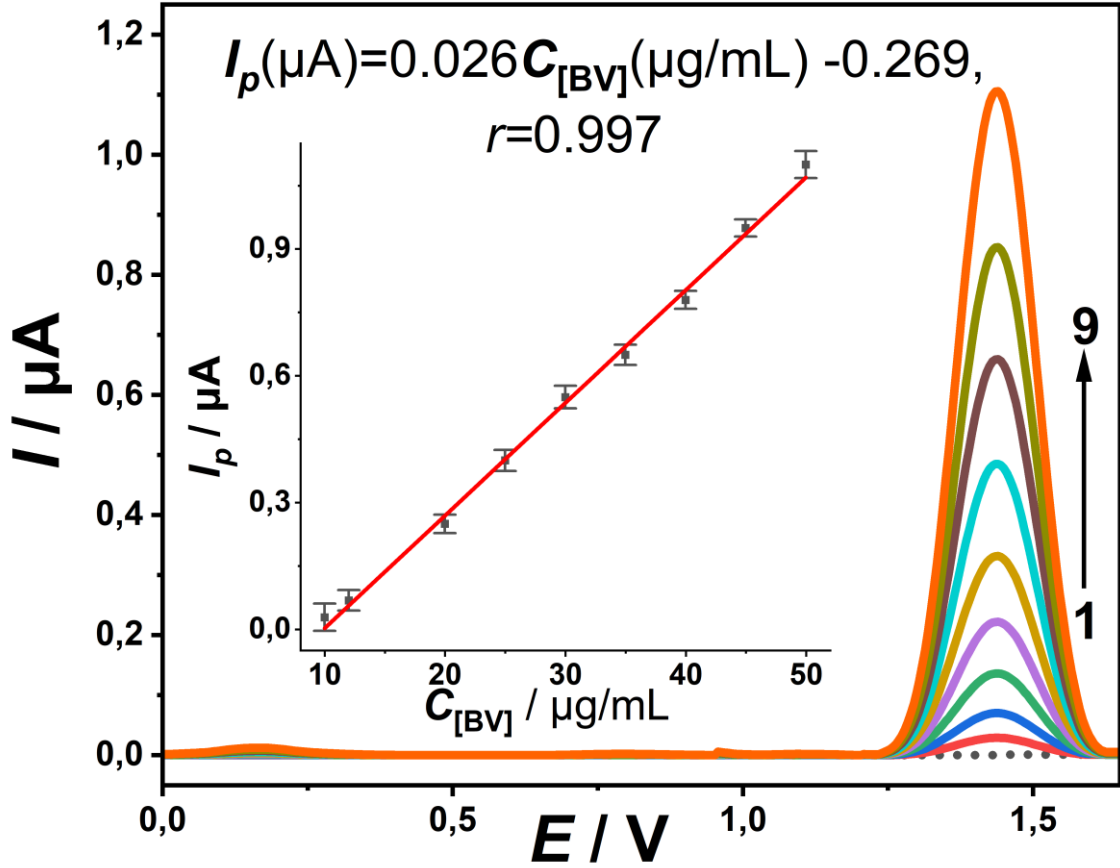
Şekil 4.5. BV'nin BDD elektrot üzerinde (a) Adım gerilimi, (b) Amplitüt ve (c) Frekans için kaydedilen kare-dalga voltamogramları.

Biriktirme ve kare-dalga parametre verileri değerlendirildiğinde biriktirme gerilimi için +0.003 V, biriktirme süresi için 60 saniye, adım gerilimi için +0.005 V, amplitüt için +0.04 V ve frekans için 40 Hz değerleri seçilmiştir.

4.1.1.4. Analitik performans

BDD elektrot üzerinde kimyasal parametreler ve deneysel değişkenler optimize edildikten sonra analitik verimlilik, BV'nin anodik pik akımları BV'nin konsantrasyonlarının fonksiyonu olarak değerlendirilerek incelenmiştir. Optimum deneysel koşullarda standart BV'den her ilaveden sonra BDD elektrot üzerinde 0.04 M BR (pH 8.0) destekleyici ortamda kare-dalga voltamogramları kaydedildi (Şekil.4.6). BDD elektrot üzerinde +1.44 V gerilimdeki anodik pik akımının BV'nin derişimi ile doğrusal olarak arttığı görülmektedir. 9.99 $\mu g/mL$ ile 49.95 $\mu g/mL$ BV derişimi

aralıklarında anodik pik akımı arasında aşağıdaki doğrusal denklem elde edilmiştir: $I_p(\mu A)=0.026 C_{[BV]}(\mu g/mL) -0.269$, $r=0.997$ ($n=9$). Bu verilerden tayin sınırı (TS:10s/m) ve en düşük tayin alt sınırı (TAS:3s/m) hesaplandı. Bu eşitliklerde s kalibrasyon eğrisindeki en düşük derişimde okunan en az anodik pik sinyal şiddeti değerin standart sapması ve m kalibrasyon eğrisindeki eğim değeri. TS= 3.26 $\mu g/mL$ ve TAS: 0.98 $\mu g/mL$ olarak bulundu.



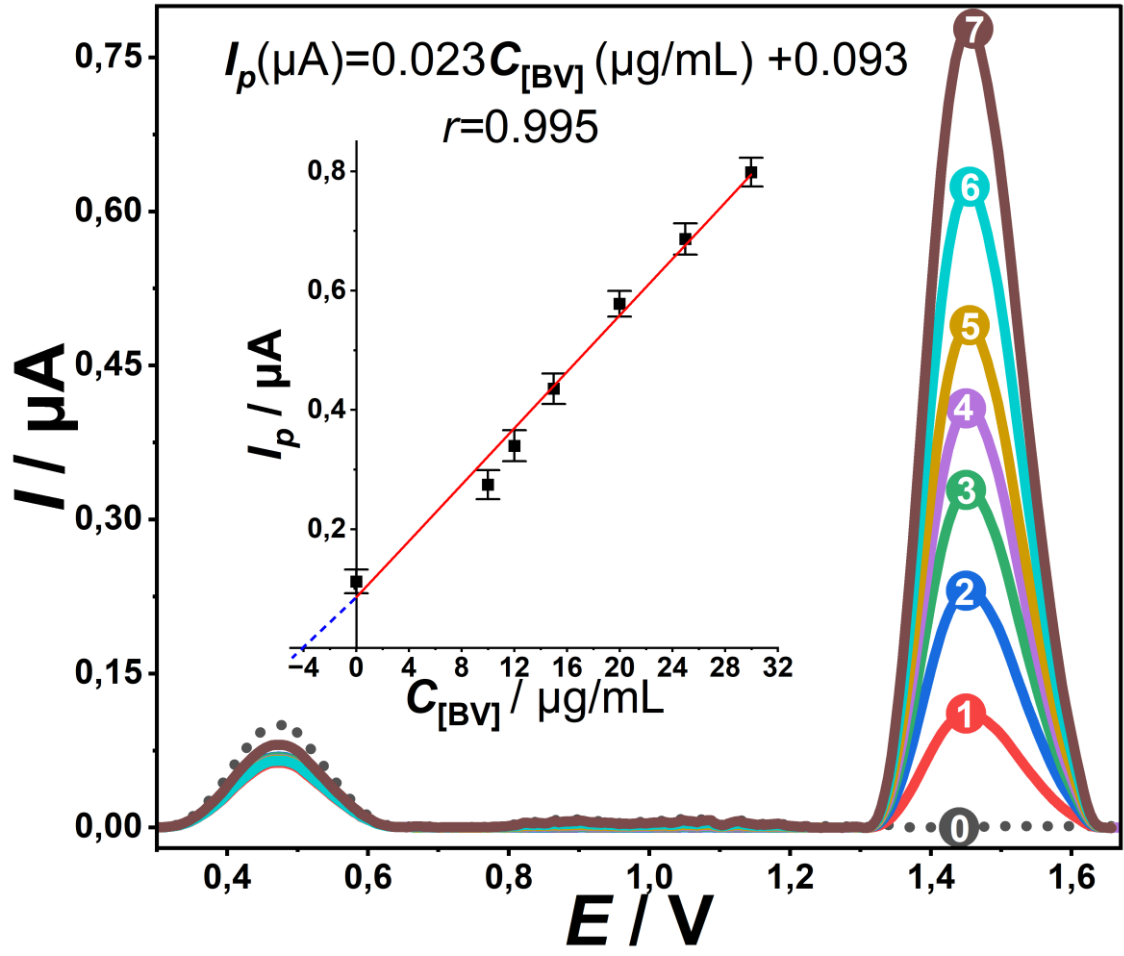
Şekil 4.6. BDD elektrot üzerinde BR (pH:8.0) destekleyici elektrolit ortamında farklı BV derişimlerinde [1: 9.99, 2: 11.99, 3: 19.98, 4: 24.97, 5: 29.97, 6: 34.96, 7: 39.97, 8: 44.95 ve 9: 49.96 $\mu g/mL$] kaydedilen kare-dalga voltamogramları

Sunulan tekniğin kesinliğini BDD elektrot üzerinde değerlendirmek için, 9.99 $\mu g/mL$ BV için gün içi tekrarlanabilirliğin (günde 10 ölçüm) yanı sıra günler arası tekrarlanabilirlik (arka arkaya üç gün boyunca gerçekleştirilen 3 ölçüm) en uygun deney koşulları altında incelenmiştir. Gün içi tekrarlanabilirlik % bağıl standart sapma (%BSS) değeri 3.24 ve günler arası tekrarlanabilirlik değeri ise 4.28 olarak hesaplandı. Elde edilen gün içi ve günler arası düşük (<5%) % BSS değerleri, BDD elektrodunun, gerçek

numunelerde bulunan BV'nin tekrarlanabilir tayini için uygun bir elektrokimyasal sensör olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

4.1.1.5. Önerilen elektroanalitik yöntemin uygulanabilirliği

BV'nin analizi için BDD elektrot üzerinde geliştirilen elektroanalitik teknik, metodolojinin uygulanabilirliği üzerinde pratik bir kontrol görevi gören standart ekleme tekniği kullanılarak idrar numuneleri üzerinde test edilmiştir. İdrar numunelerinin voltametrik ölçümleri Bölüm 3.3.2'deki deney protokolü takip edilerek gerçekleştirildi. İlk önce 100 µL saf idrar numunesinin 5 mL BR (pH=8.0) destekleyici elektrolit ortamında optimum deneysel şartlarda kare-dalga voltamogramı kullanılarak kaydedildi (Şekil 4.7). Kaydedilen voltamogram eğrilerinden de açıkça görüleceği üzere idrar numunelerinde bulunan bileşenlerin bu çalışma koşullarında BDD elektrot üzerinde BV'nin anodik sinyali ile girişim yapabilecek elektroaktifliğe sahip olmadığı gözlenmiştir. Bu tez çalışmasının koşullarında saf idrar numunesinde +0.47 V geriliminde bir anodik sinyal gözlenmiştir. Bu anodik sinyalin BV'nin anodik sinyalini etkilemediği tespit edilmiştir. Analitik çalışmanın devamında idrar numunelerine bilinen miktarda standart BV çözeltisinden ilaveler yapıldığında +1.45 V gerilimindeki anodik sinyalin doğrusal olarak arttığı tespit edilmiştir (Şekil 4.7). Kaydedilen voltamogramlardan elde edilen verilere göre; ilave edilen BV derişimi ile anodik sinyal arasındaki doğrusal denklem $I_p(\mu A)=0.023C_{[BV]} (\mu g/mL) +0.093$, $r=0.995$ ($n=7$) şeklindedir. Standart ekleme tekniği uygulanan idrar numunelerinde 4.04 µg/mL derişimindeki BV'nin %'de geri kazanım değeri 94.25 olarak elde edilmiştir. Elde edilen yüksek geri kazanım sonuçları, idrar numunelerindeki BV'nin analizinde BDD elektrot ile geliştirilen elektroanalitik tekniğin başarılı bir şekilde uygulanabileceğini göstermektedir.



Şekil 4.7. BDD elektrot üzerinde BV'nin idrar numunelerinde analizi için standart ekleme tekniği kullanılarak kaydedilen kare-dalga voltamogramları. 0: Saf idrar numunesi, 1: 4.03 $\mu g/mL$ (ilave edilen miktar), ilaveden sonra final çözeltide bulunan BV düzeyi; 2: 9.99 $\mu g/mL$, 3: 11.99 $\mu g/mL$, 4: 14.98, 5: 19.99, 6: 24.97 ve 7: 29.97

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sunulan bu tez çalışmasında ilk defa BDD elektrot üzerinde Hodgkin Lenfoma tedavisinde kullanılan BV'nin elektrokimyasal özellikleri ve kantitatif tayini için bir elektro analitik teknik geliştirildi. BV'nin elektrokimyasal özellikleri BR destekleyici elektrolit ortamında BDD elektrot üzerinde dönüşümlü voltametri ve kare-dalga voltametri teknikleri kullanılarak detaylı olarak araştırılmıştır. BDD elektrodun sülfürik asit ortamında elektrokimyasal olarak aktive edildiğinde BV'nin oldukça elektro aktif etki gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.2). Elektrokimyasal aktivasyon sürecinde BDD elektrodun ilk önce anodik ve daha sonra katodik olarak aktive edildiğinde BV'nin anodik sinyallerinde oldukça iyileştirme sağladığı gözlemlendi. Bu sonucun BDD elektrot üzerinde gerçekleştirilen araştırmalar ile uyumlu olduğu görülmektedir (Uçar ve Levent, 2021; Altunkaynak, vd. 2023; Yıldız ve Levent, 2024). Dönüşümlü voltametri tekniğinde yaklaşık BR (pH:8.0) destekleyici ortamında yaklaşık +1.36 V gerilimde tersinmez bir dalga verdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.1a). Ayrıca bu çalışma koşullarında BDD elektrot üzerinde BV'nin difüzyon katkılı adsorpsiyon özellik gösterdiği elde edilen bulgular ile gösterildi (Şekil 4.1b). Aynı zamanda kare-dalga voltametri verilerinden anodik gerilim ile pH arasındaki değişimden 52.13 mV/pH eğim değerinin nerst eşitliğindeki teorik değere yakın çıkması, BDD elektrot üzerinde gerçekleşen elektrokimyasal süreçte elektron sayısının proton sayısına eşit olduğu anlaşılmıştır.

Tez çalışmasının ikinci bölümünde BV'nin miktar tayini için geliştirilmesi hedeflenen elektroanalitik yöntemin optimizasyon ve validasyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. Optimum destekleyici elektrolit ve pH çalışması deneylerinde en düzgün ve hassas voltamogramlar BR (pH 8.0) destekleyici elektrolit ortamında elde edildi (Şekil 4.3). BDD elektrot üzerinde gerçekleştirilen dönüşümlü voltametri verilerinden BV'nin elektrot yüzeyinde adsorptive özelliği olduğu anlaşılmıştır. Bu yüzden BV'nin BDD elektrot yüzeyinde biriktirme gerilimi ve süresi deneyleri yapıldı. Bu deneylerden +0.3 V biriktirme geriliminde ve 60 saniye biriktirme süresinde BV'nin elektrot yüzeyinde daha hassas ve tekrarlanabilir özellikte elektroaktif olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.4). Bu elektroanalitik yöntemde kullanılan voltametrik tekniğin parametre optimizasyonunda analitin elektrot yüzeyinde daha hassas ve daha düzgün bir voltamogram elde edilmesini sağlamaktadır. Bu amaçla kare-dalga voltametri parametre optimizasyon deneylerinde +0.005 V adım gerilimde, 0.04 V amplitüt gerilimde ve 40 Hz

frekans değerlerinde BV antikanser ilacı BDD elektrot yüzeyinde daha duyarlı ve tekrarlanabilir voltamogramlar oluşturmuştur (Şekil 4.5). Tez çalışmasının analitik yöntem geliştirme bölümünde ise BV antikanser ilacı 9.99 µg/mL ile 49.95 µg/mL derişim aralığında optimum çalışma koşullarında $I_p(\mu A)=0.026 C_{[BV]}(\mu g/mL) -0.269$, $r=0.997$ ($n=9$) doğrusal denklemi ile çok iyi bir analitik çalışma aralığına sahip olduğu görülmektedir (Şekil 4.6). Bu verilerden geliştirilen elektroanalitik tekniğin 0.98 µg/mL TAS değerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Geliştirilen yöntemin gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlikleri ise sırasıyla % 3.24 ve % 4.28 olarak belirlenmiştir. Geliştirilen elektroanalitik yöntem optimum koşullar altında idrar numunesine uygulanarak, incelenen BV anti kanser ilacının idrar numunelerindeki analizleri test edilmiştir. İdrar numunesine standart ekleme-geri kazanma yöntemi uygulanarak geliştirilen yöntemin doğruluk çalışması yapılmıştır. İdrarda bulunan BV geliştirilen yöntemin uygulanması sonucunda % 94.25'lik yüksek bir geri kazanım ile elde edilmiştir (Şekil 4.7).

Sonuç olarak, yapılan bu tez çalışması ile basit, kolay, ekonomik ve çevre dostu bir deney protokolü geliştirilerek, sülfürik asit ortamında elektrokimyasal olarak aktive edilen BDD elektrodunda BV anti kanser ilacının elektrot yüzeyindeki tayinine dayanan yeni bir analitik yöntem başarılı bir şekilde geliştirilmiştir.

KAYNAKLAR

- Ali, H. S., Barzani, H. A., Yardım, Y. (2022). An unmodified boron-doped diamond electrode for electroanalytical investigation and sensitive voltammetric quantification of antiviral drug famciclovir in the pharmaceutical formulation and serum samples. *Diamond and Related Materials*, 123, 108871.
- Ali, H. S., Barzani, H. A., Yardım, Y., Şentürk, Z. (2022). First electrochemical study of a potent antifungal drug caspofungin: Application to its enhanced voltammetric sensing based on the performance of boron-doped diamond electrode in CTAB-mediated measurements. *Diamond and Related Materials*, 125, 109031.
- Ali, H.S., Barzani, H.A., Yardım, Y. (2023). Utilizing epicatechin voltammetric oxidation signal for the estimation of total phenolic content in the tea samples via the unmodified boron-doped diamond electrode surface. *Microchemical Journal*, 189, 108572.
- Alpar, N., Yardım, Y., Şentürk, Z. (2018). Voltammetric sensing of triclosan based on the enhancement effect of the cationic surfactant at cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 98(13), 1226-1241.
- Altunkaynak, Y., Önal, G., & Levent, A. (2023). Application of boron-doped diamond electrode for rapid and sensitive voltammetric detection of vildagliptin in anionic surfactant medium. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, 154(2), 181-190.
- Anonymous, 2020, https://www.researchgate.net/publication/338685874_Cancer_notes, 1-4, 8-9.
- Aslan, M., Aydın, F., & Levent, A. (2023a). Voltammetric studies and spectroscopic investigations of the interaction of an anticancer drug bevacizumab-DNA and analytical applications of disposable pencil graphite sensor. *Talanta*, 265, 124893.
- Aslan, M., Aydın, F., Aslan, F., & Levent, A. (2023b). Application of Disposable Biosensor for Nivolumab–DNA Interaction Using Pencil Graphite Electrode. *Russian Journal of Electrochemistry*, 59(11), 941-953.
- Aslan, M., & Levent, A. (2024). First voltammetric studies, spectrophotometric and molecular docking investigations of the interaction of an anticancer drug ribociclib-DNA and analytical applications of disposable pencil graphite sensor. *Microchemical Journal*, 206, 111580.
- Aslan, M., Aydın, F., & Levent, A. (2024). Electrochemical evaluation of nivolumab used in cancer treatment with differential pulse voltammetry: A novel approach with single-use pencil graphite electrode. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 32(1), 109-120.

- Atay, B., Önal, G., & Levent, A. (2023). Electrochemical investigations and determination of antineoplastic agent etoposide at single-use pencil graphite electrode: an eco-friendly and cost effective voltammetric method. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, 154(7), 765-773.
- Babashov, V. (2012), Preliminary Economic Evaluation of Brentuximab Vedotin in Relapsed and Refractory Hodgkin Lymphoma: An" Early Look" Model Based on Phase II Results, Master of Science, The School of Graduate and Postdoctoral Studies *The University of Western Ontario London, Ontario, Canada*, 4.
- Baluchová, S., Daňhel, A., Dejmková, H., Ostatná, V., Fojta, M., Schwarzová-Pecková, K. (2019). Recent progress in the applications of boron doped diamond electrodes in electroanalysis of organic compounds and biomolecules—A review. *Analytica Chimica Acta*, 1077, 30-66.
- Bard, A. J., Faulkner, L. R. (2000). Electrochemical methods: *Principles and Applications*, 2nd ed; John Wiley and Sons: New York, USA.
- Bard, A. J., Zoski, C. G. (2000). Voltammetry retrospective. *Analytical Chemistry*, 72(9), 346A-352A.
- Barzani, H. A., Ali, H. S., Özok, H. İ., Yardım, Y. (2022). Developing an electroanalytical procedure for the determination of caffeic acid phenethyl ester at a boron-doped diamond electrode by the use of cationic surfactant media. *Diamond and Related Materials*, 124, 108934.
- Barzani, H. A., Saadi Ali, H., Şahin, C., Kiran, M. and Yardım, Y. (2022). A new Approach for the voltammetric sensing of the phytoestrogen genistein at a non-modified borondoped diamond electrode. *Electroanalysis*, 34(2022), 1280-1288.
- Barzani, H.A., Yardım, Y. (2023). First approach for the voltammetric sensing of rifabutin by the use of cationic surfactant media on the boron-doped diamond electrode. *Diamond and Related Materials*, 132, 109658.
- Bhatt, S. (2014), Therapy for B-cell Lymphoma, Doctoral dissertation, *University of Miami, Miami, America*, 5-7.
- Brainina, K. h. Z. (2001). Electroanalysis: From laboratory to field versions. *Journal of Analytical Chemistry*, 56(4), 344-354.
- Brett, C. M. A., Oliveira-Brett, A. M. (2011). Electrochemical sensing in solution-origins, applications and future perspectives. *Solid State Electrochemistry*, 15,1487-1494.
- Cavalheiro, É. T. G., Brett, C. M. A., Brett, A. M. O., Filho, O. F. (2012). Bioelectroanalysis of pharmaceutical compounds. *Bioanalytical Reviews*, 4, 31-53.
- Chao, M., Ma, X. (2014). Voltammetric determination of chlorogenic acid in pharmaceutical products using poly (aminosulfonic acid) modified glassy carbon electrode. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22, 512-519.

- Clematis, D., Panizza, M. (2021). Application of boron-doped diamond electrodes for electrochemical oxidation of real wastewaters. *Current Opinion in Electrochemistry*, 30, 100844.
- Cobb, S. J., Ayres, Z. J., Macpherson, J. V. (2018). Boron doped diamond: a designer electrode material for the twenty-first century. *Annual Review of Analytical Chemistry*, 11, 463-484.
- Coldibeli, B., Fonseca, M.M., Mariano, R.S., Salamanca-Neto, C.A.R., Sartori, E.R. (2023). Non-hazardous Electrochemical Sensing Approach for Health and Environmental Monitoring: Use of the Boron-Doped Diamond Electrode. Recent Developments in Green Electrochemical Sensors: *Design, Performance, and Applications*, 223-268.
- Deng, P., Xu, Z., Zeng, R., Ding, C. (2015). Electrochemical behavior and voltammetric determination of vanillin based on an acetylene black paste electrode modified with graphene-polyvinylpyrrolidone composite film. *Food Chemistry*, 180, 156-163.
- Diaz-Ballote, L., Alpuche-Aviles, M., Wipf, D. O. (2007). Fast-scan cyclic voltammetry scanning electrochemical microscopy. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 604, 17-25.
- Dy, G. W., Gore, J. L., Forouzanfar, M. H., Naghavi, M., & Fitzmaurice, C. (2017). Global burden of urologic cancers, 1990–2013. *European urology*, 71(3), 437-446.
- Farghaly, O. A., Abdel Hameed, R. S., Abu-Nawwas, A. H. (2014). Electrochemical analysis techniques: A review on recent pharmaceutical applications. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 25(2), 37-45.
- Fogg, A. G., Wang, J. (1999). Terminology and convention for electrochemical stripping analysis. *Pure and Applied Chemistry*, 71, 891-897.
- Ghanema, M. A., Compton, R. G., Coles, B. A., Psillakis, E., Kulandainathan, M. A., Marken, F. (2007). Microwave activation of electrochemical processes: High temperature phenol and triclosan electro-oxidation at carbon and diamond electrodes. *Electrochimica Acta*, 53, 1092-1099.
- Hasanali, Z. S. (2015), CD30 regulation by chemical and viral agents and the resulting effect on anti-CD30 therapy, Doctoral dissertation, *Pennsylvania State University Graduate School of Medicine*, Pennsylvania, America, 4-6.
- Heiser, R. A., Cao, A. T., Zeng, W., Ulrich, M., Younan, P., Anderson, M. E., ... & Gardai, S. J. (2024). Brentuximab Vedotin–Driven Microtubule Disruption Results in Endoplasmic Reticulum Stress Leading to Immunogenic Cell Death and Antitumor Immunity. *Molecular Cancer Therapeutics*, 23(1), 68-83.
- Heyrovsky, M. (2011). Polarography-past, present, and future. *Journal Solid State Electrochemical*, 15, 1799-1803.

- Hoyer, B., Jensen, N. (2007). Stabilization of the voltammetric response of organic analytes with self-passivating electrode reactions: Synergistic effect of surfactants and high buffer strength. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 601, 153-160.
- Kalcher, K., Svancara, I., Buzuk, M., Vytras, K., Walcarius, W. (2009). Electrochemical sensors and biosensors based on heterogeneous carbon materials. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly*, 140, 861-889.
- Kalvoda, R., 1994. Review of adsorptive stripping voltammetry-assessment and prospects. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 349(8-9), 565-570.
- Kiliç, A., Aslan, M., & Levent, A. (2024). Investigation of the electrochemical properties of edoxaban using glassy carbon and boron-doped diamond electrodes and development of an eco-friendly and cost effective voltammetric method for its determination. *Analytical Biochemistry*, 685, 115386.
- Kondo, T. (2022). Recent electroanalytical applications of boron-doped diamond electrodes. *Current Opinion in Electrochemistry*, 32, 100891.
- Kumar, M., Kaur, V., Kumar, S., & Kaur, S. (2016). Phytoconstituents as apoptosis inducing agents: strategy to combat cancer. *Cytotechnology*, 68, 531-563.
- Küppers, R. (2009). The biology of Hodgkin's lymphoma. *Nature Reviews Cancer*, 9(1), 15-27.
- Levent, A., Yardım, Y., Şentürk, Z. (2014). Electrochemical performance of boron-doped diamond electrode in surfactant-containing media for ambroxol determination. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 203, 517-526.
- Lourencao, B. C., Brocenschi, R. F., Medeiros, R. A., Fatibello-Filho, O., Rocha-Filho, R. C. (2020). Analytical applications of electrochemically pretreated boron-doped diamond electrodes. *Chem Electro Chem*, 7(6), 1291-1311.
- Lubert, K. H., Kalcher, K. (2010). History of electroanalytical methods. *Electroanalysis*, 22(17-18), 1937-1946.
- Moyo, M., Florence, L. R., Okonkwo, J. O. (2015). Improved electro-oxidation of triclosan at nano-zinc oxide-multiwalled carbon nanotube modified glassy carbon electrode. *Sensors and Actuators B Chemical*, 209, 898-905.
- Muzyka, K., Sun, J., Fereja, T. H., Lan, Y., Zhang, W., Xu, G. (2019). Boron-doped diamond: Current progress and challenges in view of electroanalytical applications. *Analytical Methods*, 11(4), 397-414.
- Orgogozo, V., Morizot, B., & Martin, A. (2015). The differential view of genotype–phenotype relationships. *Frontiers in genetics*, 6, 179.
- Ozkan, S. A., Uslu, B., Aboul-Enein, H. Y. (2003). Analysis of pharmaceuticals and biological fluids using modern electroanalytical techniques. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 33, 155-181.

- Ozkan, S. A. (2009). Principles and techniques of electroanalytical stripping methods for pharmaceutically active compounds in dosage forms and biological samples. *Current Pharmaceutical Analysis*, 5(2), 127-143.
- Önal, G., & Levent, A. (2023). Electrochemical evaluation and determination of vindesine used in cancer chemotherapy at disposable pencil graphite electrode by voltammetric method. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, 154(2), 205-213.
- Özer, M., & Levent, A. (2024). Application of eco-friendly disposable pencil graphite sensor for electrochemical evaluation and determination of podophyllotoxin using in cancer treatment. *ChemistrySelect*, 9(9), e202305100.
- Özkan, S. A., Kauffmann, J. M., Zuman, P. (2015). Electroanalysis in biomedical and pharmaceutical sciences voltammetry, amperometry, biosensors, applications. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*, s. 350.
- Protti, P. (2001). Introduction to modern voltammetric and polarographic analysis techniques. *Fourth edition*. Italia
- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., Crouch, S. R. (2013). *Fundamentals of analytical chemistry*. Cengage learning.
- Svancara, I., Walcarius, A., Kalcher, K., Vytras, K. (2009). Carbon paste electrodes in the new millennium. *Cent. Eur. Journal of Chemistry*, 7(4), 598-656.
- Tang, S., Meng, Q., Sun, H., Su, J., Yin, Q., Zhang, Z., ... & Li, Y. (2017). Dual pH-sensitive micelles with charge-switch for controlling cellular uptake and drug release to treat metastatic breast cancer. *Biomaterials*, 114, 44-53.
- Tekade, R. K., Tekade, M., Kumar, M., & Chauhan, A. S. (2015). Dendrimer-stabilized smart-nanoparticle (DSSN) platform for targeted delivery of hydrophobic antitumor therapeutics. *Pharmaceutical research*, 32, 910-928.
- Tekade, R. K., & Sun, X. (2017). The Warburg effect and glucose-derived cancer theranostics. *Drug Discovery Today*, 22(11), 1637-1653.
- Trellu, C., Chakraborty, S., Nidheesh, P. V., Oturan, M. A. (2019). Environmental applications of boron-doped diamond electrodes: 2. Soil remediation and sensing applications. *Chem Electro Chem*, 6(8), 2143-2156.
- Uçar, M., & Levent, A. (2021). Novel voltammetric strategy for determination and electrochemical evaluation of progesterone by CPT-BDD electrode. *Diamond and Related Materials*, 117, 108459.
- Uslu, B., Özkan, S. A. (2007a). Solid electrodes in electroanalytical chemistry: present applications and prospects for high throughput screening of drug compounds. *Combinatorial Chemistry and High Throughput Screening*, 10(7), 495-513.

- Uslu, B., Ozkan, S. A. (2011). Electroanalytical methods for the determination of pharmaceuticals: a review of recent trends and developments. *Anal. Lett*, 44, 2644-2702.
- Wang, J. (2000). 2nd ed., John Wiley & Sons., Inc., *Analytical electrochemistry*. New York, USA.
- Wang, T., Yuan, X. S., Wu, M. B., Lin, J. P., & Yang, L. R. (2017). The advancement of multidimensional QSAR for novel drug discovery-where are we headed. *Expert opinion on drug discovery*, 12(8), 769-784.
- Yang, N., Foord, J. S., Jiang, X. (2016). Diamond electrochemistry at the nanoscale: A review. *Carbon*, 99, 90-110.
- Yardımcı, Y., Levent, A., Keskin, E., Şentürk, Z. (2011). Voltammetric behavior of benzo[a]pyrene at boron-doped diamond electrode: A study of its determination by adsorptive transfer stripping voltammetry based on the enhancement effect of anionic surfactant, sodium dodecylsulfate. *Talanta*, 85, 441-448.
- Yardımcı, Y., Gülcan, M., Şentürk, Z. (2013a). Determination of vanillin in commercial food product by adsorptive stripping voltammetry using a boron-doped diamond electrode. *Food Chemistry*, 141, 1821-1827.
- Yence, M., Cetinkaya, A., Ozcelikay, G., Kaya, S.I., Ozkan, S. A. (2022). Boron-doped diamond electrodes: recent developments and advances in view of electrochemical drug sensors. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 52(5), 1122-1138.
- Yıldız, M. B., & Levent, A. (2024). Highly sensitive and selective electrochemical monitoring of nickel in crude oil samples using cathodically pretreated-boron doped diamond electrode. *Diamond and Related Materials*, 145, 111058.
- Zhang, W., Zong, L., Geng, G., Li, Y., Zhang, Y. (2018). Enhancing determination of quercetin in honey samples through electrochemical sensors based on highly porous polypyrrole coupled with nanohybrid modified GCE. *Sensors and Actuators BChemical*, 257, 1099-1109.
- Van Vu, D., Molassiotis, A., Ching, S. S. Y., & Le, T. T. (2017). Effects of Qigong on symptom management in cancer patients: a systematic review. *Complementary therapies in clinical practice*, 29, 111-121.
- Zuhri, A. Z. A., Voelter, W. (1998). Applications of adsorptive stripping voltammetry for the trace analysis of metals, pharmaceuticals and biomolecules. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 360, 1.9.
- Zuman, P. (2011). Past, present, and future of applications of electroanalytical techniques in analytical and physical organic chemistry. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 15, 1753-1759.