



T.C.
BATMAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

KURŞUN KALEM ELEKTROT İLE
ETOPOSİDE’NİN ELEKTROKİMYASAL
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ VE MİKTAR
TAYİNİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BÜŞRA ATAY

Danışman
Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT

Mart-2022
BATMAN
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Büşra ATAY tarafından hazırlanan “**KURŞUN KALEM ELEKTROT İLE ETO-POSİDE’NİN ELEKTROKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ VE MİKTAR TAYİNİ**” adlı tez çalışması 21/04/2022 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliği ile Batman Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü KİMYA Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof. Dr. Yavuz YARDIM

Danışman

Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Günay ÖNAL

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Osman PAKMA
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

*Bu tez çalışması Batman Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Başkanlığı tarafından BTÜBAP-2021-YL-016 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

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

DECLARATION PAGE

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

Büşra ATAY

Tarih: 21.04.2022

ÖZET**YÜKSEK LİSANS TEZİ****KURŞUN KALEM ELEKTROT İLE ETOPOSİDE’NİN ELEKTROKİMYASAL
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ VE MİKTAR TAYİNİ****Büşra ATAY****BATMAN ÜNİVERSİTESİ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI****Danışman: Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT****2022, 51 Sayfa****Jüri****Prof. Dr. Yavuz YARDIM****Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT****Dr. Öğr. Üyesi Günay ÖNAL**

Bu tez çalışmasında, bitkisel kaynaklı ve antineoplastik bir ajan olan, antikanser etki gösteren etoposid için basit, hızlı ve duyarlı bir voltametrik yöntem geliştirilmiştir. Etoposid’in elektrokimyasal özellikleri ve miktar tayini tek kullanımlık kurşun kalem elektrot (PGE) kullanılarak kare dalga (SW) ve dönüşümlü voltametri (CV) yöntemlerinden yararlanılarak incelenmiştir. SW voltametri yöntemi ile Britton Robinson (BR) tamponu (5 mM SDS içeren pH =3.0) ortamında Etoposid’in +0.563 V (vs. Ag/AgCl) geriliminde (0.00 V ve 60 s ön-deriştirme sonrası) anlamlı voltametrik bir yanıt vermiştir. PG elektrot kullanılarak geliştirilen elektroanalitik yöntem idrar ve ilaç numunelerine başarılı bir şekilde uygulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Anti kanser, Etoposid, Kurşun Kalem Elektrot, Voltametri

ABSTRACT**MS THESIS****ELECTROCHEMICAL PROPERTIES AND DETERMINATION OF ETOPOSIDE
USING PENCIL GRAPHITE ELECTRODE****Büşra ATAY****INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES
OF BATMAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN DEPARTMENT OF CHEMISTRY****Advisor: Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT****2022, 51 Pages****Jury****Prof. Dr. Yavuz YARDIM****Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT****Dr. Öğr. Üyesi Günay ÖNAL**

In this thesis work, A simple, fast and sensitive voltammetric method has been developed for etoposide, a plant-derived antineoplastic agent with anticancer effects. The electrochemical properties and determination of etiposide were investigated using a disposable pencil electrode (PGE) using square wave (SW) and cyclic voltammetry (CV) methods. Etoposide gave a significant voltammetric response at +0.563 V (vs. Ag/AgCl) (0.00 V and 60 s post-concentration) in Britton Robinson (BR) buffer (pH = 3.0 containing 5 mM SDS) by SW voltammetry method. The electroanalytical method developed using PG electrode was successfully applied to urine and drug samples.

Keywords: Anti cancer, Etoposide, Pencil Electrode, Voltammetry

ÖNSÖZ

Bu tezin hazırlanmasında destek ve yönlendirmesini gördüğüm, bilgi birikimiyle, pratikliğiyle yoluma ışık tutan her fırsatta benden yardımlarını ve tecrübelerini esirgemeyen, hoşgörüsü ve mütevaziliğiyle moral ve motivasyon bulduğum bilim emekçisi danışmanım sayın hocam Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT'e katkısından dolayı sonsuz teşekkür ederim.

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, çalışmalarımın her basamağında yanımda olan, bilimsel bilgi birikimini bana aktarmaktan bir kere bile tereddüt etmeyen çalışkanlığı ve güler yüzü ile motive olduğum sayın Dr. Öğr. Üyesi Günay ÖNAL'a çok teşekkür ederim.

Beni bu günlere getiren her sıkıntıda 'Sen halledersin, sana güveniyorum.' cümleleriyle desteğini hep hissettiğim sevgili babam Cengiz TURAN'a, bu hayattaki en büyük şanslarımdan olan kardeşim Burak TURA' a sonsuz teşekkürler.

Hem çalışmalarla ilgili sıkıntılarında hem de yaşamımın tüm sorunlu zamanlarında yanımda olan, elini hep omzumda gördüğüm ve hayatımda çok özel bir yeri olan eşim Aycan ATAY'a çok teşekkür ederim.

Yaşamımda manevi dayanağım olan ve bu yüzden varlıklarına her gün şükrettiğim hayatımın anlamı kızım Duru ATAY ve kıymetli annem Fatma TURAN'a tezimin her aşamasında göstermiş olduğu fedakârlıklar için sonsuz teşekkürler. Ayrıca annem ve kızım gibi hayatıma dokunmuş, güzellik katmış bütün kadınlar, siz de iyi ki varsınız, hepinize minnet ve sevgiyle...

2022

Büşra ATAY

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ	iii
SİMGE VE KISALTMALAR	vi
Simgeler	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Elektrokimya	4
2.1.1. Voltametri	5
2.1.1.1. Doğrusal Tarmalı Voltametri	7
2.1.1.2. Polarografi.....	8
2.1.1.3. Dönüşümlü voltametri.....	9
2.2. Puls voltametrik teknikler	11
2.2.2.1 Normal Puls Voltametrisi.....	12
2.2.2.2. Diferansiyel puls voltametrisi	13
2.2.2.3. Kare dalga voltametrisi	14
2.2.3. Sıyırma Voltametrisi	15
2.2.3.1. Anodik Sıyırma Voltametrisi	15
2.2.3.3. Adsorptif Sıyırma Voltametrisi.....	15
2.2.3.4. Katodik Sıyırma Voltametrisi	16
2.3. Elektrokimyasal Sistemler	16
2.3.3. Voltametride Kullanılan Çalışma Elektrotları.....	19
3. KAYNAK ARAŞTIRMASI	23
3.1. Kanser	23
3.2. ETOPOSİD	27
4. MATERYAL VE YÖNTEM.....	31
4.1. Materyal	31
4.1.1. Voltametrik çalışmalarda kullanılan malzemeler.....	31
4.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	32
4.2. Çözeltilerin hazırlanması	32
4.2.1. Stok çözeltilerin hazırlanması	32
4.2.2. Destek elektroliti çözeltilerinin hazırlanması.....	32
4.3. Elektrokimyasal ölçümler	33

4.3.1. Voltametrik Yöntem.....	33
4.4. Gerçek Numunelerin Analize Hazırlanması	34
5. BULGULAR VE TARTIŞMA	35
5.1. Etoposid'in Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi.....	35
5.1.1. Dönüşümlü voltametri.....	35
5.2. Destek elektroliti ve pH etkisi.....	38
5.3. Sürfaktan Etkisi.....	40
5.4. Biriktirme/sıyırma koşullarının etkisi	41
5.5. Kare-dalga değişkenlerinin etkisi.....	42
5.6. Analitik Çalışma Koşulları.....	43
5.7. Gerçek Örnek Analizleri	45
5.7.1. Flakon çözeltiler.....	45
5.7.2. İdrar örnekleri	47
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	49
KAYNAKÇA.....	51

SİMGE VE KISALTMALAR

Simgeler

A	Amper
mA	Miliamper
μA	Mikroamper
Dk	Dakika
V	Volt
nM	Nanomolar
mV	Milivolt
mL.	Mililitre
mg.	Miligram
μg	Mikrogram
M	Molarite
mM	Milimolar
μM	Mikromolar
I_p	Pik akımı
E	Gerilim
E_p	Pik gerilimi
E_{pa}	Anodik pik gerilimi
E_{pc}	Katodik pik gerilimi
s	Saniye
m	Eğim
V	Gerilim tarama hızı
Hz	Hertz
ΔE_s	Gerilim adımı
ΔE_{sw}	Puls amplitüdü

Kısaltmalar

CV	Dönüşümlü voltametri
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
MS	Kütle spektrometresi
DNA	Deoksi ribo nükleik asit
DMSO	Dimetilsülfoksit
PGE	Kurşun kalem elektrot
RSD	Bağıl standart sapma
SWV	Kare dalga voltametrisi
SW-AdSV	Kare-dalga adsorptif sıyırma voltametrisi
R	İdeal Gaz Sabiti
rpm	Dakikada döngü sayısı

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1. Elektroanalitik tekniklerin şematik gösterimi.....	5
Şekil 2.2. Üç elektrotlu potansiyostat sistem diyagramı.....	7
Şekil 2.3. Doğrusal gerilim tarama.....	7
Şekil 2.4. 1M hidroklorikasit(A) ve 1M hidroklorikasit(B) içinde 4×10^{-4} M Cd^{2+} için polarogramlar; id sınırlayıcı akımı temsil ederken, E1/2 yarım dalga gerilimidir.....	8
Şekil 2.5. Dönüşümlü bir voltametrik deneyde gerilim- zaman uyarma sinyali....	9
Şekil 2.6. Tersinir redoks işlemi için tipik döngüsel voltamogram grafiği.....	10
Şekil 2.7. Redoks çiftinin yükseltgenmiş(Co) ve indirgenmiş(CR) şekillerinin başlangıç gerilimine (a) karşılık gelen dönüşümlü bir voltametrik deney sırasında farklı zamanlarda, ileri ve ters taramalar (b, d) sırasında çiftin biçimsel gerilimine ve sıfır tepken yüzey derişiminin elde edilmesi (c)	11
Şekil 2.8. Normal puls voltametri için uyarma sinyali grafiği.....	13
Şekil 2.9. Diferansiyel Puls Voltametri için uyarma sinyali grafiği.....	14
Şekil 2.10. Esw genişliğini, adım yüksekliğini ΔE , kare dalga periyodunu T, gecikme süresini Td ve akım ölçüm süreleri 1 ve 2'yi gösteren kare dalga formu.....	14
Şekil 2.11. Voltammetrik ölçümler için bir hücrenin şematik diyagramı: WE - çalışma elektrotları; RE - referans elektrot; CE - karşı elektrot. Elektrotlar, hücre kapağındaki deliklerden yerleştirilir.....	16
Şekil 2.12. Voltametrde kullanılan çalışma elektrotları.....	17
Şekil 2.13. Ticari kurşun kalem(A) ve kalem-ucu grafit(B) elektrodunun şematik gösterimi.....	22
Şekil 3. 1. Kanserin evreleri	23
Şekil 3. 2. Kanserin 10 temel özelliği.....	24
Şekil 3. 3. Hücre proliferasyonunun (çoğalmasının) evreleri (hücre döngüsü)	25
Şekil 4. 1. AUTOLAB, PGSTAT128N cihazı	36

Şekil 5. 1. PG elektrot üzerinde 7.05×10^{-4} M Etoposid'in BR (pH 3.0, sürfaktanlı ve sürfaktansız) tamponu içinde iki döngülü dönüşümlü voltametri eğrileri. Gerilim tarama hızı, 100 mVs^{-1} , Kesikli çizgi; destek elektrolit.	36
Şekil 5. 2. 7.05×10^{-4} M Etoposid'in BR (5 mM SDS içeren pH 3.0) tamponu ortamında gerilim tarama hızlarıyla elde edilen dönüşümlü voltamogramları. Hız Taraması, (1)25, (2)50, (3)100, (4)200, (5)300, (6)400, (7)500, (8)600, (9)700 mV/s.	37
Şekil 5. 3. 7.05×10^{-4} M Etoposid'in PG elektrot üzerinde BR (5 mM SDS içeren pH 3.0) tamponu ortamında farklı tarama hızlarında elde edilen tarama hızı akım ilişkisi.	37
Şekil 5. 4. 4.23×10^{-5} M Etoposid BR (pH 3.0) , fosfat (pH 2.0 3.0, 7.4 ve 9.0), asetat (pH 4.8) tamponları ve 0.5 M H_2SO_4 içinde PG elektrot kullanılarak elde edilen SWV eğrileri SWV değişkenleri; frekans 20 Hz, adım gerilimi 0.005 mV, amplitüd 0,03 mV.	38
Şekil 5. 5. 4.23×10^{-5} M Etoposid'in BR tamponu içinde (pH 2.0- 12.0) PG elektrot kullanılarak elde edilen SWV eğrileri. SWV değişkenleri: frekans 20 Hz, adım gerilimi 0,005 mV, amplitüd 0,03 mV.	39
Şekil 5. 6. BR tamponu içinde (pH:2.0-12.0) aralığında pH'nin akım ve gerilim ile olan ilişkisi.	40
Şekil 5. 7. Sürfaktan örneğinin BR tamponu (pH 3.0) içerisinde kaydedilen akım eğrileri, TRT, SDS ve CTAB içerisindeki akım eğrileri. ($C_{\text{Etoposide}} = 1,41 \times 10^{-5}$ M). Elektrot, PG; biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans 20 Hz, adım gerilimi 0,005 mV, amplitüd; 0,03 mV.	41
Şekil 5. 8. Etoposidin farklı derişimlerinin [(1) 0.705, (2) 1.41, (3) 2.115, (4) 2.82, (5) 3.525, (6) 4.23, (7) 4.935, (8) 5.64, (9) 6.34 μM] BR tamponu (pH 3.0) içerisinde kaydedilen SW eğrileri, Elektrot, PG; biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans 20 Hz, adım gerilimi 0,005 mV, amplitüd; 0.03 mV. kesikli çizgi destek elektroliti.	45
Şekil 5. 9. Flakon örneğinin BR tamponu (5 mM SDS içeren pH 3.0) ortamında kaydedilen akım eğrileri, (1) flakon çözeltisi, (2)1,75, (3) 2,25, (4) 2,75, (5) 3,25, (6) 3,75, (7) 4,25, (8) 4,75 μM standart eklemeler sonrası derişim. Destek elektrolit: Kesikli çizgi, biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans 20 Hz, adım gerilimi 0,005 mV, amplitüd; 0,03 mV.	46
Şekil 5. 10. İdrar örneğinin BR tamponu (5 mM SDS içeren pH 3.0) ortamında kaydedilen akım eğrileri, (1) 0.33, (2)1.76, (3) 2.47, (4) 3.17, (5) 3.88 ve (6) 4.58 μM standart eklemeler sonrası derişim. İlave yapılmamış idrar numunesi: Kesikli çizgi , biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans 20 Hz, adım gerilimi 0,005 mV, amplitüd; 0,03 mV.	48

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 3.1. Etoposid bileşiğinin moleküler yapısı ve genel özellikleri	27
Çizelge 3.2. Etoposite'nin farklı elektrokimyasal yöntemler ile yapılmış çalışmaların analitik performans özellikleri.....	30
Çizelge 5.1. Etoposid tayini için voltametrik yöntem ile elde edilen en iyi deneysel ve aletsel parametreler.....	43
Çizelge 5.2. Etoposid içeren ETOSİD 50mg/2.5 mL flakonlarda SW-AdSV analiz bulguları	46
Çizelge 5.3. SW-AdSV yöntemi ile Etoposid'in idrar numunelerinde elde edilen sonuçları.....	48

1.GİRİŞ

Günümüzde beslenme, yaşlılık, çevresel ve genetik yatkınlığa bağlı olarak hızla artan kanser hastalıklarının önlenmesi/iyileştirilmesi için sınırsız sayıda çalışmalar yapılmaktadır. Ülkeler bu çalışmalar için büyük bütçeler ayırmaktadır. Bu anlamda vücutta kansere sebep olan hücreleri iyi anlamak ve tanımak gerekmektedir. Kanser in işleyişinde etkin olan bileşenlerin neler olduğunu, hangi yapılardan, organlardan, ne koşullarda üretilip sentezlendiği, vücutta nasıl yol aldığı ve zarar mekanizmasının nasıl geliştiğini keşfetmek son derece önemlidir. Bu maksatla uygun analizlerin veya teşhislerin zamanında yapılması ne kadar önemliyse kanser hücresinin olumsuz etkilerini azaltmak veya tamamen ortadan kaldırmak için akademik çalışmaların yapılması da son derece önemlidir. Her ne kadar yeni ilaç ve farklı tedavi yöntemleri olsa da gelişen teknoloji ve yapılan araştırmalar sonucunda bu alandaki koşullar her geçen gün dahada iyileştirilebilmektedir. Bununla birlikte daha az toksik ilaçların denenmesiyle günden güne daha güvenli bir tedavi ortamı oluşturulabilmektedir. Bu durum tedavi sürecinde kullanılan farmasötik bileşenlerin doğru, hızlı ve kolay bir şekilde analizlerinin yapılması için ayrıca önem arz etmektedir. Disiplinlerarası çalışmalarda; bu ve buna benzer analizlerin gerçekleşmesinde analitik yöntemlerin kullanıldığı bilinmektedir. Bu anlamda disiplinlerarası çalışmalarda, özellikle analitik kimya analitin farklı ortamlarda analizi için, spektroskopik, kromatografik ve elektrokimyasal yöntemleri kullanma ve uygulamada diğer disiplinlere göre bir adım daha öne çıkmaktadır.

Maddelerin bileşenlerinin ve yapılarının saptanmasını inceleyen kimyanın alt ana bilim dalı olan analitik kimya; kimyasal işlemlerin bilimsel amaçla kullanıldığı ve çözüm üretmemizi sağlayan alternatif yollar geliştiren özellikle analitik yaklaşım için gerekli temel bilgi ve yöntemler ile bunların mevcut ve yeni teknolojilerle uyumunu ve gelişmesini içeren bir bilim dalıdır. Analitik kimyanın tanımından da anlaşılacağı üzere bilim insanları uğraştıkları maddeyi en doğru şekilde keşfetmek ve analiz etmek için analitik yöntemleri kullanırlar. Bu analitik yöntemlerden olan elektrokimya, kimyasal tepkimeler ile elektrik enerjisi arasındaki ilişkiyi temel alan ve bu süreçte elektroaktif olan maddenin hem kalitatif hemde kantitatif özelliklerini inceleyen bir bilim dalıdır. Elektroanalitik yöntemler, farklı yükseltgenme/in-dirgenme basamağındaki türlerin kolayca saptanabilmesi, bu yöntemlerin uygulanmasını

sağlayan cihazların kromatografik ve spektroskopik cihazlara göre çok daha ucuz, kullanımlarının kolay olması ve genellikle kimyasal türlerin analitik derişimini belirtmesi gibi önemli avantajlara sahiptirler. Özellikle voltametrik tekniklerle gerçekleştirilen ilaç bilimi, klinik ve adli tıp analizleri, madde analizlerin yapılabilir olmasının yanında numunenin rahatlıkla ve kısa zaman içinde hazırlanabilmesi ve analizin hızlı bir şekilde gerçekleştirilebilir olması araştırmacılar için etkileyici olmaktadır.

Kanser, dünyada ölümle sonuçlanan hastalıklar arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Kanser tedavisinde; radyoterapi, kemoterapi ve hormon tedavisi, en fazla kullanılan yöntemlerdir. Bu yöntemlerin olumlu ve kabul edilebilir birçok yönü olmasına rağmen bu yöntemler uygulanırken sağlıklı hücrelere de zarar görmektedir. Kemoterapide, tümör hücrelerini öldürmek veya büyümesini kontrol etmek için sitotoksik veya sitostatik ilaçlar uygulanır. Bu ilaçların uygulanmasında hasta yanında bulunan kişiler, üretim şirketleri ve bu şirketlerdeki çalışanlar, sağlık çalışanları ilaçların etkisine maruz kalmaktadırlar. Bu durum insan sağlığı açısından ciddi anlamda risk oluşturmaktadır.

Antineoplastik bir ajan olan Etoposid, güçlü bir klinikdir. Bitki kaynaklı bileşikler, taksol, vinblastin, vinkristin, kamptotesin türevleri, topotekan ve irinotekan ve epipodofilotoksiniden türetilen etoposid dâhil olmak üzere klinik olarak yararlı birçok anti-kanser ajanının önemli bir kaynağı olmuştur. Küçük akciğer kanserleri, lenfoma, lösemi'nin AIDS ile ilişkili yumuşak doku kanseri dâhil olmak üzere birçok tümöre karşı etkilidir. Kan kanseri olan hastalarda kemik iliği nakli için hazırlık aşamasının bir parçası olarak kullanılır. Etoposidin etki mekanizması hakkında bilinenler ise DNA topoizomera II ile etkileşime girerek ya da serbest radikaller oluşturarak DNA kopmalarına neden olan bir ilaç olduğudur.

Yapılan literatür araştırmasına göre, Etoposid üzerinde farklı analitik yöntemlerin kullanıldığı çalışmaların olduğu tespit edilmiştir. Yukarıda sunulan bilgilerin ışığında belirlenen tez çalışmasında; kanser tedavisinde kullanımı giderek yaygınlaşan Etoposid bileşiğinin redoks özelliklerinin incelenmesine ve tayinine uygun voltametrik bir yöntemin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Böylece özetle sunulan bilgilerden faydalanılarak; sunulan bu tez çalışmasında, antineoplastik ilaç grubunda yer alan ve bir alkileyici ajan özelliği taşıyan "Etoposid" bileşiğinin analizi için tek kullanım özelliğinde olan kurşun kalem elektrot kullanılarak elektroanalitik etkinliği araştırılacaktır.

Tez çalışması kısaca aşağıdaki aşamalar takip edilerek ilerleyecektir:

- ❖ İlk bölümde Kurşun Kalem elektrot üzerinde farklı destek elektrolit çözeltileri içinde geniş bir pH aralığında, Etoposid bileşiğinin elektrokimyasal davranışı detaylı bir şekilde incelenmesi,
- ❖ İkinci bölümde ise Edopsidin analizine ilişkin bir voltametri tekniği geliştirilecek ardından bu tekniğin optimum koşullarının belirlenmesi,
- ❖ Üçüncü bölümde ise önceki bölümlerden elde edilen bilgiler çerçevesinde Edopsidin farmasötik ve idrar numunelerinde analizine ilişkin yöntemin analitik validasyon çalışmaları yapılacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Elektrokimya

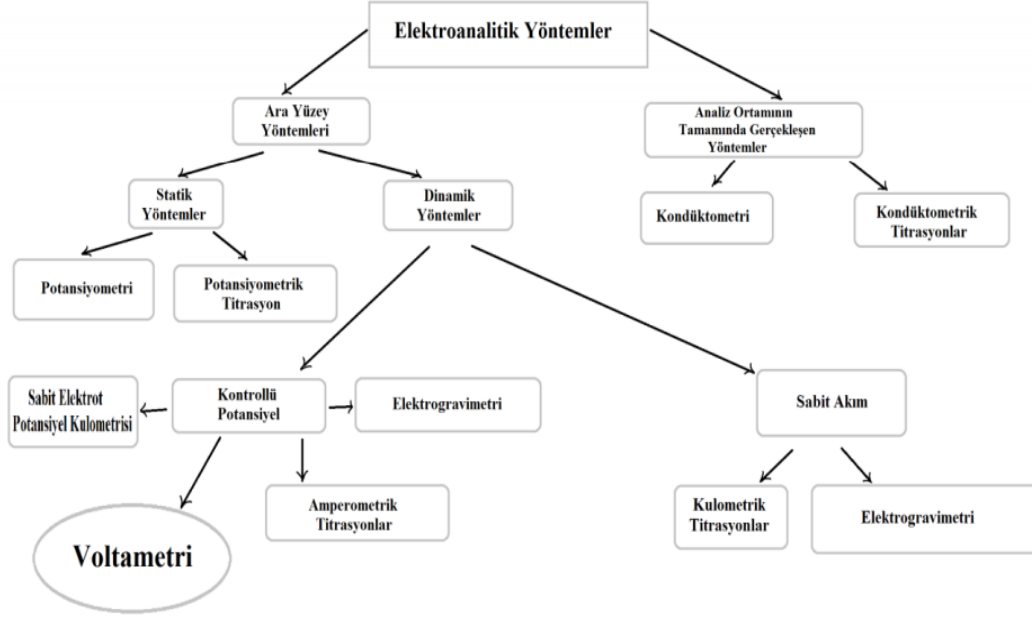
Elektrokimya, maddelerin elektrokimyasal özelliklerinden yararlanarak kimyasal tepkimeler de indirgenme-yükseltgenme olaylarının gerçekleşmesi ile alınan ve verilen elektronların hareketini inceleyen bir bilim dalıdır. Elektrokimyanın esas alınarak kullanılan yöntemler; redoks titrasyonları, potansiyometri, kulometri, voltametri, hız/denge sabitleri, analitin eser düzeyde analizi, türlendirme, iletken polimer sentezi gibi farklı alanlar gösterilebilir. Elektroanalitik yöntemler, birçok yükseltgenme basamağındaki türlerin kolayca tespit edilmesini sağlar. Bu yöntemlerin uygulanmasını sağlayan cihazlar kromatograflara ve spektrofotometrelere göre çok daha ucuzdur. Bu gibi üstünlükler sayesinde elektrokimyanın popüleritesi her geçen gün daha da artmaktadır. Elektroanalitik teknikler potansiyometrik ve potansiyostatik teknikler olmak üzere ikiye ayrılırlar. Potansiyometride, akım sıfır olduğu koşullarda deneyler yapılırken potansiyostatik yöntemler ise gerilim kontrollü şartlarda gerçekleştirilmektedir. Çözelti ve elektrot arasındaki yük iletimi incelenir.(Wang, 2006) Elektroanalitik yöntemler ara yüzeyde gerçekleşen değişimlerin incelendiği yöntemler ve çözelti ortamının tümünde meydana gelen yöntemler olmak üzere 2 grup altında toplanabilir(Şekil 2.1). Elektroanalizde deneyler elektrokimyasal hücre olarak adlandırılan bir sistem içinde yapılmaktadır. Bu hücre; elektrot, elektrolit ve ölçüm devresi kısımlarından oluşmaktadır.

Elektrolit, su veya organik çözücülerde %100 iyonlaşarak elektriğin iletimini sağlayan bileşenlerdir. Sulu ortamda sıklıkla kullanılan elektrolitler, HCl, NaOH vb. iken organik çözücülerde ise tetrabütil amonyum perklorat, tetrametil amonyum klorür gibi tersiyer amonyum tuzları kullanılmaktadır.

Ölçüm devresi, elektrokimyasal ölçümlerin yapıldığı cihaz ve onun bağlantılarıdır. Ölçüm devresi kullanılacak elektrokimyasal yöntemle göre değişmektedir. Akım veya gerilim kaynağı olarak potansiyostat/galvanostat cihazı kullanılırken iletkenlik ölçümlerinde konduktometre kullanılır.

Elektrotlar, bir elektriksel iletkenlik özelliği gösteren ve redoks reaksiyonlarında kullanılan malzemelerdir. Voltametri, çalışma elektrotunun tam polarize olduğu şartlarda çalışmanın yapıldığı bir elektroanalitik tekniktir. Burada kullanılan çalışma elektrotunun yüzeyi

genellikle birkaç milimetre kareden daha küçüktür. Voltametri, elektroaktif organik ve inorganik maddelerin çeşitli ortamlardaki çözeltilerinden uygun koşullarda elde edilen akım eğrilerinin (voltamogram) karakteristiklerini değerlendiren analiz tekniğidir.



Şekil 2.1. Elektroanalitik yöntemlerin şematik gösterimi (Gökçe, 2004)

2.1.1. Voltametri

Voltametri, çalışma elektrodu ile polarize bir elektrot kullanılarak çeşitli ortamlarda redoks tepkimesi ile akım-gerilim ve derişim işlemlerinin yapılması ve incelenmesine dayanan bir elektroanalitik yöntemdir. (Skoog, 1998) Çalışmanın türüne göre gerilim kademeli veya sürekli olarak değiştirilir ve akım ölçülür. Elde edilen eğrilerin şekli, gerilim değişimin hızına ve çözeltinin karıştırılıp karıştırılmamasına veya hareketsiz kalmasına bağlıdır (Bard, vd. 2000).

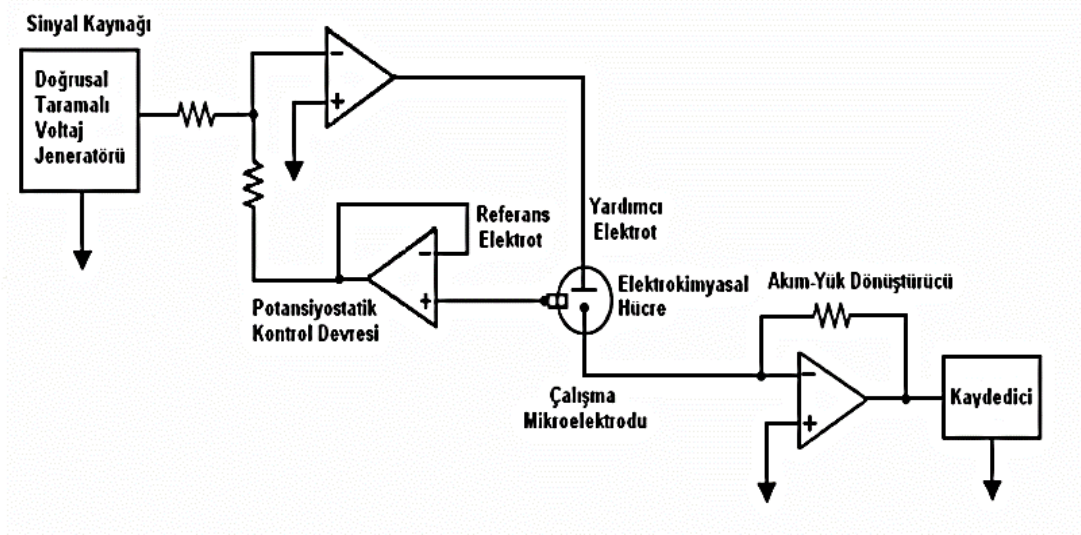
Voltametrik tekniklerin; düşük derişimlerde metallerin, organik ve inorganik bileşiklerin belirlenmesine olanak sağlaması (Fifield, 2000) elektroaktif türlere karşı seçici (Barek, vd. 2001, s.556-562) ve aynı zamanda ucuz ve kolay olması önemli avantajlar sunmaktadır. Voltametrik teknikler; çalışma elektrotunun yapısına ve destek elektrolitin türüne göre oluşan yükseltgenme/indirgenme süreçleridir. Aynı zamanda organik ve inorganik bileşiklerin elektron aktarım süreçleri ve bunların çalışmaları hakkında detaylı bilgiler sunmaktadır.

(Skoog, 1998). Son yıllarda geliştirilen farklı tür elektrot şekil ve tasarımı elektrodun aktivasyon işlemleri "katı elektrot voltametrisi"ni gündeme taşımıştır. Katı elektrot voltametrisi yeni yöntemler kullanılarak değişik derişim düzeylerinde çalışmaya imkan vermesi nedeniyle bu teknikleri üstün hale getirmiştir. (Czae ve Wang, 2000, s.921- 928;Barek, vd. 2001, s.556-562)

Voltametrik teknikler çok farklı analizlerde tercih edilmektedir. Bu tekniklerin en önemli özelliği çok düşük derişimdeki maddelerin (10^{-10} - 10^{-12} M) analizine olanak tanınmasıdır. Bu deneylerde düşük düzeyde analiz imkanı, duyarlı ve hızlı bir şekilde deneylerin tamamlanması ve elde edilen bilgilerin doğruluğu farmasötik analizler gibi direk insan sağlığıyla alakalı olması son derece önemlidir. Tüm bu avantajlar doğrultusunda son yıllarda farmasötik maddelerin kalitatif ve kantitatif analizlerine yönelik çalışmalarda voltametrik teknikler çok önemli bir yere sahip olmuşlardır.

Voltametrik analizler üçlü hücre sisteminde çalışma, yardımcı ve referans elektrot bulunmaktadır. Bu voltametrik sisteminde; farklı hacim boyutlarına sahip cam hücreden, manyetik karıştırıcıdan ve sisteme sinyal sağlayan potansiyostat kaynağından (gerilim) oluşur.(Reinke ve Simon, 2002, s.1256-1260; Colombo ve Van den Berg, 1998, s.229-240)

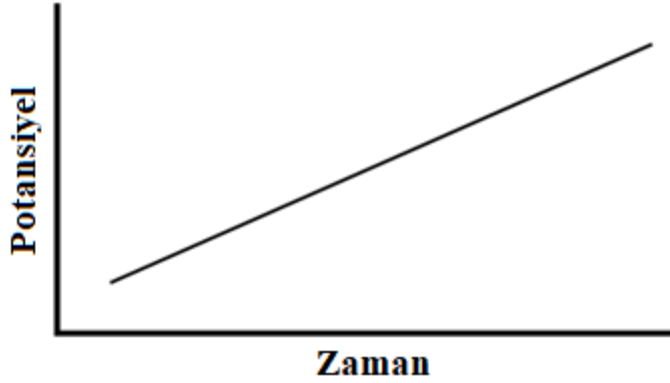
Sistemdeki çalışma elektrotunun gerilimi anodik yâda katodikyönde değiştirilir. Elektrotun yüzeyi olabildiğince küçük tutularak tam polarizasyon çalışma koşulları sağlanır. Gümüş/gümüş klorür veya doygun kalomel elektrot referans elektrotu olarak kullanılır. Karşılaştırma elektrotunun gerilimi elektrokimyasal analiz boyunca sabit tutulur. Genellikle yüzeyi büyük tutulan yardımcı elektrot olarak kullanılan inert platin hücredeki geçirgenliği sağlamak için kullanılır. Doğrusal taramalı gerilim elde etmek için sinyal kaynağı jeneratörü bu amaç için kullanılmaktadır. Direnci çok büyük olan ($\sim 10^{11} \Omega$) sinyaller potansiyostatik kontrol devresine gelir. Bu şekilde akım ihmal edilmiş olur. Buradan gelen akımı doğrudan yardımcı elektrot üstüne alır. Potansiyostatik kontrol devresi akımı düzenleyerek gerilim jeneratörü ile karşılaştırma ve çalışma elektrotlarının gerilimlerinin düzgün ve eşit olmasını sağlar. Elde edilen akım gerilime dönüştürülerek zamana karşı grafiğe geçirilir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Üç elektrotlu potansiyostat sistem diyagramı(Bard, 2001)

2.1.1.1. Doğrusal Taramalı Voltametri

Doğrusal taramalı voltametri de gerilim sabit aralıklarda kullanılır. Bu voltametri türü ilk bulunan ve uygulananıdır. Bununla birlikte, bu voltametri tekniğinde de gerilim bir alt limitten bir üst limite doğru taranmaktadır. Uygulanan gerilimin değerlerine bağlı olarak akım sonuçları, zamana karşı grafiğe geçirilir(Wang, 2006, s.1-180). Şekil 2.3’deki gibi voltamogramlar elde edilir.

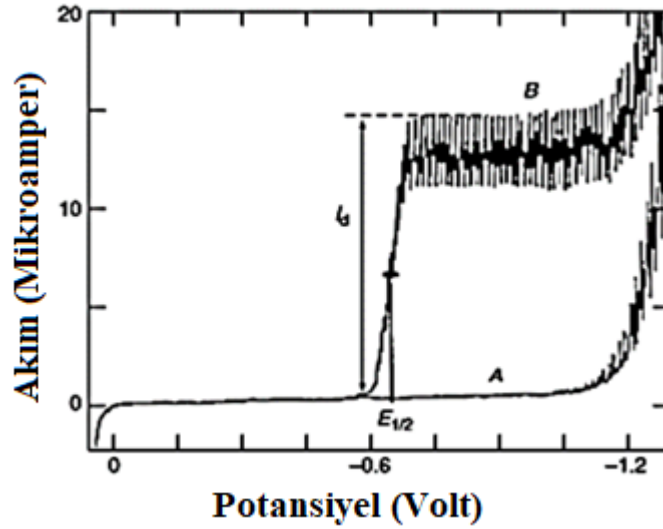


Şekil 2.3. Doğrusal gerilim tarama

2.1.1.2. Polarografi

Voltametri, Çekoslovak Kimyacı J. Heyrovsky'nin "polarografi" tekniği üzerine 1920 yılların başında yaptığı bilimsel çalışmalar ile başlamıştır. Bu teknik diğer tekniklere göre konveksiyonun engellenmiş olması ve damlayan civa elektrot (DME) çalışma elektrotu olarak kullanılması bakımından diğer voltametrik yöntemlerden ayrılır (Harvey, 2000, s.508-527). Bu teknik ile nötral moleküller, anyonlar/ katyonlar ve birçok organik bileşik analiz edilebilir. Aynı zamanda çok fazla sayıda madde elektroaktif olduğu için bu teknik ile analiz edilebilirler. (Barek, vd. 2001, s.556-562)

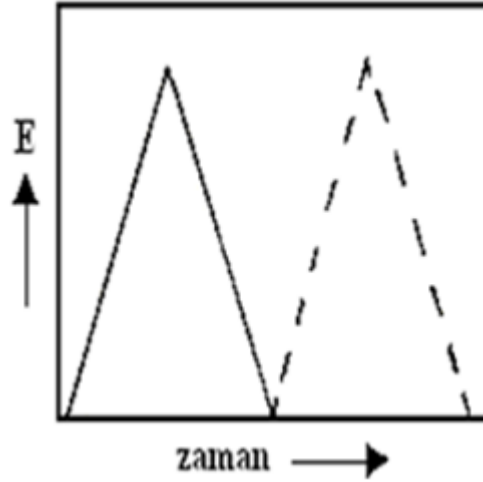
DME'nin çalışma elektrotu olarak kullanıldığı voltametrik teknik polarografi olarak bilinmektedir. DME çalışma elektrotunun gerilimi referans elektrotu karşı değiştirilip hücredeki akımın kaydedilmesi bu tekniğin çalışma esasını teşkil etmektedir. Elektroaktif maddenin çalışma elektrotu olan DME üzerinde indirgenmesi/yükseltgenmesi sonucu akım meydana gelir. Burada oluşan akıma karşılık gerilim grafiği (polarogram) çizilir. (Wang, 2006, s.1-180)



Şekil 2.4. 1M hidroklorikasit(A) ve 1M hidroklorikasit (B) içinde 4×10^{-4} M Cd^{2+} için polarogramlar; id sınırlayıcı akımı temsil ederken, $E_{1/2}$ yarım dalga gerilimidir. (Wang, 2006, s.1-180).

2.1.1.3. Dönüşümlü voltametri

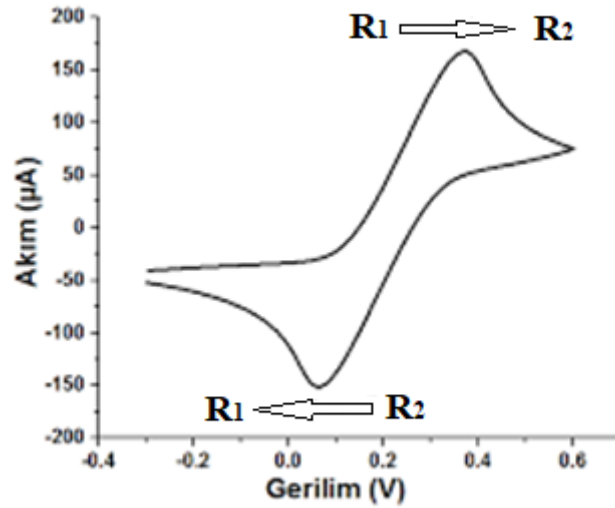
Dönüşümlü voltametri (CV), elektrokimyasal tepkimeler hakkında kalitatif bilgi elde etmek için en çok kullanılan tekniklerden biridir. CV'nin gücü, redoks proseslerinin termodinamiği, heterojen elektron transfer tepkimelerinin kinetiği ve birleşik kimyasal tepkimeler veya adsorpsiyon prosesleri hakkında hızlı bir şekilde önemli bilgiler sağlama kabiliyetinden kaynaklanmaktadır. CV ölçümleri, elektroanalitik bir çalışmada genellikle gerçekleştirilen ilk deneylerden biridir. Özellikle, elektroaktif analitlerin redoks gerilimlerinin hızlı bir konumunu ve ortamın redoks işlemi üzerindeki etkisinin uygun bir şekilde değerlendirilmesini sağlar. CV tekniğinde, gerilim ileri ve geri yönlerde uygulanmaktadır. (Şekil 2.5). Elde edilen veriler gerilime karşı akımın grafiğe geçirilmesi ile voltamogramlar elde edilir. Bu voltametri tekniğinde de üçlü elektrot sistemleri kullanılır. Bu teknik durgun sistemde karıştırılma olmaksızın yapılır ve CV'de hız demek difüzyon demektir. Analit ile elektron arasındaki alış-veriş voltamogram üzerinden takip edilmektedir. CV, üçgen bir gerilim dalga formu kullanarak sabit çalışan bir elektrotun gerilimini (karıştırılmamış bir çözümde) doğrusal olarak taramaktan oluşur (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Dönüşümlü bir voltametrik deneyde gerilim- zaman uyarma sinyali.(Wang, 2006, s.1-180)

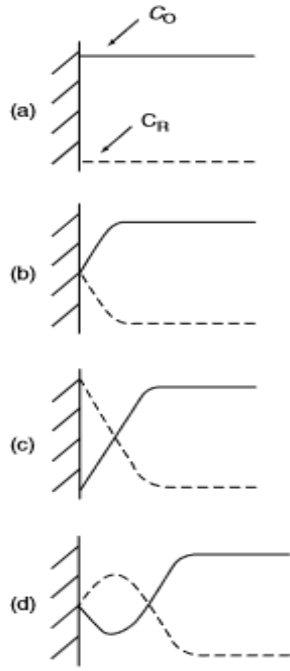
Şekil 2.6 tek bir gerilim döngü sırasında bir redoks çiftinin beklenen yanıtını göstermektedir. Bu nedenle, ilk yarı döngü için, azalmanın olmadığı bir değerden başlayarak, negatif giden bir gerilim taraması seçilir. Uygulanan gerilim redoks işlemi için karakteristik

E° 'ye yaklaştıkça, katodik akım bir zirveye ulaşılan kadar artmaya başlar. İndirgeme işleminin gerçekleştiği gerilim bölgeyi geçtikten sonra gerilim taramanın yönü tersine çevrilir. Ters tarama sırasında, R molekülleri ileri yarım döngüde üretilir ve yüzeyin yakınında birikir, tekrar başlangıca ulaşır yeniden yükseltgenir ve bu da anodik bir tepe oluşturur. (Wang, 2006, s.1-180)



Şekil 2.6. Tersinir redoks işlemi için tipik döngüsel voltamogram grafiği.(Wang, 2006, s.1-180)

Dönüşümlü voltamogramdaki karakteristik pikler, elektrot yüzeyinin yakınında difüzyon tabakasının oluşumundan kaynaklanır. Bunlar, gerilim tarama sırasında derişim-mesafe özelliklerini dikkatlice inceleyerek en iyi şekilde anlaşılabilir. Örneğin, Şekil 2.7, (a) başlangıç gerilim değerine, (b, c) çiftin biçimsel gerilimine (sırasıyla ileri ve geri taramalar sırasında) karşılık gelen farklı zamanlarda reaktan ve ürün için dört derişim gradyanını gösterirken ve (c) sıfır tepken yüzey derişiminin elde edilmesini ifade eder. Sonuçta ortaya çıkan akım pikleri, bu nedenle derişim gradyanının zamanla sürekli değişimini yansıtır. Bu nedenle, pik sinyal şiddetindeki artış, difüzyon kontrolünün elde edilmesine karşılık gelirken, akım düşüş (tepe noktasının ötesinde) sergiler (uygulanan gerilimden bağımsız). Bu nedenlerden ötürü, ters akım, ileri akım ile aynı şekle sahiptir. Ultra mikro elektrotların kullanımı - kütle taşıma sürecine radyal (doğrusal) difüzyonun hakim olduğu sigmoid şekilli bir dönüşümlü voltamogram ile sonuçlanır.(Wang, 2006, s.1-180).



Şekil 2.7. Redoks çiftinin yükseltgenmiş(Co) ve indirgenmiş(CR) şekillerinin başlangıç gerilimine (a) karşılık gelen dönüşümlü bir voltametrik deney sırasında farklı zamanlarda, ileri ve ters taramalar (b, d) sırasında çiftin biçimsel gerilimine ve sıfır tepken yüzey derişiminin elde edilmesi (c) (Wang, 2006, s.1-180)

CV ile elde edilen voltamogramların tarama hızı ile değişimi, elektrot ve elektrolit yüzeyinde meydana gelen süreçlerin anlaşılması ve yorumlanması hususunda detaylı bilgiler sunmaktadır. Bu elektrokimyasal süreçte meydana gelen olayların anlaşılması ve aktarılan elektron basamak süreçleri voltamogramlardan elde edilebilir. CV ile çözelti içinde bulunan moleküller veya iyonlar elektrot yüzeyinde adsorbe olabilmektedir ve aralarında çeşitli etkileşimler olabilir. Bu etkileşim elektrostatik çekim kuvvetleri olabildiği gibi zayıf etkileşime sahip iyon-dipol etkileşimi de olabilmektedir.(Bard ve Faulkner, 2001;Gosser, 1994)

2.2.2. Puls voltametrik teknikler

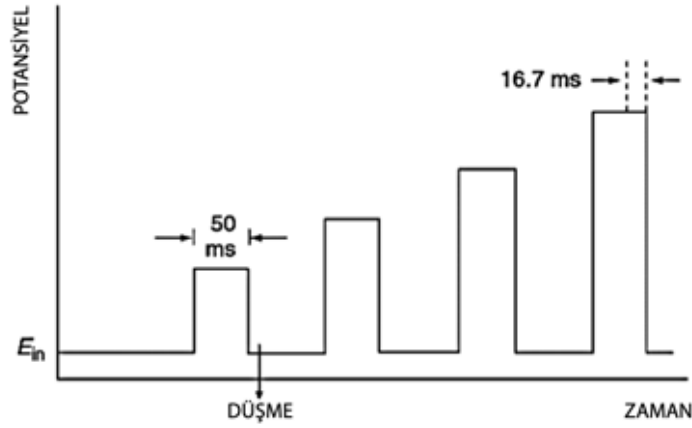
Puls voltametrik teknikler, voltametrik ölçümlerin algılama sınırlarını düşürmeyi amaçlamaktadır.(Barker, vd. 1952, s.685) Bu tür teknikler, faradaik ve faradaik olmayan akımlar arasındaki oranı önemli ölçüde artırarak, 10^{-8} M derişim seviyesine kadar analiz im-

kanı sunmaktadır. Büyük ölçüde iyileştirilmiş performansları nedeniyle, modern puls teknikleri, analitik laboratuvarlarda büyük ölçüde klasik polarografinin yerini almıştır. Çeşitli puls tekniklerinin tümü, örneklenmiş bir akım/gerilim adım (kronoamperometri) işlemine dayanmaktadır. Her biri yaklaşık 50 ms'lik bir süreye sahip olan bu tür gerilim adımların bir dizisi, çalışma elektrotuna uygulanır. Gerilim kademelendirildikten sonra, şarj akımı hızla (üssel olarak) ihmal edilebilir bir değere düşerken, faradaik akım daha yavaş azalır. Böylece, puls ömrünün sonundaki akımı örnekleyerek, şarj akımına karşı etkili bir ayırım sağlanmış olur. Çeşitli puls voltametrik teknikler arasındaki fark, uyarma dalga biçimi ve mevcut örnekleme işlemidir. Hem normal puls hem de diferansiyel puls voltametri ile DME kullanıldığında her cıva damlası için bir gerilim puls uygulanır. Düşme süresinin kontrol edilmesiyle puls, cıva damlasının maksimum büyümesiyle senkronize edilir. Bu noktada, düşme ömrünün sonuna doğru, faradaik akım maksimum değerine ulaşırken, şarj akımının katkısı minimumdur.(Wang, 2006, s.1-180)

Puls voltametrik teknikler; “normal puls”, “diferansiyel puls-DP” ve “kare-dalga-SW” voltametrik teknikler olarak üç başlık altında incelenir. Bu tekniklerden DP ve SW voltametrik teknikler günümüzde birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır.

2.2.2.1 Normal Puls Voltametrisi

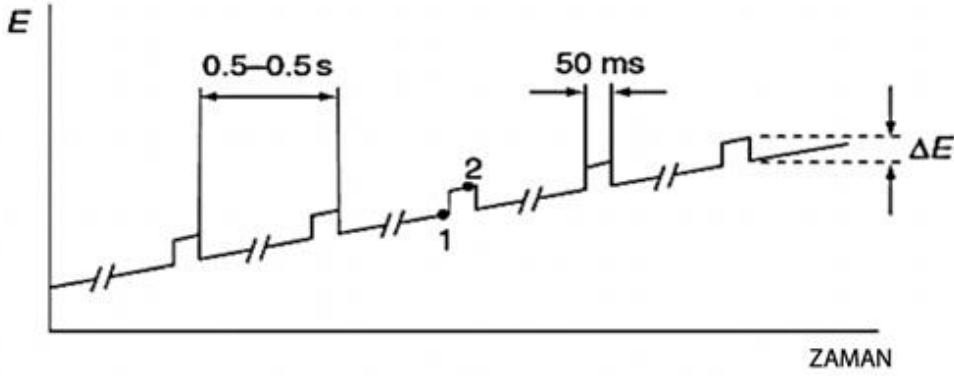
Normal puls voltametri, her damla ömrünün sonuna yakın önceden seçilmiş bir zamanda ardışık damlalara uygulanan bir dizi artan genlik pulstan oluşur.(Barker, vd. 1960, s.79) Pulsar arasında elektrot, analitin hiçbir tepkimenin meydana gelmediği sabit bir gerilimde tutulur(Şekil 2.8). Pulsun genliği, her damlada doğrusal olarak artar. Puls uygulandıktan yaklaşık 40 ms sonra akım ölçülür, bu sırada şarj akımının katkısı neredeyse sıfırdır. Normal puls polarografi, katı elektrotlar kullanıldığında da avantajlı olabilir. Özellikle, işlemin büyük bir bölümünde düşük bir başlangıç gerilimini muhafaza ederek, yüzey kirlenme problemlerini (adsorbe edilmiş tepkime ürünlerinden dolayı) hafifletmek mümkündür. İlgili bir teknik olan ters puls voltametri, normal puls voltametrinin ayna görüntüsü olan bir puls dizisine sahiptir.(Osteryoung, vd. 1980, s.62) Bu durumda, ilk gerilim dalgasının platosundadır (yani, indirgemenin ve ya yükseltgenmenin meydana geldiği yer) ve bir dizi azalan genlikte pozitif giden pulsar uygulanır.(Wang, 2006, s.1-180)



Şekil.2.8. Normal puls voltametri için uyarma sinyali grafiği

2.2.2.2. Diferansiyel puls voltametrisi

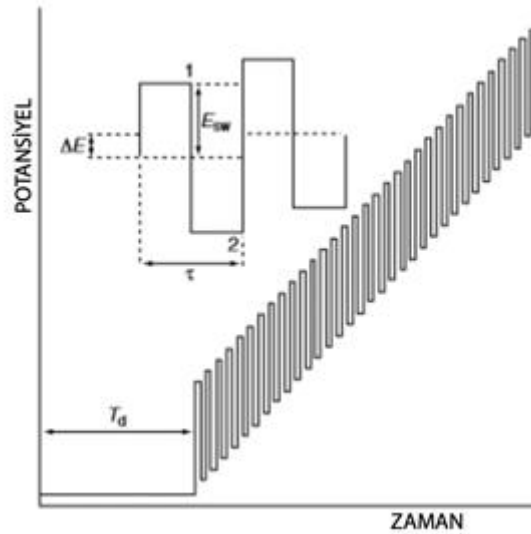
DP voltametri, organik ve inorganik türlerin eser düzeylerini analiz etmek için oldukça kullanışlı bir tekniktir. DP voltametrinde, doğrusal bir gerilim rampasında üst üste binen sabit büyüklük pulsların düşüşün bitiminden hemen önceki bir zamanda çalışan elektroda uygulanır (Şekil 2.9). Akım, puls uygulamasından hemen önce (1'de) ve tekrar puls ömrünün sonunda (~ 40 ms sonra, 2'de, şarj akımı azaldığında) olmak üzere iki kez uygulanır. İlk akım, enstrümental olarak saniyeden çıkarılır ve bu akım farkı $[\Delta i = i(t_2) - i(t_1)]$ uygulanan gerilime karşı çizilir. Elde edilen DP voltamogram, yüksekliğe karşılık gelen analitlerin derişimi ile doğru orantılı olan akım tepe noktalarından oluşur.



Şekil.2.9. Diferansiyel puls voltametri için uyarma sinyali grafiği

2.2.2.3. Kare dalga voltametrisi

SWV, basamaklı merdiven gerilimi üzerine bindirilmiş simetrik bir kare dalgadan oluşan bir dalga formunun çalışan elektroda uygulandığı büyük genlikli bir diferansiyel tekniktir. (Osteryoung, vd. 1985, s.101A) (şekil 2.10) Akım, her bir kare dalga döngüsü sırasında iki kez, bir kez ileri pulsun sonunda (t_1 'de) ve bir kez de ters pulsun sonunda (t_2 'de) uygulanır. SW modülasyon genliği çok büyük olduğundan, ters pulslar ürünün (ileri pulsun) ters tepkimesine neden olur. İki ölçüm arasındaki fark, temel merdiven gerilimine göre çizilir.



Şekil 2.10. Esw genliğini, adım yüksekliğini ΔE , kare dalga periyodunu T , gecikme süresini T_d ve akım ölçüm süreleri 1 ve 2'yi gösteren kare dalga formu.

2.2.3. Sıyırma Voltametrisi

Sıyırma voltametrisi, inorganik/organik maddelerin analizini gerçekleştirmek için son derece duyarlı bir tekniktir.(Wang, vd. 1985;Copeland, vd. 1974) Olağanüstü duyarlılığı, son derece uygun bir sinyal: artık akım oranı üreten gelişmiş ölçüm prosedürleri ile etkili bir ön deriştirme sürecine bağlıdır. Analit çalışma elektrotta ön-deriştirme yâda biriktirme tekniği ile önceden konsantre edildiğinden, algılama sınırları çözelti fazı voltametrik ölçümlere kıyasla iki ile üç büyüklük sırası kadar düşürülür. Bu nedenle, nispeten ucuz enstrümantasyon kullanılarak 10^{-10} M'ye kadar düşük derişim seviyelerinde çeşitli matrislerde aynı anda dört ile altı metal ölçülebilir. Esasen sıyırma analizi iki aşamalı bir tekniktir. İlk veya biriktirme aşaması, metalleri önceden yoğunlaştırmak için çözelti içindeki metal iyonlarının küçük bir kısmının çalışma elektrotuna elektrolitik biriktirilmesini içerir. Bunu, birikintinin çözünmesini (sıyırılmasını) içeren sıyırma adımı (ölçüm adımı) izler. Biriktirme ve ölçüm adımlarının doğasına bağlı olarak sıyırma analizinin farklı versiyonları kullanılabilmektedir.(Wang, 2006, s.1-180)

2.2.3.1. Anodik Sıyırma Voltametrisi

Anodik sıyırma voltametrisi (ASV), sıyırma analizinin en yaygın kullanılan şeklidir. Bu durumda, metal ya da analit çalışma elektrotuna elektrodpozisyonla önceden konsantre edilir. Ön biriktirme, kontrollü bir zaman ve gerilimde katodik biriktime ile yapılır.

2.2.3.3. Adsorptif Sıyırma Voltametrisi

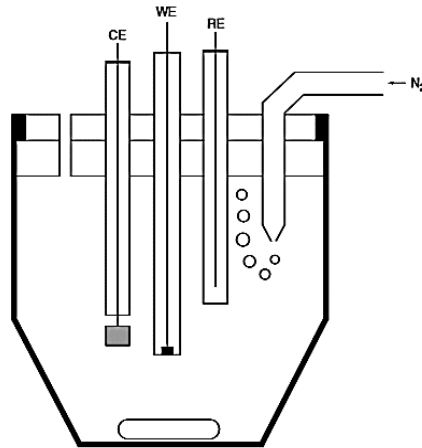
Adsorptif sıyırma analizi, sıyırma ölçümlerinin kapsamını bir çok anorganik ve organik maddenin analizinde başarılı bir şekilde uygulanmaktadır. (Wang, 1989, s.1; Paneli vd. 1993, s.355) Bu teknikteki strateji, metalin yüzey aktif kompleksinin oluşumunu, çalışma elektrotu yüzeyinde birikmesini ve indirgenmesini içermektedir. Adsorbe edilmiş türü ölçmek için sırasıyla negatif giden gerilim taraması veya sabit katodik akıma sahip hem potansiyometrik sıyırma hemde voltametrik süreçler uygulanabilir.

2.2.3.4. Katodik Sıyırma Voltametrisi

Katodik sıyırma voltametrisi (CSV), ASV'nin ayna görüntüsüdür. Analitin anodik biriktirilmesini ve ardından negatife giden bir gerilim taramada sıyrılmasını içerir: Meydana gelen indirgenme pik akımı, istenen niceliksel bilgiyi sağlar. Katodik sıyırma voltametri, civa ile çözünmez tuzlar oluşturabilen çok çeşitli organik ve inorganik bileşikler için analiz etmek için kullanılır.

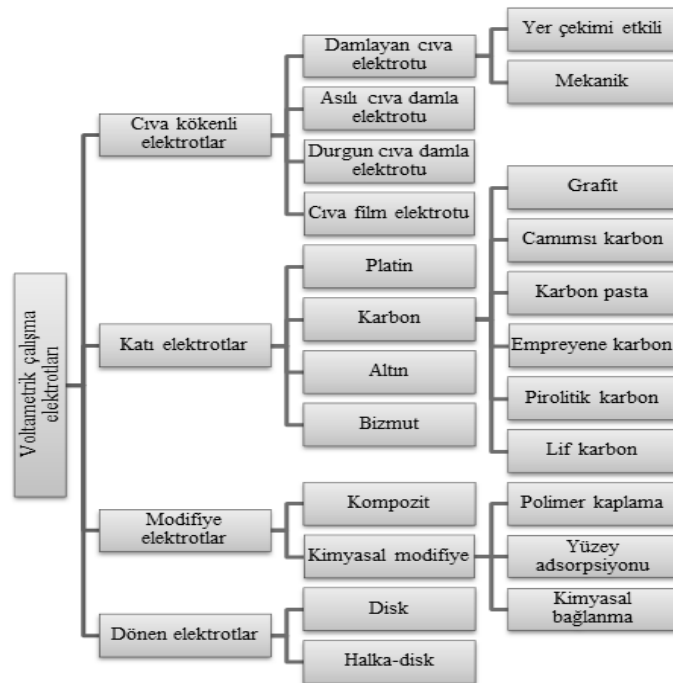
2.3. Elektrokimyasal Sistemler

Elektrokimyasal çalışmalarda, voltametrik ölçümleri gerçekleştirmek için en az iki elektrot gerekir. Bunlardan ilki analit ile temas eden çalışma elektrodudur. Bu elektrot istenen gerilimi kontrollü bir şekilde uygulamalı ve devreden geçen akımı analite ve analitten devreye transferini kolaylaştırmalıdır. Diğer elektrot ise çözelti ortamının derişimden bağımsız olan referans elektrottur (Ag / AgCl veya $\text{Hg} / \text{Hg}_2\text{Cl}_2$). Bu elektrotun esas görevi hücre gerilimini kontrol altında tutmaktır. Özellikle referans elektrodun devreden geçen akım değişimlerinden etkilenmemesi için kullanılan yardımcı elektrot olarak platin tel aynı zamanda hücrede meydana gelen akımı dengelemek için akım geçişini kendi üstüne almaktadır. Bu şekilde tasarlanan üç elektrotlu hücreler şekil 2.11'de verilmiştir.



Şekil 2.11. Voltammetrik ölçümler için bir hücrenin şematik diyagramı: WE - çalışma elektrotları; RE - referans elektrot; CE - karşı elektrot. Elektrotlar, hücre kapağındaki deliklerden yerleştirilir. (Wang, 2006, s.1-

Çalışma elektrotu olarak kullanılan malzeme voltametrik yöntemin etkinliğini belirlemektedir. Çalışma elektrotunun seçiminde; elektrot malzemesinin elektriksel iletkenliği, ölçüm için gerekli olan gerilim bölgesindeki artık akım, analitin redoks davranışı, uygulanabilirliği, gerilim çalışma aralığı, yüzey tekrarlanabilirliği, maliyeti, mekanik özellikleri ve toksisitesi gibi ölçütlere dikkat edilmesi gereklidir.(Özkan, vd. 2015, s. 350) Voltametrde yaygın olarak kullanılan çalışma elektrotları Şekil 2.12'de verilmiştir.



Şekil 2.12. Voltametrde kullanılan çalışma elektrotları

Voltametrinin ilk uygulamasında, yöntem özel olarak "polarografi" olarak kullanılmıştır. Aynı uygulama cıva-temelli elektrotların da ilk örneği olan DME kullanarak gerçekleştirilmiştir. Cıva; pürüzsüz ve kolaylıkla yenilenebilir yüzeye sahip olduğundan yüzey kirliliği azalmış olup tekrarlanabilir yanıt vermektedir. Bununla beraber geniş bir negatif gerilim aralığında çalışmaya olanak sağlar. Ve dahası cıva-temelli elektrotlar pek çok metal iyonunun ve indirgenebilen fonksiyonel grupları olan organik bileşiklerin de tayininde kullanılmaktadır.(Heyrovsky, 2011, s.1799-1803; Özkan, vd. 2015, s. 350)

Fakat yükseltgenme ve indirgenme özelliğine sahip moleküllerin hem sabit hem de akışkan sistemlerde analizini gerçekleştirebilmek için farklı elektrot malzemesine gereksinim

olacağı açıktır. Bu nedenle "voltametri" terimi ilk kez 1940 yılında "katı elektrotlar" ile kullanılmaya başlamıştır. Aynı uygulama civa-temelli elektrotların da ilk örneği olan DME dışında diğer elektrotların yer aldığı analizleri tanımlamak üzere gerçekleştirilmiştir. Katı elektrotların günümüzde civa-temelli elektrotlara kıyasla daha yaygın kullanılmalarının nedeni, istisnaları olmak koşulu ile hem pozitif hem de negatif gerilim değerlerinde kullanılmaya olanak sağlamalarıdır. Katı elektrot yüzeyinde tekrarlanabilir yanıtın kontrol edilme zorluğuna karşın, bu elektrotların civa-temelli elektrotlara mekanik olarak dayanıklılık ve kullanılma kolaylığı açısından üstünlükleri bulunmaktadır. Analitik kullanımları dışında katı elektrotlar, biyolojik, farmakolojik ve çevresel önemi olan bileşiklerin redoks özelliklerinin incelenmesine ve dolayısıyla farmakolojik etki mekanizmalarının aydınlatılmasına da olanak sağlamaktadırlar.(Uslu ve Özkan, 2007a, s.495-513; Kalcher, vd. 2009, s.861-889; Svancara, vd. 2009, s. 598-656; Cavalheiro, vd. 2012, s.31-53)

Farklı karbon formlarında (karbon-temelli) yapılan elektrot malzemeleri ise düşük maliyete, geniş bir gerilim penceresine, düşük artık akıma, zengin yüzey kimyasına, kimyasal inertliğe sahip olmaları nedeniyle elektroanalitik kimyada geniş bir uygulama alanı bulmuştur. 1990'lı yıllarda perde-baskı teknolojisi, tek kullanımlık elektrokimyasal sensör (SPE) uygulamalarında yeni bir fikir oluşturmuştur. Destek bir malzeme (poliester esnek film veya plastik) iletken bir mürekkeple C, Bi, Pt, Gr, Au, CNT gibi malzemelerle kaplanır. Katı elektrotlar da ise önemli bir değişiklik olan 1970'lerin ortasında başlamış kimyasal modifiye elektrot (CME) uygulamalarıdır. Modifiye edici olarak, inorganik kristaller, iletken polimerler, killer, kompozitler, zeolitler, organik metaller ve enzim tabakaları yaygın olarak kullanılmaktadır.(Bard ve Zoski, 2000, s.246-352;Diaz-Ballote, vd. 2007, s.17-25;Uslu ve Özkan, 2007a, s.495-513;Uslu ve Özkan, 2007b, s.817-853;Özkan, vd. 2015, s.350)

Referans elektrotlar derişimden ve gerilimden bağımsız hareket ederler, bu özelliğiyle Nernst eşitliğiyle uyumludur. Kolaylıkla her şart da tekrar tekrar önceki haline dönebilir. Referans elektrotlara örnek olarak kalomel ve gümüş/gümüş klorür elektrotları gösterilebilir.

Yardımcı diğer adıyla karşıt elektrotlar olarak bilinen bu elektrotların iki işlevi vardır bunlardan ilki elektrokimyasal hücrede akımın doğruca iletilmesini sağlarlar. İkinci görevi ise referans elektrota akım iletimini önlemektir. Karşıt elektrot olarak platin tel örnek verilebilir.

2.3.3. Voltametrizde Kullanılan Çalışma Elektrotları

Voltametrik tekniğin etkinliği, çalışılan elektrot malzemesinden büyük ölçüde etkilenir. Çalışma elektrodu, üzerinde oldukça yüksek sinyal/gürültü oranı ve tekrarlanabilirliği iyi bir yanıt sağlamalıdır. Bu nedenle, çalışma elektrotun tercihi iki esas faktöre bağlıdır; bileşiğin yükseltgenme/indirgenme davranışı ve analiz için ihtiyaç olan gerilim bölge üzerindeki artık akım. Ayrıca gerilim penceresi, elektriksel iletkenlik, yüzey tekrarlanabilirliği, mekanik özellikler, maliyet, kullanılabilirlik ve toksisite yer almaktadır. Elektroanaliz için çalışma elektrotları olarak bir dizi malzeme uygulama alanı bulmuştur. En popüler olanları civa, karbon veya soy metallerdir.(Wang, 2006, s.1-180)

Civa elektrotlarının sınırlı anodik gerilim aralığı, yükseltgenebilir bileşiklerin izlenmesindeki kullarımlarını sınırlandırmıştır. Buna göre, genişletilmiş anodik gerilim aralıklı katı elektrotlar, analitik olarak önemli derecede ilgi çekmiştir. Çalışma elektrotları olarak kullanılabilen birçok farklı katı malzemeden en sık kullanılanları karbon, platin ve altındır. Gümüş, nikel ve bakır da özel uygulamalar için kullanılabilir. Katı elektrotların kullanılmasında önemli bir faktör, yanıtın elektrotun yüzey durumuna bağımlılığıdır. Bu tür çalışma elektrotların analiz süresince, yüzeyinde tekrarlanabilir sonuçlar elde etmek için doğru ve hassas bir elektrot ön işleme ve cilalama tekniği gerektirir. Bu ön işlem adımlarının doğası, ilgili malzemelere bağlıdır. Metal elektrotlar için mekanik parlatma (pürüzsüz bitirme) ve gerilim döngü yaygın olarak kullanılırken, karbon bazlı elektrotları etkinleştirmek için çeşitli kimyasal, elektrokimyasal veya termal yüzey prosedürleri eklenir. Civa elektrotlarının aksine katı elektrotlar, elektrokimyasal aktiviteye göre heterojen bir yüzey sunmaktadır (Breyer, vd. 1963).

Karbon temelli elektrotlar da katı elektrot sınıfında yer alır. Bu elektrotlar da geniş gerilim aralıkları, düşük artık akımları, zengin yüzey kimyaları, düşük maliyetleri, kimyasal eylemsizlikleri ve çeşitli algılama ve algılama uygulamaları için uygunluğu nedeniyle şu anda elektroanalizde yaygın olarak kullanılmaktadır. Aksine, karbon yüzeylerinde gözlemlenen elektron transfer hızları, metal elektrotlarda gözlemlenenenden genellikle daha yavaştır. Elektron transfer reaktivitesi, karbon yüzeyinin kökeni ve geçmişinden büyük ölçüde etkilenir.(Hebert, vd. 2003, s.3301;Zhang, vd. 2004, s.3619) Bu nedenle, karbon elektrotlarda yapı-reaktivite ilişkisini anlamak için çok sayıda çalışma yapılmıştır.(Hebert vd. 2003,

s.3301) Tüm yaygın karbon elektrot malzemeleri, altı üyeli aromatik bir halkanın ve sp^2 bağının temel yapısını paylaşırken, yüzeylerinde kenar ve taban düzlemlerinin nispi yoğunluğunda farklılık gösterirler. Kenar oryantasyonu, elektron transferi ve adsorpsiyona yönelik grafit bazal düzlemden daha reaktiftir. Bu nedenle, farklı uç-bazal düzlem oranlarına sahip malzemeler, belirli bir redoks analiti için farklı elektron transfer kinetiği gösterir. Kenar yönlendirmesi ayrıca istenmeyen yüksek arka plan akımı katkılarını da gösterir. Yüzey mikroyapısının yanı sıra diğer faktörler, karbon elektrotlarda elektrokimyasal reaktiviteyi etkiler. Bunlar, yüzeyin temizliğini ve yüzey fonksiyonel gruplarının varlığını içerir. Elektron transfer oranlarını artırmak için çeşitli elektrot ön işlem prosedürleri önerilmiştir. (Hebert vd. 2003, s.3301) Ön işlem yönteminin yanı sıra karbon türü de analitik performans üzerinde derin bir etkiye sahiptir. En popüler karbon elektrot malzemeleri, camsı karbon, karbon macunu, karbon elyaf, ipek baskılı karbon şeritleri, karbon filmleri veya diğer karbon kompozitleri içeren malzemelerdir. (Wang, 2006, s.1-180)

Bu elektrotlar hakkında kısa bir bilgi verecek olursak;

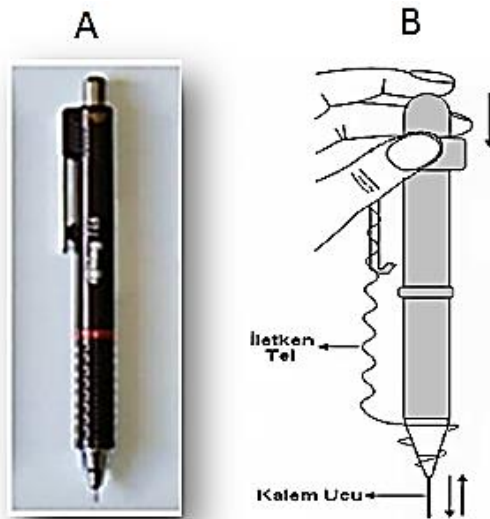
Camımsı Karbon Elektrotları: Mükemmel elektriksel ve mekanik özellikleri, geniş bir gerilim penceresi, kimyasal inertlik ve iyi bir tekrarlanabilir özellikleri nedeniyle çok popüler olmuştur. Materyal, inert bir atmosferde önceden tasarlanmış bir polimerik reçine gövdesinin dikkatli ve kontrollü bir sıcaklık programı ile hazırlanır (Smith, 1971, s.247). Oksijen, nitrojen ve hidrojenin ortadan kaldırılmasını sağlamak için karbonizasyon süreci sıcaklık (300–1200 °C) aralığında aşamalı bir şekilde artırılır. Camımsı karbonun yapısı, çapraz bağlı grafit benzeri tabakalardan oluşan ince, karışık şeritleri içerir. Elektrokimyasal, kimyasal, ısı veya lazer tedavileri gibi ek aktivasyon adımları da performansı artırmak için kullanılmıştır. (Hebert, vd. 2003, s.3301; Economou, vd. 2003, s.205)

Karbon pastası elektrotlar: Çeşitli suyla karışmayan, iletken olmayan organik bağlayıcılar (yapıştırıcı sıvılar) ile karıştırılmış grafit tozu kullanan elektrotlar, kolayca yenilenebilir ve değiştirilmiş bir yüzey, düşük maliyet ve çok düşük artık akım özelliklerine sahiptirler (Wang vd. 2000, s.3218; Marken, vd. 1997, s.19). Çok çeşitli yapıştırma sıvıları bulunmaktadır, ancak düşük uçuculuk, saflık ve ekonomi gibi pratik hususlar, seçimi birkaç sıvıya daraltır. Bunlara Nujol (mineral yağ), parafin yağı, silikon gresi ve bromonaftalin dâhildir. İlki en iyi performansı gösteriyor gibi görünüyor. Macun bileşimi, elektrot reaktivitesini

güçlü bir şekilde etkiler, yapıştırma sıvısı içeriğindeki artış elektron transfer oranlarını ve artık akım katkılarını azaltır.(Marken vd. 1997, s.19)

Elmas Elektrotlar: Elmasın kendisi bilinen bir yalıtkan olmasına rağmen, bor katkılı elmas filimler yarı iletkenlerden yarı metalliğe kadar değişen elektronik özelliklere sahiptir ve elektrokimyasal ölçümler için oldukça kullanışlıdır. Kimyasal buhar biriktirme yöntemleriyle üretilen bor katkılı elmas film elektrotlar, çekici özelliklerinden dolayı yoğun bir şekilde çalışılmıştır.(Van den Berg, vd. 1986, s177; Wang, vd. 1992, s.137)

Karbon bazlı elektrotların yanında kurşun kalem elektrotlarda katı elektrot sınıfındadır. 1990'lı yıllarda el yapımı kalem-ucu grafit (PG) elektrotlar kullanılmaya başlanmıştır. PG 'nin tercih edilmesinin sebebi öncelikle toksik özellikli bileşiklerin basit ve duyarlı tayinlerinde kullanımının olması, GC ve CP elektrotlara göre tek kullanımlık özelliklerinin yanı sıra çok düşük maliyetlerinden dolayı alternatif olmuşlardır. PG elektrot, düşük teknolojiye, mekanik sağlamlığa, yüksek elektrokimyasal reaktifliğe, kolaylıkla hazırlanabilme ve düşük maliyet özelliklerine sahiptir.(Wang, vd. 2000, s.3218; Wang ve Kawde, 2001, s.219-224; Kariuki, 2012, s.H747-H751; David, vd. 2017) Elektrot olarak değişik sertlik ve çapta ticari mekanik kurşun kalem uçları kullanılır (Şekil 2.18). Kalem uçları, doğal grafitin kil ve balmumu karışımı içerisine dağılması ve ardından sıcaklığa maruz bırakılmasıyla üretilir. Bu kalem uçlarının siyahlık ve sertliği; kil/grafit oranı, sıcaklık ayarı ile birlikte daha fazla grafit içermesi durumunda daha kalın ve yumuşak uçlar elde edilebilir. Kalem uçlarının sertlikleri 19 farklı derece olarak en sert olan “9H” dan en yumuşak olan 8B’ye kadar değişiklik gösterir. PG elektrot kullanılarak yapılacak olan analizlerde uygun uc sertliğini seçmek son derece önemlidir. (Tavares ve Barbeira, 2008, s.827-832; Keskin, 2009)



Şekil 2.13. Ticari kurşun kalem (A) ve kalem-ucu grafit elektrotunun şematik gösterimi (B)

PG elektrot, GC elektrot kadar sert ve CP elektrot kadar kırılganda değildir. Analizler esnasında her yeni analizde tek kullanımlık olarak uygulandıkları için elektrot temizleme işlemlerine gerek yoktur. Bu sebeple elektrot yanıtının tekrarlanabilirliği iyi değildir. Düşük teknolojiye sahip PG elektrotlar; kullanıldıktan sonra atılmak üzere ve az malzemeye ihtiyaç duymaları, kolay biriktirilmeleri nedeniyle çevre dostu olmaları nedeniyle oldukça tercih edilen malzemelerdir. (Bond , vd. 1997, s.67-74; Demetriades, vd. 2004, s.167-172)

Son zamanlarda GC elektrot üzerindeki anodik voltametri, alışagelen analitik analizlerden daha çok araştırma maksatlı kullanılmaktadır. Bunun sebebi ise elektrot yüzeyinin zamanla pasifleşmesi ve yöntemin duyarlılığı azalmasıdır. Katı elektrotlar kullanılarak oluşturulan anodik voltametriye karşılaşılan bir dizi sorunlar bulunmaktadır. Analiz yapılırken bazı moleküllerin yükseltgenme ürünlerinin elektrot üzerinde ince bir film olarak birikmesi ve bunun sonucu olarak elektrot pasifleşmesidir. Her ne kadar elektrot temizleme işlemleri uygulansa da tekrarlanabilirlik kayıplarının oluşması, yöntemin duyarlılığını azaltmaktadır. Bütün bu sebeplerden dolayı PG elektrot diğer elektrot türlerinin yanında daha avantajlı görünmektedir.

3. KAYNAK ARAŞTIRMASI

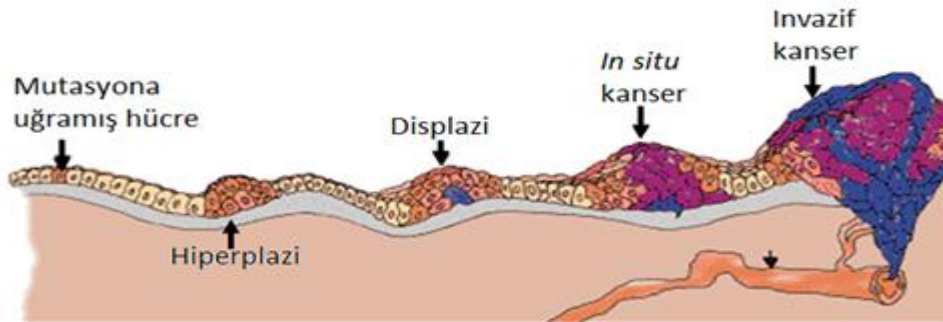
Bu kısımda kısaca kanser hakkında bilgi verilmiştir. Daha sonra Etoposit bileşiğinin kimyasal ve fiziksel özellikleri hakkında bilgiler sunulduktan sonra Etoposit ile ilgili yapılan bilimsel çalışmaların analitik yöntemler açısından kısa bir özeti yapılmıştır.

3.1. Kanser

Dünya çapında kanser oluşumu, çeşitli antikanser ilaçların geliştirilmesi ve üretimi için küresel çapta bir çalışmayı başlatmıştır. Ne yazık ki, antikanser ilaçların çoğu için yüksek oranda toksisite ve mutajenik ile kanserojen yan etkiler bildirilmiştir, bu da hasta için hafif bir dozajda bile birçok soruna neden olur. Bunu göz önünde bulundurarak elektrokimyasal yöntemler, yüksek duyarlılık, seçicilik ve ucuzluk gibi üstün özellikleri sayesinde antikanser ilaçların ve kanser biyo belirteçlerinin izlenmesine yönelik hızlı, hassas ve güvenilir yöntemler geliştirilmesinde büyük ilgi görmüştür.

Kanser hastalığı; neredeyse hayvanlar alemiyle yaşıt görünmektedir. Araştırmalara göre, dinazor fosilleri ile birlikte binlerce yıllık mumyalarda kanser bulgularına rastlanmıştır. Kanser (Yunanca karkinos = yengeç) teriminin, yanlış bilinenin aksine Galen (MS 129-216) tarafından değil yazılı kaynaklara göre ilk kez Hipokrat (MÖ 460-375) tarafından kullanıldığı öngörülmektedir (Temel, 2015, s.96-108).

Kanser, vücudun kendi hücrelerinin kontrolsüz bir şekilde çoğalması, farklılaşması, fonksiyon kaybına uğraması, komşu dokuya yayılımı (invazyon) ve uzak dokulara yayılımı (metastaz) olarak özetlenebilir.(Şekil 2.1) (Weinberg, 1996, s.62-70; Shewach ve Kuchta, 2009, s.2859-2861)



Şekil 3.1. Kanser evreleri

Yapılan bilimsel araştırmalara göre kanserin belli başlı özellikleri genel olarak; (Douglas, 2011, s.10-1016)

- Kendi büyüme faktörlerine sahip olma
- Bağışıklık sisteminden kaçma
- Kanserleřmeyi destekleyen iltihaplanma
- Gen yapısında meydana gelen mutasyonlar
- Enerji metabolizmasını değiştirme
- Sürekli bölünme yeteneęi
- Büyüme engelleyici faktörlerden kurtulma
- Anjiyogenez
- Farklı doku ve organlara göç etme
- Hücre  l m mekanizmasını atlatma.

Olarak tanımlanmıştır.

Kanserin 10 Temel özelliği



şekil 3.2. Kanserin 10 temel özelliği (Douglas, 2011, s.10-1016)

Kanserin tedavi edilmesi sürecinde kullanılan belli başlı yöntemler genel olarak; cerrahi girişim, radyasyon, ilaç kullanılması (kemoterapi), hormon tedavisi, immünoterapi, hedefe yönelik akıllı ilaç tedavisi ve hipertermi şeklindedir. "Kemoterapi", 1900'lü yıllarda Alman tıp hekimi Paul Ehrlich sayesinde ortaya atılmış ve sifilis tedavisiyle ilgili türetilmiş bir kelimedir. Bugün kemoterapinin temel ilkesi, **sitotoksik ilaçlar** olarak da isimlendirilen **antineoplastik ilaçlar** ile tedavinin de ana ilkelerini oluşturur.(Bökesoy, vd. 2000; Moosa, vd. 2003, s. 87-107; Thurston, 2006; Kayaalp, 2012) Tedaviden istenen yanıt, hastanın ya da konakçının sağlıklı hücrelerine zarar vermeden kanser hücrelerinin büyümesini ve yayılımını durdurmak ya da mümkün olabilirse yok etmektir.

Antineoplastik ilaçların etkinliği ile hücre döngüsü arasında bir ilişki bulunmaktadır. Hücre döngüsünün başlıca dört evresi bulunmaktadır (Şekil 3.2). Bu döngüler sırasıyla;

- DNA sentezine hazırlık dönemi (G1), süresi diğerlerine göre daha uzundur ve en fazla farklılık gösteren evredir, G0 şeklinde sembolize edilir, "istirahat dönemi" de denir;
- DNA sentezi veya replikasyon dönemi (S), 4-24 saat sürer;
- Mitoza hazırlık dönemi (G2), mitoz iplikçığının oluştuğu dönemdir, ortalama 2 saat sürer;
- Mitoz (hücre bölünmesi) dönemi (M), 1 saatten kısa sürer.



Şekil 3.3. Hücre çoğalmasının evreleri.(Weinberg, 1996, s.62-70)

Antineoplastik ilaçların kullanımını ve bu kullanımda varlıklarını kısıtlayan önemli bir alan; bu ilaçların etkinlikleri hücre döngülerine ait olmamasıdır. Bazı ilaçlar yalnızca

hücre döngüsünün belirli bir döneminde etki gösterirken, diğerleri hücre yaşamının tüm dönemlerinde etkili olmaktadır. Hücre yaşamının tüm dönemlerinde etkili olan bu ilaçların temel niteliği, DNA'nın genetik yapısını bozmaktadırlar.

Bu ilaçlar, kanser hücresine karşı sitotoksik etki gösterirken bir yandan da hızlı bir şekilde çoğalan sağlıklı hücrelere de zarar verebilir hatta yok etme ihtimali de söz konusudur. Bu sebepten günümüzde kullanılan ilaçlar antikanser olmasıyla birlikte antiproliferatif (hücre çoğalmasını engelleyici) ilaçlar olması istenmektedir ve kullanılmaktadır. Antineoplastik ilaçlarla tedavi de beklenmeyen sonuçlar doğabileceği gibi hayatı riske eder boyuta ulaşan yan etkiler söz konusu olabilmektedir. Bu ilaçların, kanı oluşturan elementlerden birinin ya da tümünün düzeyini azaltan kemik iliğinin baskılanması, lenfotoksik etki ve immunosupresyon, bulantı ve kusma, intestinal ülserasyon/oral, diyare, saç dökülmesi gibi yan etkileri mevcuttur. Antineoplastik ilaçların hamilelik süresince bebekte biçim bozukluğu ve olumsuz gelişme (teratojenik), hücre çekirdeğindeki DNA üzerinde mutajenik etki ve karsinojenik (kanseri yapıcı) etkileri de vardır. Bunun yanı sıra, bu ilaçlar bireysel durumlarda spesifik olarak yan etkiler de söz konusu olabilir. Bu nedenle ilaçla tedavinin deneyimli uzmanlar tarafından yapılması önem arz etmektedir.

Bu ilaçların etkinliğini engelleyen önemli bir diğer husus ise, kanser hücresinin ilaca karşı kuvvetliliğidir. Tedavi sırasında direnç kazanımını azaltmak için ilaçlar ya aynı anda kullanılır ya da tek ilaç uygun zaman ve dozda uygulanır. Bu ilaçlar genel olarak; ağızdan kapsül olarak, enjeksiyon olarak kas içine ya da cilt altına ve iğne ise damardan uygulanmaktadır.

Bu tabloda yer alan alkilleiyici ilaçlar, en fazla kullanılan ilaç grubunda olup döneme has değildirler. Hücreleri her dönemde etkileyebilirler. Önemli özelliklerinden biri; ön-ilâç olmaları dolayısıyla in-vitro ortamda etkin olmamalarıdır.

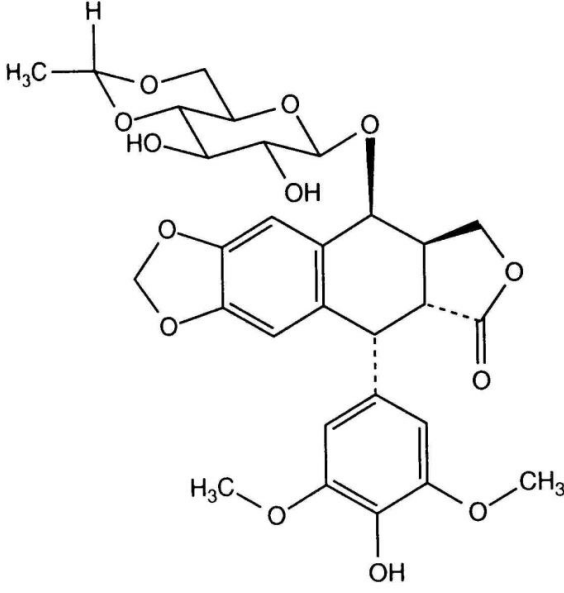
İkinci dünya savaşında İtalyanın Bari kentindeki bir bombardımanda sülfürlü hardala (hardal gazı) uzun süre maruz kalan denizcilerde daha sonra kemik iliği ve lenf düğümlerinde küçülme olduğu gözlenmiştir. Bu durum bilim insanların dikkatini çekmiş, hücre bölünmesi üzerindeki bu olumsuz etkinin gözlenmesi, lösemi ve lenfoma gibi kanserlerin tedavisinde hardal bileşenlerinin kullanılabileceği düşüncesini doğurmuştur. Yale Üniversitesi'nde iki bilim insanı olan, Louis Goodman ve Alfred Gilman, hardal bileşenleri başta olmak üzere çeşitli kimyasalların tedavi edici etkilerini araştırmaya başladılar. Bunun sonucunda modern

kanser kemoterapisinin temelleri atılmış olur. 1940'lı yılların sonunda mekloreタミン ve türevlerinin (azotlu hardal) tedavi yönteminde kullanılmasıyla gerçekleşmiş olur.

3.2. ETOPOSİDE

Bitkisel kaynaklı ilaçlar içerisinde bulunan, Podofilot oksin grubunun bir türevi olan **Etoposid** sitotoksik etki gösteren antineoplastik ilaç grubunda yer alır. Çizelge 3.2'de etoposid'in yapısı ve genel özellikleri gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Etoposid bileşiğinin moleküler yapısı ve genel özellikleri.

Açık Formülü	Genel özellikleri
	Formülü: C₂₉H₃₂O₁₃ Molekül ağırlığı: 588,6 g/mol Erime noktası: 236-251°C Çözünürlük: Metanol, kloroform içinde çok çözünür; etanol içinde az çözünür, suda az çözünür. Alkol(0,76mg/ml), Su(0.08 mg/ml) pKa: 9,8 Saklama koşulları: Enjeksiyonluk etoposid konsantrisi oda sıcaklığında saklanmalıdır.

Etoposid, DNA ve topoizomeraz-II enzimi ile üçlü bir kompleks oluşturur, DNA ipliklerinin yeniden bağlanmasını önler ve bu şekilde DNA ipliklerinin kırılmasına neden olur.(Pommier, vd. 2010, s.421-33) Kanseri hücreleri, daha hızlı bölündükleri için bu enzime

sağlıklı hücrelerden daha çok güvenilir. Bu nedenle, bu DNA sentezinde hatalara neden olur ve kanser hücresinin ölümünü teşvik eder.(Hande, 1998, s.1514–21; Gordaliza, vd. 2004, s.441–59) Ayrıca Etoposid, bir D-glikoz türevi ile podofillotoksinin bir glikozid dir. Bu bileşiklerin her ikisi de, podofillotoksinin daha az toksik türevlerini oluşturmak amacıyla geliştirilmiştir. Bu madde, beyaz ile sarı-kahverengi kristal bir tozdur ayrıca organik çözücülerde çözünür. Tuz toposid fosfat formunda kullanılır.(Dinnendahl, vd. 2015) Diğer taraftan etoposid DNA topoizomera II'yi inhibe ederek DNA sentezini inhibe eder. Hücre bölünmesinin ilk aşamasında DNA sentezinde kritik hatalara neden olur ve kanser hücresinin ölümüne yol açabilir. Etoposid, hücre döngüsüne bağlıdır ve faza özeldir, esas olarak hücre bölünmesinin S ve G2 fazlarını etkiler. Topoizomera II alfa izoformunun engellenmesi ile etoposidin anti-tümör aktivitesiyle sonuçlanır. İlaç ayrıca beta izoformunu engelleyebilir, ancak bu hedefin engellenmesi, anti-tümör aktivitesi ile bağlantılı değildir. Bunun yerine kanserojen etki ile ilişkilidir. İlaç, DNA'ya zarar vererek ve böylece DNA sentezine engel olarak veya değiştirerek sitotoksik etkilerini ürettiği görülmektedir. (McEvoy, 2004)

Yaptığımız en iyi kaynak araştırmasına göre Edopside üzerinde yapılmış olan elektrokimya temelli çalışmaların analitik performans özellikleri çizelge 3.3 'te özetlenmiştir. Bu çalışmalar kısaca aşağıdaki gibi özetlenebilir.

2007 yılında yayınlanan ve Abd-Elgawad R. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada karbon pasta elektrot kullanılmıştır. Yöntem olarak ise DPV kullanılmıştır. Destek elektrolit çözeltisi BR(pH 3.0) optimum ortam seçilmiştir. Analitik çalışma aralığı ise 25-0.25 μM ve LOD değeri 100 nM olarak hesaplanmıştır. Geliştirilen yöntem biyolojik sıvı numunelerine uygulanmıştır.

2013 yılında yayınlanan ve Burcin ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada camı karbon elektrot kullanılmıştır. Yöntem olarak ise adsorptif sıyırma diferansiyel puls voltametrisi kullanılmıştır. Destek elektrolit BR (pH 6.0) tampon çözeltisi seçilmiştir. Analitik çalışma aralığı ise 2–0.02 μM ve LOD değeri 5.4 nM olarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada kullanılan yöntem ile flakon örneklerinde ETO'nun belirlenmesine uygulanmıştır.

2016 yılında yayınlanan ve Hoai Viet Nguyen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada modifiye camı karbon elektrot kullanılmıştır. Yöntem olarak ise DPV ve HPLC kullanılmıştır. Destek elektrolit BR (pH 6.0) tampon çözeltisi seçilmiştir. Bu çalışmada kullanılan yöntem, insan serum örneklerinde ETO'nun belirlenmesine uygulanmıştır.

2018 yılında yayınlanan ve Behnaz ve ark. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kalem grafit elektrot modifiyeli Poli (L-Sistein) ile süslenmiş Au/Pd @ rGO nanokompozit kullanılmıştır. Yöntem olarak ise CV ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi kullanılmıştır. Destek elektrot çözeltisi BR(pH 6.0) optimum ortam seçilmiştir. Analitik çalışma aralığı 0.01–40 μM ve LOD değeri 0.718 nM olarak bulunmuştur. Bu çalışma da, oluşturulan sensörün biyolojik numuneler ve farmasötik bileşiklerde ETO'nun belirlenmesinde kanıtlanmıştır.

2018 yılında yayınlanan ve Pınar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada modifiye camı karbon elektrot kullanılmıştır. Yöntem olarak ise DPV ve SW-AdSV teknikleri kullanılmıştır. Destek elektrolit BR (pH 4.0) tampon çözeltisi seçilmiştir. Analitik çalışma aralığı ise 0.025–0.5 μM , LOD değerleri 0.0023 μM şeklinde hesaplanmıştır. Bu araştırmada kullanılan yöntem ile flakon örneklerinde ETO'nun belirlenmesine uygulanmıştır.

2019 yılında yayınlanan ve Hajer Hrichi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada camı karbon elektrot kullanılmıştır. Teknik olarak ise DPV ve DV kullanılmıştır. Destek elektrolit çözeltisi BR(pH 4.0) optimum ortam seçilmiştir. Analitik çalışma aralığı ise 10-0.5 μM LOD değeri ise 2.8 nM olarak hesaplanmıştır. Bu araştırmada kullanılan yöntem ile idrar örneklerinde ETO'nun belirlenmesine uygulanmıştır.

2020 yılında yayınlanan Zehra Yazan ve arkadaşları yaptığı çalışmada kalem grafit elektrot kullanılmıştır. Yöntem olarak SW voltametri ve PARAFAC seçilmiştir. Beş farklı pH'da sabit bir konsantrasyonda (10 μM) ETO varlığında 2.0-90.0 μM aralığında DNA içeren yedi numunelik bir setin tepe akım verileri, potansiyel ve frekansın bir fonksiyonu olarak kaydedilmiştir. İlaç-DNA bağlanma sabitinin sonucu ($K = 1.26 \cdot 10^6$), ETO ve DNA arasında bağlanma mekanizması ile önemli bir etkileşim olduğunu göstermiştir.

Çizelge 3.2. Etoposite'nin farklı elektrokimyasal yöntemler ile yapılmış çalışmaların analitik performans özellikleri

Elektrot	Teknik	Destek Elektrolit	Analitik çalışma aralığı (µM)	LOD (nM)	Örnek	Kaynak
CPE	DPV	BR (pH 3.0)	0.25-25	100	Serum	Abd-Elgawad, vd. 2007
GCE	SW-AdSV-	BR (pH 4.0)	0.025– 0.5	0.0023	İlaç	Pınar, vd. 2018,
MWCNT-modified GCE	AdS-DPV	BR (pH 6.0)	0.02-2	5.4	İlaç	Bozal Palabıyık, vd. 2013
Au/Pd@rGO	DPV	BR(pH 6.0)	0.01–40	0.718	Biyolojik örnek	Behnaz, vd. 2018
GCE	DPV	BR (pH 4.0)	0.5-10	2.8	İdrar	Hrichi, vd. 2019
Modifiye GCE	DPV	BR (pH 6.0)	0.02–2	5	Serum	Nguyen, vd. 2016
PGE	SW-AdSV	BR (pH 3.0)	0.705–6.34	156	İdrar, İlaç	Bu tez çalışması

Teknik: DPV, Diferansiyel puls voltametri; AdSV, Kare dalga adsorptif sıyırma voltametri; AdSDPV, adsorptif sıyırma diferansiyel puls voltametri; AdsSWV, Kare dalga adsorptif sıyırma voltametrisi; SWV, Kare dalga Voltametrisi; EIS, Elektrokimyasal Empedans Spektroskopi yöntemleri; CV, Dönüşümlü voltametri; CV, Gerilim adım döngüsel voltametri; SPCE, ekran baskılı karbon elektrot.

4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1. Materyal

4.1.1. Voltametrik çalışmalarda kullanılan malzemeler

Bu tez çalışmasında aşağıdaki araç/gereç ve malzemeler kullanılmıştır.

- Elektrokimyasal analiz cihazı (AUTLAB, PGSTAT128N) (şekil 4.1) (Nova 1,11 yazılımı kullanılmıştır)
- Çalışma elektrotu: PGE, Karşılaştırma elektrotu: Ag/AgCl (3 M NaCl;MF 1063, BAS), Yardımcı elektrot: Platin tel(MF 1032, BAS)
- Deney hücreleri 3 bölmeli 10 mL kapaklı standart cam hücre (MR1208)
- Karıştırma sitemi Manyetik karıştırıcı (ARE heating magnetic stirrer)
- pH metre (Termo scientific Orion 3 star pH metre)
- Duyarlı terazi (Precisa 320XB 220A)
- Otomatik makro ve mikro (çeşitli ölçülerde) pipetler
- Santrifüj (Soğutmalı Hettich ROTINA 380R)
- Çeşitli ölçülerde cam (pyrex®) birbirinden farklı hacimlerde tampon çözelti şişeleri, mezür, pipet, balonjoje, deney tüpleri, erlen, beher ve cam tüpler.



Şekil 4.1. AUTLAB, PGSTAT128N cihazı

4.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler aşağıda verilmiştir.

Maddenin adı	Üretici Firma
Etoposid	Sigma
Alüminyum oksit, Al_2O_3	Merck
Sodyumhidroksit, NaOH	Merck
Borik Asit, H_3BO_3	Merck
Fosforik asit (%85), H_3PO_4	Merck
Dimetil Sülfoksit(DMSO), $\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$	Merck
Nitrik asit (%65), HNO_3	Merck
Hidroklorik asit (%37), HCl	Merck
Asetikasit (%99-100), CH_3COOH	Merck
Disodyum hidrojen fosfat, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Merck
Sodyum klorür, NaCl	Merck
Cetyl trimethyl ammonium bromide, CTAB	Merck
Sodium dodecyl sülfate, SDS	Merck
Polietilen glikol <i>tert</i> -oktilfenil eter,TRT	Merck

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

4.2. Çözeltilerin hazırlanması

4.2.1. Stok çözeltilerin hazırlanması

Bu tez çalışmasında kullanılan Etoposid'in stok çözeltisi (1.41×10^{-2} M) metanol içerisinde hazırlanmıştır. Hazırlanan stok çözeltileri, karanlıkta ve buzdolabında $+4^\circ\text{C}$ sıcaklığında saklandı.

4.2.2. Destek elektroliti çözeltilerinin hazırlanması

Elektrokimyasal deneylerinde destek elektroliti çözeltisi olarak; fosfat tamponu (0.1 M, pH 3.0, 4.0, 7.4, 9.0), asetat tamponu (0.1 M, pH 4.8) ve Britton-Robinson tamponu (BR,

0.04 M, pH 2.0-12.0) çözeltileri kullanılmıştır. Bu tampon çözeltileri 5M NaOH veya 5M HCL çözeltisi ile arzulanan pH değerlerine ayarlanmıştır. BR tamponu; 0.04 M (H_3PO_4 , H_3BO_3 ve CH_3COOH) karışımından hazırlanarak istenilen pH değeri 5 M NaOH veya 5 M HCL çözeltisi ile ayarlanmıştır. Tompon çözeltileri Pyrex® cam şişelerde buzdolabında saklanmıştır.

4.3. Elektrokimyasal ölçümler

Elektroanalitik çalışmalarda üçlü elektrot sistemi kullanılmıştır. Bu deneylerde sırasıyla çalışma, karşıt ve referans elektrot olarak PG, platin tel karşıt ve Ag/AgCl kullanılmıştır. Çalışma elektrot için ihtiyaç olan kalem uçları (Model, Tombo 0.5/2B Japan) ticari olarak temin edilmiştir. Elektriksel iletkenlik Şekil 2.24’de gösterildiği gibi sağlanmıştır. Bu uçlar 0.5 mm çapta ve 6 cm uzunlukta olacak şekilde 1.5 cm boyutu dışarda kalacak şekilde kaleme yerleştirilmiştir. Her deney için yeni bir kalem ucu kullanılmıştır. Çalışma elektrotunu aktif hale getirmek için, karar verilen destek elektrolit çözeltisi içerisinde kalem ucu 1.5 cm olacak şekilde ve karıştırma yapılmadan her analizden önce elektrota +1.6 V/60 s boyunca gerilim uygulanmıştır. Her analiz için bu aktivasyon süreci tekrar edilmiştir. Bu tez çalışmasında Autolab PGSTAT 128N elektrokimyasal analiz cihazı (Şekil 4.1) ve (Nova1.11) yazılımı kullanılmıştır. MR 1208 özelliğindeki deney hücresi kullanılmıştır. Elektrotlar deney hücresi kapaklarında üç girişi bulunan bölmelere yerleştirilir. Deneylerde kullanılan tüm cam malzemeler 3.0 M HNO_3 çözeltisi içinde bekletilmiştir.

4.3.1. Voltametrik Yöntem

Etoposid’in elektrokimyasal davranışını detaylı incelemek için; PG elektrot üzerinde mekanizma çalışmaları için CV ve analitik miktar tayini için SWV yöntemlerinden faydalanılmıştır. Etoposid PG elektrot yüzeyinde; destek elektrolit/pH değerinin, tarama hızı, biriktirme ve SW üzerinde etkili olan değişkenleri araştırılmıştır. Etoposidin voltametrik analizi için izlenecek yol aşağıdaki gibidir:

1. PG elektrot çalışılan destek elektrolit çözeltisi içerisinde +1.6 V/60 s boyunca aktive edilir

2. Aktive olan PG elektrot derişimi bilinen Edopsit hücresi 600 rpm karıştırma uygulanarak 0.0 V/ 60 s boyunca biriktirme yapılır
3. Karıştırma kapatılarak CV veya SWV tekniğı ile 0.0 V ile 1.6 V gerilim aralığında voltamogramlar alınır.

Deneyeler laboratuvar sıcaklığında gerçekleştirilmiş olup ölçümler üç kez tekrarlanmıştır.

4.4. Gerçek Numunelerin Analize Hazırlanması

Geliştirilen analitik yöntemin ilaç şekline uygulamasında ticari olan ETOSİD (50mg/2.5 mL etoposid) flakonu eczanelerden temin edilmiştir. İstenilen miktarda etoposid, seçilen destek elektrolit çözeltisine (5 mM SDS içeren BR 3.0) μL düzeyinde eklemelerle elde edildi. Bölüm 4.3 ve 4.3.1'deki prosedürler uygulanarak hazırlanan flakon çözeltilerinin voltamogramları kaydedildi. Flakon içindeki saf etoposid miktarı ve geri kazanım çalışmaları çoklu standart ekleme yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

İdrar örneğı, sigara içmeyen ve ilaç kullanmayan sağlıklı bir gönüllüden aç karnına ve deneylerden hemen önce toplanmıştır. Bilinmeyen endojen kimyasalları uzaklaştırmak için numuneler 5000 rpm hızda 10 dakika santrifüjlendi. Üstteki berrak kısımdan 100 μL idrar numunesi seçilen destek elektrolit çözeltisi (5 mM SDS eklenmiş BR, pH:3.0) ile 10 mL'ye seyreltildi. İdrar eklenmiş numunelerde etoposid'in belirlenmesi, 0.33, 1.76, 2.47, 3.17, 3.88 ve 4.58 μM (voltametrik hücredeki son derişimler) standart ilavelerinden sonra gerçekleştirilmiştir. Bölüm 4.3 ve 4.3.1'deki işlemler uygulanarak hazırlanan idrar numunelerinin voltamogramları kaydedildi. Geri kazanım çalışmaları, çoklu standart ekleme yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ölçümler üç kez tekrarlandı.

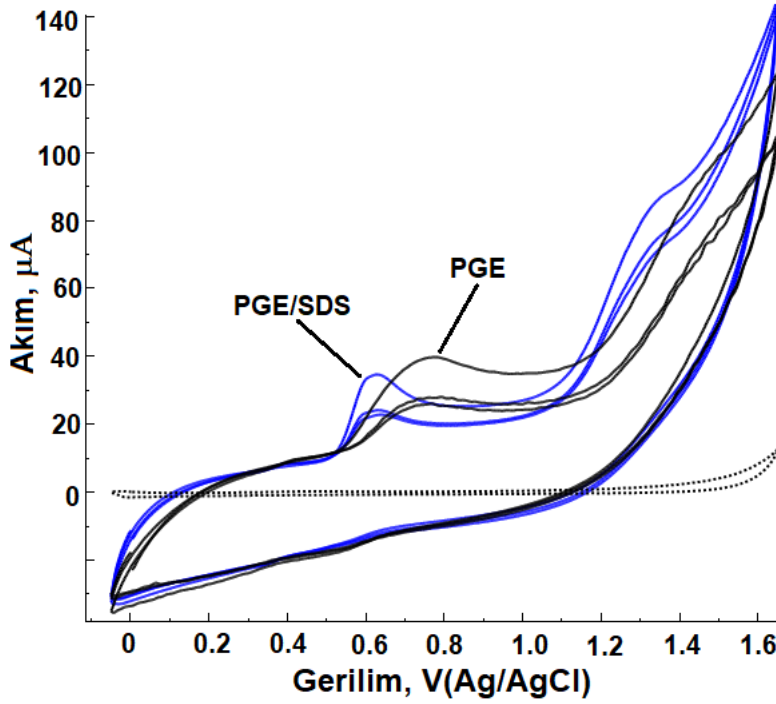
5. BULGULAR VE TARTIŞMA

5.1. Etoposide'nin Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi

Tek kullanım özellikli bir elektrot olan PG üzerinde Etoposide bileşiğinin elektrokimyasal özelliklerini belirlemek için ilk önce, sulu veya sürfaktanlı ortamlarda ve değişik destek elektrolit çözeltileri içerisinde SWV/CV yöntemleri kullanılarak incelenmiştir.

5.1.1. Dönüşümlü voltametri

Tez çalışmasının ilk aşamasında PG elektrot yüzeyinde 7.05×10^{-4} M Etoposid'in BR tamponu (pH 3.0) ve 5 mM SDS ortamında 100 mVs^{-1} gerilim tarama hızında (0.0 V)–(+1.5V)–(0.0 V) gerilim aralığında CV eğrileri kaydedilmiştir (Şekil 5.1). Bu yöntem ile tarama hızının değiştirilmesiyle pik yüksekliklerinin tarama hızı ile farklı şekilde değişmesinden dolayı adsorpsiyon, difüzyon ve elektron aktarım reaksiyonuyla birlikte yürüyen kimyasal reaksiyon süreçlerinin anlaşılmasında faydalı bilgiler vermektedir. Şekil 5.1'de BR tamponu (pH 3.0) ve 5 mM SDS ortamında Etoposide bileşiğinin optimum şartlar altında CV eğrisine yer verilmiştir. Etoposid yalın ortamda PG elektrot yüzeyinde yaklaşık +0.732 V civarında yayvan bir voltamogram vererek yükseltgenirken SDS ortamında yaklaşık +0.617 V civarında daha belirgin voltamogram ile yükseltgendiği gözlenmiştir. Negatif yönde taramaya devam edildiğinde elektrot yüzeyinde herhangi bir sinyal gözlenmemiştir. Bu koşullarda gözlenen yükseltgenme pikinin tersinmez olduğu söylenebilir. Hem yalın hemde SDS ortamında döngü sayısı artıkça PG elektrotu yüzeyinde gerçekleşen pik sinyal şiddetinin azaldığı görülmektedir. Ayrıca SDS ortamında PG elektrot yüzeyinde Etoposid'in daha negatif bölgede yükseltgendiği tespit edilmiştir(Şekil 5.1).



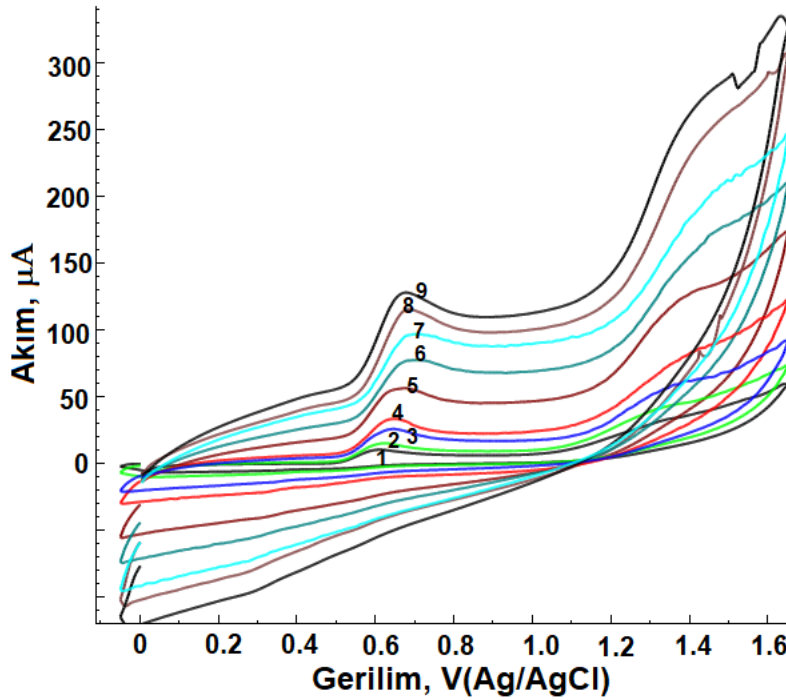
Şekil 5.1: PG elektrot üzerinde 7.05×10^{-4} M Etoposid'in BR (pH 3.0, sürfaktanlı ve sürfaktansız) tamponu içinde iki döngülü dönüşümlü voltametri eğrileri. Gerilim tarama hızı, 100 mVs^{-1} , Kesikli çizgi; destek elektrolit.

Etoposid bileşiğinin gerilim tarama hızına olan etkisini araştırmak amacıyla 7.05×10^{-4} M Etoposid'in BR tamponu (5 mM SDS içeren pH 3.0) içerisinde (0.0 V) – (+1.5 V) – (0.0V) gerilim aralığında ve $25\text{-}700 \text{ mV s}^{-1}$ tarama hızlarında CV'leri şekil 5.2 de kaydedilmiştir. Tarama hızı arttıkça Etoposid'e ait anodik pikinin daha pozitif bölgeye kaydığı gözlenmiştir. Bu olgu tarama hızı arttıkça yükseltgenme süreci için daha fazla gerilim uygulanabileceğini göstermektedir.

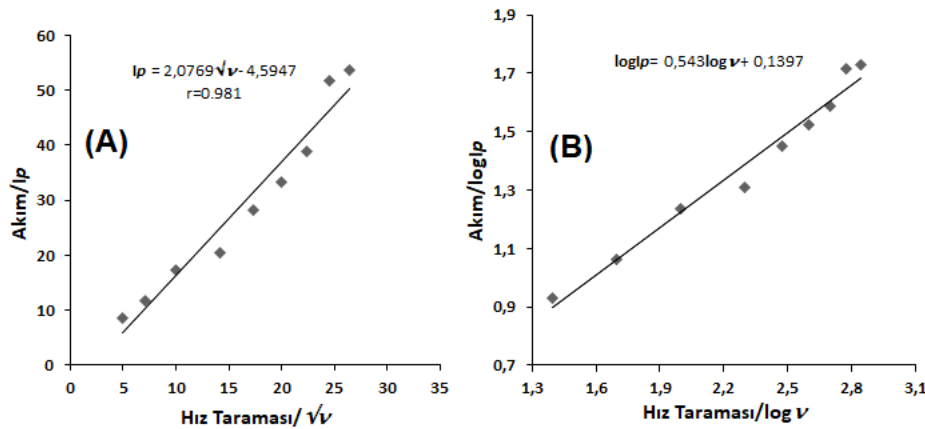
$25\text{-}700 \text{ mV s}^{-1}$ aralığındaki tarama hızı ile anodik pik akımı ilişkisinde elde edilen veriler değerlendirildiğinde; $i_p/\sqrt{v}$ ilişkisi [$i_p (\mu\text{A}) = 2.0769\sqrt{v (\text{mVs}^{-1})} - 4.5947$, $r = 0.981$] ve $\log i_p$ - $\log v$ ilişkisi [$\log i_p = 0.543 \log v + 0.1397$] incelendiğinde, ideal koşullarda; difüzyon kontrollü bir pikte; $i_p/\sqrt{v}$ grafiği doğrusal ve $\log i_p/\log v$ grafiğinin eğimi ise 1 bulunur. Çalışılan ortama bağlı olarak elektrot yüzeyinde difüzyon kontrollü bir adsorpsiyon gerçekleştiğinde eğimin 0.5 ile 1 aralığında olması beklenir. Elektrot tepkimesi tamamen difüzyon kontrollü olursa eğim 0.5 olur. $i_p/\sqrt{v}$ verileri arasındaki doğrusallık ve $\log i_p$ - $\log v$ grafiğindeki eğiminin 0.543 olması BR (0.5 mM SDS içeren pH= 3.0) ortamında PG elektrot üzerinde

gerçekleşen elektrokimyasal sürecin difüzyon kontrollü adsorpsiyon özellikli olabileceğini göstermektedir.

Ayrıca, Şekil 5.2 detaylı incelendiğinde; tarama hızı arttıkça anodik pik gerilimlerinin daha pozitif bölgeye kaydığı görülmektedir.



Şekil 5.2: 7.05×10^{-4} M Etoposid'in BR (5 mM SDS içeren pH 3.0) tamponu ortamında gerilim tarama hızlarıyla elde edilen dönüşümlü voltamogramları. Hız Taraması, (1)25, (2)50, (3)100, (4)200, (5)300, (6)400, (7)500, (8)600 ve (9)700 mV/s.

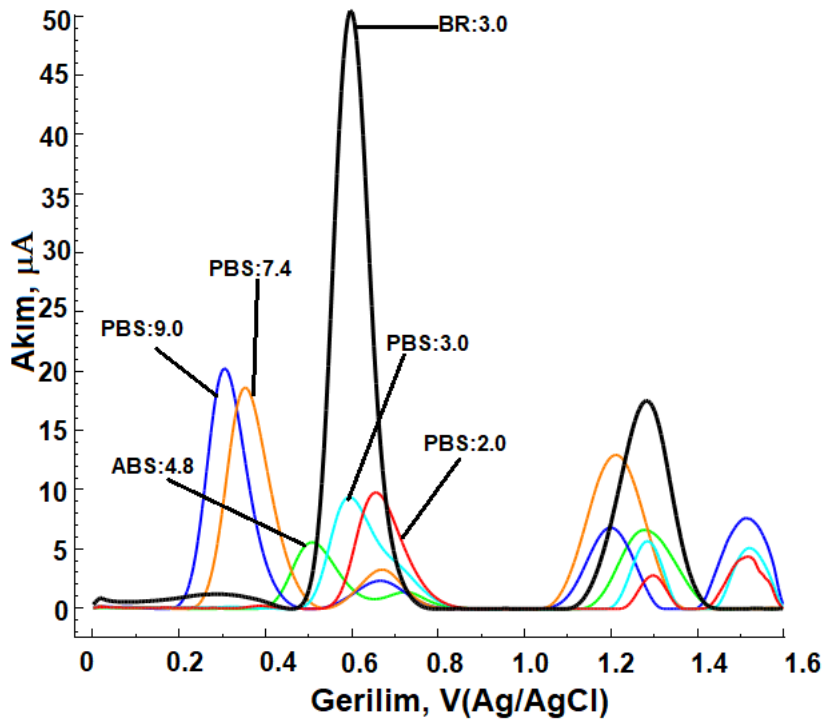


Şekil 5.3: 7.05×10^{-4} M Etoposid'in PG elektrot üzerinde BR (5 mM SDS içeren pH 3.0) tamponu ortamında farklı tarama hızlarında elde edilen tarama hızı akım ilişkisi.

5.2. Destek elektroliti ve pH etkisi

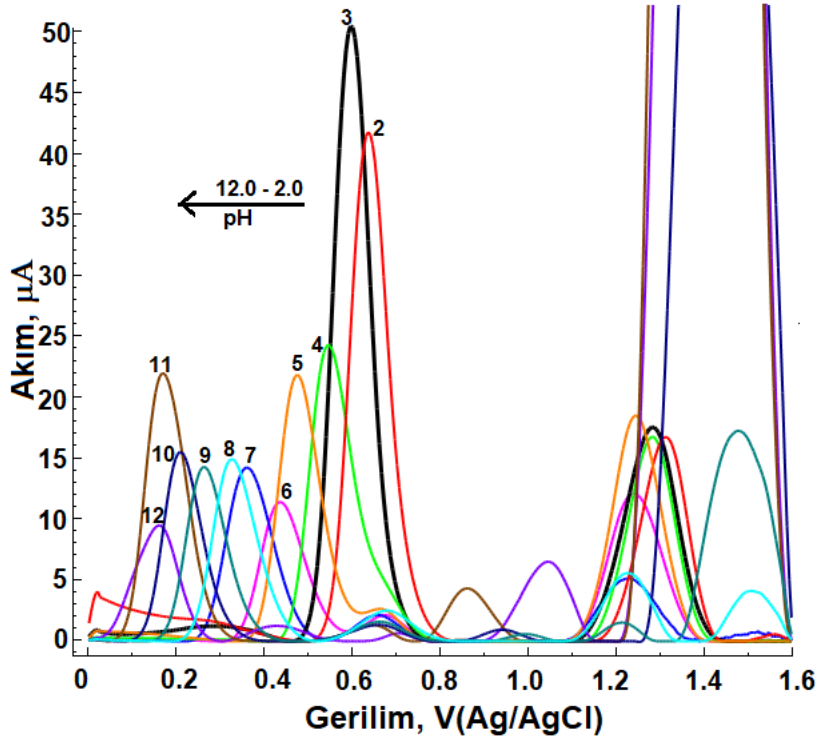
Voltametrik bir çalışmada analitin çalışma elektrotu yüzeyinde meydana gelen elektrokimyasal süreçlerin anlaşılması için destek elektrolit türü/bileşimi ve pH değerinin belirlenmesi son derece önemlidir. Elektrokimyasal süreçte BR destek elektroliti geniş bir gerilim pencere çalışma aralığı sunmasından dolayı tercih edilen bir karma tampon sistemidir. Ayrıca fosfat ve asetat destek elektrolitleri de uygun bir pH değeri seçilme koşuluyla kullanılabilirler. Sunulan bu bilgiler temel alınarak; Şekil 5.4 de asetat tamponu (pH 4.8), fosfat tamponu (pH 2.0 3.0, 7.4 ve 9.0) ile 0.5 M H₂SO₄ ortamında ve BR (pH 2.0-12.0) tamponları (Şekil 5.5) ortamında SWV tekniği kullanılarak 4.23X10⁻⁵ M Etoposid PG elektrot üzerinde akım eğrileri ve gerilim ile olan ilişkisi kaydedilmiştir.

Şekil 5.4 ve 5.5 detaylı olarak incelendiğinde, Etoposid'in yükseltgenmesi üzerinde pH'nin ve farklı destek elektrolitlerinin araştırması sonucunda PG elektrot üzerinde BR (pH 3.0) ortamında pik akım sinyal şiddetinin yüksek olması ve piklerin belirgin olmasından dolayı en uygun ortam olduğu görülmektedir.

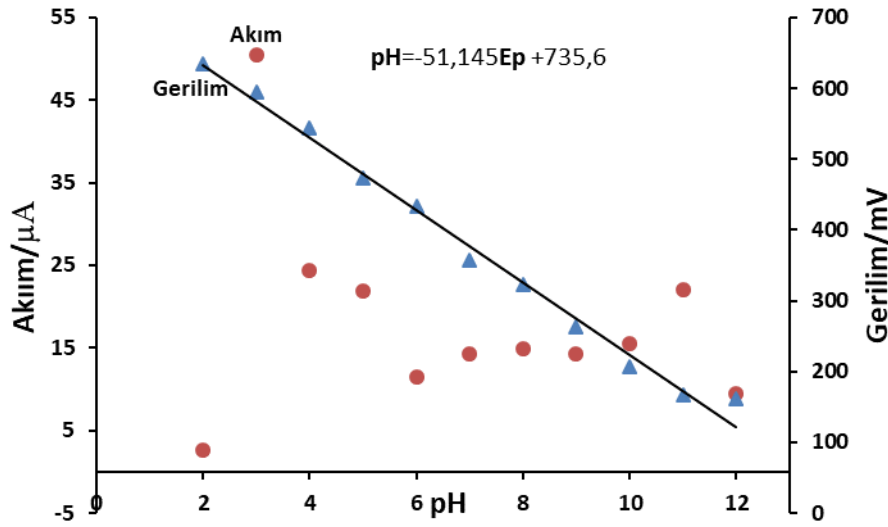


Şekil 5.4: 4.23x10⁻⁵ M Etoposid BR (pH 3.0), fosfat (pH 2.0, 3.0, 7.4 ve 9.0), asetat (pH 4.8) tamponları ve 0.5 M H₂SO₄ içinde PG elektrot kullanılarak elde edilen SWV eğrileri. SWV değişkenleri; frekans 20 Hz, adım gerilimi 0.005 mV, amplitüd 0.03 mV.

Şekil 5.4 ve 5.5'te görüldüğü gibi pH değeri arttıkça yükseltgenme pik gerilimi daha negatif değerlere kaydığı görülmektedir. BR (pH:2.0-12.0) ortamında, yükseltgenme pik gerilimi ile pH arasındaki ilişki şekil 5.6'da verilmiştir. PG elektrot yüzeyinde gerçekleşen elektrokimyasal süreçte E_p/pH ilişkisi incelendiğinde eğim değeri -51.145 mV/pH olarak elde edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlara göre proton katkısının elektron sayısına eşit olduğu söylenebilir.



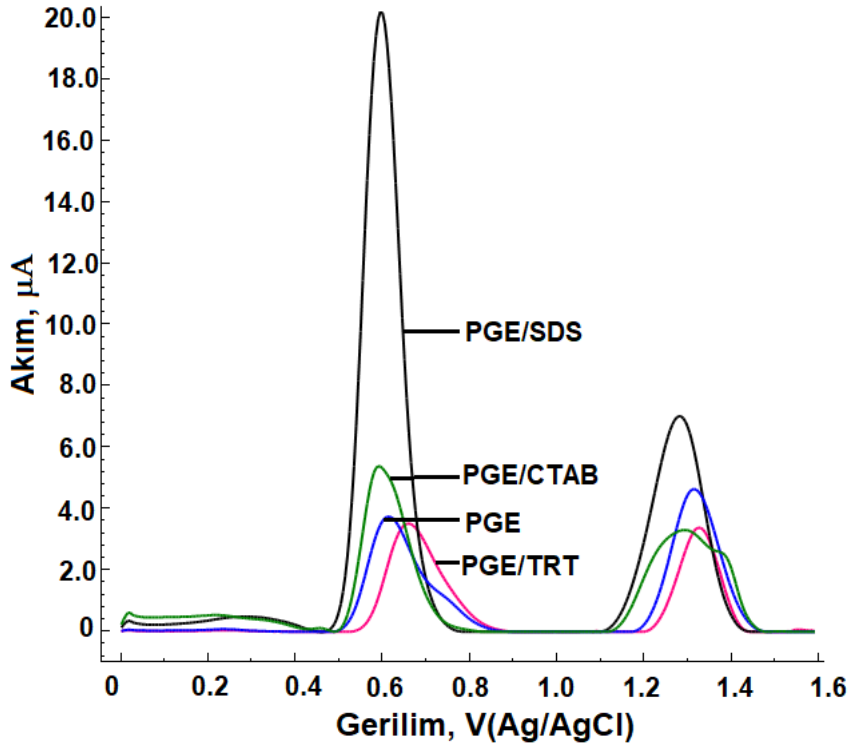
Şekil 5.5: $4.23 \times 10^{-5} \text{ M}$ Etoposid'in BR tamponu içinde (pH 2.0- 12.0) PG elektrot kullanılarak elde edilen SWV eğrileri. SWV değişkenleri şekil 5.4 içinde verilmiştir.



Şekil 5.6. BR tamponu içinde (pH:2.0-12.0) aralığında pH'nin akım ve gerilim(E_p) ile olan ilişkisi.

5.3. Sürfaktan Etkisi

Aletsel değişkenlerin optimize edilmesinin ardından son olarak Etoposid'in analitik çalışması için en iyi deneysel koşulu sağlamak amacıyla SDS, CTAB, TRT derişiminin etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada TRT nötr, SDS anyonik, CTAB katyonik yönlendirici olarak kullanılmıştır. Etoposid derişimi $1,41 \times 10^{-5}$ M değerinde sabit tutularak ayrı ayrı CTAB, SDS, TRT sürfaktanları kullanılarak BR tamponu (pH 3.0) çözeltisine eklenerek SW-AdSV eğrileri kaydedilmiştir. Şekil 5.7' den görüldüğü gibi, Etoposid'in yükseltgenme pikinin SDS ortamında daha duyarlı bir şekilde arttığı görülmektedir. Çalışmanın bundan sonraki aşamalarında optimum SDS derişimi belirlemek için gerçekleştirilmiştir. 0.1 mM ile 8 mM aralığında SDS derişimi çalışılmış ve optimum derişim 5 mM olarak bulunmuştur. Sonuç olarak, analitik incelemenin geri kalan bölümünde tüm deneyler SDS derişimin 5 mM değerinde sabit tutarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 5.7: 1.41×10^{-5} M Etoposide'nin yalın ve sürfaktanlı BR tamponu (pH 3.0) içerisinde kaydedilen voltamogramları. Biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans 20 Hz, adım gerilimi 0,005 mV, amplitüd; 0,03 mV.

5.4. Biriktirme/sıyırma koşullarının etkisi

Tezin bu bölümünde, Etoposid bileşiğinin PG elektrot kullanılarak adsorptif özellikleri incelenmiştir. 4.23×10^{-5} M derişimdeki Etoposid için BR tamponu (pH 3.0, 5 mM SDS içeren) içinde biriktirme süresi (tacc) ve gerilimi (Eacc) koşullarının etkileri incelenmiştir. Eacc değeri 0.0 V'da sabit tutularak biriktirme süresinin sinyal üzerine olan etkisi 30-150 s aralığında incelenmiştir. Sinyal 30 s değerine kadar artmış, sonrasında ise düşüş göstermiştir. Elektrot yüzeyinin analit molekölü ile doymuş hale geldiğini bu sonuçlar neticesinde söyleyebiliriz. Öte yandan sıyırma pik akımı-Eacc ilişkisi 0.0 V ile 0.4 V aralığında ve tacc = 30 s koşulunda analiz edildiğinde; Eacc ile pik akımı +0.2 V'a kadar arttığı gözlenmiştir. +0.2 V biriktirme geriliminden sonra yükseltgenme pik sinyal şiddetinin düştüğü gözlenmiştir. Bu inceleme sonucunda tacc = 30 s ve Eacc = +0.2 V optimum değer olarak kullanılmaya karar verilmiştir.

5.5. Kare-dalga değişkenlerinin etkisi

Tez çalışmasının ilerleyen süreçlerinde, en iyi akım eğrileri elde edilmesi ve cihaz için en iyi olan SW parametrelerini belirlemek amacıyla (frekans, $f = 5-70$ Hz, amplitüdü, $\Delta E_{sw} = 10-50$ mV, adım gerilimi, $\Delta E_s = 1-21$ mV) etkileri araştırılmıştır.

Bu amaç için 4.23×10^{-5} M etoposid optimum BR (5 mM SDS içeren pH= 3.0) ortamında gerçekleştirilmiştir. İlk olarak, ΔE_{sw} etoposid pik akım sinyali üzerindeki etkinliği 10-50 mV gerilim aralığında incelenmiştir. Pik akım sinyal şiddeti 30 mV 'ta kadar artmış daha sonra azaldığı gözlenmiştir. Daha sonra $\Delta E_{sw} = 30$ mV olarak sabit tutularak optimum ΔE_s değerini belirlemek için 1-21 mV aralığında yapılan ölçümler incelendiğinde pik sinyal şiddetinde 5 mV ta kadar artış olduğu sonrasında ise pik şiddetinde azalmanın olduğu gözlemlendi. $\Delta E_{sw} = 30$ mV ve $\Delta E_s = 5$ mV sabit tutulduğu şartlarda en iyi f değerini belirlemek için 5-80 Hz aralığında ölçümler yapıldı 20 Hz'e kadar pik akım sinyal şiddetinin arttığı daha sonra azaldığı gözlemlendi.

Çalışmanın bundan sonraki aşamalarında SWV için optimum çalışma koşulları: $\Delta E_{sw} = 0,03$ mV, $\Delta E_s = 0,005$ mV ve $f = 20$ Hz olarak kullanıldı.

PG elektrot üzerinde Etoposid'in elektroanalitik incelemesi için geliştirilen voltametrik yöntemin optimum koşulları Çizelge 5.1 de özetlenmiştir.

Çizelge 5.1. Etoposid tayini için voltametrik yöntem ile elde edilen en iyi deneysel ve aletsel parametreler

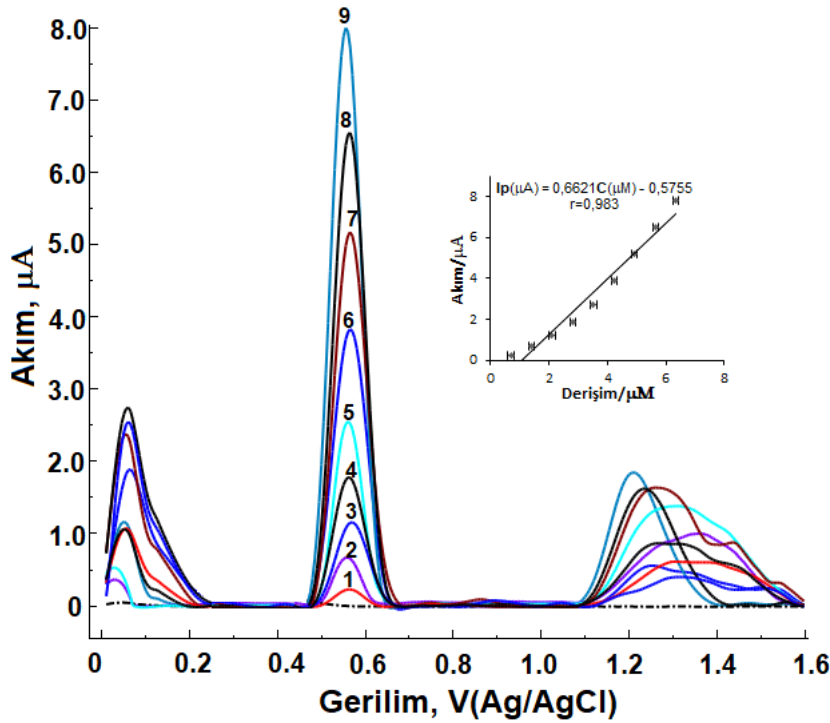
Parametreler	Optimum bulgular
Yöntem	SW-AdSV
Elektrot	PG
Destek elektrolit	BR tamponu (pH 3.0)
Adsorptif sıyırma değişkenleri	
Biriktirme gerilimi, E_{acc}	0.2 V
Biriktirme süresi, t_{acc}	30 s
Kare-dalga değişkenleri	
Frekans, f	20 Hz
Amplitüd, ΔE_{sw}	0.03 mV
Adım gerilimi, ΔE_s	0.005 mV

5.6. Analitik Çalışma Koşulları

Tez çalışmasında elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, PG elektrot üzerinde geliştirilen voltametrik yöntemin başarımlı özellikleri (analitik çalışma aralığı, duyarlılık, tekrarlanabilirlik), destek çözelti olarak BR tamponunda optimum pH'da (5 mM SDS içeren pH=3.0) incelenmiş olup Etoposid bileşiğinin tayinine yönelik optimum cihaz parametreleri ve optimum voltametrik yöntem parametreleri Çizelge 5.2'de verilmiştir.

1.41×10^{-3} M Etoposid standart çözeltisinden elektrokimyasal hücreye belirli hacimlerde eklenmiş ve yukarıda sunulan şartlarda akım eğrileri (üç kez tekrarlanarak) kaydedilmiştir. Her ilave yapıldıktan sonra yaklaşık +0.563 V'daki anodik pik değerlendirmeye alınmıştır. İlgili voltamogramlar ve anodik pik akımı-derişim ilişkisi Şekil 5.8'de gösterilmiştir. Şekil 5.8'de sunulan grafik, 0.705–6.34 μ M derişim aralığında [i_p (μ A) = 0.6621 C (μ M) - 0.5755 ($r=0.983$), $n=9$)] doğrusal bir yanıt vermiştir. Eşitlikteki C Etoposid derişimi, i_p adsorptif sıyırma pik akımı ve r korelasyon katsayısıdır. Elde edilen analitik eğrilerden en düşük tayin sınırı (LOQ) ve gözlenebilirlik sınırı (LOD) değerleri; LOQ =10 s/m; LOD 3 s/m eşit-

liklerinden yararlanılarak hesaplanmıştır. Bu formülde bulunan “m” ilgili kalibrasyon eşitliğinin eğimi, “s” ise doğrusallık aralığındaki en düşük derişime karşılık gelen pik akımının (3 değerin ortalaması olarak) standart sapmasıdır. Elde edilen veriler kullanıldığında LOQ=0.521 ve LOD=0.156 μM olarak hesaplanmıştır. Bu tez çalışmasında görüldüğü üzere PG elektroda herhangi bir modifikasyon süreci uygulanmadan Etoposid’in analitik tayini için çok düşük derişimler de bile oldukça iyi sonuçlar elde edilmiştir. İlk defa bu tez çalışmasında geliştirilen elektroanalitik yöntemin duyarlılık, hassaslık ve analitik performansı açısından Çizelge 3.3’de sunulan voltametrik yöntemlerinin bazıları ile kıyaslanabilecek düzeyde olduğu söylenebilir. PG elektrot üzerinde BR tamponu (pH 3.0, 5 mM SDS içeren) ortamında Etoposid bileşigi için geliştirilen voltametrik yöntemin tekrar edilebilirlik düzeyini saptamak için 3.525 μM düzeyindeki çözeltiler aynı gün içinde 9 kez SW-AdSV eğrileri kaydedilmiştir. Bu sıyırma voltamogramlarının anodik gerilim/akım değerleri kaydedilerek sonuçlar gün içi kesinlik olarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre anodik pik gerilimi/akımı için BSS değerleri sırasıyla % 1.15 ve % 3.15 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 5.8: Etoposidin farklı derişimlerinin [(1) 0.705, (2) 1.41, (3) 2.115, (4) 2.82, (5) 3.525, (6) 4.23, (7) 4.935, (8) 5.64, (9) 6.34 μM] BR tamponu (5 mM SDS içeren pH=3.0) içerisinde kaydedilen SW eğrileri, Elektrot, PG; biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V SW değişkenleri: frekans 20 Hz, adım gerilimi 0.005 mV, amplitüd; 0.03 mV. kesikli çizgi destek elektroliti.

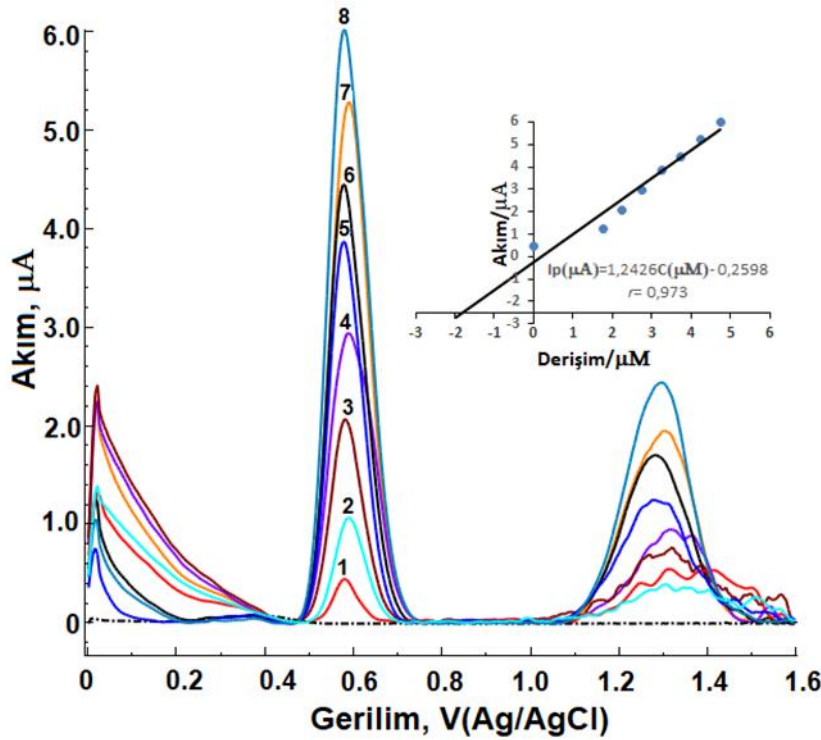
5.7. Gerçek Örnek Analizleri

Geliştirilen yöntemin gerçek numunelerdeki başarımlı özelliklerini doğrulamak için, uygulanabilirliği ticari ilaç şekillerinde ve idrar örneklerinde denenmiştir.

5.7.1. Flakon çözeltiler

Yöntemin ticari ilaç şekline uygulamasında eczanelerden alınan ETOSİD 50mg/2.5 mL etoposid flakonu kullanılmıştır. Bölüm 4.3’de belirtildiği gibi deneyler gerçekleştirilmiştir. Flakon analizine ait voltamogramlar ile standart Etoposid ait voltamogramlar kıyaslandığında eğrilerin uyumlu ve bu şartlarda flakon numunelerinde bulunan etoposide’nin tayin edilebileceğini göstermiştir. Standart katma yöntemi kullanılarak elde edilen Flakon ilaç şekillerindeki voltamogramlar şekil 5.9 da sunulmuştur. Hem flakon çözeltisinde hem de ardışık eklemelerden sonra anodik pik akımları kaydedilmiştir. Daha sonra flakon örneğine katılan saf etoposid’in ne kadarının tayin edilebildiği hesaplanmıştır. Geliştirilen voltametrik

yöntemle elde edilen analiz sonuçları çizelge 5.2 'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar gösteriyor ki, %94-%107 arasındaki kazanımla PG elektrotu üzerinde geliştirilen voltametrik yöntemin doğruluğunun bilimsel açıdan geçerli olduğunu göstermiştir.



Şekil 5.9 Flakon örneğinin BR tamponu (5 mM SDS içeren pH 3.0) ortamında kaydedilen akım eğrileri, (1) flakon çözeltisi, (2) 1,75, (3) 2,25, (4) 2,75, (5) 3,25, (6) 3,75, (7) 4,25, (8) 4,75 μM standart eklemeler sonrası derişim. Destek elektrolit: Kesikli çizgi, biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans 20 Hz, adım gerilimi 0,005 mV, amplitüd; 0,03 mV.

Çizelge 5.2. Etoposid içeren ETOSİD 50mg/2.5 mL flakonlarda SW-AdSV analiz bulguları

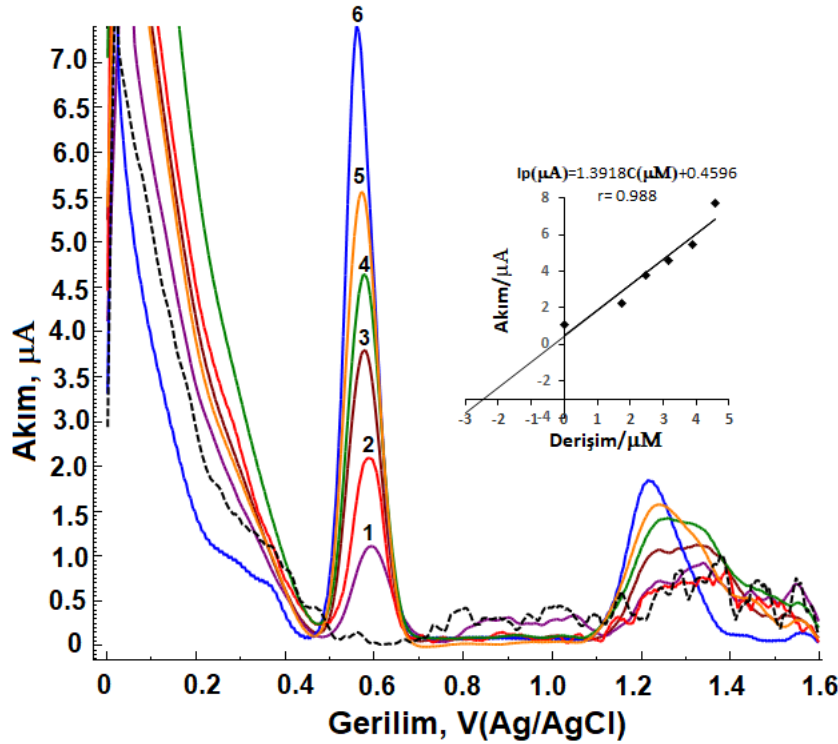
İlave edilen	Bulunan(μM) ^{a,b}	Geri Kazanım ^b (%) $\pm$ %BSS
	0.21	± 3.05
1,75	2.06	106 ± 3.75
2,25	2.62	107 ± 3.62
4,25	4.21	94 ± 3.76

^aSon çözeltideki derişim

^bSonuçlar, üç analizin ortalamasıdır.

5.7.2. İdrar örnekleri

Etoposid miktar tayini için tek kullanımlık PG elektrot üzerinde geliştirilen voltametrik yöntemin iyi bir duyarlığa ve tekrar deneylerinde iyi sonuçlar elde edilmesi nedeniyle idrar örneği gibi karmaşık ortamlarda da uygulanılabilirliği araştırılmıştır. Çalışmanın bu bölümünde bölüm 4.3’de anlatıldığı gibi hazırlanmış ve etoposid katılmamış idrar örneklerinde akım eğrileri, destek elektrolit çözeltisinde (5 mM SDS içeren BR tampon pH 3.0) alınmıştır. Etoposid’e ait yükseltgenme pikinin görüldüğü aralıkta idrarda bulunan biyomoleküllere (ürik asit, dopamin, askorbik asit) ilişkin yükseltgenme sinyalleri görülmemiştir. Etoposid katılmış idrar örneği, herhangi bir ön işlem yapılmadan ve ayırma yöntemi kullanmadan direk idrar üzerinde seçilen destek elektrolit ile seyreltilerek analiz edilmiştir. Elde edilen akım eğrileri Şekil 5.10’da görülmektedir. Yaklaşık olarak +0.563 V civarında gözlenen pik, her eklenen standart etoposid çözeltisi sonunda pik düzgün olarak artış göstermiştir. Çizelge 5.3’te görüldüğü gibi idrara eklenmiş etoposid derişimi arasındaki doğru orantı önerilen voltametrik yöntemin idrar örneklerinde de başarılı ve % 95- %107 geri kazanım ile doğru bir şekilde etoposid’in tayin edilebileceğini göstermektedir.



Şekil 5. 10. İdrar örneğinin BR tamponu (5 mM SDS içeren pH 3.0) ortamında kaydedilen akım eğrileri, **(1)** 0.33, **(2)** 1.76, **(3)** 2.47, **(4)** 3.17, **(5)** 3.88 ve **(6)** 4.58 µM standart eklemeler sonrası derişim. İlave yapılmamış idrar numunesi: **Kesikli çizgi**, biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans 20 Hz, adım gerilimi 0,005 mV, amplitüd; 0,03 mV.

Çizelge 5.3. SW-AdSV yöntemi ile Etosiposid'in idrar numunelerinde elde edilen sonuçları

Eklenen ^a (µM)	Bulunan ^{a,b} (µM)	Geri Kazanım(%)±% BSS
	0.33	±3.21
1.76	2.00	95±2.85
2.47	2.95	106±4.05
3.17	3.72	107±3.24

^aAnaliz edilen çözeltideki son derişim

^bDeğerler üç analizin ortalamasıdır

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

"Genel Bilgiler" bölümünde açıklandığı üzere, Etoposid'in voltametrik tayinine yönelik kaynakçada kayıtlı çok sınırlı sayıda çalışmaya rastlanmıştır. İlgili çalışmada bileşiğin miktar tayini yapılmış, elektrot mekanizması aydınlatılmaya çalışılmıştır.

Yaptığımız kaynak araştırmasında göre Etoposid'e yönelik voltametrik çalışmalara sınırlı sayıda rastlanmıştır. 2018 yılında yayınlanan ve Behnaz H. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kalem grafit elektrot modifiyeli Poli (L-Sistein) ile süslenmiş Au/Pd @ rGO nanokompozit kullanılmıştır. Yöntem olarak ise CV ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi kullanılmıştır. Çalışma aralığı 0.01–40 μM ve LOD değeri 0.718 nM olarak bulunmuştur. Bir diğer çalışma da ise; 2018 yılında yayınlanan ve Pınar T. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada modifiye camı karbon elektrot kullanılmıştır. Yöntem olarak ise DPV ve SW-AdSV teknikleri kullanılmıştır. Analitik çalışma aralığı ise 0,025 – 0,5 μM , LOD değerleri 0,0023 μM şeklinde hesaplanmıştır. Başka bir çalışma ise; 2019 yılında yayınlanan ve Hajer Hrichi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada camı karbon elektrot kullanılmıştır. Yöntem olarak ise diferansiyel puls voltametrisi ve CV tekniği kullanılmıştır. Analitik çalışma aralığı ise $5,0 \times 10^{-10}$ M– $1,0 \times 10^{-8}$ M LOD değeri 2.8×10^{-9} μM olarak hesaplanmıştır.

2020 yılında yayınlanan Zehra Yazan ve arkadaşları yaptığı çalışmada ise kalem grafit elektrot kullanılmıştır. Yöntem olarak SW voltametrisi ve PARAFAC seçilmiştir. 2020 yılında yayınlanan Mohammed I. Majeed ve arkadaşları yaptığı çalışmada modifiye camı karbon elektrot kullanılmıştır. Yöntem olarak CV seçilmiştir. LOD değeri 1.6×10^{-14} .

Bu yapılan çalışmalara kıyasla bu tez çalışmasında LOD değeri 0.156 μM olarak bulunmuştur. PGE ile CV yöntemi kullanılarak ulaşılan LOD değeri diğer çalışmalara göre oldukça iyi bir değerdir. Daha önce yapılan çalışmalar da PGE 'nin hiç denenmediği sadece 2020 yılında Zehra Yazan'ın çıkarmış olduğu yayında PGE kullanıldığı görülmektedir fakat yöntem olarak PARAFAC yöntemi seçilmiştir. Bu yüzden bu tezin hiç denenmemiş bir çalışma olduğu görülmektedir. Bulunan LOD değeri de çalışmanın bilim dünyasına büyük bir katkı sunduğunu göstermektedir.

Bu tez kapsamında sunulan araştırmada, yalın ya da sürfaktan (anyonik/katyonik/nötr) içeren sulu çözeltilerde karbon-temelli malzemeler (PG elektrot) üzerinde Etoposid molekülünün nasıl yükseltgendığı ayrıntılı olarak gösterilmiştir. En uygun ortamı belirlemek

için asetat tamponu (pH 4.8), fosfat tamponu (pH 3.0, 4.0, 7.4 ve 9.0) ile BR tamponları (2.0-12.0) kullanılmıştır. Tekrar edilebilirliğin, hassas, duyarlı ve keskin pikin yapılan deneysel çalışmalar sonucunda pH 3.0'da BR tamponunda elde edildiği görülmüştür. Araştırmadan elde edinilen gözlemin iki açıdan önemi vardır. (i) Günümüzde Etoposid ve benzeri bileşiklerin redoks mekanizmasının özellikle serbest radikaller ve ara ürünler oluşturması açısından çok karmaşık olduğu ve pek çok anlaşılmamış noktanın bulunduğu göz önüne alınırsa, sürfaktan ortamında sürdürülen bu araştırmanın devamından edinilecek bilginin *Etoposidin* yükseltgenme çalışmalarına önemli ölçüde ışık tutacağı açıktır. (ii) Öte yandan, Etoposid için ilk kez geliştirilen voltametrik yöntem, özelde bu bileşik genelde benzer yapıları diğer bileşiklerin biyolojik örneklerden tayininde sıklıkla kullanılan ancak çok zaman alıcı ve özel deneyim isteyen ön-ayırma işlemlerine gerek duyan kromatografik yöntemlere alternatif oluşturacaktır.

Tek-kullanımlık, ekonomik ve çevre-dostu PG elektrotunun kullanılması ile geliştirilen bu yöntemin, Etoposidin özellikle hastane çevresindeki atıklarının yerinde ölçümleri için de ilk adımı oluşturabileceği düşünülmektedir. Sürfaktan varlığında ulaşılan LOD değeri (0.156 μ M) gelecekteki araştırmalar için çok umut verici gözükmektedir.

KAYNAKÇA

- Abd-Elgawad R., Nadia A.-E., and Tarek W., 2007, Electrochemical Study of the Antineoplastic Agent Etoposide at Carbon Paste Electrode and Its Determination in Spiked Human Serum by Differential Pulse Voltammetry, *Chem. Pharm. Bull*, 55(9), 1379—1382.
- Abd-Elgawad R., Hossam M. N., Alsayed E., 2013, Voltammetric and ultraviolet–visible spectroscopic studies on the interaction of etoposide with deoxyribonucleic acid, *Electrochimica Acta*, 113, 164–169.
- Bard A. J., Faulkner L.R., 2000, *Electrochemical Methods Principles and Applications*, 2nd ed., *John Wiley and Sons*, New York, USA.
- Bard A. J., Zoski C.G., 2000, Voltammetry retrospective, *Analytical Chemistry*, 246-352.
- 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., Jenkin I. L., 1952, *Analyst*, 77, 685.
- Barker G. C., Gardner A.W., 1960, *Z.Anal. Chem.* 173, 79.
- Behnaz H., Farnaz L., Zarrin E., 2018, Au/Pd@rGO nanocomposite decorated with poly (L-Cysteine) as a probe for simultaneous sensitive electrochemical determination of anticancer drugs, Ifosfamide and Etoposide, *Biosensors and Bioelectronics*, 120, 22-29.
- 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.
- Bökesoy A., Çakıcı İ., Melli M., 2000, *Farmakoloji Ders Kitabı, Türk Farmakoloji Derneği*, Ankara.
- Breyer B., Bauer H., 1963, *Alternating Current Polarography and Tensammetry*, *WileyInterscience*, New York.
- Bozal Palabıyık B., Dogan-T. B., Bengi U., Alp C., Sibel A. O., 2013, Sensitive voltammetric assay of etoposide using modified glassy carbon electrode with a dispersion of multi-walled carbon nanotube, *J Solid State Electrochem (2013)*, 17, 2815–2822.
- Cavalheiro É. T. G., Brett C.M.A., Brett A.M.O., Filho O.F., 2012, Bioelectroanalysis of pharmaceutical compounds, *Bioanalytical Reviewes*, 4, 31-53.

- Colombo C., Van den Berg C.M.G., 1998, In-line deoxygenation for flow analysis with voltammetric detection, *Anal. Chim. Acta*, 377, 229-240.
- Copeland T. R., Skogerboe R. K., 1974, *Anal. Chem.*, 46, 1257A.
- Czaz M. Z., Wang J., 2000, Pushing the detectibility of voltammetry, *Talanta*, 50, 921- 928.
- David I.G., Popa D.-E., Bulendra M., 2017, Pencil graphite electrodes: a versatile tool in electroanalysis, *Journal of Analytical Methods in Chemistry*.
- 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.
- Diaz-Ballote L., Alpuche-Aviles M., Wipf D.O., 2007, Fast-scan cyclic voltammetry-scanning electrochemical microscopy, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 604, 17-25.
- Dinnendahl V., Fricke U., eds. 2015, *Arzneistoff-Profil*(Almanca), 4(28 baskı), Eschborn, Almanya, *Govi Pharmazeutischer Verlag*, ISBN 978-3-7741-9846-3.
- Douglas H., Hallmarks of Cancer, The Next Generation, 2011, 10-1016.
- Economou A., Fielden P. R., 2003, *Analyst*, 128, 205.
- Fifield F.W., Kealey D., 2000, Principle and Practice of Analytical Chemistry 3rd Edition. UK, Blackwell science.
- Gordaliza M., García PA., del Corral JM., Castro MA., Gómez-Zurita MA., 2004, Podofil-lotoksin: dağıtım, kaynaklar, uygulamalar ve yeni sitotoksik türevler, *Toxicon*, 44 (4): 441–59.
- Gosser D. K., 1994, Cyclic Voltammetry, VCH Publishers, Inc.
- Gökçe, 2004, Trifenilformazan ve bazı türevlerinin elektrokimyasal davranışlarına kompleks oluşumunun etkisinin incelenmesi (doktora, basılmamış). *AÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara.
- Hrichi H., Monser L., and Adhoum N., 2019, Selective Electrochemical Determination of Etoposide Using a Molecularly Imprinted Overoxidized Polypyrrole Coated Glassy Carbon Electrode, *Hindawi International Journal of Electrochemistry Volume*, 2019, 12.
- Hande K., 1998, Etoposide: bir topoizomeraz II inhibitörünün kırk yıllık gelişimi, *EUR. J. Cancer*, 34(10), 1514–21.
- Harvey D., 2000, *Modern Analytical Chemistry*, 508-527.

- Hebert N., Kuhr W., Brazill S., 2003, *Anal. Chem.*, 75, 3301.
- Heyrovsky M., 2011, Polarography-past, present, and future, *Journal of Solid State Electrochemistry*, 15, 1799-1803.
- 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.
- Kariuki J.K., 2012, An electrochemical and spectroscopic characterization of pencil graphite electrodes, *Journal of Electrochemical Society*, 159(9), H747-H751.
- Kayaalp O., 2012, Kanser Kemoterapisinin Esasları ve Antineoplastik ilaçlar, 1.Cilt, 13. baskı, 36. Konu, *Akılcı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, Pelikan Tıp ve Teknik Kitapçılık Tic. Ltd. Şti., Ankara.
- Keskin E. 2009, Polisiklik aromatik hidrokarbonlardan benzo[a]piren ve 7,12-dimetilbenz[a]antrasen'in kalem grafit elektrot kullanarak adsorptif sıyırma voltametri yöntemiyle redoks özelliklerinin incelenmesi ve miktar tayini (Doktora) *YYÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van*.
- Marken F., Rebbitt T.O., Booth J., Compton R.G., 1997. *Electroanalysis*, 9, 19.
- Moosa A., Dobish R., Watts C., 2003, Interacting with drugs used in oncology: An Alberta Cancer Board initiative, *Journal of Oncology Pharmacy Practice*, 9, 87-107.
- Nguyen H.V., Lukas R.A. M., Kledi X., Jiri K., Natalia C., Hana P., Zbynek H., Michal M., Pavel K., Marie S., Tomas E., Vojtech A., Rene K., 2016, Electrochemical sensing of etoposide by using carbon quantum dots modified glassy carbon electrode, *Analyst*, Pages 1-14.
- Osteryoung J., Kirowa-Eisner E., 1980, *Anal. Chem.*, 52, 62.
- Osteryoung J., Osteryoung R.A., 1985, *Anal. Chem.*, 57, 101A.
- Özkan S.A., Kauffmann J.M., Zuman P., 2015, Electroanalysis in Biomedical and Pharmaceutical Sciences Voltammetry, Amperometry, Biosensors, Applications, *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*, s. 350.
- Paneli M., Voulgaropoulos A., 1993, *Electroanalysis*, 5, 355.
- Talay Pınar, P., Saka C., Yardım, Y., Electrochemical behavior of the antineoplastic agent etoposide at a graphene-based modified electrode: its square-wave adsorptive stripping voltammetric determination in the pharmaceutical formulations, 2018, *Rev. Roum. Chim.* 63(12), 1149-1156

- Pommier Y., Leo E., Zhang H., Marchand C., 2010, DNA topoizomerazları ve bunların antikanser ve anti bakteriyel ilaçlarla zehirlenmesi, *Chem. Biol.*, 17(5), 421-33.
- Reinke R., Simon J., 2002, The online removal of dissolved oxygen from aqueous solutions used in voltammetric technique by chromatomembrane method. *Anal. Bioanal. Chem.*, 374, 1256-1260.
- Shewach D.S., Kuchta R.D., 2009, Introduction to cancer chemotherapeutics, *Chemical Reviews*, 109(7), 2859-2861.
- Skoog D.A., Holler F.J., Nieman T.A., 1998, *Principles of Instrumental Analysis*.
- Smith D. E., 1971, *CRC Crit. Rev. Anal. Chem.*, 2, 247.
- 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.
- Tavares P.H.C.P., Barbeira P.J.S., 2008, Influence of pencil lead hardness on voltammetric response of graphite reinforcement carbon electrodes, *Journal of Applied Electrochemistry*, 38, 827-832.
- Temel, M.K., 2015, Sitotoksik kemoterapötiklerin yirminci yüzyıldaki gelişimi, *Türk Onkoloji Dergisi*, 30(2): 96-108.
- Thurston, D.E. 2006. *Chemistry and Pharmacology of Anticancer Drugs*, CRC Press. Taylor and Francis Group, Boca Raton.
- Uslu B., Ozkan S. A., 2007b, Electroanalytical application of carbon based electrodes to the pharmaceuticals, *Analytical Letters*, 40(5), 817-853.
- Uslu B., Ozkan S.A., 2007a. Solid electrodes in electroanalytical chemistry: present applications and prospects for high throughput screening of drug compounds. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 10(7), 495-513.
- Van den Berg C. M. G., Murphy K., Riley J. P., 1986, *Anal. Chim. Acta*, 188, 177.
- Van den Berg C. M. G., Nimmo N., 1987, *Anal. Chem.*, 59, 269.
- Van den Berg C. M. G., 1991, *Anal. Chim. Acta*, 250, 265.
- Wang J., 1985, *Stripping Analysis: Principles, Instrumentation and Applications*, VCH Publishers, Deerfield Beach, FL.
- Wang J., 1989, Voltammetry after nonelectrolytic preconcentration, in A. J. Bard, ed., *Electroanalytical Chemistry*, Marcel Dekker, New York, Vol.16, p.1.
- Wang J., Baomin T., 1992, *Anal. Chem. Acta*, 270, 137.

- Wang J., Lu J., Hocevar S., Farias P., Ogorevc B., 2000, *Anal. Chem.*, 72, 3218.
- Wang J., Kawde A.N., 2001, Pencil-based renewable biosensor for label-free electrochemical detection of DNA hybridization, *Anal. Chem. Acta*, 431, 219- 224.
- Wang J., 2006, *Analytical Electrochemistry*, 3rd ed, Wiley-VCH, New York, 1-180.
- Weinberg R.A., 1996, How cancer arises, *Scientific American*, (275), 62-70.
- Yazan Z., Dilek E. B., Erdal D., 2020, Four-way parallel factor analysis of voltammetric four-way dataset for monitoring the etoposide-DNA interaction with its binding constant determination, *Bioelectrochemistry*, 134, 107525.
- Zhang, J., Guo S., Bond A. M., Marken F., 2004, *Anal. Chem.*, 76, 3619.

ÖZGEÇMİŞ**KİŞİSEL BİLGİLER****Adı Soyadı: Büşra ATAY****Uyruğu: TC****EĞİTİM**

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Üniversite	: EGE ÜNİVERSİTESİ, BORNOVA,İZMİR	2013
Yüksek Lisans :	Batman Üniversitesi	2022

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2017-...	MEB	ÖĞRETMEN

UZMANLIK ALANI**KİMYA ÖĞRETMENLİĞİ****YABANCI DİLLER****İNGİLİZCE**