



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

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KANSER TEDAVİSİNDE KULLANILAN TOPOTEKAN'IN
ELEKTROKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BOR KATKILI ELMAS
ELEKTROT İLE İNCELENMESİ**

Nergiz ASLAN

**Nisan-2025
BATMAN**

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

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KANSER TEDAVİSİNDE KULLANILAN TOPOTEKAN'IN
ELEKTROKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BOR KATKILI ELMAS
ELEKTROT İLE İNCELENMESİ**

Nergiz ASLAN

**Danışman
Doç. Dr. Günay ÖNAL**

Diğer Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT Doç. Dr. Ertuğrul KESKİN Doç. Dr. Günay ÖNAL

**Nisan-2025
BATMAN**

TEZ KABUL VE ONAYI

Nergiz ASLAN tarafından hazırlanan "Kanser Tedavisinde Kullanılan Topotekan'ın Elektrokimyasal Özelliklerinin Bor Katkılı Elmas Elektrot İle İncelenmesi" başlıklı tez çalışması 18/04/2025 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

Doç. Dr. Ertuğrul KESKİN

.....

Danışman

Doç. Dr. Günay ÖNAL

.....

Üye

Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT

.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Dr. Öğr. Üyesi Murat ÖTER
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

Bu tez çalışması BTÜBAP tarafından 2025-YL-01 nolu proje ile desteklenmiştir.

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
Nergiz ASLAN
Tarih:18.04.2025

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KANSER TEDAVİSİNDE KULLANILAN TOPOTEKAN'IN ELEKTROKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BOR KATKILI ELMAS ELEKTROT İLE İNCELENMESİ

Nergiz ASLAN

Batman Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Ana Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Günay ÖNAL

2025, 77

Antineoplastik bir ilaç olan Topotekan (TPT) için hızlı, basit ve hassas bir voltametrik yöntem geliştirilmiştir. Bor katkılı elmas (BDD) elektrodun, elektrokimyasal aktivasyonu katodik yönde 0.5 M H₂SO₄ ortamında gerçekleştirildi. TPT'nin elektrokimyasal özelliklerini incelemek amacıyla BDD elektrodunda döngüsel ve kare-dalga voltametri teknikleri kullanıldı. TPT, kare-dalga voltametri tekniğinde Britton Robinson (pH 4.0) tampon çözeltisinde +0.925 V 'luk bir gerilim değeri (vs. Ag/AgCl) için iyi tanımlanmış bir voltametrik yanıt verdi. TPT için geliştirilen voltametrik yöntem, BR (pH 4.0) tampon çözelti ortamında 0.32 µM - 9.05 µM konsantrasyon aralığında doğrusal bir çalışma aralığı sağlamıştır. Tez çalışmasında, LOD=0.27 µM ve LOQ= 0.89 µM değerleri belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Antineoplastik, TPT, BDD Elektrot, Voltametri, İlaç.

ABSTRACT

MS THESIS

INVESTIGATION OF ELECTROCHEMICAL PROPERTIES OF TOPOTECAN USED IN CANCER TREATMENT WITH BORON-DEPENDENT DIAMOND ELECTRODE

Nergiz ASLAN

**BATMAN UNIVERSITY GRADUATE SCHOOL DEPARTMENT OF
CHEMISTRY**

Advisor: Doç. Dr. Günay ÖNAL

2025, 77

A rapid, simple and sensitive voltammetric method has been developed for Topotecan (TPT), an antineoplastic drug. Electrochemical activation of boron doped diamond (BDD) electrode was performed in the cathodic direction in 0.5 M H₂SO₄ medium. To investigate the electrochemical properties of TPT, cyclic and square-wave voltammetry techniques were used on the BDD electrode. TPT gave a well-defined voltammetric response for a potential value of +0.925 V (vs. Ag/AgCl) in Britton Robinson (pH 4.0) buffer solution in square-wave voltammetry technique. The voltammetric method developed for TPT provided a linear working range in the concentration range of 0.32 µM -9.05 µM in BR (pH 4.0) buffer solution medium. In the thesis study, LOD=0.27 µM and LOQ= 0.89 µM values were determined.

Keywords: Antineoplastic, Topotecan, BDD Electrode, Voltammetry, Drug.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tez çalışmasında her zaman desteğini, bilgisini, emeğini, tecrübesini esirgemeyen bana rehberlik eden ve cesaretlendiren değerli tez danışman hocam Doç. Dr. Günay ÖNAL'a; çalışmalarım esnasında bilgi birikimini ve tecrübesini esirgemeyen, hayatıma dair farkındalıklarımı artıran değerli hocam Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT 'e; araştırmalarımnda destek ve bilgi sağlayan Dr. Mehmet ASLAN'a; yüksek lisans serüvenimin her çalışmasında bana yardımcı olan, her zaman yanıbaşımnda beni destekleyen, cesaretlendiren ve güvenen hayatımın anlamı biricik eşim Eyyüp ASLAN'a; varlığıyla hayatıma anlam katan biricik kızım Esmanur'a, zor zamanlarımda yanımda olan ve yardımlarını esirgemeyen Seher YILDIZ ve Büşra YILDIZ'a, tez sürecimde sürekli destek veren değerli aileme ve bu yüksek lisans çalışmasını maddi yönden destekleyen B.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi yöneticilerine çok teşekkür ederim.

Nergiz ASLAN
BATMAN-2025

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER / TABLOLAR LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Elektrokimya.....	3
2.2. Voltametri	4
2.2.1. Polarografi	6
2.2.2. Dönüştürümlü Voltametri	7
2.2.3. Puls Voltametrik Teknikler	8
2.2.3.1. Normal Puls Voltametrisi	9
2.2.3.2. Diferansiyel Puls Voltametrisi.....	10
2.2.3.3. Kare Dalga Voltametrisi	11
2.2.4. Sıyırma Voltametrisi.....	12
2.2.4.1. Anodik Sıyırma Voltametrisi.....	12
2.2.4.2. Katodik Sıyırma Voltametrisi	13
2.2.4.3. Adsorptif Sıyırma Voltametrisi	13
2.3. Elektrokimyasal Sistemler	13
2.4. Voltametride Kullanılan Çalışma Elektrotları	17
2.4.1. Camımsı Karbon Elektrot (GCE)	19
2.4.2. Kalem-Ucu Grafit Elektrot (PGE)	19
2.4.3. Karbon Pasta Elektrot (CPE)	20
2.4.4. Bor Katkılı Elmas Elektrot	20
3. KAYNAK ARAŞTIRMASI	23
3.1. Kanser	23
3.2. Kamptotesin	27
3.2.1. Topotekan	27
4. MATERYAL VE YÖNTEM.....	34
4.1. Materyaller.....	34
4.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	35
4.3. Kullanılan Çözeltileri Hazırlama	35
4.3.1. Stok Çözeltisi Hazırlama	35
4.3.2. Destek Çözeltileri Hazırlama	35
4.3.3. TPT Flakon Çözeltisi Hazırlama	36
4.3.4. İdrar Örneklerini Hazırlama.....	36
4.4.Voltametrik Yöntem	37

5. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	39
5.1. TPT'nin Elektrokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi	39
5.1.1. Dönüşümlü Voltametri	39
5.1.2. Gerilim Tarama Hızının Etkisi	40
5.1.3. Destek Elektrolit ve pH Etkisi	43
5.2. Kare Dalga Voltametri Sonuçları	45
5.2.1. Biriktirme ve Sıyırma Parametrelerinin Etkisinin İncelenmesi	45
5.3. Geliştirilen Yöntemin Analitik Performans Özelliklerinin İncelenmesi	47
5.4. Gerçek Örnek Analizleri	49
5.4.1. Flakon Çözeltilerinin Analizi.....	49
5.4.2. İdrar Örneklerinin Analizi.....	50
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	52
7. KAYNAKLAR	55

ÇİZELGELER / TABLOLAR LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 3.1 TPT'nin kimyasal yapısı ve genel özellikleri.....	28
Çizelge 3.2 TPT ilacına uygulanan diğer analitik yöntemler.....	30
Çizelge 3.3. Elektrokimya temelli incelemelerin analitik performans özellikleri.....	32
Çizelge 4.1 Deneylerde kullanılan cihazlar ve malzemeler.....	34
Çizelge 4.2 Deneylerde kullanılan kimyasallar.....	35
Çizelge 5.1 TPT içeren flakonlarda geliştirilen yöntemle elde edilen analiz bulguları.....	49
Çizelge 5.2 İdrar örnekleri üzerinde gerçekleştirilen geri kazanım çalışmaları.....	50

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1	Elektroanalitik yöntemlerin şematik gösterimi.....	4
Şekil 2.2	Voltametrik yöntemler ve sınıflandırılması.....	5
Şekil 2.3	Üç elektrotlu potansiyostat sistem diyagramı.....	6
Şekil 2.4	Dönüşümlü voltametri tekniği için gerilim-zaman ile gerilim-akım eğrileri.....	8
Şekil 2.5	Normal puls voltametrisi için uyarma sinyali.....	9
Şekil 2.6	Diferansiyel puls voltametrisi için uyarma sinyali.....	10
Şekil 2.7	Kare dalga voltametrisinde uyarma sinyali (a) ve voltamogram grafiği (b).....	11
Şekil 2.8	Elektrokimyasal hücre bileşenleri	14
Şekil 2.9	Referans elektrot, gümüş-gümüş klorür	16
Şekil 2.10	Yardımcı elektrot, platin tel	16
Şekil 2.11	Çalışma elektrotlarının sınıflandırılması	17
Şekil 2.12	BDD elektrot görünümü.....	21
Şekil 2.13	Elmas ve grafit örgü farklılıkları.....	22
Şekil 3.1	Kanser hücresi ve çoğalması.....	24
Şekil 3.2	Kanser hastalığının 10 temel özelliği.....	25
Şekil 3.3	Hücre döngüsü evreleri.....	26
Şekil 3.4	Topoizomeras-I inhibitörleri	27
Şekil 3.5	TPT'nin etki mekanizması [Topoizomeras enzimi (N-terminal, çekirdek, bağlayıcı ve C-terminal alanları sırasıyla; turuncu, sarı, mavi ve kırmızı), DNA camgöbeği ve TPT macenta renk].....	29
Şekil 4.1	AUTOLAB, PGSTAT 128N cihazı ve hücre standı.....	34
Şekil 5.1	2.18×10^{-4} M TPT'nin BR (pH 4.0) tamponunda üç döngülü voltamogramı. Gerilim tarama hızı 100 mVs^{-1} . Kesikli çizgi, destek elektrolit.....	39
Şekil 5.2	2.18×10^{-4} M TPT'nin BR pH 4.0 tamponunda farklı gerilim tarama hızlarıyla (25, 50, 100, 200, 300, 400 ve 500 mVs^{-1}) elde edilen dönüşümlü voltamogramları	40
Şekil 5.3	2.18×10^{-4} M TPT'nin BR pH 4.0 tamponu içinde farklı tarama hızlarında (25- 500 mVs^{-1}) elde edilen tarama hızı / pik akım grafikleri [$(\sqrt{v}/I_p)$, (v/I_p) , $(\log v/\log I_p)$]	41
Şekil 5.4	2.09×10^{-5} M TPT'nin (a) BR (pH 2.0-11.0) tamponu içinde (b) PBS (pH 2.0, 3.0, 7.4), ABS (pH 4.8) ve BR (4.0) elde edilen SW voltamogramları. Biriktirme süresi 60 s, biriktirme gerilimi, 0.1 V. Kesikli çizgi: destek elektrolit, SWV parametreleri: frekans, 40 Hz; adım gerilimi, 3 mV; amplitüd, 40 mV.....	42
Şekil 5.5	2.09×10^{-5} M TPT'nin BR (pH 4.0) tamponu içinde elde edilen SW voltamogramlarının pik gerilimi - pH ve pik akımı - pH değerleri. SWV parametreleri: frekans, 40 Hz; adım gerilimi, 3 mV; amplitüd, 40 mV.....	43
Şekil 5.6.	2.09×10^{-5} M TPT'nin BR (pH 4.0) tamponu içinde elde edilen SWV voltamogramları üzerinde (a) Biriktirme süresi ve (b) Biriktirme gerilimi etkisi. SWV parametreleri: frekans, 40 Hz; adım gerilimi, 3 mV; amplitüd, 40 mV.....	45
Şekil 5.7	2.09×10^{-5} M TPT'nin BR (pH 4.0) tamponu içinde elde edilen SWV voltamogramları üzerinde SW parametrelerinin etkisi (a, adım gerilimi; b, puls amplitüd; c, frekans). Biriktirme süresi 60 s, biriktirme gerilimi, 0.1 V.....	46

- Şekil 5.8 (a)** TPT'nin farklı derişimlerinin [0.32-9.05 μM] BR pH 4.0 tamponu içerisinde 47 kaydedilen SWV voltamogramları. Biriktirme süresi 60 s, biriktirme gerilimi, 0.1 V. SWV parametreleri: frekans, 40 Hz; adım gerilimi, 3 mV; puls amplitud, 40 mV. Ek **(b)**: I_p/C_{TPT} 'nin kalibrasyon eğrisi.....
- Şekil 5.9 (a)** 0 μM - 9 μM derişim aralığında TPT çözeltilerinin BR pH 4.0 tamponu 50 içerisinde idrar numunelerine ait SWV voltamogramları. Kesikli çizgi: TPT eklenmemiş destek elektroliti. SWV parametreleri: frekans, 40 Hz; adım gerilimi, 3 mV; amplitüd, 40 mV **(b)** TPT'nin idrarın farklı derişimlerinde (0 μM - 9 μM derişim aralığı) elde edilen kalibrasyon grafiğı (I_p/C_{TPT}).....

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

A	: Amper
E	: Gerilim
E_p	: Pik Gerilimi
E_{pa}	: Anodik Pik Gerilimi
E_{pc}	: Katodik Pik Gerilimi
I_p	: Pik akımı
μM	: Mikromolar
mM	: Milimolar
M	: Molarite
mV	: Milivolt
mV s⁻¹	: Milivolt saniye ⁻¹
m	: Eğim
mg	: Miligram
R	: İdeal gaz sabiti (8.314 J K ⁻¹ mol ⁻¹)
s	: Standart sapma
T	: Mutlak sıcaklık (298 K)
ΔE_s	: Gerilim adımı

Kısaltmalar

BDD	: Bor katkılı elmas elektrot
BSS	: Bağlı standart sapma
CPT	: Kamptotesin
CV	: Dönüşümlü voltammetri
GCE	: Camsı karbon elektrot
ds-DNA	: Çift sarmallı DNA
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
LC	: Sıvı kromatografisi
LOD	: Gözlenebilirlik sınırı
LOQ	: Tayin alt sınırı
PBS	: Fosfat tamponu
PGE	: Kalem grafit elektrot
RP-HPLC	: Ters fazlı yüksek performanslı sıvı kromatografisi
rpm	: Dakikada döngü sayısı
SWV	: Kare dalga voltametrisi
TopI	: Topoizomeraz enzimi
TPT	: Topotekan
WE	: Çalışma elektrot

1. GİRİŞ

Günümüzde, çevresel etmenler, beslenme alışkanlıkları, yaş ve genetik yatkınlık gibi faktörlerin etkisiyle artış gösteren kanser vakalarının önlenmesi, kanser hücrelerinin doğru bir biçimde tanımlanması, gerekli analizlerin zamanında gerçekleştirilmesi ve bu hücrelerin etkisiz hale getirilmesi amacıyla multidisipliner akademik çalışmalar büyük bir önem taşımaktadır. Canlı organizmaları anlamak, aslında bu organizmaların dilini çözmek anlamına gelir. Bu bağlamda, canlıların işleyişine katkıda bulunan bileşenlerin tanımlanması, bu bileşenlerin hangi organlar tarafından, hangi koşullarda ve ne miktarda sentezlenip salgılandığını belirlemek açısından kritik bir öneme sahiptir. Analitik kimya, bu noktada, multidisipliner araştırmalarda maddelerin analizi için kromatografik, spektroskopik ve elektrokimyasal yöntemlerin kullanımı ve uygulanmasında belirleyici bir rol oynamaktadır.

Analitik kimya, maddelerin tanınması, analizi, bileşenlerinin ve yapıların belirlenmesi gibi konularda alternatif yöntemler geliştiren bir kimya alt dalıdır. Bu disiplin, kimyasal işlemlerin bilimsel amaçlarla kullanımı ve çözüm üretme yeteneği ile öne çıkar. Analitik kimya, temel bilimlerin yanı sıra yaşam bilimleri ve teknolojileri ile ilişkili sorunların çözümünde kullanılabilecek analitik yaklaşımlar için gerekli bilgi ve yöntemleri kapsamaktadır. Ayrıca, bu yöntemlerin mevcut ve yeni teknolojilerle uygulanmasına dair süreçleri de içermektedir. Bu nedenle, analitik kimyaya ihtiyaç duyan uzmanlar, canlı ve cansız maddelerle ve pozitif bilimlerle çalışırken, analiz ettikleri maddeleri en iyi şekilde tanımak için analitik yöntemleri kullanmaktadırlar.

Bu tez çalışmasında, elektrokimyasal tekniklerden voltametrinin kullanılmasıyla TPT'nin elektroanalitik özellikleri incelenmiştir.

Elektrokimyasal teknikler özellikle voltametrik tekniklerin kullanıldığı endüstride, ilaç ve gıdaların kalite kontrolünde, ilaç dozaj formlarının belirlenmesinde, klinik ve adli tıp analizlerinde ve çevresel izlemede ayrıca hızlı analiz numunelerin kolay ve kısa sürede hazırlanabilmesi gibi uygulama alanlarında kaynakçada kendine yer edinmiştir. DNA-ilac etkileşimlerinin incelenmesinde elektrokimyasal yöntemler, elektroforez, kromatografi ve spektrometri gibi diğer diğer tekniklere kıyasla belirgin avantajlar sunmaktadır. Bu avantajlar arasında yüksek hassasiyet, hızlı yanıt süresi, düşük analit konsantrasyonlarını ölçebilme imkanı ve daha düşük ekipman maliyeti

bulunmaktadır. Bu özellikler, elektrokimyasal yöntemleri söz konusu alanda ön plana çıkarmaktadır (Pellitero, vd. 2019).

Kanser, dünya genelinde en fazla ölümle sonuçlanan hastalıklar arasında önemli bir yer tutmaktadır. Kanser tedavisinde yaygın olarak uygulanan yöntemler arasında radyoterapi, kemoterapi ve hormon tedavisi bulunmaktadır. Kemoterapi, tümör hücrelerinin öldürülmesini veya büyümesinin kontrol altına alınması amacıyla sitotoksik veya sitostatik ilaçların kullanılması sürecini içerir.

Bitkisel kaynaklı antineoplastik ilaçlar arasında yer alan TPT, glial, yumurtalık, kolon ve akciğer kanserlerinin tedavisinde yaygın bir şekilde tercih edilmektedir (Creemers, vd. 1996; Tolis, vd. 1999). TPT'nin etki mekanizması, intranükleer enzim Topoizomeraaz I'in inhibe edilmesine dayanmaktadır. Bu inhibisyon sonucunda, enzime bağlı DNA bölünmesi tek sarmallı bir yapı ile sonuçlanır ve kırılma gerçekleşir. TPT, DNA sarmalındaki bir baz çiftini taklit ederek, DNA bölünmesi sürecinde hem -1 (yukarı akış) hem de +1 (aşağı akış) baz çiftleri ile baz istifleme etkileşimleri oluşturarak araya girer. Bu etkileşimler, hücre ölümüne neden olmaktadır (Staker, vd. 2002; Staker, vd. 2005; Hsiang, vd. 1985).

Yapılan kaynak araştırmasına göre, TPT ile ilgili çeşitli teknik ve yöntemler içeren çok sayıda çalışma mevcut olmasına rağmen, BDD elektrot ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu tezde, ilk kez bor katkılı elmas (BDD) elektrot kullanılarak antikanser ilacı olarak bilinen TPT'nin voltametri tekniği aracılığıyla elektrokimyasal özellikleri incelenecektir.

Yukarıdaki bilgiler ışığında bu tez çalışmasında kanser tedavisinde kullanılan bitkisel kaynaklı antineoplastik ilaç olan TPT tayini için hassas ve doğru bir voltametrik yöntemin geliştirilmesi ve uygulanması amaçlanmıştır. Çalışmada seçilen bileşiğin elektrokimyasal özellikleri, bor katkılı elmas elektrot üzerinde geniş bir pH aralığında çeşitli destek elektrolitlerde voltametrik yöntemler ile detaylı olarak incelenmiştir. Elde edilen bulgular ışığında TPT tayini için etkili bir voltametrik teknik tanımlanmıştır. Daha sonra voltametrik teknik farmasötik ilaç numunesinde test edilmiştir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Elektrokimya

Maddelerin elektrokimyasal özelliklerinden faydalanarak indirgenme ve yükseltgenme olaylarında elektronların hareketini inceleyen bir bilim dalıdır. Şekil 2.1’de çözelti-elektrot ara yüzeyinde ve tüm analiz ortamında gerçekleşen elektroanalitik yöntemler, gösterilmektedir. Ara yüzey yöntemleri dinamik yöntem (potansiyostatik) ve statik yöntem (potansiyometri) olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Elektrokimyasal işlemler, çözelti-elektrot ara yüzeyinde gerçekleşir. Her iki yöntem için, elektrokimyasal hücrede en az iki elektrot ve destek elektrolit çözeltisi olması gerekmektedir. Bu elektrotlardan birine hedef analitin tepkimeye girdiği "çalışma elektrodu" adı verilir. Diğer elektrot ise çözeltinin özelliklerinden etkilenmeyen "referans elektrodu" olarak tanımlanır (Wang, 2006).

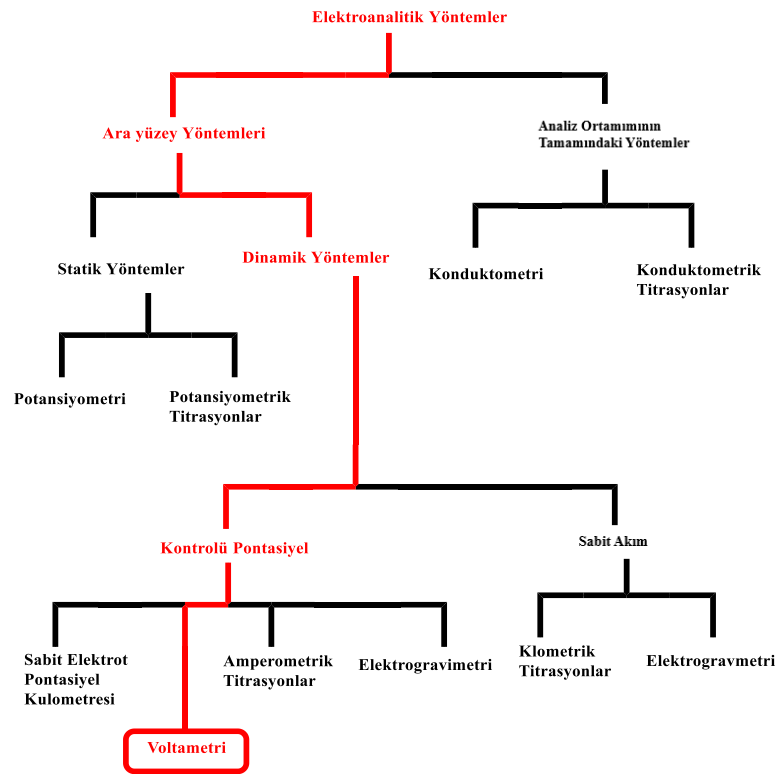
Potansiyometri, elektrokimyasal hücrenin potansiyelinin statik koşullar altında ölçülmesi sürecidir. Bu yöntemde, elektrokimyasal hücreden akım geçmediği veya ihmal edilebilir düzeyde akım olduğu için hücrenin bileşimi değişmez. Bu nedenle potansiyometri güvenilir bir nicel veri elde etme yöntemi olarak değerlendirilmektedir.

Kontrollü potansiyel (potansiyostatik) teknikleri dinamik (akımın sıfır olmadığı) durumlar ve elektrot ile çözelti arasındaki yük aktarım süreçlerinin incelenmesi ile ilgilidir. Bu yöntemde elektrot potansiyeli, bir elektron transfer reaksiyonu oluşturmak için kullanılır ve oluşan akım ölçülür. Potansiyelin görevi, optik ölçümlerde dalga boyunun rolüne benzer bir şekilde değerlendirilebilir. Kontrollü potansiyel, kimyasal türleri bir elektron vermeye veya almaya (sırasıyla oksidasyon / redüksiyon) zorlayan "elektron basıncı" olarak tanımlanabilir; bu da oksidasyon ve redüksiyon süreçlerini ifade eder. Bu durumda oluşan akım, elektronların elektrot-çözelti arayüzü boyunca hareket hızını yansıtır. Potansiyostatik teknikler elektroaktif olan (indirgenebilen veya yükseltgenebilen) her türlü maddeyi ölçme kapasitesine sahiptir. Elektroaktif olmayan bileşikler ise dolaylı veya türetme prosedürleri aracılığıyla tespit edilebilir (Wang, 2006).

Elektrokimyasal yöntemlerin genel özellikleri arasında seçicilik, hızlı sonuç verme, yüksek duyarlılık, düşük tayin sınırı ve ekonomik olma gibi avantajlar

bulunmaktadır. Son yıllarda bu yöntemler spektroskopik ve kromatografik yöntemlere göre hızlı gelişim göstererek uygulama alanlarını genişletmiştir. Günümüzde bu teknikler, spektroskopik ve kromatografik yöntemlere iyi bir alternatif olmanın ötesine geçerek daha fazla tercih edilmeye başlanmıştır. Elektrokimyasal teknikler, endüstriyel kalite kontrol, çevresel izleme ve biyomedikal analiz gibi çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadır (Henden, vd. 2001).

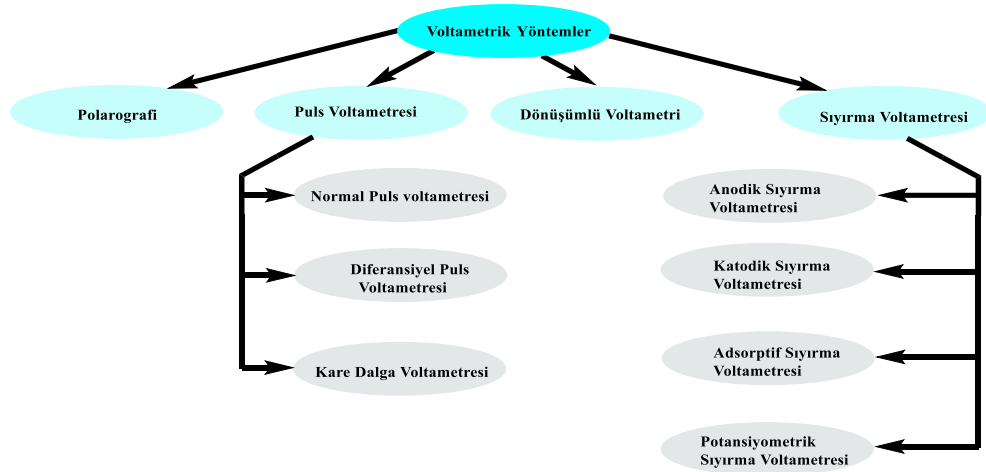
Şekil 2.1’de elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Elektroanalitik yöntemlerin şematik gösterimi

2.2. Voltametri

Voltametri, çalışma elektrodunun polarize olduğu durumlarda çeşitli ortamlarda redoks tepkimeleri aracılığıyla akım / gerilim ilişkisini ve derişim analizlerini gerçekleştiren bir elektroanalitik yöntemdir (Şekil 2.2) (Skoog, 1998). Uygulanan gerilim ile elektroaktif türlerin derişimleri arasında doğrudan bir ilişki bulunan akım eğrileri "voltamogram" olarak adlandırılmaktadır. Voltamogram, çalışma elektrotu üzerinde indirgenme, yükseltgenme veya her iki süreçle ilgili nicel ve nitel bilgiler sunar.



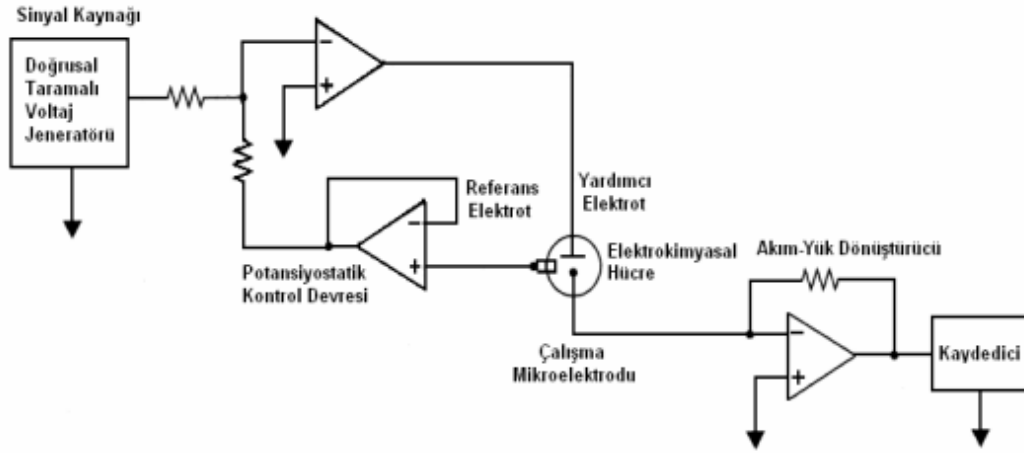
Şekil 2.2. Voltametrik yöntemler ve sınıflandırılması (Skoog, 1998)

Voltametrik teknikler, metallerin yanı sıra organik ve inorganik maddelerin düşük derişimlerinin tespitine olanak tanımaktadır (Fifield, 2000). Bu yöntemler elektroaktif (elektrot tepkimesine katılan) türlere karşı gösterdikleri seçicilik (Barek, vd. 2001) ve kullanım kolaylığı gibi avantajlarla öne çıkmaktadır. Aynı zamanda redoks tepkimelerinde gerçekleşen elektron transfer süreçleri ve çalışmaları hakkında detaylı bilgi sunmaktadır (Skoog, 1998).

Voltametrik teknikler; uygulanan çalışma elektrotu ve destek elektrolit çözeltisinin türüne bağlı olarak gerçekleşen indirgenme ve yükseltgenme süreçlerini açıklamaktadır. Bu tekniklerde genellikle BR, ABS ve PBS destek elektrolit çözeltileri tercih edilmektedir. Kullanılan bu çözeltiler yüksek düzeyde saflaştırılmış olmalı, kolaylıkla oksitlenmemeli ya da indirgenmemelidir.

Voltametrik sistemlerde çalışma elektrotuna uygulanan gerilim anodik veya katodik yönde ayarlanabilmektedir. Çalışma elektrotun yüzeyi çok küçük tutularak tam polarizasyon çalışma şartlarının sağlanması amaçlanmaktadır. Bu sistemlerde genellikle gümüş / gümüş klorür ya da doymuş kalomel elektrotları referans elektrot olarak kullanılmaktadır. Elektrokimyasal analiz sürecinde, referans elektrotun gerilimi sabit kalmaktadır. Yardımcı elektrot olarak kullanılan inert platin, genellikle büyük bir yüzeye sahip olup, hücrede geçirgenliği sağlamak için kullanılmaktadır. Voltametrik sistemlerde doğrusal taramalı gerilim elde etmek amacıyla sinyal kaynağı jeneratörü devreye alınmaktadır (Şekil 2.3). Yüksek direnç değerlerine ($\sim 10^{11} \Omega$) sahip sinyaller potansiyostatik kontrol devresine ulaşmakta ve bu durumda akım ihmal edilebilir

seviyelere düşmektedir. Akım kaynaktan çıktıktan sonra direkt yardımcı elektrotla yönlendirilmektedir. Potansiyostatik kontrol devresinin akımı ayarlaması sayesinde gerilim jeneratörü ile indikatör ve referans elektrotlarının potansiyel değerlerinin eşitliğini sağlamaktadır. Bu şekilde, akım potansiyele dönüştürülerek potansiyel / zaman grafiği şeklinde sunulmaktadır



Şekil 2.3. Üç elektrotlu potansiyostat sistem diyagramı (Reinke & Simon, 2002)

2.2.1. Polarografi

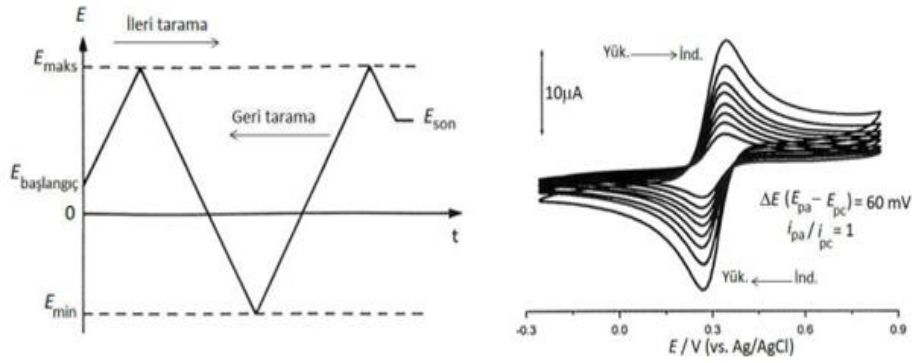
1922 yılında Çekoslovakyalı bilim insanı J. Heyrovsky tarafından icat edilen polarografi, voltametrinin bir alt dalı olarak kabul edilmektedir. Bu teknik, elektroanaliz çalışmalarının ilerlemesinde önemli bir rol oynamıştır. Polarografi tekniğinde damlayan cıva elektrotu çalışma elektrotu olarak kullanılmaktadır. Damlayan cıva elektrotunun yenilenebilir yüzeyi ve geniş katodik gerilim aralığı sayesinde, polarografinin çeşitli indirgenebilir analitlerin tespitinde sıkça tercih edilmesine olanak tanımaktadır (Wang, 2006). Polarografi, önemli bir eser analiz yöntemi olup nitel ve nicel analizlerde de uygulanmaktadır (Öztekin, 2008).

2.2.2. Dönüşümlü Voltametri

Elektrokimyasal tepkimelerde niteliksel bilgi elde etmek için en yaygın kullanılan voltametri tekniği, nicel veri çalışmalarında kullanımı sınırlı bir uygulama alanına sahiptir; bu sınırlama, duyarlılığının düşük olması ($\sim 10^{-5}$ M) ile ilgilidir. Elektroanalitik çalışmalarda genellikle ilk uygulanan voltametri tekniğidir. CV, karmaşık redoks tepkimelerinin mekanizmalarını araştırmak, ara ürün tepkimelerini ve tepkime ürünlerinin stabilitesini incelemek amacıyla kullanılmaktadır (Önal, 2018).

CV tekniği karıştırma işlemi olmayan durgun sistemlerde ve üçlü elektrot sisteminde uygulanmaktadır. CV tekniğinde, ileri potansiyel taramasında potansiyel başlangıçta belirli bir büyüklüğe kadar artmaktadır, daha sonra ters potansiyel taramasında potansiyel başlangıç büyüklüğüne doğrusal olarak geri dönebildiği gibi farklı bir potansiyel büyüklüğüne de gidebilir. Gerilim taraması sırasında potansiyostat cihazı, uygulanan gerilimle oluşan akımı ölçmektedir. Elde edilen veriler potansiyel / akım grafiğine geçirilmesi ile voltamogram oluşturulmaktadır (Wang, 2006). CV tekniği kullanılarak elde edilen voltamogramlar, tarama hızının değişimi, elektrot ile destek elektrolit yüzeyi arasında meydana gelen olayların anlaşılması ve yorumlanması hakkında ayrıntılı bilgi vermektedir. CV ile analit içindeki moleküller veya iyonlar, elektrot yüzeyine adsorplanabilmektedir. Bu durumda, aralarında farklı etkileşimler oluşabilir; elektrostatik çekim kuvvetlerinin yanı sıra, iyon-dipol etkileşimleri (zayıf etkileşim) de meydana gelebilir (Bard ve Faulkner, 2001 ; Gosser, 1994).

CV tekniğinde oluşan piklerin anodik veya katodik olduğu kolaylıkla belirlenebilir. Elektrot yüzeyinde gerçekleşen tepkimenin tersinir veya tersinmez olup olmadığı da anlaşılabilir. Pozitif potansiyel bölgesinde görülen pik anodik, negatif potansiyel bölgesinde ise her zaman katodik olarak tanımlanır. Bu durum, tepkimenin doğası hakkında önemli bilgiler sunar ve analitin redoks özelliklerini anlamak için kritik bir rol oynar.



Şekil 2.4. Dönüşümlü voltametri tekniği için gerilim-zaman ile gerilim-akım eğrileri

CV tekniğinde, tersinir redoks tepkimeleri için (n sayıda elektron) ve 25 °C'de, $\Delta E_p (E_{pa} - E_{pc}) = 0.0592 / n$ V formülü geçerlidir. Bu durumda, bir elektron transferinin yaklaşık 60 mV'ye eşit olduğu söylenebilir.

2.2.3. Puls Voltametik Teknikler

Barker ve Gardner tarafından geliştirilmiş olan bu voltametri tekniği elektroaktif türlerin tespit limitlerini düşürmeyi hedeflemektedir. Puls teknikleri, faradayik ve faradayik olmayan akımlar arasındaki oranı önemli ölçüde artırarak yaklaşık 10^{-8} M derişim düzeyine kadar güvenilir nicel veriler elde edilmesine olanak tanımaktadır. Bu tekniklerin önemli ölçüde geliştirilmiş performansları, modern puls tekniklerinin analitik laboratuvarlarda klasik polarografının yerini almasına neden olmuştur.

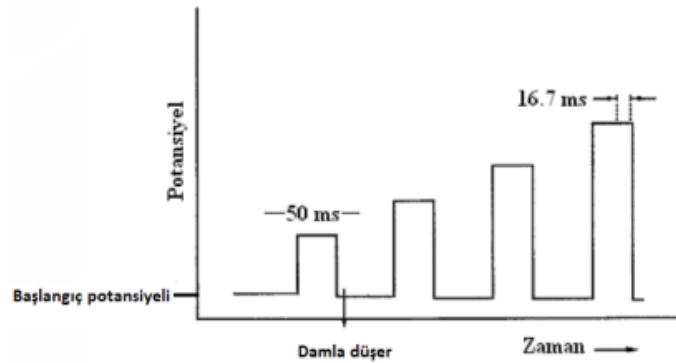
Farklı puls teknikleri, örneklenmiş bir akım / gerilim adım (kronoamperometri) uygulamasına dayanmaktadır. Bu tür gerilim adımlarının dizisi, yaklaşık 50 ms'lik bir süre ile çalışma elektrotuna uygulanmaktadır. Bu tekniklerin çalışma prensibi, potansiyel kademelendirildikten sonra puls izleyen şarj (kapasitif) akımları ile faradayik akımlar arasındaki azalma hızına dayanır. Şarj akımı hızlı bir şekilde azalırken, difüzyon kontrollü faradayik akım daha yavaş bir azalma gösterir. Bu durum, faradayik akımın bozunma hızının, şarj akımının bozunma hızına göre oldukça yavaş olmasından kaynaklanmaktadır (Barker ve Gardner, 1960; Hamann vd., 2007). Puls ömrünün sona ermesiyle yapılan ölçümlerde, kapasitif akımlar minimum seviyeye düşerken, faradayik

akımların değeri hâlâ kritik bir öneme sahiptir (Harvey, 2000; Bard ve Faulkner 2001; Kellner ve ark. 2004; Bagotsky, 2006; Zoski , 2006).

Puls voltametri teknikleri; Normal puls voltametrisi (NPV), Diferansiyel puls voltametrisi (DPV) ve Kare-Dalga voltametrisi (SWV) şeklinde üç ana kategoriye ayrılmaktadır. Bu sınıflandırma, her bir tekniğin kendine özgü özellikleri ve uygulama alanlarına göre belirgin farklılıklar göstermektedir.

2.2.3.1. Normal Puls Voltametrisi

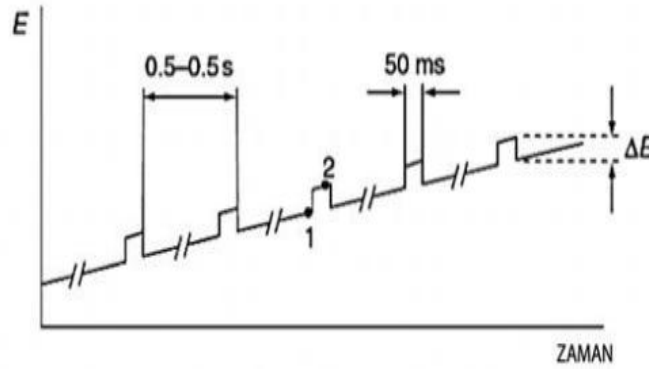
NP voltametrisi, her bir damla ömrünün sona erdiği noktada belirli bir zaman diliminde ardışık damlalara uygulanan artan genlikli puls dizilerinden oluşmaktadır (Barker vd., 1960). Pulslar arasında, elektrotun analit ile tepkimeye girmediği bir sabit gerilim değeri uygulanır. Her bir damla ile birlikte pulsun genliği doğrusal bir şekilde artış gösterir. Puls uygulandıktan yaklaşık 40 ms sonra akım değeri ölçülmekte olup, bu ölçümlerde şarj akımının etkisi ihmal edilebilir düzeydedir. Ayrıca kısa puls süresi nedeniyle difüzyon katmanı klasik polarografiden daha incedir, bu durum faradaik akımın artışı gösterir. Sonuç olarak oluşan voltamogram sigmoidal bir şekil göstermektedir (şekil 2.5) (Wang, 2006).



Şekil 2.5. Normal puls voltametrisi için uyarma sinyali

2.2.3.2. Diferansiyel Puls Voltametrisi

DP voltametrisi, doğrusal olarak artan bir gerilim rampası boyunca sabit genlikteki pulsların, düşüşlerinin sona ermesinden hemen önce çalışma elektroduna uygulanmasıyla gerçekleştirilir. Bu işlem sırasında akımın puls uygulamasından önce ve puls süresinin sonunda (~ 40 ms sonra, şarj akımının azaldığı anda) olmak üzere iki kez ölçülür. Bu iki ölçüm arasındaki akım farkı, uygulanan gerilim ile ilişkilendirilerek voltamogramı çizilir. DP voltamogramlarında, analitlerin derişimleri akım yüksekliği ile doğru orantılı olduğu gözlemlenmektedir (şekil 2.6).

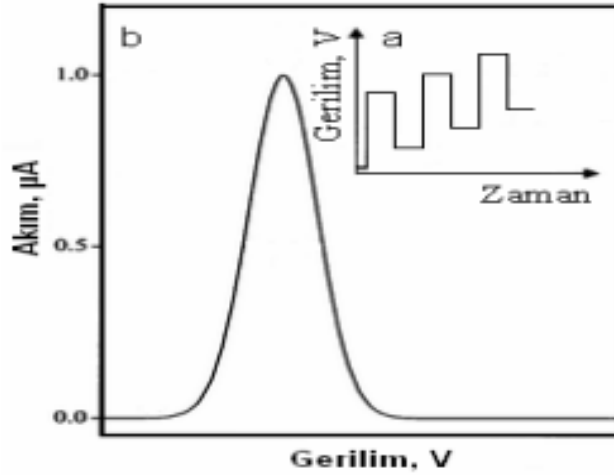


Şekil 2.6. Diferansiyel puls voltametrisi için uyarma sinyali

DP voltametrisi, düşük derişim ($<10^{-8}$ M) ölçümlerine olanak tanıyan yüksek hassasiyetli bir analiz yöntemi olarak öne çıkmaktadır (Wang, 2000; Skoog, vd. 1998). Bu tekniğin yüksek duyarlılığı adli tıp, çevre bilimi ve ilaç aktif bileşikler gibi eser analizlerinde etkili bir şekilde uygulanmasını sağlamaktadır.

2.2.3.3. Kare Dalga Voltametrisi

Büyük genlikli bir diferansiyel teknik olan SW voltametrisi, taban merdiven potansiyeli üzerine bindirilmiş simetrik bir kare dalga formundaki pulsun çalışma elektroduna uygulanması ile elde edilir (Osteryoung, vd. 1985). Akım her puls kare dalgası sırasında ileri pulsun sonunda (ileri akım) ve ters pulsun sonunda (ters akım) olmak üzere iki kez ölçülür. Elde edilen veriler kullanılarak net akım ve potansiyel arasındaki ilişkiyi gösteren bir voltamogram (Şekil 2.7) de verilmiştir.



Şekil 2.7. Kare dalga voltametrisinde uyarma sinyali (a) ve voltamogram grafiği (b)

SW voltametrisinde net akım ileri akım ve ters akımdan daha fazla olduğu için doğruluk ve duyarlılık artışı gözlemlenmektedir (Uslu ve Ozkan, 2011). SW voltametrisi; hassas ve oldukça hızlı bir yöntemdir, ayrıca düşük derişimlerde (10^{-8} M) çalışma imkanı sunmaktadır (Wang, 2006). Bu teknikte, Kalousek, Barker ve Osteryoung tarafından tanımlanan farklı puls uygulama yöntemleri mevcuttur. Bunlar arasında Osteryoung'un geliştirdiği SW voltametrisi en yaygın kullanılan teknik olarak öne çıkmaktadır.

SW Voltametrisi, DP voltametrisine göre daha hızlı bir analiz süresi sunmakta, elektroetkin türlerinin tüketimini azaltmakta ve elektrot yüzeyinin tıkanmasıyla ilgili sorunları minimize etmektedir. Bu özellikler, SW voltametrisinin diğer puls tekniklerine göre daha fazla tercih edilmesine yol açmaktadır (Uslu ve Ozkan, 2011).

2.2.4. Sıyırma Voltametrisi

Farmasötik analitlerin eser düzeylerde tespitinde son derece etkili bir yöntem olarak öne çıkan sıyırma voltametrisi, elektroanalitik teknikler arasında en düşük tespit (LOD) ve tayin limitlerine (LOQ) sahip yöntemlerden biridir (Ozkan, vd. 2003; Bard ve Faulkner, 2001; Kellner, vd. 2004; Özkan, 2009). İlaç kimyası analizinde sıyırma voltametrisi, düşük LOD ve LOQ değerleri ile yüksek kesinlik ve doğruluk sağlamasıyla dikkat çekmektedir. Ayrıca, diğer analitik yöntemlerle karşılaştırıldığında daha ekonomik araç maliyetleri sunması, bu yöntemin yaygın olarak tercih edilmesine katkıda bulunmaktadır.

Sıyırma voltametrisi iki aşamalıdır. İlk aşama olan biriktirme aşamasında, çalışma elektrotu üzerinde hedef analitin elektrokimyasal birikimi yapılır. Bu aşamaya ön-zenginleştirme, ön-deriştirme veya akümüilasyon basamağı da denilmektedir. Bu aşama, çözelti karıştırılarak önceden seçilen süre ve potansiyel değerinde gerçekleştirilir. İkinci aşama olan sıyırma aşamasında ise; biriktirilen analitin çalışma elektrot yüzeyinden sıyırılması işlemine dayanılmaktadır (Abollino, vd. 2019).

Sıyırma voltametrisi, üç farklı kategoriye ayrılmaktadır: Anodik Sıyırma Voltammetrisi (ASV), Katodik Sıyırma Voltammetrisi (CSV) ve Adsorptif Sıyırma Voltametrisi (AdSV).

2.2.4.1. Anodik Sıyırma Voltametrisi

Sıyırma analizlerinde yaygın kullanılan yöntemlerden biridir. ASV, negatif yönde uygulanan gerilimle analitin elektrot üzerinde birikmesini sağlar. Birikim tamamlandıktan sonra, pozitif yönde uygulanan gerilimle analit elektrottan sıyırılması esasına dayanır. Bu teknik, sulu çözeltilerdeki metal iyonlarının analizinde yüksek hassasiyet ve tekrarlanabilirlik sunmaktadır (Wang, 2006).

ASV yöntemi kapsamında, SW voltametrisi ve DP voltametrisi formları, farmasötik dozaj formlarındaki ilaç ve metal analizlerinde sıyırma aşamaları için yaygın olarak kullanılan tekniklerdir (Bard & Faulkner, 2001; Kellner, vd. 2004; Brainina & Neyman, 1994; Harvey, 2000; Bagotsky, 2006; Zoski, 2006).

2.2.4.2. Katodik Sıyırma Voltametrisi

CSV, anodik biriktirme ve katodik sıyırma aşamalarını içeren bir voltametri tekniği olarak tanımlanmaktadır. Bu yöntemde anodik biriktirme adımının ardından negatif bir gerilim taraması ile sıyırılma işlemi gerçekleştirilir. İndirgenme akımları bu aşamada ölçülmekte ve elde edilen indirgenme pik akımı, istenilen kantitatif bilgiyi sağlamaktadır. Bu teknik cıva ile çözünmez tuzlar oluşturabilen maddelerin analizi için kullanılabilir. CSV uygulamalarında en yaygın olarak kullanılan çalışma elektrodu Asılı cıva damlası elektrodu olup, ayrıca platin, karbon bazlı, gümüş ve diğer katı elektrotlar da kullanılabilir.

2.2.4.3. Adsorptif Sıyırma Voltametrisi

AdSV tekniğinde, genellikle birden fazla eser elementin eş zamanlı olarak analiz edilmesine olanak tanıyarak , sıyırma ölçümlerinin kapsamını genişletmektedir (Wang, 1989; Paneli, 1993; Van den Berg, vd. 1991). Bu teknikte , ön zenginleştirme aşaması kendiliğinden oluşan bir adsorpsiyon süreci ile gerçekleşmektedir. İncelenen farmasötik bileşiklerin oksidasyon ve redüksiyon özelliklerine bağlı olarak gerilim taraması pozitif veya negatif yönde uygulanır (Uslu ve Özkan, 2011). Bu sayede, indirgenebilen veya yükseltgenebilen ilaç bileşiklerinin analizi için son derece kullanışlı bir yöntem sunmaktadır.

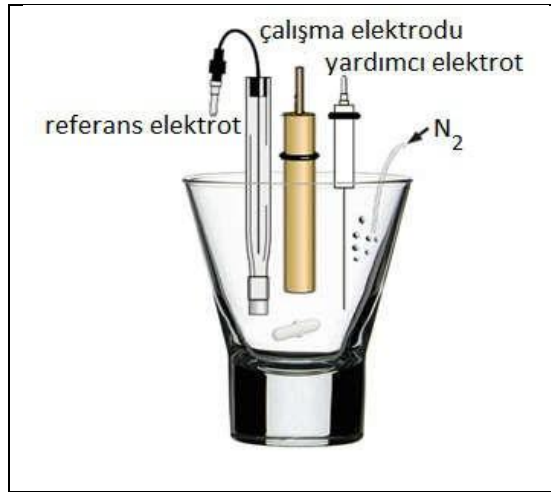
AdSV yönteminde ilaç bileşiklerinin eser ölçümlerinde başarılı bir şekilde uygulanabilmesinin temel nedenleri arasında hızlı, hassas ve yüksek seçiciliğe sahip olmasının yanı sıra geniş derişim aralıkları ve maliyet açısından uygun enstrümantasyon özellikleri yer almaktadır (Kissinger & Heineman, 1996).

2.3. Elektrokimyasal Sistemler

Elektrokimyasal çalışmalar voltametrik düzenek, voltametrik hücre, manyetik karıştırıcı ve potansiyostat cihazından oluşmaktadır. Voltametrik hücre, genellikle 5-50 mL hacmindeki kapaklı beher içinde, analit çözeltisine daldırılmış üç elektrot bulundurmaktadır. Bu tür çalışmalarda, genellikle üçlü elektrot sistemi kullanılmaktadır; bu elektrotlar çalışma elektrotu, karşılaştırma elektrotu ve yardımcı elektrot olarak

adlandırılmaktadır. Bazı sistemlerde, inert gaz borusu elektrolit çözeltisindeki oksijeni uzaklaştırmak için düzeneğe eklenmektedir (Colombo & Van den Berg, 1998).

Elektrokimyasal çalışmalarda çalışma elektrotuna uygulanan gerilim doğrusal bir şekilde değiştirilmektedir. Çalışma elektrodun yüzeyinde polarizasyonun sağlanabilmesi için yüzey alanı mümkün olduğunca küçük tutulur. Karşılaştırma elektrodu, ölçüm süresince gerilimi sabit kalan bir elektrottur. Üçüncü elektrot olan yardımcı elektrot, hücredeki geçirgenliği sağlamak amacıyla daha büyük bir yüzeye sahip olup genellikle inert platin malzemeden yapılmaktadır. Bu tasarıma sahip elektrokimyasal hücre Şekil 2.8’de verilmiştir.



Şekil 2.8. Elektrokimyasal hücre bileşenleri

Çalışma (indikatör) Elektrodu

Numune çözeltisine ilişkin yükseltgenme ve indirgenme süreçlerinin meydana geldiği yüzey işlevini üstlenen elektrot olarak tanımlanmaktadır. Uygulanan gerilim düzeyine bağlı olarak, bu elektrot katot veya anot işlevini yerine getirmektedir.

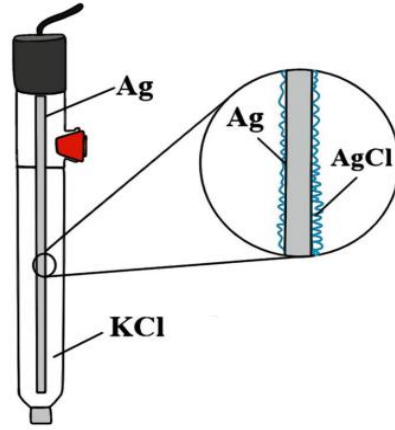
Referans (Karşılaştırma) Elektrodu

Çalışma elektrodunun potansiyelinin karşılaştırıldığı, numune özelliklerinden bağımsız olarak tekrarlanabilir ve kararlı bir potansiyel sağlayan elektrot türüdür. Bu elektrot, gerilimi sabit tutarak redüksiyon ve oksidasyon reaksiyonları sırasında gerilimi ölçmektedir.

Referans elektrotun sahip olması gereken özellikler şunlardır:

- ✓ Nernst formülüne uymalı ve tersinir olmalıdır.
- ✓ Potansiyeli sabit ve kolay hazırlanabilir olmalıdır.
- ✓ Potansiyeli zamanla değişim göstermemelidir.
- ✓ Çok az bir akımdan bile etkilendiğinde hızlı bir şekilde eski haline geri dönebilmelidir.
- ✓ Sıcaklık değişikliklerinden çok etkilenmemelidir. (Alkan, vd. 2004).

Referans elektrotları arasında en yaygın kullanılanlar Ag/AgCl elektrodu ve doygun kalomel elektrotu bulunmaktadır. Ag/AgCl referans elektrodu, gümüş klorürün gümüş telin üzerine kaplanmasıyla elde edilir. Bu elektrot, belirli bir derişimdeki gümüş klorür çözeltisine konularak hazırlanır ve aynı çözeltinin içinde saklanır (Skoog, vd. 1998). Bu çalışmada, Şekil 2.9'da gösterilen referans elektrotundan yararlanılmıştır (Skoog, vd. 2006).



Şekil 2.9. Referans elektrot, gümüş-gümüş klorür

Karşıt (Yardımcı) elektrot

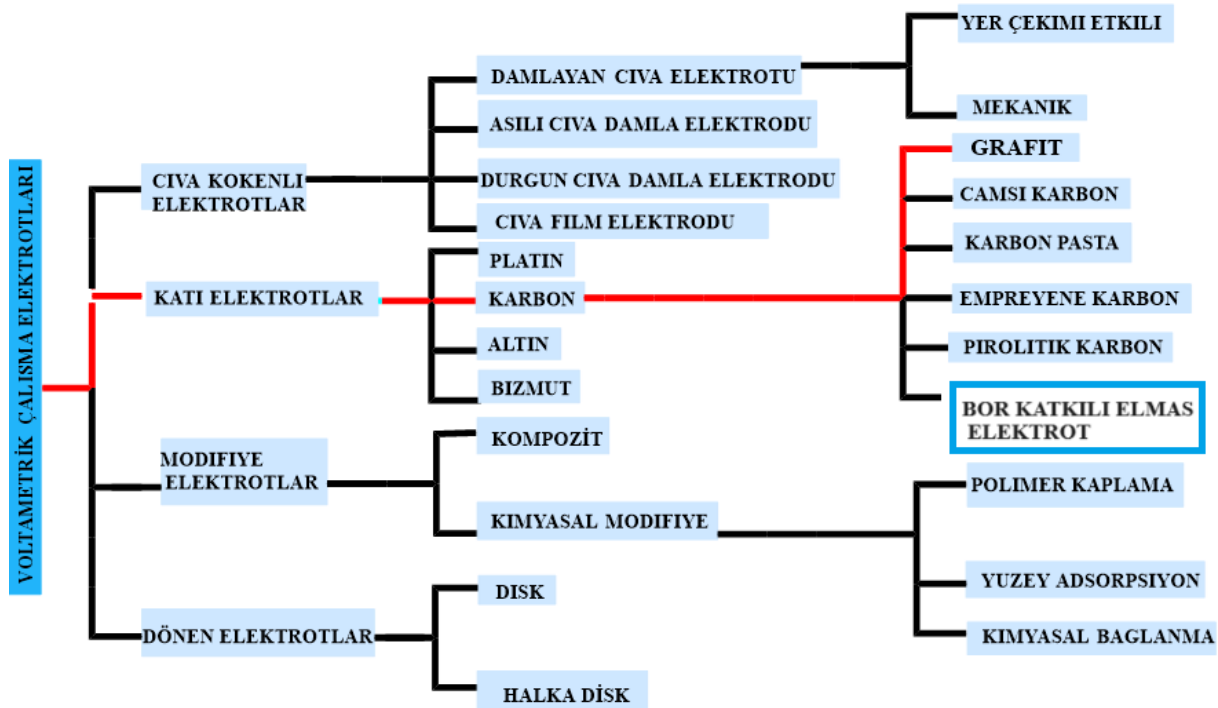
Grafit çubuk veya platin tel gibi inert bir iletken malzemeden oluşan ve akımı taşıyan elektrot çeşididir. Akım akışı, çalışma ve yardımcı elektrot arasındaki ölçümdür. Bu elektrot, çalışma elektrodunun durumuna bağlı olarak katot ya da anot olarak işlev görür (Arras, vd. 2012). Elektrokimyasal hücrede yardımcı elektrot kullanılmadığı takdirde çalışma elektrotu yüksek gerilimde polarize olur ve bu durum deney sonuçlarına yansır. Ancak yardımcı elektrot sisteme uygulandığında çalışma elektrotunda polarizasyon oluşmaz (Wang, 2006). Tez çalışmasında Şekil 2.10 'da verilen platin tel yardımcı elektrottan yararlanılmıştır.



Şekil 2.10. Yardımcı elektrot, platin tel

2.4. Voltametrizde Kullanılan Çalışma Elektrotları

Voltametrik tekniğin verimliliği, çalışma elektrotunun özelliklerinden büyük ölçüde etkilenir. Çalışma elektrodu seçimi yapılırken, gerilim çalışma aralığı, elektriksel iletkenliği, artık akım, analitin redoks davranışı, uygulanabilirliği, yüzey tekrarlanabilirliği, maliyeti, mekanik özellikleri ve toksisitesi gibi çeşitli ölçütler dikkate alınmalıdır (Özkan, vd., 2015). Şekil 2.11’da voltametri yönteminde kullanılan çalışma elektrotları sınıflandırılmıştır.



Şekil 2.11. Çalışma elektrotlarının sınıflandırılması

Voltametri tekniğinin ilk uygulaması olarak bilinen "polarografi", cıva tabanlı elektrotların ilk örneği olan damlama cıva elektrotu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Cıva, pürüzsüz ve kolayca yenilenebilir bir yüzeye sahip olduğu için yüzey kirliliğini azaltmakta ve tekrarlanabilir yanıtlar sunmaktadır. Ayrıca, geniş bir negatif gerilim aralığında çalışmaya imkan tanır. Bunun yanı sıra, cıva tabanlı elektrotlar, birçok metal

iyonu ile indirgenebilen fonksiyonel gruplara sahip organik bileşiklerin tespitinde de kullanılmaktadır (Heyrovsky 2011).

Yükseltgenme veya indirgenme özellikleri olan bileşiklerin sabit veya akışkan sistemlerde analiz edilmesi için farklı elektrot malzemelerine ihtiyaç duyulması kaçınılmazdır. Bu çerçevede, 1940 yılında " voltametri " terimi ilk kez damlayan cıva dışında katı elektrotlar ve diğer cıva tabanlı elektrotlarla ilgili analizleri tanımlamak için, kullanılmaya başlanmıştır. Günümüzde katı elektrotların, cıva tabanlı elektrotlara oranla daha yaygın tercih edilmesinin nedeni, belirli sınırlamalar dahilinde pozitif veya negatif gerilim değerlerinde çalışma imkanı sunmalarıdır. Katı elektrot yüzeylerinde tekrarlanabilir yanıtın kontrolü bazı zorluklar içerse de, bu elektrotlar mekanik dayanıklılık ve kullanım kolaylığı açısından cıva tabanlı elektrotlara üstünlük sağlamaktadır. Ayrıca, analitik uygulamaların ötesinde, biyolojik, çevresel ve farmakolojik açıdan önemli bileşiklerin redoks özelliklerinin incelenmesine imkan tanıyan katı elektrotlar, bu bileşiklerin farmakolojik etki mekanizmalarını daha iyi anlaşılmasına katkıda bulunmaktadır (Kalcher vd., 2009; Svancara vd., 2009).

Karbon temelli elektrotlar, katı elektrot sınıfında yer almakta olup, geniş gerilim aralıkları, zengin yüzey kimyaları, ekonomik maliyetleri, düşük artık akımları, kimyasal inertlikleri, çeşitli algılama ve tespit uygulamalarına uygunlukları nedeniyle elektroanalitik çalışmalarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ancak, karbon elektrot yüzeylerinde gözlemlenen elektron transfer hızları metal elektrot yüzeylerinde gözlemlenen elektron transfer hızlarına göre genellikle daha yavaş gerçekleşmektedir. Elektron transfer reaktivitesi, karbon yüzeyinin spesifik özelliklerinden önemli ölçüde etkilenmektedir (Hebert vd., 2003, s.3301; Zhang vd., 2004, s.3619). Elektron transfer oranlarını artırmak amacıyla çeşitli elektrot ön işlem yöntemleri önerilmiştir. Ayrıca, seçilen karbon cinsi de analitik performans üzerinde etkilidir. Bu sebeple, karbon elektrotlarındaki yapı reaktivite ilişkisinin anlaşılmasına yönelik birçok araştırma gerçekleştirilmiştir. En yaygın kullanılan karbon elektrot malzemeleri arasında camımsı karbon, karbon pasta, karbon filmleri, karbon elyaf, ipek baskılı karbon şeritleri ve diğer karbon kompozitleri bulunmaktadır.

Aşağıda karbon temelli elektrotlardan bazılarına ilişkin bilgiler sunulmaktadır.

2.4.1. Camımsı Karbon Elektrot (GCE)

GC elektrot, inert bir atmosfer altında önceden şekillendirilmiş polimerik (fenol-formaldehit) reçine gövdesinin dikkatli ve kontrollü bir ısıtma programı ile üretilmektedir. Bu elektrotların geniş gerilim aralığı, mükemmel elektriksel ve mekanik özellikleri, kimyasal inertliği ve nispeten yüksek tekrarlanabilirlik başarıları sayesinde popüleritesi önemli ölçüde artmıştır (Adams, 1969). GC elektrot, sert ve kırılğan bir yapıya sahip olan grafit tabakalarının çapraz bağlı, ince ve karmaşık şeritlerden oluşur (Linden & Dieker, 1980).

GC elektrotun yüzeyi, genellikle cilalama işlemi ile ön işleme tabi tutularak tekrarlanabilir ve aktif özellikte camımsı karbon elektrot elde edilir, bu da analitik incelemelerde verimliliği artırır (Engstrom, 1984). Elektrot kullanılmadan önce deiyonize su ile durulanmaktadır.

2.4.2. Kalem-Ucu Grafit Elektrot (PGE)

GC elektrotun son yıllarda anodik voltametri çalışmalarında rutin analitik tayinlerden ziyade araştırma amaçlı kullanılmasının nedenleri, elektrot yüzeyinin pasifleşmesi ve yöntemin duyarlılığının azalmasıdır.

Katı elektrotların kullanıldığı anodik voltametri çalışmalarda karşılaşılan en büyük problem, analiz sırasında bazı moleküllerin yükseltgenme ürünlerinin elektrot yüzeyinde birikmesi sonucu meydana gelen elektrot pasifleşmesidir. Bu durum, yöntemin hassasiyetinin düşmesine ve tekrarlanabilirlik kayıplarının ortaya çıkmasına neden olmaktadır. 1990'lı yılların sonlarından itibaren özellikle toksik bileşiklerin hassas ve basit analizlerinde PG elektrotlar, GC ve CP elektrotlara kıyasla tek kullanımlık olmaları (elektrot yanıtın yüksek tekrarlanabilirliği) ve maliyetlerinin düşük olması nedeniyle alternatif bir çözüm sunmaktadır. PG elektrotların, yüksek elektrokimyasal reaktiflik, düşük teknoloji gereksinimi, mekanik dayanıklılık, kolaylıkla hazırlanabilirlik ve düşük maliyet gibi özellikleri bulunmaktadır (Wang & Kawde, 2001; Kariuki, 2012; David, vd. 2017).

PG elektrot, camımsı karbon elektrotlar kadar sert olmamakla birlikte, karbon pasta elektrotlar kadar kırılğan değildir. Elektrot temizleme işlemlerine tek kullanımlık olmaları nedeniyle gerek yoktur; bu da elektrotun yanıt tekrarlanabilirliğini artırır. İleri

teknojili SPC elektrotlarla ekonomik ve tek kullanımlık olma açısından benzerlik göstermektedir. PG elektrotlar, az malzeme ihtiyacı ve kullanım sonrasında kolaylıkla biriktirilebilmeleri nedeniyle çevre dostu bir elektrot türü olarak öne çıkmaktadır (Bond, vd. 1997; Demetriades, vd. 2004). Elektrotun verimliliğini artırmak için kimyasal, elektrokimyasal, ısı veya lazer ışınları gibi ek aktivasyon adımları uygulanmaktadır (McCreery, 2021).

2.4.3. Karbon Pasta Elektrot (CPE)

Su ile karışmayan ve yalıtkan özellikteki çeşitli organik bağlayıcılar (macun sıvıları) ile karıştırılmış grafit tozu içeren elektrotlar hem kolay yenilenebilirlikleri hem de modifiye edilmiş bir yüzey sunmaları açısından dikkat çekmektedir. Ayrıca, bu elektrotlar, çok düşük arka akım ve ekonomik maliyet gibi avantajlarıyla da ön plana çıkmaktadır (Wang vd. 2000, s.3218; Marken, vd. 1997, s.19). Farklı yapıştırıcı sıvılar mevcut olmasına rağmen, düşük uçuculuk, saflık ve ekonomik faktörler, seçimleri birkaç sıvıyla sınırlamaktadır. Bu sıvılar arasında parafin yağı, nujol (mineral yağ), silikon gres ve bromonaftalin yer almaktadır; bunlar arasında nujol en yüksek performanslı gösteren sıvı olarak değerlendirilmektedir. Macun bileşiminin, elektrotun reaktivitesini önemli ölçüde etkilediği ve yapıştırıcı sıvı içeriğindeki artışın elektron aktarım oranlarını artırarak arka akım katkılarını azalttığını göstermektedir (Marken vd. 1997, s.19).

2.4.4. Bor Katkılı Elmas Elektrot

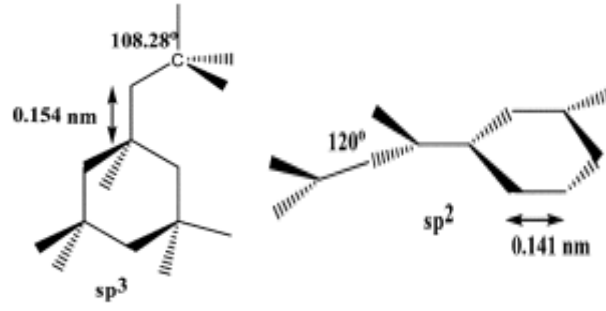
BDD elektrodunun yapısında: tungsten, silikon, niyobyum ile kaplanmış kalın bir tabaka bulunmaktadır (şekil 2.12.).



Şekil 2.12. BDD elektrot görünümü

Elektrokimyasal çalışmalarda kullanılmaya uygun, modern ve yüksek performanslı olarak görülebilecek bir elektrottur. BDD elektrotlar, Alan Emisyon Transistörleri, Schottky diyotları ve özellikle elektrokimyasal sensörlere organik ve inorganik bileşiklerin elektro-sentezine uygulanan elektrot gibi yüksek frekans ve yüksek güç uygulamaları için umut vadeden bir malzemedir (Kraft, 2007; Chaplın, vd., 2013). İletken elmas, diğer karbon malzemeleri ve metallerle karşılaştırıldığında çok düşük arka plan akım yoğunluğu ve sulu çözeltide geniş gerilim aralığı dahil olmak üzere birçok üstün özelliğe sahiptir. BDD elektrotun avantajı, platin ($\sim 2,0$ V) , camı karbon ($\sim 2,5$ V) ve grafit ($\sim 2,0$ V) gibi geleneksel elektrotların çalışma gerilim aralığı dışında kalan belirli gerilimlerde redoks reaksiyonlarının saptanmasına izin vermesidir (Chaplın, vd., 2010; Kapalka, vd. 2008; Canızares, vd. 2004).

Grafit ve elmas, karbonun allotroplarıdır. Grafit metalik ve opak görünümdeyken, elmaslar parlak ve şeffaftır. Doğada bilinen en sert madde elmas iken, grafit oldukça yumuşaktır. Elmas ve grafitin bu kadar farklı olmasının nedeni, onların moleküler kristal yapılarıdır (Şekil 2.13).



Şekil 2.13. Elmas ve grafit örgü farklılıkları (Kapalka, vd. 2008)

Elmas optik özellik olarak: kimyasal tepkimelere ilgisiz, yoğunluk, sertlik, ısı iletkenliği ve elektriksel özelliklerinden dolayı yüksek performans, duyarlı elektrotlar arasında yer alacağı görülmektedir. BDD elektrot, gerilim aralığı, sağlamlık, dayanıklılık, düşük gürültü sinyali gibi birçok olumlu özelliği bir arada bulundurmaktadır. Geniş gerilim aralığı, düşük akımla çalışması, asidik ve bazik ortamlarda çalışması, korozyon ve yüzey kirlenmelerine karşı dayanıklılığı gibi özellikler tercih edilmesine olanak sağlamıştır (Tyszczyk, vd., 2019; Sochr, vd., 2014). Enzimatik olmayan glikoliz üzerinde yapılan çalışmada BDD elektrodunun yüksek seçiciliğe ve uzun süreli kararlılığa sahip olduğu gözlemlenmiştir (Gong, vd., 2019). Benzen üzerinde yapılan çalışmalarda BDD elektrotu camımsı karbon elektrotuna göre daha çok dayanıklı olduğu gözlemlenmiştir (Oliveira, vd., 2007). Adsorptif Sıyırma voltametri yönteminde, BDD çalışma elektrodunun kullanışlı ve duyarlı bir ölçümü sayesinde doğrusal bir yanıt elde edilmiştir (Yardım, vd., 2018). Elmas elektrotların diğer karbon elektrotlara göre birçok üstün özelliği bulunmaktadır. Bu özellikler arasında yanıt kesinliği, sağlamlık, yanıt zamanı, belirtme sınırı, optik özellikler, yanıt kararlılığı ve sertliği yer alır. BDD elektrotları, ilaç analizleri, organik sentez ve su arıtımı gibi birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu özellikleri, onları çeşitli analitik ve uygulamalı çalışmalar için ideal bir seçim haline getirir (Aslan vd., 2025; Yıldız ve Levent 2024; Kiliç vd., 2024; Altunkaynak vd., 2023; Önal, 2023; Uçar ve Levent 2021; Aslan ve Levent 2020; Levent, 2012; Yardım, vd., 2010; Yardım ve Şentürk 2014; Levent, vd., 2014 a-b; Švorc, vd., 2018; Lourencao, vd., 2020; Cinkov, vd., 2016).

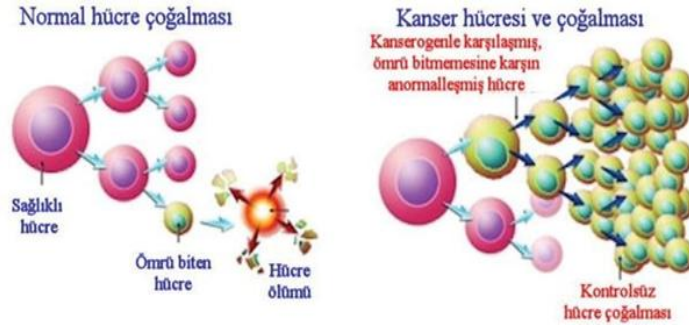
3. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Tez çalışmasının bu bölümünde, kanserin genel özellikleri ve TPT ilacının kimyasal ve fiziksel özellikleri sunulmuştur. TPT'nin tayini için daha önce gerçekleştirilmiş elektrokimyasal çalışmalar ve ilaca yönelik gerçekleştirilmiş diğer analitik yöntemler hakkında bilgi verilmiştir.

3.1. Kanser

Kanser hastalığı 2018 yılında dünya genelinde yaklaşık 9,6 milyon ölümle sonuçlanan ikinci en yaygın ölüm sebebi olarak kabul edilmektedir. Bu hastalığın kökeni, neredeyse hayvanlar alemiyle yaşıt bir geçmişe dayanmaktadır. Arkeolojik ve Paleopatolojik çalışmalarda, binlerce yıllık mumyalar ve dinazor fosillerinde kanser bulgularına rastlanılmıştır. Yazılı kaynaklar incelendiğinde 'kanser' kelimesinin Hipokrat (MÖ 460-375) tarafından ilk defa kullanıldığı ve bu kelimenin Yunanca "karkinos" (yengeç) kelimesinden türediği düşünülmektedir. Daha sonra, Latince yengeç anlamındaki cancer sözcüğü kullanılmaya başlanmıştır (Temel, 2015).

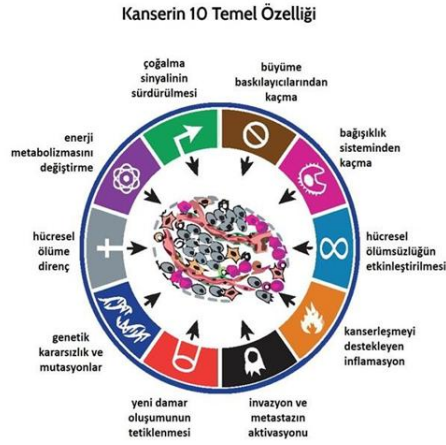
Kanser hastalığı vücut hücrelerin kontrolsüz ve istemsiz çoğalması, işlevini yitirmesi, farklılaşmaması, komşu dokulara invazyon yapması ve uzak dokulara metastaz etmesi olarak tanımlanmaktadır (Shewach & Kuchta, 2009) (Şekil 3.1). Başka bir tanımla, kanser, çevresel veya hücrel kimyasal, fiziksel ya da biyolojik etkiler sonucu normal hücrenin DNA'sında meydana gelen değişikliklerle ilgili kalıtsal bir hastalıktır (Yakıcıer ve Akarsu, 2007).



Şekil 3.1. Kanser hücresi ve çoğalması (Bayca, 2017)

Yapılan bilimsel çalışmalar doğrultusunda kanserin genel özellikleri şu şekilde sıralanabilir (Douglas, 2011):

- Sürekli bölünme yeteneği
- Gen yapısında mutasyonlar
- Büyüme engelleyici etkilerden kurtulma
- Anjiyogenez (mevcut olan küçük damarlardan yeni kan damarların oluşması)
- Kanserleşmeyi destekleyen iltihaplanma
- Bağışıklık sisteminden kaçma
- Kendi büyüme faktörlerine sahip olma
- Enerji metabolizmasını değiştirme
- Hücre ölümü sağlanan mekanizmayı atlama.



Şekil 3.2. Kanser hastalığının 10 temel özelliği (Douglas, 2011)

Kanser tedavisinde kullanılan yöntemler; radyasyon, cerrahi müdahale, kemoterapi (ilaç kullanılması), immünoterapi, hipertermi ve hedefe yönelik akıllı ilaç tedavisi olarak bilinmektedir. Günümüzde, bu tedavi yöntemlerinin bir arada kullanılması daha olumlu sonuçlara ulaşmayı sağlamaktadır (Önal, 2018).

Kemoterapi, 1990'lı yıllarda Alman Hekim Paul Ehrlich tarafından sifilis tedavisi ile ilgili olarak geliştirilmiştir. Kemoterapi uygulamaların temel ilkesini "sitotoksik ilaçlar" ya da diğer adıyla "antineoplastik ilaçlar" oluşturur (Bökesoy, vd. 2000; Thurston, 2006; Kayaalp, 2012). Antineoplastik ilaçların etkinliği, hücre döngüsü ile doğrudan ilişkilidir. Hücre döngüsü 4 ana evreden oluşmaktadır (Şekil 3.3) (Weinberg, 1996). Bu evreler G-1, S, G-2 ve M (mitoz) olarak adlandırılmaktadır.

DNA sentezine hazırlık evresi (G-1)

S evresine hazırlık için gerekli olan enzimlerin, histonların ve nükleotitlerin sentezinin gerçekleştiği evredir. Bu evre, diğer evrelere göre daha uzun bir süreyi kapsamaktadır. Bu evreye istirahat evresi de (G-0) de denilmektedir. Sinir ve çizgili kas hücreleri, mitoz ile oluştuktan sonra G-0 evresinde ömür boyu kalırken, mide-bağırsak epitel hücreleri, kemik iliği hücreleri ve testislerdeki germ hücreleri gibi hızla bölünen tümör hücreleri, G-0 evresine girmeksizin doğrudan bölünme gerçekleştirmektedir.

DNA replikasyonu veya sentezi evresi (S)

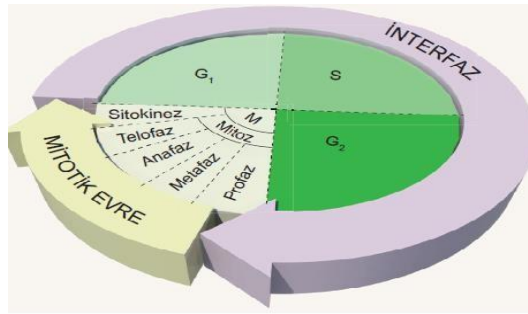
Hücre bölünmesi sırasında gerekli olan proteinler ve enzimler gibi maddelerin sentezi bu evrede gerçekleşir. S evresi 4-24 saat sürer.

Mitoza Hazırlık evresi (G-2)

Ortalama 2 saat süren ve mitoz iplikçığının oluştuğu evredir.

Mitoz evresi (M)

Yaklaşık 1 saat süren evredir.



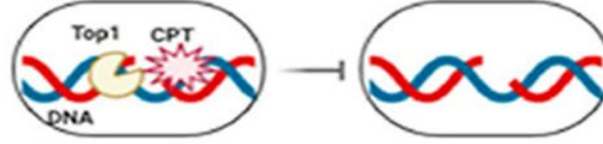
Şekil 3.3. Hücre döngüsü evreleri (Weinberg, 1996)

Antineoplastik ilaçlar, hücre döngüsünün belirli evrelerine özgü olmadığında ilacın etkililiğini azaltabilir. Döneme özgü olmayan ilaçlar doğrudan DNA'nın yapısını bozabilmektedir. Ayrıca, Antineoplastik ilaçların etkililiğini azaltan bir başka faktör kanser hücrelerinin ilaçlara karşı direnç geliştirmesi veya zamanla direnç kazanmasıdır. Bu direnç kazanımını önlemek için ilaçların birlikte kullanılması veya ilacın yeterli dozaj ve sürede verilmesi çok önemlidir.

Antineoplastik ilaçlar; Ağız yoluyla tablet veya kapsül şeklinde, cilt altına ya da kas içine enjeksiyon yoluyla, damardan(intravenöz) infüzyon biçiminde uygulanırlar. Birçok antineoplastik ilaç sindirim sistemi aracılığıyla emilemediği için damardan infüzyon yöntemi tercih edilmektedir. Bu yöntemle ilaçlar doğrudan dolaşıma katıldıkları için etkileri hızlı bir şekilde ortaya çıkar. Antineoplastik ilaçlar; kanama, bulantı, kusma, iştahsızlık, ateş, ağız yaraları, kabızlık, yorgunluk, ishal, ciltte morluklar, saç dökülmesi, bağışıklık sisteminin baskılanması, kemik iliğinin baskılanması gibi yan etkilere yol açabilmektedir.

3.2. Kamptotesin

Monroe E. Wall tarafından 1957 yılında *Camptotheca acuminata* Decaisne bitkisinden elde edilen kamptotesin, güçlü bir antikanser ajan olarak bilinen, suda çözünmeyen ve bitkisel kaynaklı bir alkaloid olarak tanımlanmaktadır (Oberlies & Kroll, 2004). Kamptotesin, DNA Topoizomeraz I enzimi üzerinde antikanser etkisinden dolayı Topoizomeraz I inhibitörü olarak tanımlanmaktadır. Bu ilaç, özellikle hücre döngüsünün S evresinde etkili olmaktadır. (Koster, vd. 2007). Araştırmalar, kamptotesinin DNA / Topo-I (Topoizomeraz enzimi) üçlü kompleksine bağlandığı göstermektedir (Hertzberg, vd. 1989; Eng, vd. 1988)



Şekil 3.4. Topoizomeraz-I inhibitörleri

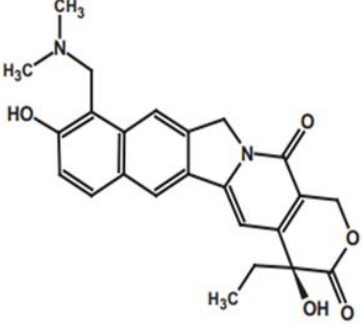
Kamptotesin, su ile düşük çözünürlüğü ve toksisitesi nedeniyle klinik denemelerini tamamlayamamıştır (Thomas, vd. 2004; Garcia-Carbonero & Supko, 2002). 1985 yılında, kamptotesinin DNA topoizomeraz enzimi üzerindeki inhibitör etki mekanizması doğrultusunda suda çözünebilen kamptotesin türevlerinin üretimine başlanmıştır. Bu türevler, spesifik topoizomeraz enzimi ile etkileşim göstermektedir (Hsiang, vd. 1989). TPT ve irinotekan, bu türevler arasında yer almaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde 1996 yılında TPT ve irinotekan klinik kullanım için onaylanan kemoterapi ilaçları olarak kabul edilmiştir.

3.2.1. Topotekan

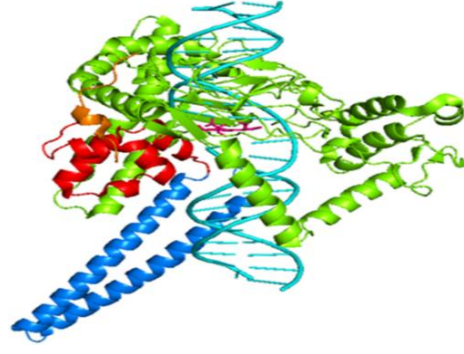
Bitkisel kaynaklı ilaçlar arasında yer alan kamptotesinin bir türevi olan TPT, sitotoksik etkisi ile antineoplastik ilaçlar kategorisinde sınıflandırılmaktadır. Bu ilaç açık sarı bir toz formunda bulunmaktadır.

TPT hidroklorür tuzunun moleküler kütlesi 421.45 g / mol olarak belirlenmiştir. TPT, bir ön ilaç olarak değil, doğrudan etki gösteren bir kamptotesin türevidir (Kingsbury, vd. 1991). İlaç, damardan veya ağız yoluyla uygulanabilmektedir (Riemsma, vd. 2010). TPT'nin kimyasal yapısı ve genel özellikleri Çizelge 3.1'de gösterilmektedir.

Çizelge 3.1. TPT'nin kimyasal yapısı ve genel özellikleri

Kimyasal Yapısı	Genel özellikleri
	Kimyasal Formülü: $C_{23}H_{23}N_3O_5$ Molekül ağırlığı: 421.45 g/mol topotekanhidroklorid Erime noktası: 213-218°C pK_a: 8-9.75

Kamptotesinin yarı sentetik bir türevi olan TPT, antitümör etkisiyle topoizomerez I (Topo I) enzimini inhibe eder. Bu süreçte, TPT, Topo I enzimi ile DNA arasında üçlü bir kompleks oluşturur; bu durum DNA çift sarmalının kırılmasına yol açar. Sonuç olarak, bu süreç geri dönüşümsüz hale gelir ve hücrenin ölümü gerçekleşir (Kollmannsberger , vd. 1999; Josse, vd. 2014).



Şekil 3.5. TPT'nin etki mekanizması [Topoizomeraz enzimi (N-terminal, çekirdek, bağlayıcı ve C-terminal alanları sırasıyla; turuncu, sarı, mavi ve kırmızı renk), DNA, camgöbeği ve TPT macenta renk]

TPT, FDA tarafından onaylanan ilk topoizomeraz I inhibitörüdür (Venditto ve Simanek, 2010). Bu durumda antineoplastik ilaç olarak topoizomeraz enzimini engelleyerek mitozu baskılar. TPT, meme, yumurtalık, küçük hücreli akciğer ve vajinal açıklık gibi yetişkin malign tümörlerinde kullanılan antineoplastik ilaçtır (Kollmannsberger, vd. 1999). Ayrıca, TPT çeşitli kanser tedavilerinde birinci ya da ikinci basamak olarak uygulanan geniş spektrumlu bir kemoterapi ilacıdır (Rosen, vd. 2017; Pignata, vd. 2019; Wang, vd. 2019). Tedavi sürecinde TPT'nin birinci ya da ikinci basamak olarak diğer antineoplastik ilaçlarla kombinasyon halinde kullanılması önerilmektedir. Bazı kombinasyon tedavileri tümör metastazını önleyebilir (Ramasubbaiah, vd. 2011; Nogami, vd. 2011; Qaddoumi , vd. 2012).

TPT, antineoplastik ilacının uygulanmasında karşılaşılan yan etkiler arasında halsizlik, ishal, kusma, saç dökülmesi, sindirim sistemi, lenf ve kan sistemindeki bazı hastalıklar bulunmaktadır. Bu yan etkilerin azaltılması için kemoteropötik ilaçların dikkatli takibi büyük önem taşır; çünkü yüksek dozajlar hastaya ciddi zararlar verebilir. Ayrıca, bu ilaçların en önemli doz-kısıtlayıcı yan etkisi, kemik iliği baskılanmasıdır (Karimi-Maleh, vd. 2020; Karimi-Maleh, vd. 2016; Alavi-Tabari, vd. 2018).

Çizelge 3.2. TPT ilacına uygulanan diğer analitik yöntemler

İlaç	Teknik	Dedektör	LOD	Matris	Referans
TPT	HPLC	Floresan	0.015 ng/mL	İnsan Plazması	Rosing, vd. (1995)
TPT	HPLC	Floresan	0.06 ng/mL	İnsan tam kanı ve yıkanmamış eritrositler	Loos, vd. (2002)
TPT	RP-HPLC	Floresan	0.075 ng/mL	Plazma	Bai, vd. (2003)
TPT	HPLC	Floresan	0.006 ng/mL	Fare plazması	Chen & Balthasar., (2005)
TPT	HPLC/HPTLC	FP-1520 Floresans	24 mg/L	ilaç	Gravel, vd. (2005)
TPT	LC-MS	2487 Waters çift	1.5 ng/mL	Sıçan dışa dönük bağırsak kesesi	Arellano, vd. (2010)
TPT	UHPLC–MS/MS		0.15 ng/mL	İnsan plazması	Han, vd. (2013)
TPT	LC-MS/MS		0.3 ng/mL	köpek plazması	Ye, vd. (2013)
TPT	HPLC	Diode-Array (DAD)	0.075 ng/mL	İlaç	Sanogo, vd. (2021)

(TPT: Topotekan; HPLC: Yüksek performanslı sıvı kromatografi; Yüksek performanslı sıvı kromatografi; HPTLC: Yüksek performanslı ince tabaka sıvı kromatografi; RP: Ters fazlı; LC: Sıvı kromatografi; MS: Kütle spektrometri; UHPLC: Ultra performanslı sıvı kromatografi)

TPT ile ilgili kaynak araştırmalarına göre daha önce bu ilaç üzerinde uygulanmış elektrokimya temelli çalışmaların özeti aşağıda verilmiştir:

2011 yılında Cheng ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada; asetilen siyahı (AB) film sensör nanopartikülleri ile GC elektrodu modifiye ederek bu elektrot yüzeyinde TPT'nin elektroanalitik davranışlarını incelemişlerdir. DPV yöntemi ile Fosfat tamponu pH 7.0 ortamında LOD değerini 0.00317 μ M olarak hesaplamışlardır.

2014 yılında Saxena ve arkadaşları çalışmalarında TPT tayininde SWV yöntemini ve çalışma elektrotu olarak TiO₂/grafen/kitosan (TiO₂/GRP/CHIT) ile modifiye edilmiş GC elektrot ile BR pH 5.6 tampon ortamında LOD değerini 0.29 μ M olarak elde etmişlerdir.

2015 yılında Congur ve arkadaşları çalışmalarında TPT tayininde DPV yöntemini ve çalışma elektrodu olarak Modifiye kalem grafit elektrot (SWCNT / PGE) kullanarak pH 7.4 fosfat tamponu ortamında LOD değerini 0.88 μ M olarak hesaplamışlardır.

2017 yılında yayınlanan, Beitollahi ve arkadaşlarının çalışmasında DPV tekniği ve ds-DNA-Grafen Pasta Elektrot (GFE) çalışma elektrotunda TPT'nin LOD değerini 0.37 μ M olarak hesaplamışlardır.

Alavi-Tabari ve arkadaşlarının 2018 yılında DPV yöntemi ve Modifiye Karbon Pasta Elektrot (CPE/1-BPr/CuO-NPs) ile yaptıkları çalışmada PBS tamponu pH 7.0 ortamında LOD değerini 0.3 μM olarak bulmuşlardır.

2018 yılında Ibrahim ve arkadaşlarının çalışmalarında SWV yöntemini ve Modifiye Camsı Karbon Pasta Elektrot (nano-AB-AuNPs/GCPE) ile PBS tamponu pH 6.0 ortamında TPT'nin LOD değerini 0.0000164 μM olarak hesaplamışlardır.

Muhammedian ve arkadaşlarının 2018 yılındaki çalışmalarında SWV yöntemini ve Modifiye karbon pasta elektrot (NrG/MOICl/CPE) çalışma elektrodu ile PBS tamponu pH 5.5 ortamında TPT'nin LOD değerini 0.27 μM olarak elde etmişlerdir.

Mahmoudi-Moghaddam ve arkadaşları 2019 yılında, DPV yöntemi ve Modifiye karbon pasta elektrot ile yaptıkları çalışmada PBS tamponu pH 7.0 'de TPT'nin LOD değerini 0.1 μM olarak bulmuşlardır.

2020 yılında yayınlanan ve Er ve Erk tarafından yapılan çalışmada; TPT'nin tayininde DPV tekniği ve çalışma elektrodu olarak Serigrafi baskılı elektrot (AuNRDs/MI-GR/SPE) ile PBS tamponu pH 7.0 ortamında TPT'nin LOD değerini 0.022 μM olarak hesaplamışlardır.

Mehmandoust ve arkadaşlarının 2021 yılında yaptıkları çalışmada, DPV tekniği ile Modifiye GCE (2D-MoS₂/TiO₂ /GCE) çalışma elektrodu ile BR pH 6.0 ortamında TPT'nin LOD değerini 0.0098 μM olarak hesaplamışlardır.

2022 yılında yayınlanan, Mehmandoust ve arkadaşlarının çalışmalarında, Modifiye camsı karbon elektrot (Fe₃O₄-CuCo₂S₄) ile DPV tekniğini kullanarak BR pH 5.0 ortamında TPT'nin LOD değerini 0.00694 μM olarak hesaplamışlardır.

Yukarıda özetlenen elektrottemelli çalışmaların analitik performans özellikleri Çizelge 3.3 'te verilmiştir.

Çizelge 3.3. Elektrokimya temelli incelemelerin analitik performans özellikleri

İlaç	Yöntem	Elektrot	Çalışma ortamı	LOD	Referans
TPT	DPV	Modifiye GCE / (AB film sensör)	PBS, pH 7	0.00317 μ M	Cheng, vd. (2011)
TPT	SWV	Modifiye GCE / (TiO ₂ /GRP/CHIT/GCE)	BR, pH 5.6	0.29 μ M	Saxena, vd. (2014)
TPT	DPV	Modifiye PGE / (SWCNT/PGE)	PBS, pH 7.4	0.88 μ M	Congur, vd. (2015)
TPT	DPV	ds-DNA - (GFE)	PBS, pH 7	0.37 μ M	Beitollahi, vd. (2017)
TPT	DPV	Modifiye CPE / (CPE/1-BPr/CuO-NPs)	PBS, pH 7	0.3 μ M	Alavi-Tabari, vd. (2018)
TPT	SWV	Modifiye GCPE / (nano-AB-AuNPs/GCPE)	PBS, pH 6.0	0.0000164 μ M	Ibrahim, vd. (2018)
TPT	SWV	Modifiye CPE / (NrG/MOICl /CPE)	PBS, pH 5.5	0.27 μ M	Muhammedian, vd. (2018)
TPT	DPV	Modifiye CPE	PBS, pH 7	0.1 μ M	Mahmoudi-Moghaddam, vd. (2019)
TPT	DPV	SPE / AuNRDs/MI-GR/SPE)	PBS, pH 7	0.022 μ M	Er ve Erk. (2020)
TPT	DPV	Modifiye GCE / (2D-MoS ₂ /TiO ₂ /GCE)	BR, pH 6	0.0098 μ M	Mehmandoust, vd. (2021)
TPT	DPV	Modifiye GCE / (Fe ₃ O ₄ -CuCo ₂ S ₄)	BR, pH 5.0	0.00694 μ M	Mehmandoust, vd. (2022)
TPT	SWV	BDD Elektrot	BR, pH 4.0	0.27 μ M	Yaptığımız çalışma

(TPT: Topotekan, DPV: Diferansiyel Puls Voltametri, SWV: Kare Dalga Voltametri, CPE: Karbon Pasta Elektrot, SPE: Serigrafi Baskılı Elektrot, PGE: Kalem Grafit Elektrot, GCP: Camsı Karbon Pasta, GCE: Camsı Karbon Elektrot, BDD: Bor Katkılı Elmas, GFE: Grafen pasta elektrot; BR: Britton-Robinson tamponu, PBS: fosfat tamponu, AB:Asetilen siyahı, GRP:Grafen, CHIT: Kitosan, SWCNT: Tek duvarlı karbon nanotüp, 1-BPr: 1-bütülpiridinyum hekzaflorofosfat, CuO-NPs: CuO nanopartikülleri, AuNPs: Altın nanopartikülleri, NrG/MOICl: 2D nitrojen katkılı indirgenmiş grafen nano levha ve 1-metil-3-oktilimidazolyum klorür, AuNRDs: Mono-dispers altın nanorodlar, MI-GR: metal interkalasyon işlemi ile hazırlanan grafen, 2D-MoS₂: İki boyutlu molibden disülfür, TiO₂: titantum oksit, Fe₃O₄: Ferroferrik oksit, CuCo₂S₄: bakırkobalt disülfür, ds-DNA: Çift sarmallı DNA)

Literatür araştırmaları neticesinde TPT ile ilgili BDD elektrotla yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu tez çalışmasında geliştirilen yöntem aracılığıyla TPT ilacının elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi hedeflenmektedir. Böylece, TPT'nin farmakolojik özellikleri ve etki mekanizmaları hakkında yeni verilerin elde edilmesiyle bilim alanına katkıda bulunulması amaçlanmaktadır. Bu çalışma, elektrokimyasal tekniklerin ilaç araştırmalarındaki potansiyelini vurgulamak açısından önem taşımaktadır. Elde edilecek sonuçların hem akademik literatüre katkı sağlaması

hem de klinik uygulamalarda TPT'nin daha etkin kullanılmasına olanak tanınması beklenmektedir.

4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1. Materyaller

Deneylerde kullanılan cihazlar ve malzemeler Çizelge 4.1’de listelenmiştir.

Çizelge 4.1. Deneylerde kullanılan cihazlar ve malzemeler

Analizör cihazı	Elektrokimyasal analiz cihazı AUTLAB PGSTAT 128N (Nova 2.1.7 yazılımıyla birlikte) kullanılmıştır (Şekil 4.1).
pH metre	Termo Scientific Orion 3 star
Çalışma Elektrotu:	BDD Elektrot:1000 ppm bor doping seviyesi, 0.075 Ω cm elektrik direnç ve iç çapı 3 mm özelliklerinde inert bir poli eterketon (PEEK) gövde içinde satın alındı (Windsor Scientific Ltd., Birleşik Krallık).
Referans elektrotu:	Ag/AgCl (3M KCl; MF 1063, BAS)
Karşılaştırma elektrotu:	Platin tel (MF: 1032, BAS)
Deney hücreleri:	3 bölmeli, kapaklı 10 mL’lik voltametrik hücre (BASi-MR-1208)
Manyetik karıştırıcı	ARE heating magnetic stirrer
Vorteks	(IKA MS 3 basic)
Cam malzemeler ve diğerleri	Farklı hacim ölçülerinde Cam (pyrex®) şişeler, cam tüpler, deney tüpleri, mikro ve makro (farklı hacimlerde) pipetler, beherler.



Şekil 4.1. AUTOLAB, PGSTAT 128N cihazı ve hücre standı

4.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneylerin tümünde Milli-Q sistemi ile saflaştırılmış su kullanılmıştır. Deneylerde kullanılan kimyasallar Çizelge 4.2’de listelenmiştir.

Çizelge 4.2. Deneylerde kullanılan kimyasallar

Kimyasalın adı	Üretici firma adı
Topotekan hidroklorid hidrat (T2705)	Sigma
HYCAMTİN® (4 mg / 4 mL Topotekan hidroklorid	Sandoz İlaç San. ve Tic.A.Ş.
Sodyum hidroksit, NaOH	Sigma
Nitrik asit (% 65, a/a), HNO ₃	Sigma
Hidroklorik asit (% 37, a/a), HCl	Merck
Fosforik asit (% 85 a/a), H ₃ PO ₄	Merck
Asetik asit (% 99-100 a/a), CH ₃ COOH	Merck
Borik asit, H ₃ BO ₃	Merck
Disodyum hidrojen fosfat, Na ₂ HPO ₄ .7H ₂ O	Merck
Alüminyum oksit, Al ₂ O ₃	Merck
Metanol, CH ₃ OH	Sigma
Sülfürik asit, H ₂ SO ₄	Merck

4.3. Kullanılan Çözeltileri Hazırlama

4.3.1. Stok Çözeltisi Hazırlama

1.09×10^{-2} M TPT’nin stok çözeltisi metanol içinde hazırlanmıştır. Hazırlanan stok çözelti kullanılarak, ölçümü yapılacak çeşitli derişimdeki standart çözeltilerin hazırlanmasında stok çözeltilerden yararlanılmıştır. Hazırlanan çözeltiler, ısı ve ışıktan korumak amacıyla +4 °C’de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

4.3.2. Destek Çözeltileri Hazırlama

Deneylerde kullanılacak uygun tampon çözeltiyi belirlemek amacıyla asetat, fosfat ve Britton-Robinson tamponları hazırlanmıştır. Asetat tamponunun hazırlanmasında: 0.1 M asetik asit; Fosfat tamponunun hazırlanmasında: 0.1 M disodyum hidrojen fosfat

($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$); ayrıca Britton-Robinson tamponunun hazırlanmasında: 0.04 M borik asit (H_3BO_3), 0.04 M fosforik asit (H_3PO_4) ve 0.04 M asetik asit (CH_3COOH) kimyasalları kullanılmıştır. Çözeltiler 1000 mL'lik balon jodede saf su ile hazırlanmıştır. 5.0 M NaOH veya 5.0 M HCl 'den ilaveler yapılarak istenilen pH değerine ayarlanmıştır.

pH ölçümü için Termo Bilimsel Orion 3 Yıldızlı pH metre kullanılmıştır. Hazırlanan tampon çözeltileri, Pyrex® cam şişelerde ve +4 °C'de buzdolabında saklanmıştır.

4.3.3. TPT Flakon Çözeltisi Hazırlama

Geliştirilen yöntemin ilaç ticari formuna uygulanmasında, eczaneden temin edilen HYCMTİN® flakonu (4 mg / 4 mL Topotekan hidroklorid) kullanılmıştır. İstenilen miktardaki TPT, seçilen destek elektrolit çözeltisi olan Britton-Robinson (pH 4.0) içine mikrolitre seviyesinde eklenerek hazırlanmıştır. Numune çözeltisinin analizi doğrudan gerçekleştirilmiş ve kalibrasyon yöntemi ile miktar tayini yapılmıştır.

4.3.4. İdrar Örneklerini Hazırlama

İdrar örnekleri, deneylerden hemen önce sağlıklı ve gönüllü bireylerden temin edilmiştir. İdrar numunesi (10 mL), deney tüpüne aktarılmış ve vorteks karıştırıcı kullanılarak 3000 rpm hızda 5 dakika boyunca karıştırılmıştır. TPT etken maddesinin analizi, idrar numunelerinde standart ekleme yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Başlangıçta, saf idrar örneği (100 µL) destek elektrolit çözeltisi (10 mL) ile seyreltilerek optimum koşullarda voltamogramlar elde edilmiştir. Ardından, standart TPT etken maddesi idrar numunesine eklenerek deneyler yapılmıştır. Çözeltinin geri kazanım hesaplamaları, anodik pik akımlarının ölçülmesiyle gerçekleştirilmiştir.

4.4.Voltametrik Yöntem

Bu tez çalışmasında, elektrokimyasal üçlü elektrot sisteminde çalışma elektrodu (BDD), referans elektrot (Ag/AgCl) ve yardımcı elektrot platin (Pt) tel kullanılmıştır. Elektrokimyasal analizlerin gerçekleştirildiği sistem, AUTLAB PGSTAT 128N cihazı ile sağlanmış olup, bu cihaz 10 mL kapasiteli bir elektrokimyasal hücre içermektedir; hücre, kapak üzerinde üç ayrı bölmeye sahiptir. Potansiyostat, bilgisayara yüklenen Nova 2.1.7 yazılımı aracılığıyla çalıştırıldığından, veri toplama ve değerlendirme süreçleri oldukça kolay hale gelmiştir. Tüm çalışmalar laboratuvar ortamında gerçekleştirilmiş olup, her bir analiz elde edilen sonuçların doğruluğunu ve güvenilirliğini artırmak amacıyla üç kez tekrarlanmıştır.

Elektrokimyasal analiz çalışmasında aşağıdaki adımlar izlenmiştir:

- ✓ Deneylere başlamadan önce, BDD elektrodunun sürekli kullanılması nedeniyle, her gün temizlenmesine özen gösterilmiştir. Elektrot, yumuşak bir temizleme pedi üzerine alümina bulamacı (0.3 µm, Buehler) eklenerek mekanik dairesel hareketlerle temizlenmiş ve ardından saf su ile durulanmıştır.
- ✓ Çalışma elektrotu hazırlık aşamalarının ardından üç elektrotlu elektrokimyasal deney hücresine yerleştirilmiştir.
- ✓ İlaç tayin çalışmaları için iki farklı 10 mL deney hücresi kullanılmıştır. Bu hücrelerden birinde analit çözeltisi bulunurken, diğerinde yalnızca 0.5 M H₂SO₄ bulunmakta olup, bu hücrede BDD elektrotu elektrokimyasal ön işleme tabi tutulmuştur. Mekanik olarak temizlenmiş BDD elektrotu, diğer elektrokimyasal deneylere başlamadan önce günde bir kez -1,8 V'de 300 saniye süreyle 0,5 M H₂SO₄ çözeltisinde katodik yönde aktivasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.
- ✓ Tüm ölçümler, -1,8 V'de 60 saniye boyunca 0.5 M H₂SO₄ içinde aktive edilmiştir.
- ✓ TPT bileşiğinin elektroanalitik özelliklerinin incelenmesi ve miktar tayini amacıyla BDD elektrot üzerinde CV ve SWV yöntemleri uygulanmıştır. Voltametrik ölçümler, CV ve SWV teknikleri aracılığıyla 0.0 V ile +1.4 V arasındaki potansiyel aralığında gerçekleştirilmiştir.

- ✓ Destek çözeltisinin pH değerleri, gerilim tarama hızı ve madde biriktirme gibi değişkenlerin elektrot yüzeyine etkileri incelenmiştir. CV ve SWV çalışmaları, aktive edilmiş BDD elektrodu kullanılarak çeşitli destek çözeltilerinde yapılmıştır. Bu bağlamda, ön işleme tabi tutulan BDD elektrodu ile TPT'nin pH değeri, biriktirme parametreleri, elektrot tepkisi, destek elektrolit türü, gerilim tarama hızı ve SW voltametri parametreleri detaylı bir şekilde incelenmiştir.
- ✓ Bu aşamalar tamamlandıktan sonra, Kare Dalga Voltametrisi (SWV) yönteminin nitelikleri belirlenmiştir.
- ✓ Geliştirilen yöntem, ticari ilaç formlarına ve idrar örneklerine uygulanmıştır.
- ✓ Son olarak, voltametrik tekniğin analitik performansı ve gerçek örneklere uygulanması belirlenen optimum koşullar altında gerçekleştirilmiştir.

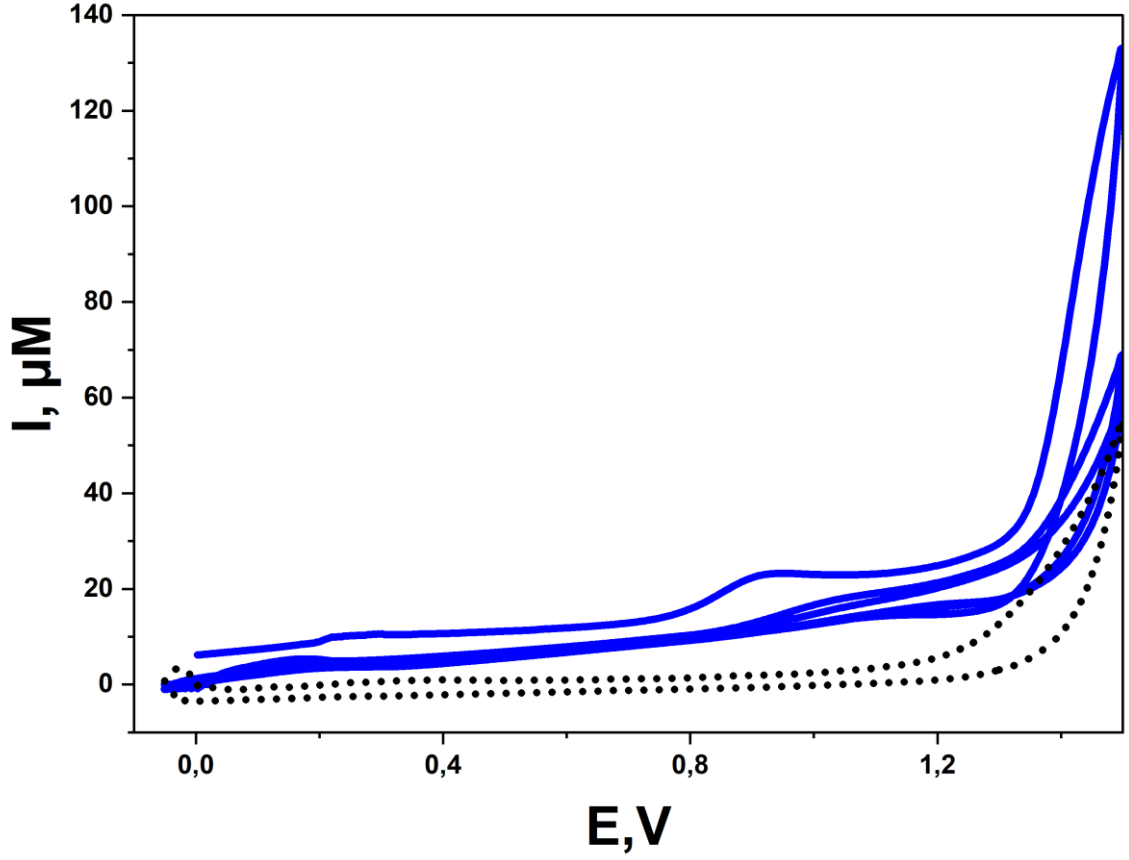
5. BULGULAR VE TARTIŞMA

5.1. TPT'nin Elektrokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi

Karbon esaslı bir elektrot olan BDD çalışma elektrodu kullanılarak TPT bileşiğinin pik morfolojisi ve gerilimi üzerindeki elektrokimyasal tepkiyi anlamak amacıyla öncelikle farklı pH değerlerine sahip sulu çözeltilerde CV ve SWV teknikleri uygulandı.

5.1.1. Dönüşümlü Voltametri

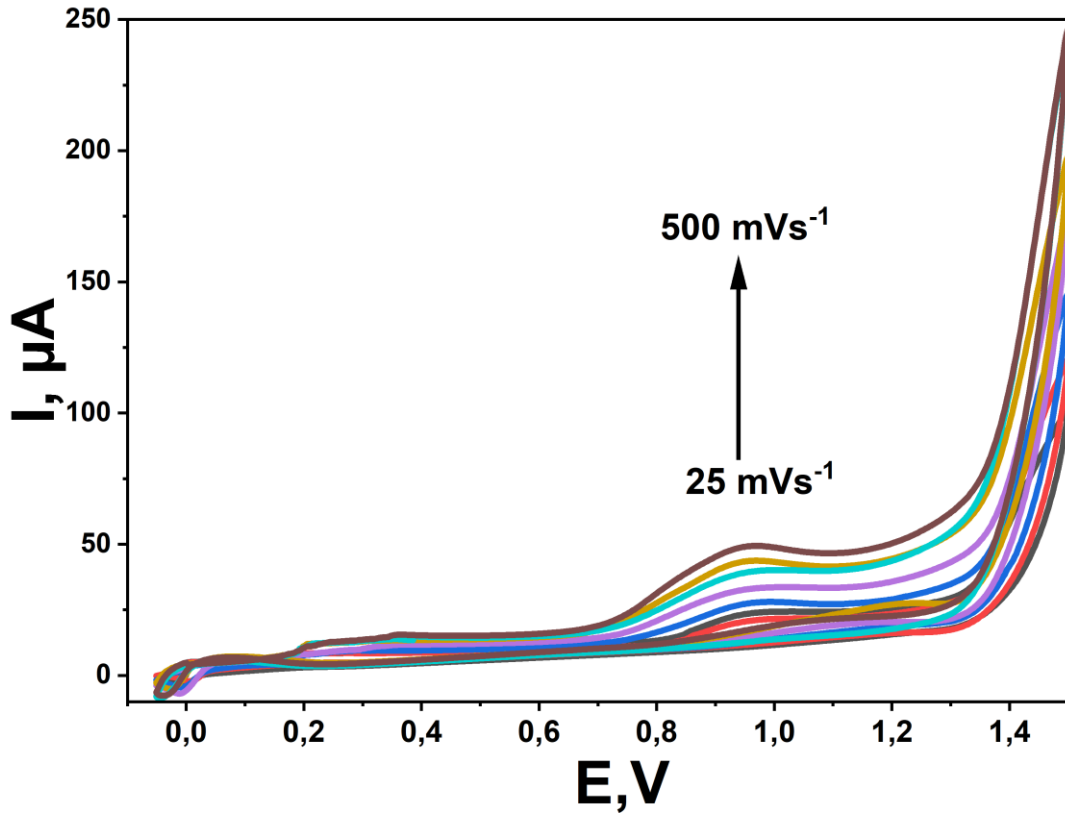
Çalışmanın başlangıcında, BDD elektrodu ile 2.18×10^{-4} M TPT'nin BR pH 4.0 tamponunda (daha sonra gösterileceği üzere analitik amaç için en uygun ortam) (0.0 V)- (+1.4 V)- (0.0 V) gerilim tarama aralığı ve 100 mVs^{-1} gerilim tarama hızı için üç döngülü voltamogramları kaydedildi (Şekil 5.1). İlgili voltamogramlar incelendiğinde; +0.925 V gerilim ve 7.66 μA akım değerinde anodik bir sinyal verdiği döngü sayısı arttıkça anodik pik sinyalinin şiddetinin azaldığı ve piklerin genişleme eğiliminde olduğu gözlemlendi. Molekülün yükseltgenmesi sonrasında katodik bölgede gerilim taramasına devam edildiğinde, incelenen gerilim aralığında herhangi bir indirgenme adımına rastlanmamaktadır. Bu gözlem, TPT molekülünün BR pH 4.0'te BDD elektrotu üzerindeki yükseltgenmesinin tamamen tersinmez olduğunu ve molekülün yükseltgenme ürünlerinin elektrot yüzeyine güçlü bir şekilde adsorbe edildiğinin önemli bir göstergesidir.



Şekil 5.1. 2.18×10^{-4} M TPT'nin BR (pH 4.0) tamponunda üç döngülü voltamogramı. Gerilim tarama hızı 100 mVs^{-1} . Kesikli çizgi, destek elektrolit

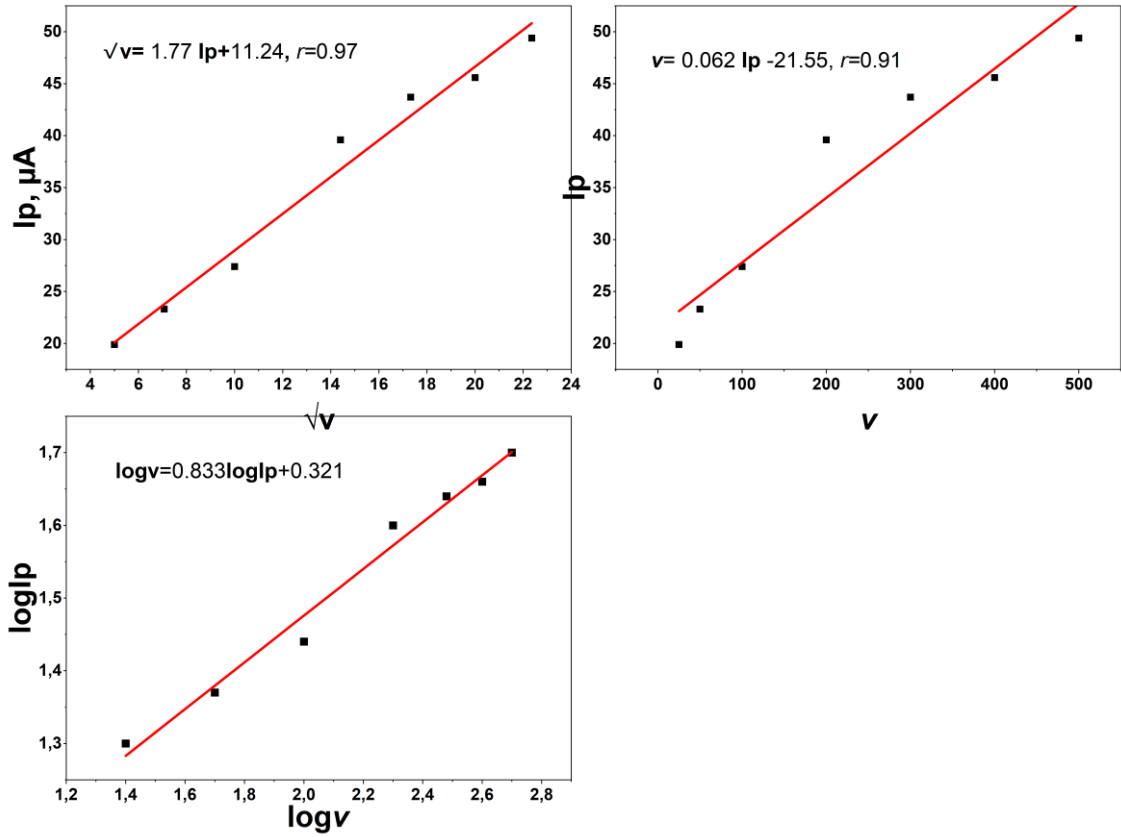
5.1.2. Gerilim Tarama Hızının Etkisi

TPT molekülünün elektrokimyasal yükseltgenmesi üzerinde gerilim tarama hızının etkisini araştırmak amacıyla, 2.18×10^{-4} M TPT çözeltisinin BR tamponu pH 4.0 içerisinde tek döngülü voltamogramları, 0.0 V başlangıç gerilimi ve 25-500 mVs^{-1} arasındaki gerilim tarama hızlarıyla (0.0 V) -(+1.4 V) -(0.0 V) gerilim tarama aralığında kaydedildi (Şekil. 5.2). Şekil. 5.2'den görüldüğü gibi, hız arttıkça anodik sinyalin belirginliği artmakta ve sinyal pozitif bölgeye doğru kaymaktadır.



Şekil 5.2. 2.18×10^{-4} M TPT'nin BR pH 4.0 tamponunda farklı gerilim tarama hızlarıyla (25, 50, 100, 200, 300, 400 ve 500 mVs^{-1}) elde edilen dönüşümlü voltamogramları

Şekil 5.2’de verilen voltamogramlar incelendiğinde, tarama hızının artmasıyla birlikte anodik pik gerilim değerinin daha pozitif yöne kaydığı görülmektedir. Şekil 5.2’deki veriler kullanılarak çizilen tarama hızı (v) ile pik akımı (I_p) grafiği [v - I_p]; tarama hızının karekökü ile pik akımı grafiği [$\sqrt{v}$ - I_p]; tarama hızı ile pik akımının logaritmik dönüşümüyle elde edilen grafik [$\log v$ - $\log I_p$] v e tarama hızının logaritması ile pik gerilimi arasındaki grafiği [$\log v$ - E_p] Şekil 5.3’de görülmektedir.



Şekil 5. 3. 2.18×10^{-4} M TPT'nin BR pH 4.0 tamponu içinde farklı tarama hızlarında (25-500 mVs^{-1}) elde edilen tarama hızı / pik akım grafikleri [$(\sqrt{v}/I_p)$, (v/I_p) , $(\log v/\log I_p)$]

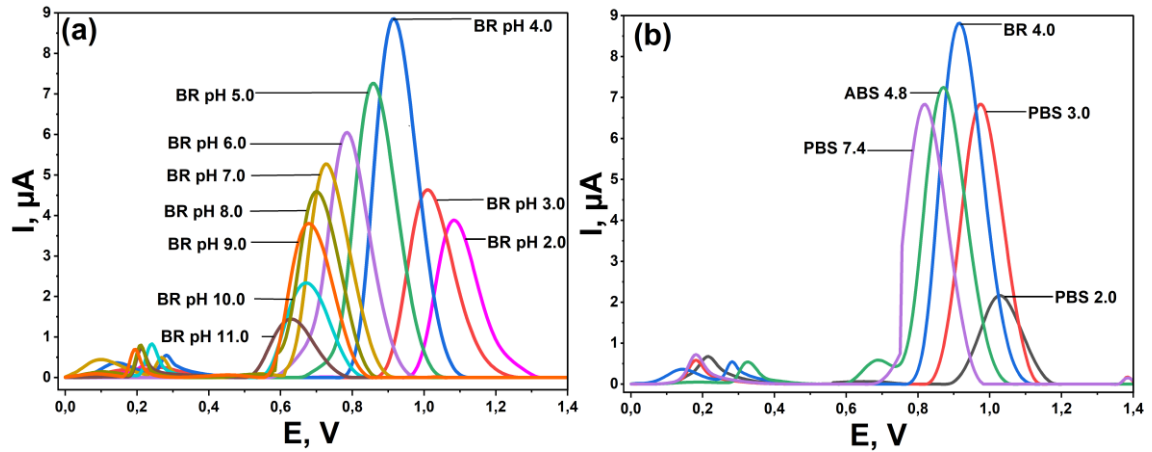
Elektrokimyasal çalışmalarda; çalışma elektrotu üzerinde gerçekleşen süreçlerin karakterizasyonu için belirli ilişkilerin incelenmesi önemlidir. Difüzyon kontrollü süreçlerde ($I_p/\sqrt{v}$ arasındaki ilişki doğrusal ve I_p/v arasındaki ilişki üstel), adsorpsiyon kontrolü bir pik oluşumu söz konusu olduğu durumlarda (I_p/v eğrisi doğrusal iken, $\log I_p$ - $\log v$ eğrisinin eğimi 1 olarak kabul edilir), difüzyon katkılı bir adsorpsiyon ($\log I_p$ - $\log v$ eğrisinin eğiminin 0.5-1 aralığında olması) ve tamamen difüzyon kontrollü süreçlerde ise $\log I_p$ - $\log v$ eğrisinin eğimi 0.5'e eşit olarak kabul edilir (Laviron, vd. 1980). Bu bulgulara dayanarak, $I_p/\sqrt{v}$ arasındaki doğrusal ilişki ve $\log I_p$ - $\log v$ eğrisinin eğiminin 0.833 (0.5 civarında) olması, BDD elektrot yüzeyinde gerçekleşen sürecin TPT molekülünün yükseltgenme sürecinin çalışılan koşullarda difüzyon kontrolü adsorpsiyon bir davranış olabileceğini düşündürmektedir.

5.1.3. Destek Elektrolit ve pH Etkisi

Voltametrik çalışmalarda kullanılacak destekleyici elektrolitlerin seçimi ve bu elektrolitlerin pH değeri, analit bileşiğinin elektrokimyasal özelliklerinin değerlendirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Destek elektrolit çözeltisinin ve pH değerinin pik akımı ile pik gerilimi üzerindeki etkileri SWV tekniği kullanılarak araştırıldı.

Bir bileşiğin pH değerini belirlenmesinde en çok tercih edilen destekleyici elektrolit çözeltisi, genellikle geniş bir çalışma aralığı sundukları için BR tampon çözeltileridir. BR tamponu, elektrokimyasal süreçlerde sıklıkla kullanılan karışık bir tampon sistemidir. Uygun çalışma aralıkları belirlendiğinde destekleyici elektrolit olarak asetat ve fosfat tampon çözeltileri de sıklıkla tercih edilmektedir.

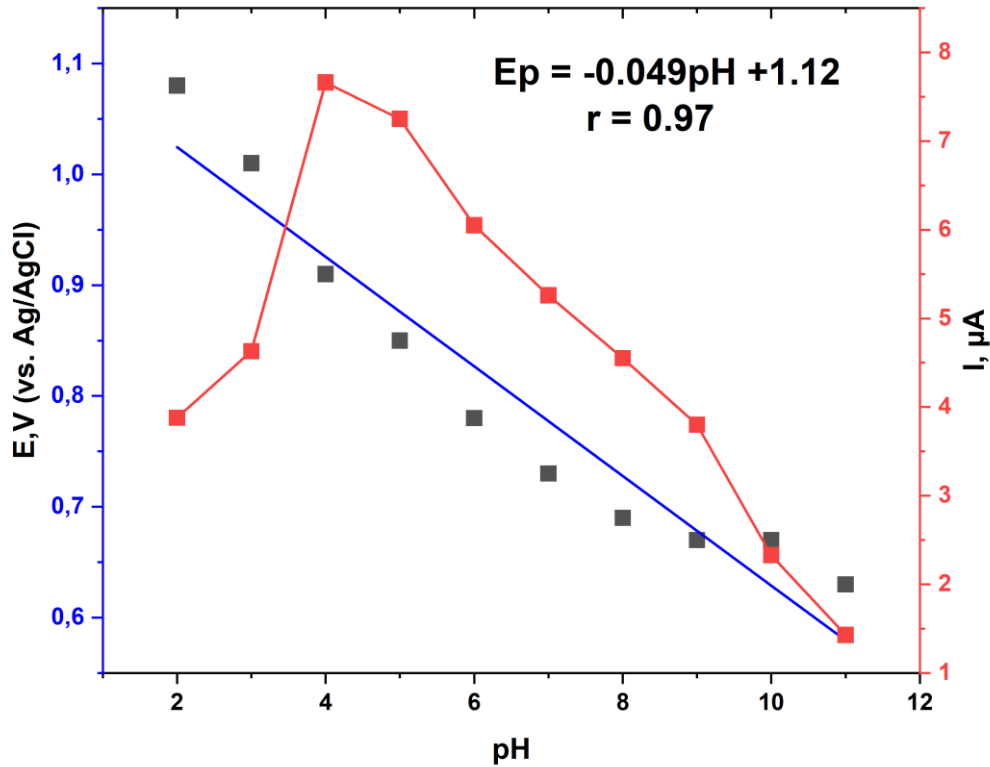
TPT maddesinin optimum pH'ını belirlemek amacıyla, Şekil 5.4'te BR (pH 2.0-11.0) tampon ortamlarında elde edilen SW voltamogramları (a) ve BR (pH 4.0), ABS (pH 4.8) ve PBS (pH 2.0, 3.0 ve 7.4) tampon ortamlarında elde edilen SW voltamogramları (b) verilmiştir.



Şekil 5.4. 2.09×10^{-5} M TPT'nin (a) BR (pH 2.0-11.0) tamponu içinde (b) PBS (pH 2.0, 3.0, 7.4), ABS (pH 4.8) ve BR (4.0) elde edilen SW voltamogramları. Biriktirme süresi 60 s, biriktirme gerilimi, 0.1 V. Kesikli çizgi: destek elektrolit, SWV parametreleri: frekans, 40 Hz; adım gerilimi, 3 mV; amplitüd, 40 mV

Şekil 5.4 detaylı olarak değerlendirildiğinde, en hassas, simetrik ve düzgün voltamogramların BR pH 4.0 çözeltisinde elde edildiği görülmektedir. Bu nedenle, bu çalışmada optimum ortam olarak BR pH 4.0 tampon çözeltisi belirlenmiştir. Bu bulgular, TPT'nin elektrokimyasal davranışını anlamada ve uygulamalarda doğru pH koşullarını seçmede kritik öneme sahiptir.

2.09×10^{-5} M TPT'nin BR pH 4.0 tamponu içinde elde edilen SW voltamogramlarının pik gerilimi- pH ve pik akımı- pH değerleri Şekil 5.5'te sunulmuştur. E_p ve pH değerlerinin eğimi teorik olarak 59.0 mV/pH olduğunda alınan verilen elektronun proton sayısına eşit olduğunu gösterir (Cetinkaya vd. 2022). Şekil 5.5 incelendiğinde, eğimin 49.0 mV/pH çıkması TPT'nin BDD elektrot yüzeyindeki yükseltgenme sürecinde tepkime mekanizmasına eşlik eden elektron kadar proton transferinin önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Ayrıca pH değerinin artmasıyla birlikte pik geriliminin daha negatif değerlere kaydığı gözlemlendi.



Şekil 5.5. 2.09×10^{-5} M TPT'nin BR (pH 4.0) tamponu içinde elde edilen SW voltamogramlarının pik gerilimi- pH ve pik akımı- pH değerleri. SWV parametreleri: frekans, 40 Hz; adım gerilimi, 3 mV; amplitüd, 40 mV

5.2. Kare Dalga Voltametri Sonuçları

Tez çalışmasının bu aşamasında, yukarıda elde edilen veriler doğrultusunda, TPT maddesinin analitik uygulamalarına uygun bir elektroanalitik yöntem geliştirmek amacıyla SW voltametri tekniği kullanılmıştır. SW voltametrisi, TPT gibi analitlerin, tespiti ve miktar tayini için yüksek hassasiyet ve seçicilik sağlayan etkili bir yöntemdir. Çalışmanın önceki aşamalarında elde edilen optimum pH ve destek elektrolit koşulları dikkate alınarak, analitin elektrokimyasal özellikleri daha iyi anlaşılıp değerlendirilmiştir. Geliştirilen yöntem, TPT bileşiğinin çeşitli ortamlarındaki davranışını incelemek ve analitik uygulamalarda kullanılabilirliğini artırmak için önemli bir adım teşkil etmektedir.

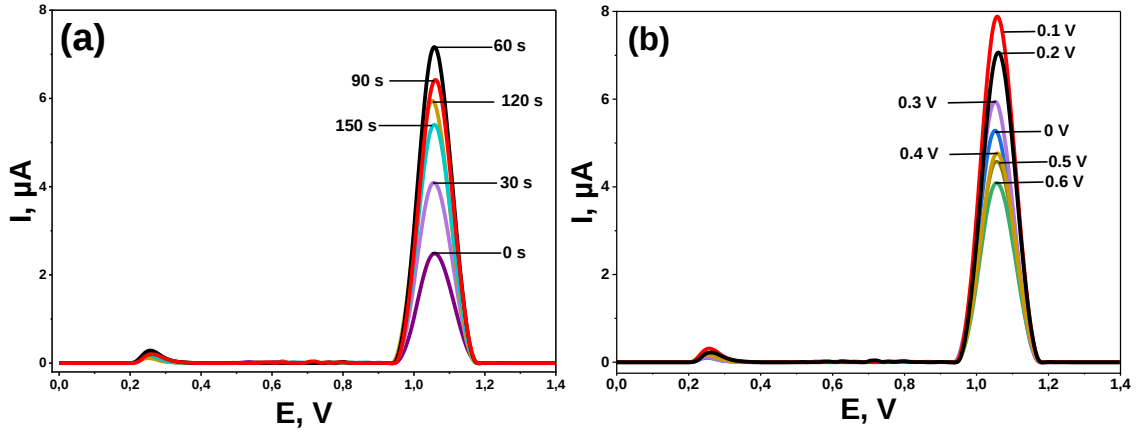
5.2.1. Biriktirme ve Sıyırma Parametrelerinin Etkisinin İncelenmesi

TPT bileşiğinin BDD elektrot üzerindeki adsorptif özellikleri incelendi. 2.09×10^{-5} M TPT için, BR (pH 4.0) tamponunda biriktirme süresinin (t_{acc}) ve biriktirme geriliminin (E_{acc}) etkileri araştırıldı (Şekil 5.6).

Biriktirme süresinin analitik sinyal üzerindeki etkisi, biriktirme gerilimi 0.1 V' da sabit tutularak 0 s ile 150 s arasında araştırıldı. Pik sinyal değeri 60 s' ye kadar arttı ve bu değerden sonra ise düzenli bir azalma gözlemlendi. Bu durum, elektrot yüzeyinin analit bileşiği ile doymuş hale geldiğini gösterir.

Öte yandan, sıyırma pik akımı / E_{acc} ilişkisi $t_{acc} = 60$ s biriktirme süresinde (0. V)- (+ 0.6 V) aralığında incelendiğinde; pik akımında 0.1 V ' a kadar bir artış ve daha sonra pik gerilimindeki artışla birlikte pik akımında düzenli bir azalma gözlemlendi.

Bu analizlerin sonucunda, biriktirme süresi (t_{acc}) = 60 s ve biriktirme gerilimi (E_{acc}) = 0.1 V seçildi. Seçilen parametreler, TPT' nin elektrokimyasal davranışını en iyi şekilde yansıtmakta ve analitik uygulamalar için uygun koşulları sağlamaktadır.



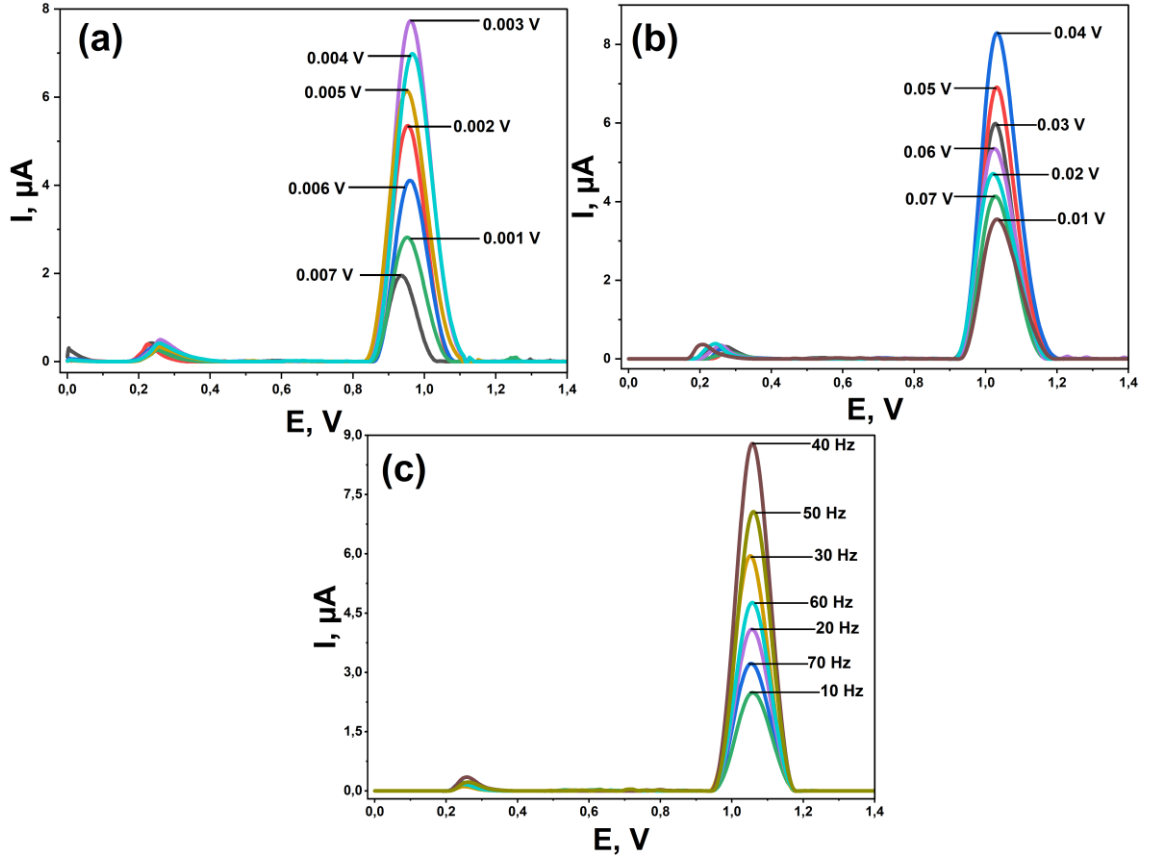
Şekil 5.6. 2.09×10^{-5} M TPT'nin BR (pH 4.0) tamponu içinde elde edilen SWV voltamogramları üzerinde **(a)** Biriktirme süresi ve **(b)** Biriktirme gerilimi etkisi. SWV parametreleri: frekans, 40 Hz; adım gerilimi, 3 mV; amplitüd, 40 mV

5.2.2. Kare Dalga Değişkenlerinin Etkisinin İncelenmesi

Tez araştırmasının bu aşamasında, SW değişkenleri arasında en yüksek duyarlılık ve simetriye sahip voltamogramları elde etmek için en uygun cihaz parametreleri belirlenmiştir: kare-dalga frekansı ($f = 10-70$ Hz), adım gerilimi ($\Delta E_s = 1-7$ mV) ve kare-dalga amplitüdü ($\Delta E_{sw} = 10-70$ mV). Elektrokimyasal deneyler, 2.09×10^{-5} M TPT içeren optimum BR (pH 4.0) tamponunda gerçekleştirildi. Her değişken için diğer iki değişkenin değerlerinin sabit tutulduğu koşullarda voltamogramlar elde edildi (Şekil 5.7 a-b-c).

SWV tekniğinde tarama hızı, adım gerilimi ve frekans arasında bir ilişki vardır. Gerilim tarama hızı $f = 40$ Hz ve $\Delta E_s = 3$ mV değerlerine kadar arttıkça pik akım değerlerinde artış gözlemlendi. Ancak bu değerlerden sonra, akım şiddetinde azalma meydana gelmiş ve $f = 70$ Hz ile $\Delta E_s = 7$ mV değerlerinde, piklerde azalma gözlemlenmiştir. Ayrıca, analitik sinyalin amplitüd ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Pik sinyalleri, $\Delta E_{sw} = 40$ mV değerine kadar artış göstermiş ve bu değerden sonra azalma eğilimine girmiştir.

SWV tekniği için belirlenen optimum parametreler; $f = 40$ Hz, $\Delta E_s = 3$ mV ve $\Delta E_{sw} = 40$ mV olarak belirlendi ve analitik çalışmalar bu koşullar altında gerçekleştirildi.



Şekil 5.7. 2.09×10^{-5} M TPT'nin BR (pH 4.0) tamponu içinde elde edilen SWV voltamogramları üzerinde SW parametrelerinin etkisi (a, adım gerilimi; b, puls amplitüd; c, frekans). Biriktirme süresi 60 s, biriktirme gerilimi, 0.1 V

TPT'nin elektrokimyasal analizi için geliştirilen voltametrik yöntemin belirlenen optimum parametreleri şunlardır: Yöntem, SWV; Elektrot, BDD; Tampon çözelti, BR (pH 4.0). Adsorptif Sıyırma Değişkenleri, (Biriktirme gerilimi, $E_{acc}= 0.1$ V; Biriktirme süresi, $t_{acc}= 60$ s). Kare-Dalga Değişkenleri: ($f= 40$ Hz; Adım gerilimi, $\Delta E_s= 3$ mV; puls amplitüd, $\Delta E_{sw}= 40$ mV).

5.3. Geliştirilen Yöntemin Analitik Performans Özelliklerinin İncelenmesi

Tez çalışması kapsamında, BDD elektrot üzerinde geliştirilen voltametrik tekniğin BR (pH 4.0) destek elektrolit çözeltisinde analitik performans özellikleri (çalışma aralığı, duyarlılık, tekrarlanabilirlik) incelenmiştir.

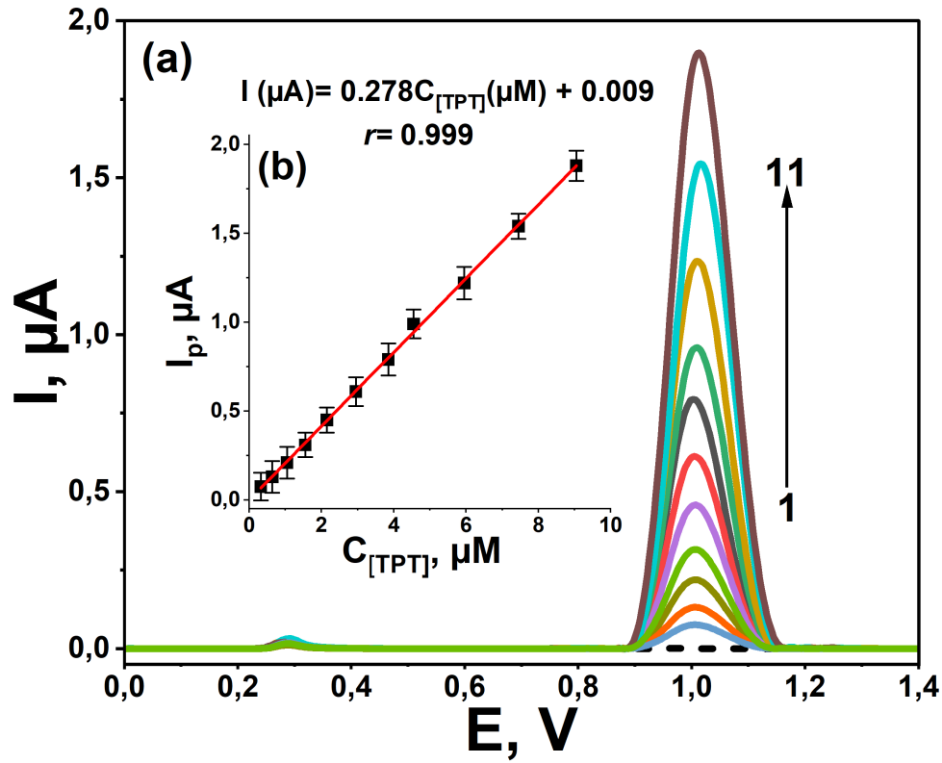
Belirlenen optimum koşullar altında BR (pH 4.0) destek elektrolit çözeltisini içeren elektrokimyasal hücreye belirli hacimlerde TPT standart çözeltisi eklenerek SW

voltamogram ölçümleri (üçer kez tekrarlı) kaydedildi.

Her eklemekten sonra eğriler üzerinde +0.925 V değerindeki SW voltametri yanıtları değerlendirildi. İlgili voltamogramlar ve derişim-pik akımı ilişkisi Şekil 5.8'de verilmiştir.

Şekil 5.8'de gösterilen analitik eğri, 0.32 μM – 9.05 μM derişim aralığında $[I(\mu\text{A}) = 0.278 C(\mu\text{M}) + 0.009 (r = 0.999, n = 11)]$ doğrusal bir yanıt sağlar. Eşitlikteki I_p , adsorptif sıyırma piki; C , Topotekan derişimi; ve r , korelasyon katsayısıdır.

Analitik eğriler kullanılarak elde edilen gözlenebilirlik sınırı (LOD) 3 s/m denkleminde ve en düşük tayin sınırı (LOQ) değeri ise 10 s/m kullanılarak hesaplanmıştır. Eşitlikte yer alan s, doğrusallık aralığındaki en düşük derişime karşılık gelen pik akımının (3 değer ortalaması olarak) standart sapmasını, m ilgili kalibrasyon eşitliğinin eğim değerini temsil eder. Elde edilen verilerden, LOQ = 0.89 μM ve LOD = 0.27 μM olarak hesaplandı.



Şekil 5.8. (a) TPT'nin farklı derişimlerinin [0.32 μM - 9.05 μM] BR pH 4.0 tamponu içerisinde kaydedilen SWV voltamogramları. Biriktirme süresi 60 s, biriktirme gerilimi, 0.1 V. SWV parametreleri: frekans, 40 Hz; adım gerilimi, 3 mV; puls amplitud, 40 mV. Ek **(b)**: I_p/C_{TPT} 'nin kalibrasyon eğrisi

Tez çalışması sırasında geliştirilen voltametrik yöntemin tekrarlanabilirliğini test etmek amacıyla, belirlenen optimum koşullar altında hazırlanmış 2.09×10^{-5} M TPT çözeltisinin (aynı gün içerisinde) dokuz kez sıyırma voltamogramları alındı. Gün içi kesinlik olarak, bu voltamogramların yükseltgenme pik akımı ve gerilimi değerleri okunarak değerlendirilmiştir. Elde edilen verilere göre, yükseltgenme pik akımı ve gerilimi için BSS değerleri sırasıyla % 3.12 ve % 1.68 olarak hesaplanmıştır.

5.4. Gerçek Örnek Analizleri

TPT için geliştirilen yöntemin gerçek örneklerde performans özelliklerinin doğrulanması amacıyla, ticari ilaç formlarında ve biyolojik sıvı (idrar) örneklerinde uygulanabilirliği test edilmiştir.

5.4.1. Flakon Çözeltilerinin Analizi

Geliştirilen analitik yöntemin ticari ilaç formuna uygulanması için eczaneden temin edilen HYCAMTİN® flakon solüsyonu (4 mL flakon 4 mg Topotekan'a eşdeğer 4.49 mg Topotekanhidroklorür) kullanıldı. Bölüm 4.3.3'te anlatılan yöntemle hazırlanan flakon çözeltilerinin voltamogramları, standart maddeler için belirlenen optimum şartlar altında alındı. Flakon analizi voltamogramları ile standart TPT'ye ait voltamogramlar karşılaştırıldığında, eğrilerin birbirleriyle uyumlu olduğu görüldü. Voltamogramlardan elde edilen anodik pik akım değerleri, ilgili kalibrasyon eğrilerinde yerleştirilerek flakonların içerdiği TPT miktarları hesaplanmış ve bu değerler gerçek değerlerle karşılaştırılmıştır.

Geliştirilen yöntemin doğruluk ve kesinlik özelliklerini değerlendirmek için geri kazanım çalışmaları yapılmıştır.

Bu aşamada, standart TPT çözeltisinden doğrusallık sınırları aşılmadan, aynı flakon çözeltisine ardışık eklemeler yapıldı ve her eklemekten sonra voltamogramlar yeniden kaydedildi. Pik akımları hem orijinal flakon çözeltisinde hem de ardışık eklemelerden sonra ölçülmüştür.

Sonuç olarak, flakon çözeltisine ilave edilen saf madde miktarı belirlenmiş ve ilgili hesaplamalar tamamlanmıştır. Geliştirilen voltametrik yöntemle elde edilen flakon analiz sonuçları Çizelge 5.1'de sunulmuştur. Elde edilen verilerin ortalaması dikkate

alındığında, firmanın HYCAMTİN® flakon çözeltisinde beyan ettiği 4 mg TPT miktarına oldukça yakın bir değer olan 4.06 mg TPT tespit edilmiş; bu da %101.4 geri kazanım (%BSS $\pm$ 4.09) ile uyumlu bulunmuştur.

Çizelge 5. 1. TPT içeren flakonlarda geliştirilen yöntemle elde edilen analiz bulguları

Örnek	Bulunan(mg) ^{a,b}	Geri Kazanım ^b (%) $\pm$ %BSS
1	3.84	96 $\pm$ 3.95
2	4.28	107 $\pm$ 4.54
3	4.20	105 $\pm$ 3.78
4	3.72	93 $\pm$ 4.12
5	4.24	106 $\pm$ 4.05

^aBir flakon (4 mL), 4 mg Topotekan'a eşdeğer 4.49 mg Topotekanhidroklörür içerir.

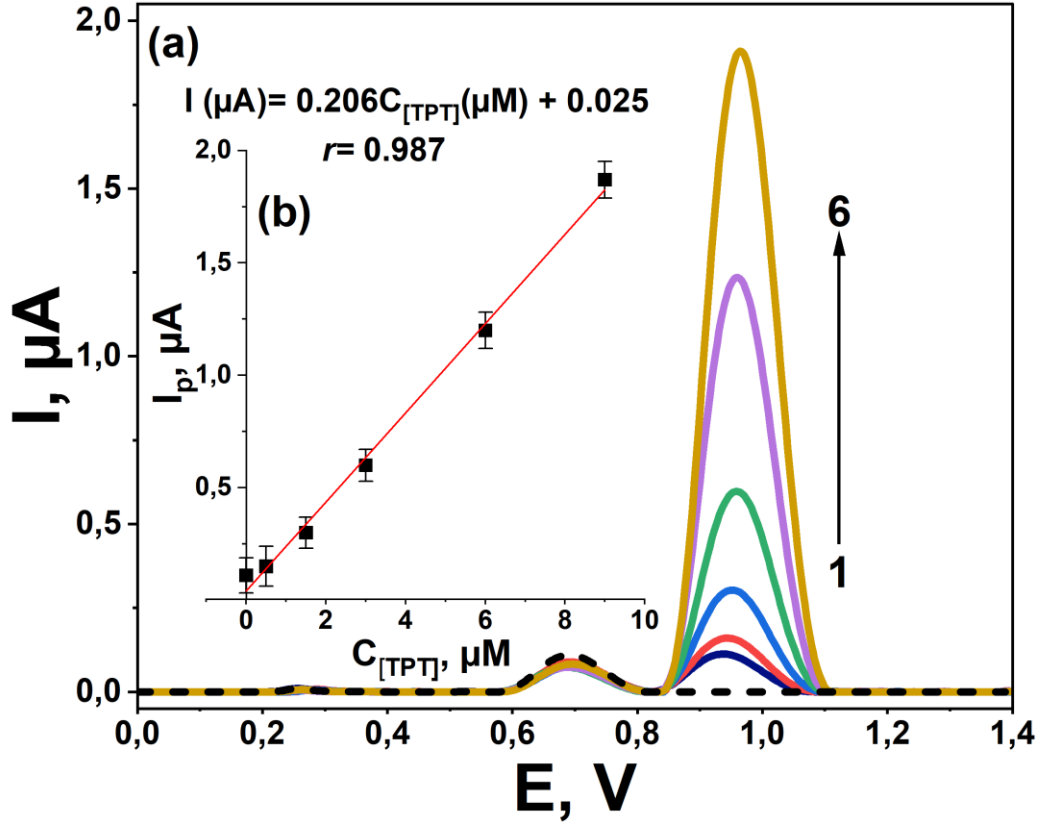
^bSonuçlar, üç analizin ortalamasıdır.

5.4.2. İdrar Örneklerinin Analizi

TPT ilaç miktarını belirlemek amacıyla geliştirilen voltametrik yöntemin analitik çalışma aralığı, tekrarlanabilirliği ve yüksek duyarlılığı göz önüne alınarak idrar örneklerinde (biyomoleküller, tuz ve su içeren karmaşık matris ortamı) uygulanabilirliği incelenmiştir.

Başlangıçta Bölüm 4.3.4'te açıklanan yöntemle uygun olarak, TPT maddesi eklenmeden hazırlanan idrar örneklerinin voltamogramları BR pH 4.0 destek elektroliti içinde kaydedilmiştir. Ardından, TPT içeren idrar örneği, hiçbir karmaşık ön işlem veya ayırma yöntemleri kullanılmadan sadece santrifüj sonrası seçilen destek elektroliti ile seyreltilerek analiz edilmiştir. Seçilen optimum koşullar altında BDD elektrodunda yapılan analizlerde, TPT ilacı için analitik sinyalin gözlendiği gerilim aralığında idrar içerisinde bulunabilecek maddelerle (örneğin askorbik asit, ürik asit, dopamin vb.) etkileşebilecek bir yükseltgenme adımının gerçekleşmediği gözlendi. İdrar örneklerine ait farklı TPT derişimleri için BR pH 4.0 tampon ortamında elde edilen SW voltamogramları ve kalibrasyon eğrisi (I_p/C_{TPT}) Şekil 5.9' da sunulmuştur. BDD elektrot yüzeyinde yaklaşık +0.925 V' da oluşan pikin idrar örneklerine eklenen standart TPT miktarıyla orantılı olarak arttığı gözlemlenmiştir [$I(\mu A) = 0.206 C (\mu M) + 0.025$ ($r = 0.987$)]. Elde edilen sonuçlar çizelge 5.2'de verilmiştir.

Bu sonuçlara göre TPT'nin idrar numunelerinde ortalama olarak % 102 (± 4.01 BSS %) geri kazanım ile başarılı bir şekilde analiz edilebileceği gösterilmiştir.



Şekil 5.9. (a) 0 μM - 9 μM derişim aralığında TPT çözeltilerinin BR pH 4.0 tamponu içerisinde idrar numunelerine ait SWV voltamogramları. Kesikli çizgi: TPT eklenmemiş destek elektroliti. SWV parametreleri: frekans, 40 Hz; adım gerilimi, 3 mV; amplitüd, 40 mV. **(b)** TPT'nin idrarın farklı derişimlerinde (0 μM - 9 μM derişim aralığı) elde edilen kalibrasyon grafiği (I_p/C_{TPT})

Çizelge 5. 2. İdrar örnekleri üzerinde gerçekleştirilen geri kazanım çalışmaları

Eklenen ^a	Bulunan (μM)	Geri Kazanım ^b (%) $\pm$ % BSS
0	0.12	± 4.15
0.5	0.65	105 ± 4.06
1.5	1.56	97 ± 4.26
3	3.33	107 ± 3.89
6	6.6	108 ± 3.78
9	8.49	93 ± 4.13

^ason çözeltildeki derişim.

^bsonuçlar, beş analizin ortalamasıdır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Literatürde, TPT maddesinin analizi için çeşitli çalışma ortamlarında önerilen farklı analitik teknikler bulunmaktadır. Literatür araştırmamıza göre, TPT maddesinin analizlerinde uygulanan kromatografik çalışmalar Çizelge 3.2' de ve farklı çalışma elektrotları kullanılarak yapılan elektrokimyasal çalışmalar ise Çizelge 3.3' te özetlenmiştir.

Çizelge 3.3 te özetlenen elektrokimyasal çalışmalarda genellikle kullanılan elektrotlar arasında modifiye elektrotlar yer almaktadır; Karbon Pasta Elektrot: Muhammedian, vd. (2018); Mahmoudi-Moghaddam, vd. (2019); Modifiye Kalem Grafit Elektrot: Congur, vd. (2015); Modifiye Camsı Karbon Elektrot: Cheng, vd. (2011); Ibrahim, vd. (2018); Mehmandoust, vd. (2021); Mehmandoust, vd. (2022); Serigrafi Baskılı Elektrot: Er ve Erk. (2020) yer almaktadır.

Çizelge 3.3 'te sunulan, TPT maddesinin farklı çalışma elektrotları ile yapılan elektrokimyasal çalışmalarında farklı LOD değerleri görülmektedir. Bilim insanları tarafından yapılan çalışmalarda elde edilen LOD değerlerinden bazıları [Cheng, vd. (2011); Ibrahim, vd. (2018); Mahmoudi-Moghaddam vd. (2019) Er ve Erk. (2020); Mehmandoust, vd. (2021); Mehmandoust, vd. (2022)] çalışmamızda elde ettiğimiz LOD (0.27 μ M) değerinden daha duyarlı olsada, ilgili çalışmalarda genellikle modifiye çalışma elektrotları kullanılmıştır. Analitik çalışmalarda çalışma elektrodunun modifikasyonu zaman ve maliyet açısından genellikle tercih edilmemektedir. Buna karşın, çalışmamızda kullandığımız yalın BDD çalışma elektrodu ile 0.27 μ M LOD değerinin elde edilmesi, duyarlılık açısından olumlu sonuçlar sunmaktadır.

Yukarıda sunulan çalışmalar TPT'nin elektrokimyasal özelliklerini farklı elektrotlar üzerinden incelenmiştir. Ancak, TPT'nin BDD çalışma elektrodu ile ilgili elektrokimyasal tabanlı bir çalışmaya literatürlerde rastlanmamıştır. Bu nedenle, bu tezin literatüre katkı sağlaması açısından ümit verici olduğu düşünülmektedir.

TPT'nin tez çalışması aşağıdaki adımlar izlenerek gerçekleştirilmiştir:

TPT'nin (2.18×10^{-4} M) elektrokimyasal özellikleri CV tekniği ile BDD elektrot üzerinde BR pH 4.0 tampon ortamında incelenmiştir. BDD elektrot yüzeyinde yaklaşık

+0.925 V gerilim ve 7.66 μA akım değerlerinde yayvan bir tersinmez yükseltgenme piki oluşturduğu gözlemlenmiştir (Şekil 5.1).

Farklı tarama hızlarında (25- 500 mVs^{-1}) CV voltamogramları, BR pH 4.0 tampon ortamında 2.18×10^{-4} M TPT'nin optimize edilmiş cihaz parametreleriyle kaydedilmiştir (Şekil 5.2). 25-500 mVs^{-1} tarama hızı aralığında oluşan pik geriliminin pozitif değerlere doğru kaydığı gözlemlenmiştir.

2.09×10^{-5} M TPT'nin analizinde SW voltametri tekniği kullanılarak, uygun destek elektrolit türü ve çalışma ortamının pH'ı araştırılmıştır. Bu amaçla, BR (pH 2.0-11.0), ABS (pH 4.8) ve PBS (pH 2.0, 3.0, 7.4) tampon çözeltileri kullanılmıştır (Şekil 5.4).

2.09×10^{-5} M TPT'nin farklı tampon ortamlarında ve farklı pH' larda BDD elektrodunda elde edilen SW voltamogramlarının pik gerilimi ve pik akım değerleri incelendiğinde (Şekil 5.4 ve 5.5) akım değeri en yüksek olan simetrik voltamogramın BR pH 4.0 tampon ortamında elde edildiği gözlemlenmiştir. Bu bulgu, BR pH 4.0 ortamının TPT' nin elektrokimyasal analizi için uygun koşul olduğunu göstermektedir.

2.09×10^{-5} M TPT'nin biriktirme süresi (t_{acc}) ve biriktirme gerilimi (E_{acc}) değişkenlerinin etkisi optimum BR pH 4.0 tampon çözeltisi içerisinde incelenmiştir (Şekil 5.6). Analitik çalışmanın sonucunda, biriktirme süresi olarak $t_{\text{acc}} = 60$ s ve biriktirme gerilimi olarak $E_{\text{acc}} = 0.1$ V değerleri seçilerek çalışmalar yürütülmüştür.

2.09×10^{-5} M TPT'nin BR pH 4.0 tampon çözeltisi ile en uygun analitik SW voltametri cihazı parametrelerini belirlemek amacıyla adım gerilimi, puls amplitüdü ve frekans parametreleri üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Elde edilen ölçümlere göre optimum cihaz parametreleri $\Delta E_s = 3$ mV, $\Delta E_{\text{SW}} = 40$ mV ve $f = 40$ Hz olarak belirlenmiş ve bu parametrelerle çalışmalar yapılarak voltamogramlar kaydedilmiştir (Şekil 5.7).

Analitik performans özelliklerinin incelenmesi aşamasında, TPT'nin $0.32 \mu\text{M}$ – $9.05 \mu\text{M}$ arasında doğrusal çalışma aralığı sağladığı gözlemlenmiştir (Şekil 5.8). Ayrıca, gözlemlenebilirlik sınırı $\text{LOD} = 0.27 \mu\text{M}$ ve en düşük belirlenebilirlik sınırı $\text{LOQ} = 0.89 \mu\text{M}$ olarak hesaplanmıştır. Tekrarlanabilirlik çalışmalarında, günler arası ve gün içi sonuçlarına göre yükseltgenme pik akımı ve pik gerilimi için BSS değerleri sırasıyla % 3.12 ve % 1.68 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, geliştirilen yöntemin duyarlılığının anlamlı olduğunu göstermektedir.

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, BDD elektrot ile geliştirilen voltametrik yöntemin TPT analizinde iyi bir analitik doğrusallık ve duyarlılık sağladığını göstermiştir.

Geliştirilen yöntem ile flakon çözeltileri ve idrar örneklerinde geri kazanım çalışmaları yöntemin doğruluğunu değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde sırasıyla; %101.4 geri kazanım (%BSS $\pm$ 4.09) ve %102 ($\pm$ 4.01 BSS %) hesaplanmıştır.

Bu tezde geliştirilen SW voltametri yöntemi, duyarlılığı, hızlı işlem kabiliyeti ve eser miktardaki numunelerle çalışma yeteneği gibi avantajları sayesinde spektroskopik ve kromatografik yöntemlere alternatif olarak değerlendirilebilir.

7. KAYNAKLAR

- Abollino, O., Malandrino, M., Berto, S., La Gioia, C., Maruccia, V., Conca, E., ... & Giacomino, A. (2019). Stripping voltammetry for field determination of traces of copper in soil extracts and natural waters. *Microchemical Journal*, 149, 104015. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104015>
- Adams, R. N. (1969). Anodic oxidation pathways of aromatic hydrocarbons and amines. *Accounts of Chemical Research*, 2(6), 175-180.
- Alavi-Tabari, S. A., Khalilzadeh, M. A., Karimi-Maleh, H., & Zareyee, D. (2018). An amplified platform nanostructure sensor for the analysis of epirubicin in the presence of TPT as two important chemotherapy drugs for breast cancer therapy. *New Journal of Chemistry*, 42(5), 3828-3832.
- Alkan, C., Aras, L., Gündüz, G., 2004. Synthesis and characterization of 1, 4-diazophenylenebridged Cu-phthalocyanine polymer. *e-Polymers*, 4(1). <https://doi.org/10.1515/epoly.2004.4.1.803>
- Allen, J., Bard, A. J., Faulkner, L. R., 2000. Chapter 1. Introduction and Overview of Electrode Processes, *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*.
- 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.
- Arellano, C., Gandia, P., Bettuing, L., Woodley, J., & Chatelut, E. (2010). Quantification of topotecan by liquid chromatography–mass spectrometry (LC–MS). Application to intestinal transport using rat everted gut sacs. *Journal of Chromatography B*, 878(7-8), 645-652.
- Arras, M. M., Grasl, C., Bergmeister, H., & Schima, H. (2012). Electrospinning of aligned fibers with adjustable orientation using auxiliary electrodes. *Science and technology of advanced materials*, 13(3), 035008. DOI:10.1088/1468-6996/13/3/035008.
- Aslan, M., & Levent, A. (2020). New voltammetric strategy for determination and electrochemical behaviors of oxaliplatin by CPT-BDD electrode. *J. Indian Chem. Soc*, 97(10c), 2043-2049.
- Aslan, M., Aslan, Y., & Levent, A. (2025). Voltammetric detection of ribociclib in cancer therapy using glassy carbon electrode and boron-doped diamond electrode. *DIAMOND AND RELATED MATERIALS*, 152.

- Bagotsky, V. S. 2006. *Fundamentals of Electrochemistry, 2nd Ed.* New Jersey: Wiley Interscience Pub.
- Bai, F., Kirstein, M. N., Hanna, S. K., Iacono, L. C., Johnston, B., & Stewart, C. F. (2003). Determination of plasma topotecan and its metabolite N-desmethyl topotecan as both lactone and total form by reversed-phase liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography B*, 784(2), 225-232.
- Bard, A. J., Faulkner L.R., 2001. *Electrochemical Methods Fundamentals and Applications*. Copyright John Wiley & Sons, Inc. 2nd ed.
- Barek, J., Cvacka, J., Muck, A., Quaiserova, V., 2001. Electrochemical methods for monitoring of environmental carcinogens. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 369:556- 562.
- Barker G. C., Gardner A.W., 1960, *Z.Anal. Chem.* 173, 79.
- Beitollahi, H., Dehghannoudeh, G., Moghaddam, H. M., & Forootanfar, H. (2017). A sensitive electrochemical DNA biosensor for anticancer drug topotecan based on graphene carbon paste electrode. *Journal of The Electrochemical Society*, 164(12), H812. <https://doi.org/10.1149/2.0511712jes>
- Bond A.M., Mahon P.J., Schiewe J., Vicente-Beckett V., 1997, An inexpensive and renewable pencil electrode for use in field-based stripping voltammetry, *Analytica Chimica Acta*, 345, 67-74. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(97\)00102-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(97)00102-5)
- Bökesoy, T. A., Çakıcı, İ., & Melli, M. (2000). *Farmakoloji ders kitabı*. Gazi Kitabevi.
- Brainina, K., & Neyman, E. (1994). *Electroanalytical stripping methods* (Vol. 185). John Wiley & Sons.
- Cañizares, P., Saez, C., Lobato, J., Rodrigo, M. A., 2004, Electrochemical treatment of 2, 4-dinitrophenol aqueous wastes using boron-doped diamond anodes. *Electrochimica Acta*, 49(26), 4641-4650. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2004.05.019>
- Cetinkaya A, Kaya SI, Ozcelikay G et al (2022) Carbon nanomaterials-based novel hybrid platforms for electrochemical sensor applications in drug analysis. *Crit Rev Anal Chem* 54:1227–1242. <https://doi.org/10.1080/10408347.2022.2109125>
- Chaplin, B. P., Hubler, D. K., Farrell, J., 2013, Understanding anodic wear at boron doped diamond film electrodes. *Electrochimica Acta*, 89, 122-131.
- Chaplin, B. P., Schrader, G., Farrell, J., 2010, Electrochemical destruction of N-nitrosodimethylamine in reverse osmosis concentrates using boron-doped diamond film electrodes. *Environmental science & technology*, 44(11), 4264-4269.

- Chen, J., & Balthasar, J. P. (2005). High-performance liquid chromatographic assay for the determination of total and free topotecan in the presence and absence of anti-topotecan antibodies in mouse plasma. *Journal of Chromatography B*, 816(1-2), 183-192.
- Cheng, Q., Du, Y., Wu, K., Chen, J., & Zhou, Y. (2011). Electrochemical detection of anticancer drug TPT using nano-acetylene black film. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 84(1), 135-139. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.12.027>
- Cinková, K., Švorc, L., Šatková, P., Vojs, M., Michniak, P., Marton, M., 2016, Simple and rapid quantification of folic acid in pharmaceutical tablets using a cathodically pretreated highly boron-doped polycrystalline diamond electrode. *Analytical Letters*, 49(1), 107-121. <https://doi.org/10.1080/00032719.2014.999272>
- Colombo, C., Van den Berg, C.M.G., 1998. In-line deoxygenation for flow analysis with voltammetric detection. *Anal. Chim. Acta*, 377: 229-240. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(98\)00534-0](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(98)00534-0)
- Congur, G., Erdem, A., & Mese, F. (2015). Electrochemical investigation of the interaction between TPT and DNA at disposable graphite electrodes. *Bioelectrochemistry*, 102, 21-28. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2014.11.003>
- David I.G., Popa D.-E., Bulendra M., 2017, Pencil graphite electrodes: a versatile tool in electroanalysis, *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. <https://doi.org/10.1155/2017/1905968>
- Demetriades D., Economou A., Voulgaropoulos A., 2004, A study of pencil-lead bismuth- film electrodes for the determination of trace metals by anodic stripping voltammetry, *Analytica Chimica Acta*, 519, 167-172. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.05.008>
- Douglas H., Hallmarks of Cancer, The Next Generation, 2011, 10-1016.
- Eng, W. K., Faucette, L., Johnson, R. K., & Sternglanz, R. O. L. F. (1988). Evidence that DNA topoisomerase I is necessary for the cytotoxic effects of camptothecin. *Molecular pharmacology*, 34(6), 755-760.
- Engstrom, R. C. (1984). Spatial resolution of electrode heterogeneity using iontophoresis. *Analytical Chemistry*, 56(6), 890-894.
- Er, E., & Erk, N. (2020). A novel electrochemical sensing platform based on mono-dispersed gold nanorods modified graphene for the sensitive determination of TPT. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 320, 128320. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128320>
- Fifield, F.W., Haines, P.J., 2000. *Environmental Analytical Chemistry*. 2nd Ed, UK: Blackwell Science.

- Fifield, F.W., Kealey, D., 2000. *Principle and Practice of Analytical Chemistry* 3rd Edition. UK: Blackwell science.
- G.J. Creemers, G. Bolis, M. Gore, G. Scarfone, A.J. Lacove, J.P. Guastalla, R. Depax, G. Favalli, R. Kreinberg, S. Van Belle, I. Hudson, J. Verweijand, W.W.T.B. Huinink, TPT, an active drug in the second-line treatment of epithelial ovarian cancer: results of a large European phase II study, *J. Clin. Oncol.* 14 (1996) 3056–3061. <https://doi.org/10.1200/JCO.1996.14.12.3056>
- Garcia-Carbonero, R., & Supko, J. G. (2002). Current perspectives on the clinical experience, pharmacology, and continued development of the camptothecins. *Clinical cancer research*, 8(3), 641-661.
- Gong, X Gu, Y. Zhang, F.Liu, Z., Li, Y., Chen, G., Wang, B., 2019, High-performance non-enzymatic glucose sensors based on CoNiCu alloy nanotubes arrays prepared by electrodeposition. *Frontiers in Materials*, 6, 3.
- Gosser, D. K., 1994. *Cyclic Voltammetry*, VCH Publishers, Inc.
- Gravel, E., Bourget, P., Mercier, L., & Paci, A. (2005). Fluorescence detection combined with either HPLC or HPTLC for pharmaceutical quality control in a hospital chemotherapy production unit: Application to camptothecin derivatives. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 39(3-4), 581-586.
- Hamann, C. H., A. Hamnett, and W. Vielstich. 2007. *Electrochemistry*, 2nd completely revised and updated ed. Weinheim: Wiley-VCH Pub.
- Harvey, D., 2000. *Modern Analytical Chemistry*. 508-527.
- Hebert N., Kuhr W., Brazill S., 2003, *Anal. Chem.*, 75, 3301.
- Henden, E., Gökçel, H. İ., & Ertas, F. N. (2001). Eser analiz yaz okulu. *Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilimdalı*, 151-160.
- Hertzberg, R. P., Caranfa, M. J., & Hecht, S. M. (1989). On the mechanism of topoisomerase I inhibition by camptothecin: evidence for binding to an enzyme-DNA complex. *Biochemistry*, 28(11), 4629-4638.
- Heyrovsky M., 2011, Polarography-past, present, and future, *Journal of Solid State Electro- chemistry*, 15, 1799-1803.
- Hsiang, Y. H., Hertzberg, R., Hecht, S., & Liu, L. F. (1985). Camptothecin induces protein-linked DNA breaks via mammalian DNA topoisomerase I. *Journal of Biological Chemistry*, 260(27), 14873-14878.

- Hsiang, Y. H., Liu, L. F., Wall, M. E., Wani, M. C., Nicholas, A. W., Manikumar, G., ... & Potmesil, M. (1989). DNA topoisomerase I-mediated DNA cleavage and cytotoxicity of camptothecin analogues. *Cancer research*, 49(16), 4385-4389.
- Ibrahim, M., Ibrahim, H., Almandil, N. B., & Kawde, A. N. (2018). A novel nanocomposite based on gold nanoparticles loaded on acetylene black for electrochemical sensing of the anticancer drug TPT in the presence of high concentration of uric acid. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 824, 22-31. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2018.07.031>
- Jossé, R., Martin, S. E., Guha, R., Ormanoglu, P., Pfister, T. D., Reaper, P. M., ... & Pommier, Y. (2014). ATR inhibitors VE-821 and VX-970 sensitize cancer cells to topoisomerase I inhibitors by disabling DNA replication initiation and fork elongation responses. *Cancer research*, 74(23), 6968-6979. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-3369>
- 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.
- Kapalka, A., Fóti, G., Comninellis, C., 2008, Investigation of the anodic oxidation of acetic acid on boron-doped diamond electrodes. *Journal of the Electrochemical Society*, 155(3), E27.DOI:10.1149/1.2823459
- Karimi-Maleh, H., Karimi, F., Alizadeh, M., & Sanati, A. L. (2020). Electrochemical sensors, a bright future in the fabrication of portable kits in analytical systems. *The Chemical Record*, 20(7), 682-692. <https://doi.org/10.1002/tcr.201900092>
- Karimi-Maleh, H., Shojaei, A. F., Tabatabaieian, K., Karimi, F., Shakeri, S., & Moradi, R. (2016). Simultaneous determination of 6-mercaptopurine, 6-thioguanine and dasatinib as three important anticancer drugs using nanostructure voltammetric sensor employing Pt/MWCNTs and 1-butyl-3-methylimidazolium hexafluoro phosphate. *Biosensors and Bioelectronics*, 86, 879-884. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.07.086>
- Kariuki J.K., 2012, An electrochemical and spectroscopic characterization of pencil graphite electrodes, *Journal of Electrochemical Society*, 159(9), H747-H751. DOI:10.1149/2.007209jes
- Kayaalp, S. O. (2012). *Akılcı tedavi yönünden tıbbi farmakoloji*. Pelikan Yayıncılık.
- Kellner, R., Mermet, J. M., Otto, M., Valcarcel, M., & Widmer, H. M. (2004). *Analytical chemistry: a modern approach to analytical science*. Germany: Wiley-VCH; ISBN 3-527-30590-4.
- 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.

- Kingsbury, W. D., Boehm, J. C., Jakas, D. R., Holden, K. G., Hecht, S. M., Gallagher, G., ... & Hertzberg, R. P. (1991). Synthesis of water-soluble (aminoalkyl) camptothecin analogs: inhibition of topoisomerase I and antitumor activity. *Journal of medicinal chemistry*, 34(1), 98-107.
- Kissinger, P. T., & Heineman, W. R. Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry 1996. USA, New York.
- Kollmannsberger, C., Mross, K., Jakob, A., Kanz, L., & Bokemeyer, C. (1999). TPT—a novel topoisomerase I inhibitor: pharmacology and clinical experience. *Oncology*, 56(1), 1-12. <https://doi.org/10.1159/000011923>
- Koster, D. A., Palle, K., Bot, E. S., Bjornsti, M. A., & Dekker, N. H. (2007). Antitumour drugs impede DNA uncoiling by topoisomerase I. *Nature*, 448(7150), 213-217.
- Kraft, A., 2007, Doped diamond: a compact review on a new, versatile electrode material. *International Journal of Electrochemical Science*, 2(5), 355-385.
- Laviron, E., Roullier, L., Degrand, C., 1980. A multilayer model for the study of space distributed redox modified electrodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 112: 11-23.
- Levent, A. (2012). Electrochemical determination of melatonin hormone using a boron-doped diamond electrode. *Diamond and related materials*, 21, 114-119.
- Levent, A., Altun, A., Yardım, Y., Şentürk, Z., 2014, Sensitive voltammetric determination of testosterone in pharmaceuticals and human urine using a glassy carbon electrode in the presence of cationic surfactant. *Electrochimica Acta*, 128: 54-60. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2013.10.024>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.07.035>
- Loos, W. J., Van Zomeren, D. M., Gelderblom, H., Verweij, J., Nooter, K., Stoter, G., & Sparreboom, A. (2002). Determination of topotecan in human whole blood and unwashed erythrocytes by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, 766(1), 99-105

- 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. *ChemElectroChem*, 7(6), 1291-1311. <https://doi.org/10.1002/celc.202000050>
- Mahmoudi-Moghaddam, H., Tajik, S., & Beitollahi, H. (2019). A new electrochemical DNA biosensor based on modified carbon paste electrode using graphene quantum dots and ionic liquid for determination of TPT. *Microchemical Journal*, 150, 104085. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104085>
- Marken, F., Rebbitt, T. O., Booth, J., & Compton, R. G. (1997). The use of ultrasound in the enhancement of the deposition and detection of metals in anodic stripping voltammetry. *Electroanalysis*, 9(1), 19-22. <https://doi.org/10.1002/elan.1140090106>
- McCreery, R. L. (2021). Carbon electrodes: structural effects on electron transfer kinetics. In *Electroanalytical chemistry* (pp. 221-374). CRC Press.
- Mehmandoust, M., Çakar, S., Özacar, M., Salmanpour, S., & Erk, N. (2021). Electrochemical sensor for facile and highly selective determination of antineoplastic agent in real samples using glassy carbon electrode modified by 2D-MoS₂ NFs/TiO₂ NPs. *Topics in Catalysis*, 1-13.
- Mehmandoust, M., Uzcan, F., Soylak, M., & Erk, N. (2022). Dual-response electrochemical electrode for sensitive monitoring of TPT and mitomycin as anticancer drugs in real samples. *Chemosphere*, 291, 132809. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132809>
- Mohammadian, A., Ebrahimi, M., & Karimi-Maleh, H. (2018). Synergic effect of 2D nitrogen doped reduced graphene nano-sheet and ionic liquid as a new approach for fabrication of anticancer drug sensor in analysis of doxorubicin and TPT. *Journal of Molecular Liquids*, 265, 727-732. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.07.026>
- N., Han, X., Yang, J., Gui, L., Song, Y., Du, P., & Shi, Y. (2013). Absolute bioavailability studies of a new oral topotecan formulation in Chinese patients using UHPLC–MS/MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 76, 252-256. *B*, 766(1), 99-105.
- Nogami, N., Hotta, K., Kuyama, S., Kiura, K., Takigawa, N., Chikamori, K., ... & Tanimoto, M. (2011). A phase II study of amrubicin and TPT combination therapy in patients with relapsed or extensive-disease small-cell lung cancer: Okayama Lung Cancer Study Group Trial 0401. *Lung Cancer*, 74(1), 80-84. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2011.01.018>
- Oberlies, N. H., & Kroll, D. J. (2004). Camptothecin and taxol: historic achievements in natural products research. *Journal of natural products*, 67(2), 129-135.

- Oliveira, R.T.S., Salazar-Banda, G.R., Santos, M.C., Calegaro, M. L., Miwa, D.W., Machado, S.A.S., AVaca, L.A., 2007. Electrochemical oxidation of benzene on boron-doped diamond electrodes, *Chemosphere*, 66: 2152-2158. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.09.024>
- Osteryoung, J. G., & Osteryoung, R. A. (1985). Square wave voltammetry. *Analytical chemistry*, 57(1), 101-110.
- Önal G., 2018, *Kanser Kemoterapisinde Kullanılan Bazı İlaçların Voltametrik Yöntemle Elektroanalitik İncelenmesi* (Doktora tezi). Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi. <https://acikbilim.yok.gov.tr/handle/20.500.12812/257846>
- Önal, G., 2023, Investigation of the electrochemical properties of vinblastine on boron-doped diamond electrode treated with anodic pre-treatment in anionic surfactant medium. *Diamond and Related Materials*, 133, 109699. <https://doi.org/10.1016/j.diamond.2023.109699>
- Özkan S.A., Kauffmann J.M., Zuman P., 2015, Electroanalysis in Biomedical and Pharma- ceutical Sciences Voltammetry, Amperometry, Biosensors, Applications, *Springer- Verlag Berlin Heidelberg*, s. 350.
- Özkan, 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. <https://doi.org/10.2174/157341209788172870>
- Özkan, S.A., Uslu, B., Aboul-Enein, H.Y., 2003. Analysis of pharmaceuticals and biological fluids using modern electroanalytical techniques. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 33: 155-181. <https://doi.org/10.1080/713609162>
- Öztekin, Y. (2008). Camsı karbon elektrot yüzeyine çeşitli fenantrolin türevlerinin modifikasyonu, yüzey karakterizasyonu, elektrokimyasal ve spektroskopik özelliklerinin incelenmesi (doktora tezi). Selcuk Üniversitesi. <https://hdl.handle.net/20.500.12395/623>
- Paneli, M. G., & Voulgaropoulos, A. (1993). Applications of adsorptive stripping voltammetry in the determination of trace and ultratrace metals. *Electroanalysis*, 5(5-6), 355-373. <https://doi.org/10.1002/elan.1140050502>
- Pellitero, M. A., Shaver, A., & Arroyo-Curras, N. (2019). Critical review—approaches for the electrochemical interrogation of DNA-based sensors: a critical review. *Journal of The Electrochemical Society*, 167(3), 037529. DOI:10.1149/2.0292003JES
- Pignata, S., Pisano, C., Di Napoli, M., Cecere, S. C., Tambaro, R., & Attademo, L. (2019). Treatment of recurrent epithelial ovarian cancer. *Cancer*, 125, 4609-4615. <https://doi.org/10.1002/cncr.32500>

- Qaddoumi, I., Billups, C. A., Tagen, M., Stewart, C. F., Wu, J., Helton, K., ... & Wilson, M. W. (2012). TPT and vincristine combination is effective against advanced bilateral intraocular retinoblastoma and has manageable toxicity. *Cancer*, 118(22), 5663-5670. <https://doi.org/10.1002/cncr.27563>
- Ramasubbaiah, R., Perkins, S. M., Schilder, J., Whalen, C., Johnson, C. S., Callahan, M., ... & Matei, D. (2011). Sorafenib in combination with weekly TPT in recurrent ovarian cancer, a phase I/II study of the Hoosier Oncology Group. *Gynecologic oncology*, 123(3), 499-504. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2011.08.033>.
- Reinke, R., & Simon, J. (2002). The online removal of dissolved oxygen from aqueous solutions used in voltammetric techniques by the chromatomembrane method. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 374, 1256-1260.
- Riemsma, R., Simons, J. P., Bashir, Z., Gooch, C. L., & Kleijnen, J. (2010). Systematic review of TPT (Hycamtin) in relapsed small cell lung cancer. *BMC cancer*, 10, 1-12. DOI: 10.1007/s00216-002-1618-y.
- Riemsma, R., Simons, J. P., Bashir, Z., Gooch, C. L., & Kleijnen, J. (2010). Systematic review of topotecan (Hycamtin) in relapsed small cell lung cancer. *BMC cancer*, 10, 1-12.
- Rosen, V. M., Guerra, I., McCormack, M., Nogueira-Rodrigues, A., Sasse, A., Munk, V. C., & Shang, A. (2017). Systematic review and network meta-analysis of bevacizumab plus first-line TPT-paclitaxel or cisplatin-paclitaxel versus non-bevacizumab-containing therapies in persistent, recurrent, or metastatic cervical cancer. *International Journal of Gynecologic Cancer*, 27(6). <https://doi.org/10.1097/IGC.0000000000001000>.
- Rosing, H., Doyle, E., Davies, B. E., & Beijnen, J. H. (1995). High-performance liquid chromatographic determination of the novel antitumour drug topotecan and topotecan as the total of the lactone plus carboxylate forms, in human plasma. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 668(1), 107-115.
- Sanogo, S., Silimbani, P., Gaggeri, R., & Masini, C. (2021). Development and validation of an HPLC-DAD method for the simultaneous identification and quantification of topotecan, irinotecan, etoposide, doxorubicin and epirubicin. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(1), 102896.
- Saxena, S., Shrivastava, R., Satsangee, S. P., & Srivastava, S. (2014). TiO₂/graphene/chitosan-nanocomposite-based electrochemical sensor for the sensing of anti-HIV drug topotecan. *Journal of The Electrochemical Society*, 161(14), H934.
- Shewach D.S., Kuchta R.D., 2009, Introduction to cancer chemotherapeutics, *Chemical Re- views*, 109(7), 2859-2861. <https://doi.org/10.1021/cr900208x>

- Skoog, D. A., Holler, F. J., & Nieman, T. A. (1998). Raman spectroscopy. *Principles of instrumental analysis*, 5, 429-444.
- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2006). *Podstawy chemii analitycznej*. Wydawnictwo Naukowe PWN.
- Sochr, J., Švorc, Ľ., Rievaj, M., Bustin, D., 2014, Electrochemical determination of adrenaline in human urine using a boron-doped diamond film electrode. *Diamond and related materials*, 43, 5-11.
- Staker, B. L., Feese, M. D., Cushman, M., Pommier, Y., Zembower, D., Stewart, L., & Burgin, A. B. (2005). Structures of three classes of anticancer agents bound to the human topoisomerase I– DNA covalent complex. *Journal of medicinal chemistry*, 48(7), 2336-2345.
- Staker, B. L., Hjerrild, K., Feese, M. D., Behnke, C. A., Burgin Jr, A. B., & Stewart, L. (2002). The mechanism of topoisomerase I poisoning by a camptothecin analog. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(24), 15387-15392. <https://doi.org/10.1073/pnas.242259599>
- 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.
- Švorc, Ľ., Haško, M., Sarakhman, O., Kianičková, K., Stanković, D. M., & Otřísal, P. (2018). A progressive electrochemical sensor for food quality control: Reliable determination of theobromine in chocolate products using a miniaturized boron-doped diamond electrode. *Microchemical Journal*, 142, 297-304. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.07.007>
- Temel, M. K. (2015). Sitotoksik kemoterapötiklerin yirminci yüzyıldaki gelişimi. *Turkish Journal of Oncology/Türk Onkoloji Dergisi*, 30(1).DOI: 10.5505/tjoncol.2015.1151
- Thomas, C. J., Rahier, N. J., & Hecht, S. M. (2004). Camptothecin: current perspectives. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 12(7), 1585-1604. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2003.11.036>
- Thurston, D. E. (2006). *Chemistry and Pharmacology of Anticancer Drugs*, CRC.
- Tolis, C., Peters, G. J., Ferreira, C. G., Pinedo, H. M., & Giaccone, G. (1999). Cell cycle disturbances and apoptosis induced by TPT and gemcitabine on human lung cancer cell lines. *European journal of cancer*, 35(5), 796-807. [https://doi.org/10.1016/S0959-8049\(98\)00425-0](https://doi.org/10.1016/S0959-8049(98)00425-0)
- Tyszczyk-Rotko, K., Jaworska, I., & Jędruchiewicz, K. (2019). Application of unmodified boron-doped diamond electrode for determination of dopamine and paracetamol. *Microchemical Journal*, 146, 664-672.

- 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., & Ozkan, S. A. (2011). Electroanalytical methods for the determination of pharmaceuticals: a review of recent trends and developments. *Analytical letters*, 44(16), 2644-2702. <https://doi.org/10.1080/00032719.2011.553010>
- Van den Berg, C. M. (1991). Potentials and potentialities of cathodic stripping voltammetry of trace elements in natural waters. *Analytica chimica acta*, 250, 265-276. [https://doi.org/10.1016/0003-2670\(91\)85075-4](https://doi.org/10.1016/0003-2670(91)85075-4)
- Van der Linden, W. E., & Dieker, J. W. (1980). Glassy carbon as electrode material in electro-analytical chemistry. *Analytica Chimica Acta*, 119(1), 1-24. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)00025-8](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)00025-8)
- Venditto, V. J., & Simanek, E. E. (2010). Cancer therapies utilizing the camptothecins: a review of the in vivo literature. *Molecular pharmaceutics*, 7(2), 307-349.
- Wang J., 2006, *Analytical Electrochemistry*, 3rd ed, Wiley-VCH, New York,1-180.
- Wang, J. (1989). Voltammetry after nonelectrolytic preconcentration in Electroanalytical Chemistry.
- Wang, J., & Kawde, A. N. (2001). Pencil-based renewable biosensor for label-free electrochemical detection of DNA hybridization. *Analytica Chimica Acta*, 431(2), 219-224. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)01318-0](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)01318-0)
- Wang, J., 2000. *Analytical Electrochemistry*. 2nd Ed. Wiley-VCH, New York. S.1-209.
- Wang, S., Zimmermann, S., Parikh, K., Mansfield, A. S., & Adjei, A. A. (2019, August). Current diagnosis and management of small-cell lung cancer. In *Mayo Clinic Proceedings* (Vol. 94, No. 8, pp. 1599-1622). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2019.01.034>
- Weinberg, R. A. (1996). How cancer arises. *Scientific American*, 275(3), 62-70.
- Yakıcıer C., Akarsu N. A. (2007). Türkiye’de Kanser Kontrolü. Ankara: T.C. Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Daire Başkanlığı.Türk Kanser Araştırma ve Savaş Kurumu, Ankara: Bakanlık Yayın No:707, s.:155-159.

- Yardımlı, Y., Alpar, N., & Şentürk, Z. (2018). Voltammetric sensing of triclosan in the presence of cetyltrimethylammonium bromide using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 98(13), 1226-1241. <https://doi.org/10.1080/03067319.2018.1537395>
- Yardımlı, Y., Keskin, E., Levent, A., Özsöz, M., & Şentürk, Z. (2010). Voltammetric studies on the potent carcinogen, 7, 12-dimethylbenz [a] anthracene: Adsorptive stripping voltammetric determination in bulk aqueous forms and human urine samples and detection of DNA interaction on pencil graphite electrode. *Talanta*, 80(3), 1347-1355. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.09.035>
- Yardımlı, Y., & Şentürk, Z. (2014). Electrochemical Behavior of Folic Acid at A Boron-Doped Diamond Electrode: Its Adsorptive Stripping Voltammetric Determination in Tablets. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 11(1).
- Ye, L., Shi, J., Wan, S., Yang, X., Wang, Y., Zhang, J., ... & Liu, Z. (2013). Development and validation of a liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for topotecan determination in beagle dog plasma and its application in a bioequivalence study. *Biomedical Chromatography*, 27(11), 1532-1539.
- 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, J., Guo S., Bond A. M., Marken F., 2004, *Anal. Chem.*, 76, 3619
- Zoski, C. G. (Ed.). (2006). *Handbook of electrochemistry*. Elsevier.