



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

**KURŞUN KALEM ELEKTROT İLE
PODOFİLOTOKSİN'İN ELEKTROANALİTİK
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ VE
MİKTAR TAYİNİ**

Mehmet ÖZER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalını

Kasım-2019

BATMAN

Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

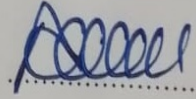
Mehmet ÖZER tarafından hazırlanan “Kurşun kalem elektrot ile podofilotoksin’in elektroanalitik özelliklerinin incelenmesi ve miktar tayini” adlı tez çalışması 19.11.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / ~~oy çokluğu~~ ile Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

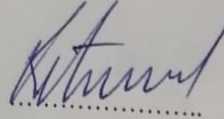
Başkan/Danışman

Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT



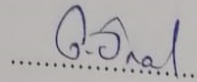
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Ertuğrul KESKİN



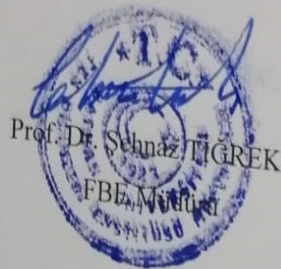
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Günay ÖNAL



Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Şehnaz TIGREK
FBE Müdürü



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.

İmza

Mehmet ÖZER

Tarih:19.11.2019

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KURŞUN KALEM ELEKTROT İLE PODOFİLOTOKSİN'İN ELEKTROANALİTİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ VE MİKTAR TAYİNİ

Mehmet ÖZER

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

Danışman: Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT

2019, 61 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT

Dr. Öğr. Üyesi Ertuğrul KESKİN

Dr. Öğr. Üyesi Günay ÖNAL

Bu tez kapsamında antineoplastik ilaçlar içinde yer alan bitkisel kaynaklı podofilotoksin kanser (meme kanseri, prostat kanseri, kolon kanseri, küçük hücreli akciğer kanseri, lenfomalar, ve genital tümörler) ve siğil tedavilerinde kullanılmaktadır. Podofilotoksin'in miktar tayini için tek kullanımlık olan kalem grafit elektrot (PGE) kullanılarak hassas, duyarlı ve basit bir voltametrik yöntem geliştirilmiştir. Podofilotoksin'in elektrokimyasal özellikleri PG elektrot kullanılarak kare-dalga (SW) ve dönüşümlü voltametri (CV) tekniğiyle incelenmiştir. SW voltametri tekniği kullanılarak Britton Robinson (BR) tamponunda (pH 4.0) içerisinde, podofilotoksin'in +1.242 V (vs. Ag/AgCl) gerilim değerinde (0.0 V'da ve 60 s ön-deriştirme sonrası) çok iyi voltametrik bir yanıt vermiştir. Bu işlem, gözlenebilirlik sınırı 2.55 nM (1.06 µg/L) olan 1.24×10^{-8} – 29.4×10^{-8} M (12.4-299.5 nM) derişim aralığında bileşimin miktar tayini için kullanılmıştır. Önerilen yöntem, insan idrar örneklerinde başarılı bir şekilde uygulanmıştır.

Kelimeler: Anti kanser, Kalem grafit elektrot, Podofilotoksin, Voltametri

ABSTRACT

MS THESIS

INVESTIGATION AND QUANTIFICATION OF ELECTROANALYTIC PROPERTIES OF PENCIL GRAPHITE ELECTRODE AND PODOPHYLLOTOXIN

Mehmet ÖZER

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
BATMAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
DEPARTMENT OF CHEMISTRY**

Advisor: Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT

2019, 61 Pages

Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT

Dr. Öğr. Üyesi Ertuğrul KESKİN

Dr. Öğr. Üyesi Günay ÖNAL

Podophyllotoxin , which is included in antineoplastic drugs and investigated in this study, is used in the treatment of cancer (breast cancer, prostate cancer, colon cancer, small cell lung cancer, lymphomas, and genital tumors) and warts. A sensitive and simple voltammetric method has been developed for the quantitation of podophyllotoxin using a disposable pencil graphite electrode (PGE). Electrochemical properties of podophyllotoxin were investigated by using squarewave (SW) and cyclic voltammetry(CV) technique using PG electrode. In the Britton Robinson (BR) buffer (pH 4,0) using SW voltammetry, podophyllotoxin yielded a very good voltammetric response at a +1.242 V (vs. Ag/AgCl) (after 60 s of accumulation at 0.0V). This process was used to quantify the compound in the concentration range of 1.24×10^{-8} – 29.4×10^{-8} M (12.4-299.5 nM) with an observability limit of detection 2.55 nM (1.06 µg/L). The proposed method has been successfully applied to human urine samples.

Keywords: Anti cancer, Pencil graphite electrode, Podophyllotoxin, Voltammetry

ÖNSÖZ

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tez çalışmamın her aşamasında, özellikle elektrokimya ve voltametri uygulamalarında büyük desteğini gördüğüm, bilgi ve deneyimleriyle bana her konuda ışık tutan, hoşgörüsünü esirgemeyen, motivasyonumu sağlayan, danışmanım ve değerli hocam Sayın Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT' e teşekkürlerimi sunarım.

Hem maddi hem manevi desteğiyle tüm hayatım boyunca yanımda olan, eğitim hayatım boyunca desteklerini esirgemeyen sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim için beni motive eden, yanımda olan, desteğini esirgemeyen Zeynep ALTUN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Mehmet ÖZER
BATMAN-2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Elektrokimya.....	3
2.2. Elektrokimyasal Yöntemler	3
2.2.1. Voltametri	4
2.2.1.1. Doğrusal Voltametri	5
2.2.1.2. Polarografi	6
2.2.1.3. Dönüşümlü Voltametri	7
2.2.2. Puls Voltametrisi.....	7
2.2.2.1 Normal Puls Voltametrisi	8
2.2.2.2 Diferansiyel Puls Voltametrisi.....	8
2.2.2.3 Kare Dalga Voltametrisi	9
2.2.3. Sıyırma Voltametrisi.....	10
2.2.3.1. Anodik Sıyırma Voltametrisi.....	10
2.2.3.2. Katodik Sıyırma Voltametrisi.....	10
2.2.3.3. Adsorptif Sıyırma Voltametrisi	11
2.3. Elektrokimyasal Sistemler	11
2.3.1. Voltametrizde Kullanılan Referans Elektrotları	12
2.3.2. Yardımcı Elektrotu	13
2.3.3. Voltametrizde Kullanılan Çalışma Elektrotları	13
2.3.3.1. Katı Elektrotlar	14
2.3.3.1.1. Karbon Elektrotlar	15
2.3.3.1.2. Kurşun Kalem Elektrot	15
2.3.3.2. Cıva Kökenli Elektrotlar	16
2.3.3.3. Modifiye Elektrotlar	17
3. KAYNAK ARAŞTIRMASI	18
3.1.Kanser	18
3.2. Podofilotoksin.....	20
3.2.1. Podofilotoksin'in Etki Mekanizması.....	21
3.2.2. Podofilotoksin'in Sentetik Türevleri	21
4. MATERYAL VE YÖNTEM.....	25
4.1. Materyal	25

4.1.1. Voltametrik çalışmalarda kullanılan araç gereç ve malzemeler	25
4.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	26
4.1.3. Çözeltilerin hazırlanması	26
4.1.3.1. Stok çözeltilerin hazırlanması.....	26
4.1.3.2. Destek elektroliti (tampon) çözeltilerinin hazırlanması.....	26
4.1.4. Elektrokimyasal ölçümler	27
4.2. Voltametrik Yöntem	27
5. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	29
5.1. Podofilotoksin'in Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi	29
5.1.1. Dönüşümlü voltametri	29
5.1.1.1. Gerilimin tarama hızına etkisi.....	30
5.1.1.2. Destek elektroliti ve pH etkisi	32
5.1.1.3. Biriktirme/sıyırma koşullarının etkisi.....	34
5.1.2. Kare-dalga değişkenlerinin etkisi	35
5.1.4. Kalibrasyon çalışması (Geliştirilen yöntemin analitik performans özelliklerinin incelenmesi).....	38
5.1.5. Gerçek örnek analizleri	40
5.1.5.1. İdrar örnekleri	40
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	43
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	48

SİMGELER 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>i</i>_p	Pik akımı
<i>E</i>	Gerilim
<i>E</i>_p	Pik gerilimi
<i>E</i>_{pa}	Anodik pik gerilimi
<i>E</i>_{pc}	Katodik pik gerilimi
s	Saniye
<i>m</i>	Eğim
V	Gerilim tarama hızı
Hz	Hertz
ΔE_s	Gerilim adımı
ΔE_{sw}	Puls amplitüdü

Kısaltmalar

BR	Britton-Robinson
CV	Dönüşümlü voltametri
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
HPLTC	Yüksek performanslı ince tabaka 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
LOD	Gözlenebilirlik sınırı
LOQ	Tayin alt sınırı
R	İdeal Gaz Sabiti
rpm	Dakikada döngü sayısı
n	Deney sayısı
UV	Mor ötesi ışın

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Elektroanalitik yöntemlerin şematik gösterimi.....	4
Şekil 2.2. Üç elektrotlu potansiyostat sistem diyagramı (Bard,2001).	5
Şekil 2. 3. Doğrusal voltametrizde uygulanan potansiyelin zamanın bir fonksiyonu olarak değişim grafiği	6
Şekil 2. 4. Polarografide akım potansiyel grafiği	6
Şekil 2. 5. Dönüşümlü voltametrizde potansiyel zaman değişim grafiği	7
Şekil 2. 6. Normal puls voltametri için uyarma sinyali grafiği (Wang, 2006)	8
Şekil 2. 7. Diferansiyel Puls Voltametrizde uygulanan potansiyelin zamana karşı değişim grafiği.....	9
Şekil 2. 8. Kare dalga voltametrisinde uygulanan potansiyel zaman değişim grafiği	9
Şekil 2.9. Uygun bir şelat ajanı (L) varlığında bir metal iyonun (M^{n+}) adsorptif sıyırma ölçümlerinde biriktirme ve sıyırma adımları.	11
Şekil 2.10. Üç elektrotlu elektrokimyasal hücre.....	12
Şekil 2.11. Ag/AgCl elektrodun şeması(referans elektrod).....	13
Şekil 2.12. Platin tel elektrot.....	13
Şekil 2. 13. Voltametrik analizlerde kullanılan çalışma elektrotları.....	14
Şekil 2. 14. Kurşun kalem elektrot	16
Şekil 3. 1. Kanser hücresi ve çoğalması	18
Şekil 3. 2. Podofilum alkaloid özütü	20
Şekil 3. 3. Sentetik podofilotoksin türevlerin bazıları(Zhank ve ark, 2018)	23
Şekil 4. 1.AUTOLAB, PGSTAT128N cihazı.....	25
Şekil 5.1. 1.2×10^{-5} M Podofilotoksin'in BR (pH 4.0) tamponu içinde iki döngülü akım eğrileri. Elektrot, PG; gerilim tarama hızı, 100 mVs^{-1} . Kesikli çizgi ile gösterilen destek elektroliti.	29
Şekil 5. 2. 1.2×10^{-5} M Podofilotoksin'in BR (pH 4.0) tamponu içinde gerilim tarama hızlarıyla elde edilen dönüşümlü akım eğrileri.....	30
Şekil 5.3. $\sqrt{v} - i_p$, $v - i_p$ ve $\log v - \log i_p$ grafikleri	31
Şekil 5.4. 2.41×10^{-6} M Podofilotoksin BR (pH 4.0), fosfat (pH 3.0, 4.0, 7.4 ve 9.0), asetat (pH 4.8) tamponları ve $0.5 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ içinde PG elektrot kullanılarak elde edilen SWV eğrileri. SWV değişkenleri; frekans 40 Hz, adım gerilimi 10 mV, amplitüd 40 mV.	33
Şekil 5.5. 2.41×10^{-6} M Podofilotoksin BR tamponu içinde (pH 2.0- 12.0) PG elektrot kullanılarak elde edilen SWV eğrileri. SWV değişkenleri: frekans 40 Hz, adım gerilimi 10 mV, amplitüd 40 mV.	33
Şekil 5. 6. 1.2×10^{-6} M Podofilotoksinin BR tamponu (pH 4.0) içinde elde edilen SW eğrileri üzerinde biriktirme gerilimi (A) ve biriktirme süresinin etkisi(B). Elektrot, PG; SW değişkenleri; amplitüd, 40 mV, frekans, 40 Hz, Adım gerilimi 10 mV.	35
Şekil 5.7. PG elektrot yüzeyinde 1.2×10^{-6} M Podofilotoksinin BR tamponu (pH 4.0) çözelti içerisindeki farklı adım potansiyelindeki SW akım eğrileri.	36
Şekil 5.8. PG elektrot yüzeyinde 1.2×10^{-6} M Podofilotoksinin BR tamponu (pH 4.0) çözelti içindeki farklı amplitüd deki kare dalga akım eğrileri	37
Şekil 5. 9. PG elektrot yüzeyinde 1.2×10^{-6} M Podofilotoksinin BR tamponu (pH 4.0) çözelti içindeki farklı frekanslardaki kare dalga akım eğrileri.	38
Şekil 5.10. (A) Podofilotoksinin farklı derişimlerinin [(1) 12.4, (2) 24.5, (3) 49, (4) 75.5, (5) 95, (6) 122.5, (7) 147, (8) 196, (9) 220.5 (10) 245, (11) 299.5 nM] BR tamponu (pH 4.0) içerisinde kaydedilen SW eğrileri, Elektrot, PG; biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans 60 Hz, adım gerilimi 11 mV,	

amplitüd; 60 mV. kesikli çizgi destek elektroliti. (B) Podofilotoksinin kalibrasyon eğrisi.....	40
Şekil 5. 11. (A) İdrar örneğinin BR tamponu (pH 4.0) içerisinde kaydedilen akım eğrileri, Podofilotoksin eklenmemiş (kesikli çizgi), Podofilotoksin eklenmiş, 15, 25, 35, 45, 55, 65, 75, 85 nM standart eklemeler sonrası($C_{\text{podofilotoksin}} = 2.41 \times 10^{-3} \text{ M}$). Elektrot, PG; biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans 60 Hz, adım gerilimi 11 mV, amplitüd; 60 mV. (B) Standart ekleme yöntemiyle analiz sonucu.	41

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Podofilotoksin bileşiğinin moleküler yapısı ve genel özellikleri	21
Çizelge 3.2. Podofilotoksin ve türevlerinin analiz yöntemleri	24
Çizelge 5.1. Podofilotoksin'in akım eğrilerindeki pik gerilimi ve pik akımı üzerinde gerilim tarama hızının etkisi. Podofilotoksinin derişimi 1.2×10^{-5} M; Yöntem, CV; destek elektroliti, BR tamponu (pH 4.0); elektrot PG.....	30
Çizelge 5.2. Podofilotoksin akım eğrilerindeki pik gerilimi (Ep) ve pik akımı (Ip) üzerinde pH etkisi. Podofilotoksin derişimi, 2.41×10^{-6} M; destek elektroliti, BR tamponu; elektrot, PG teknik, SWV.....	34
Çizelge 5.3. Podofilotoksin tayini için voltametrik yöntem ile elde edilen en iyi deneysel ve aletsel parametreler	39
Çizelge 5.4. Podofilotoksin içeren voltametrik analiz bulguları	42

1. GİRİŞ

Kanser, çağımızda çevre, genetik faktörler, yaş ve daha birçok faktörden dolayı artarak dünya genelinde toplum sağlığını etkilemektedir. Artan kanser vakalarının önlenmesi için ilk olarak kanserli hücrelerin analizleri gerçekleştirilmelidir. Kanserli hücreleri etkisiz hale getirebilmek için canlının işleyişinde rol alan bileşenlerin neler olduğunu, hangi oranlarda hangi koşullarda sentezlendiği çok önemlidir. Bu nedenle, kanser tedavisinde kullanılacak olan ilaçlara ilgi artmaktadır. Dolayısıyla kanser tedavisinde kullanılan bileşiklerin, numunelerin(kan, idrar, doku, vb.) alınıp analiz yapılabilmesi için ve bazı ilaçların toksik özellik göstermesinden dolayı sağlık personellerinin korunması güvenli bir şekilde çalışabilmesi için yeni yöntemler geliştirmek çok önemlidir. Bütün bu etkenler bir araya geldiğinde analitik kimya madde analizleri için ve elektrokimyasal yöntemleri uygulamada ve kullanmada ön plana çıkarmaktadır.

Analitik kimya, maddeleri genel olarak tanıma, yapılarının ve bileşenlerinin belirlenmesi, nicel ve nitel olarak analiz yapılabilmesi yönünden farklı yöntemler izleyen, bilimsel çalışmalarda kimyasal işlemlerin yapılmasını sağlayan kimya alt dalıdır.

Analitik kimyanın bir alt dalı olan elektrokimya, kimyasal tepkimeler ile elektrik enerjisi arasındaki ilişkiyi esas alarak indirgenme-yükseltgenme(redoks) olaylarını inceler. İletkenlik, akım, potansiyel gibi kavramlardan faydalanarak, hem gerçekleşen kimyasal tepkimenin hem de maddenin karakterizasyonunu inceler.

Elektrokimya alanında geliştirilmiş tekniklere olan ilgi giderek artmaktadır ve günümüzde elektrokimyadan pek çok alanda faydalanılmaktadır. Elektrokimyasal yöntemlerin, başında voltametrik yöntemler gelmektedir ve çalışma alanı geniştir. Voltametrik teknikler pek çok çeşit analizde tercih edilmektedir. Özellikle çok düşük derişimlere inebilmesi, hızlı ve hassas bir şekilde analizin gerçekleştirilebilmesi, adli tıp analizleri, klinik analizleri, madde analizlerinin yapılabilmesi, diğer tekniklere yöntemlere göre daha az kimyasal kullanılması, daha ucuz olması ve sonuçların güvenilirliği gibi doğrudan insan sağlığıyla ilgili ilaç analizleri için çok önemlidir. Bu avantajlarından dolayı elektrokimyasal yöntemler geniş bir çalışma alanına sahiptir.

Podofilotoksin bitkisel kaynaklı bir antineoplastik ilaç sınıfında yer almaktadır. Podofilotoksinin en belirgin özelliği antiviral ve antineoplastik etkiye sahip olmasıdır. Podofilotoksinin, HPV ve diğer siğillerden kaynaklanan dış genital siğillerde, meme kanseri, prostat kanseri, kolon kanseri, küçük hücreli akciğer kanseri, lenfomalar ve

genital tümörler dahil bir çok kanser türüne karşı kemoterapi maddesi olarak kullanılmaktadır. Antineoplastik ajanlar olarak birçok Podofilotoksin türevide kullanılmaktadır.

Podofilotoksin için yapılan kaynakça araştırmasına göre çok sayıda yöntem ve teknik olduğu görülmüştür fakat elektrokimya çalışmasıyla ilgili olarak “çok duvarlı karbon nanotüp pasta elektrotunda anti-tümör bitkisel bir ilaç olan podofilotoksinin adsorptif sıyırma voltametrik tayini” çalışması tek bulunmaktadır(Dar ve ark., 2011).

Bu tez çalışmasında ilk defa kullanılan ve kaynakçada yerini alan kurşun kalem elektrot ile podofilotoksinin voltametrik tekniklerden yararlanılarak elektrokimyasal özellikleri incelenmiştir. Tez kapsamında öncelikle, kurşun kalem elektrot ile antineoplastik ilaç etken maddesi olan Podofilotoksin’in miktar tayini ve elektrokimyasal özelliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç için kullanılacak tampon çözelti, potansiyel tarama hızı, derişim, pH ve diğer değişkenler Podofilotoksin için belirlenerek aletsel koşullar optimize edilmiş ve en uygun koşullarda elde edilen veriler sonucunda bileşiğin ön görülen yöntem ile miktar tayinini deneme çalışmaları yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Elektrokimya

Elektrokimya, kimyasal tepkimler ile elektrik enerjisi arasındaki ilişkiyi esas alarak indirgenme-yükseltgenme olaylarını inceleyen bir kimya dalıdır. Günümüzde elektrokimyasal yöntemlerin kullanıldığı sistemler, indirgenme-yükseltgenme titrasyonları, kulometri, potansiyometri, voltametri, piller, kimyasal reaksiyonların hız ve denge sabitleri, iletken polimer sentezi, eser miktar madde analizlerinin belirlenmesi gibi birçok alan gösterilebilir.

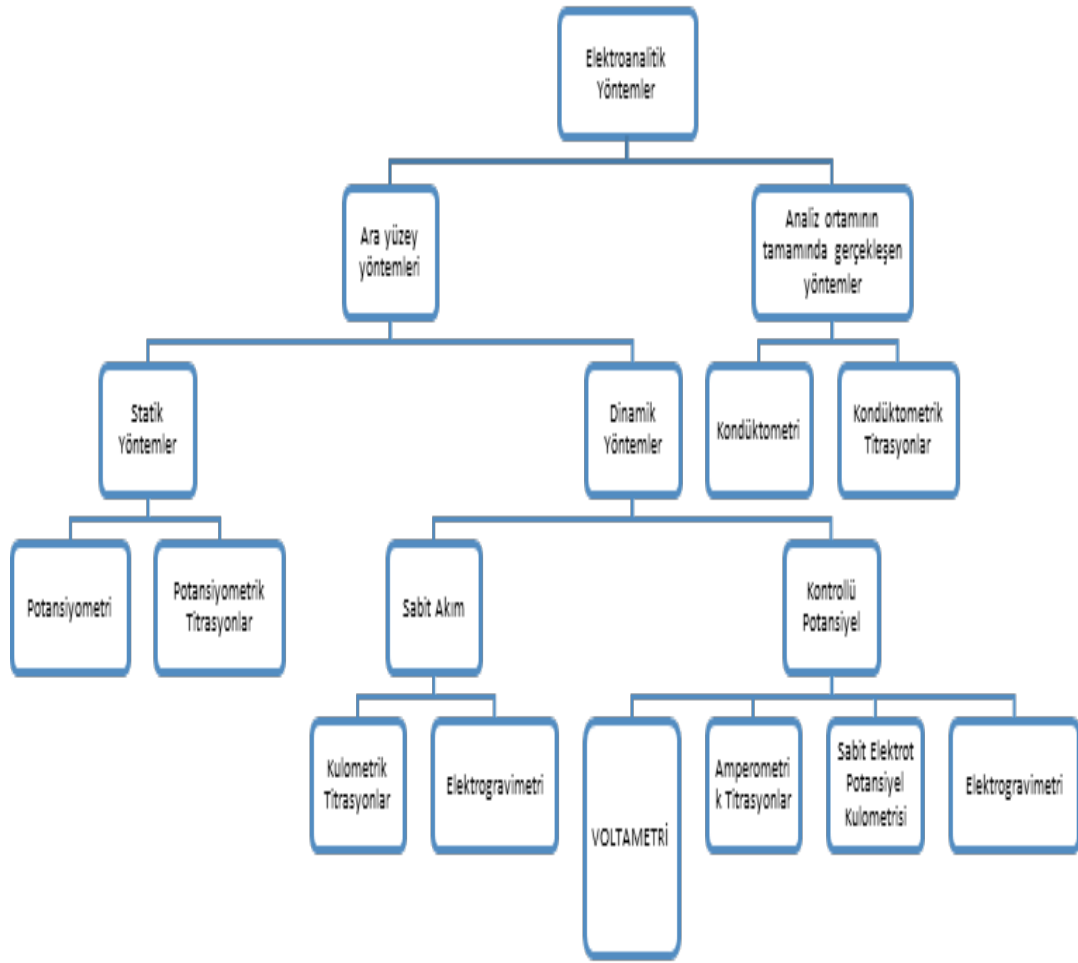
Elektroanalitik yöntemler, analizlerde farklı yükseltgenme basamağında bulunan maddelerin kolayca belirlenmesi, bu yöntemlerin uygulanmasını sağlayan cihazların spektrofotometrelere ve kromatograflara göre çok daha ucuz olması ve genellikle kimyasal türlerin analitik derişimini belirtmesi gibi üstünlüklere sahiptir.

Elektroanalitik yöntemlerde iki farklı yöntem vardır; bunlardan ilki potansiyometrik diğeri ise potansiyostatik yöntemdir.

Potansiyometri, akımın sıfır olduğun da potansiyelin belirlendiğı bir tür elektrokimyasal analiz yöntemidir. Bu yöntemde akım geçişi olmaz, potansiyel ölçüme dayanılarak çözültide gerçekleşen elektrokimyasal değışim açıklanır. Potansiyostatik yöntemler ise potansiyel kontrolüdür. Çözelti ve elektrot arasındaki yük transferi incelenir. Akım ölçülür ve ölçülen akımda reaksiyonu açıklar. Ayrıca bu yöntemle de ölçülen akım, analitin derişimi hakkında bilgi verir (Wang, 2006).

2.2. Elektrokimyasal Yöntemler

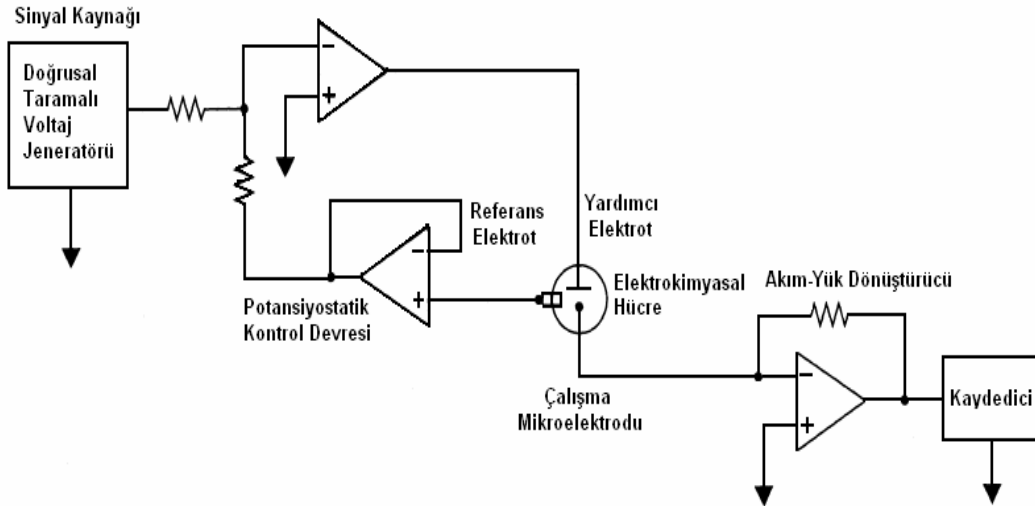
Elektrokimyasal yöntemlerin kullanıldığı sistemler olarak, elektrik akımı ve potansiyelinden yararlanılarak birçok farklı yapıdaki maddenin kantitatif ve kalitatif ölçümünün yapıldığı kullanışlı bir yöntemdir(Bond ve ark., 1989; Yaacob, 2006). Elektroanalitik yöntemler, farklı yükseltgen basamağındaki türlerin kısa sürede sonuç vermesi, yüksek hassasiyet ve duyarlılıkla gerçekleştirebilmesi, kromatograflara ve spektrofotometrelere göre çok daha ucuz olması da bu yöntemin farklı alanlarda kullanılmasını sağlamaktadır.



Şekil 2.1. Elektroanalitik yöntemlerin şematik gösterimi

2.2.1. Voltametri

Voltametri, çeşitli ortamlarda yükseltgenme, indirgenme, akım-gerilim ve derişim işlemlerinin temel çalışmaları, çalışma elektrodu denilen polarize bir elektrot kullanılarak incelenmesine dayanan bir elektroanalitik yöntemdir. Yükseltgenebilen ya da indirgenebilen inorganik ve organik maddelerin farklı derişimlerde ki çözeltilerinden uygun şartlarda elde edilen akım eğrilerinin özelliklerini değerlendiren analiz tekniğidir(Skoog, 1998).



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

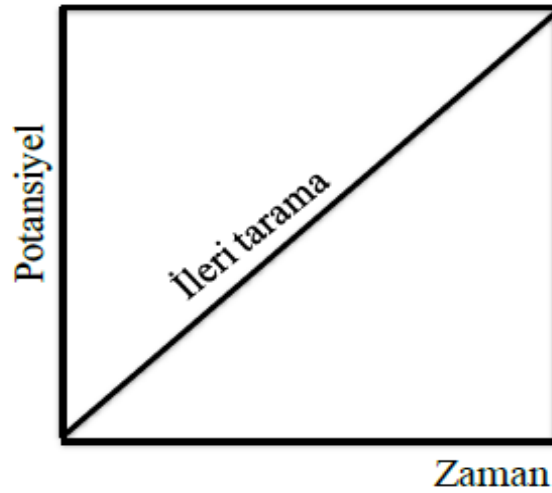
Voltametri, elektroaktif maddelerin uygun koşullarda ve ölçülmek istenen amaç doğrultusunda akım potansiyel eğrilerini inceler. Bu yöntemle ikili veya üçlü elektrot sistemi bulunur. Üçlü elektrot sistemlerinde çalışma elektrotu, referans elektrot, bir de yardımcı elektrot bulunur. Günümüzde yapılan analizlerin genelinde üçlü elektrot sistemi kullanılmaktadır.

Voltametrik teknikler pek çok çeşit analizde tercih edilmektedir. Bu tekniğin sıkça kullanılmasının nedeni çok düşük derişimler de maddelerin tayinine olanak tanınmasıdır. Özellikle çok düşük derişimlerin gözlenebilmesi, hassas ve hızlı analizler gerçekleştirebilmesi ve sonuçların güvenilirliği ilaç analizleri gibi doğrudan insan sağlığıyla ilgili analizler için çok önemlidir. Tüm bu avantajlar doğrultusunda son yıllarda ilaçlardaki etkin maddeler üzerindeki çalışmalarda voltametrik teknikler önemli yer tutmaktadır.

2.2.1.1. Doğrusal Voltametri

Doğrusal voltametri de potansiyel adım ölçümleri gibi sabit bir potansiyel aralığı kullanılır. Doğrusal voltametri ilk bulunan ve uygulanan voltametri çeşididir. Bununla birlikte, doğrusal voltametri de voltaj alt limitten bir üst limite taranır. Elde edilen potansiyelin sonucu olarak akım değerleri, zamana karşı kaydedilir(Wang, 2006). Böylece zamana karşı potansiyel grafikleri (Şekil 2.3) yani voltamogramlar elde edilir.

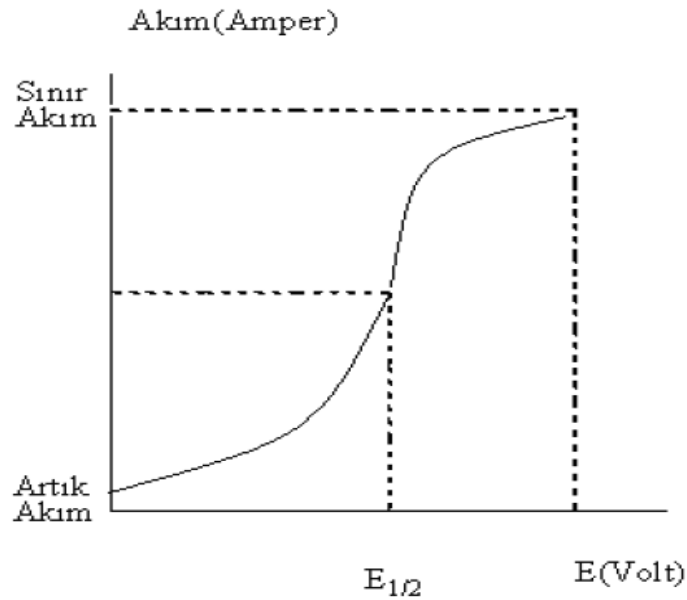
Doğrusal voltametri, zamanla geliştirilmiş alternatif yöntemler nedeniyle eskisi kadar kullanılmamaktadır.



Şekil 2. 3. Doğrusal voltametriye uygulanan potansiyelin zamanın bir fonksiyonu olarak değişim grafiği

2.2.1.2. Polarografi

Çalışma elektrotu olarak damlayan cıva elektrotun kullanıldığı voltametrik tekniğe polarografi denir. Damlayan cıva elektrotun potansiyelinin referans elektrotu karşı değiştirilip hücredeki akımın ölçülmesi bu yöntemin çalışma prensibini oluşturur. Akım elektroaktif maddenin damlayan cıva elektrot üzerinde indirgenmesi (katodik, +) ya da yükseltgenmesi (anodik akım, -) sonucu meydana gelir. Oluşan akıma karşılık potansiyel grafiği (polarogram) çizilir(Wang, 2006).



Şekil 2. 4. Polarografide akım potansiyel grafiği

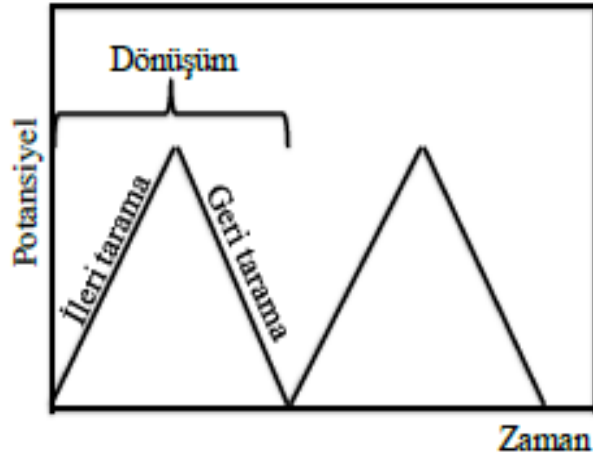
Polarogramın ilk kısmında artık akım ikinci kısmında sınır (limit) akım yer alır. (şekil 2.4) Artık akım, kapasitif(sığışal) akım ve faradaik akım bileşenlerinin toplamıdır. Sınır akım elektrot yüzeyindeki elektroaktif maddenin derişiminin sıfıra gittiği andaki

akım olup sınır akımının büyüklüğü elektroaktif maddenin derişimine ve kütlenin elektrot yüzeyine taşınma hızına bağlıdır (Wang, 2006).

2.2.1.3. Dönüşümlü Voltametri

Dönüşümlü voltametrinin çalışma ilkesi çalışma elektroduna belli bir tarama hızında belli bir yön ve tersi yönde potansiyel uygulanması prensibine dayanır.

Dönüşümlü voltametri de potansiyel belli bir değere çıkarılır ve ardından ya başka bir değere ya da ilk değere döndürülür. Uygulanan potansiyele karşı bir akım ölçülür ve akım – potansiyel grafiği elde edilir. Şekil 2.5'te bu voltametrik yöntemle uygulanan potansiyelin zamana karşı değişim grafiği gösterilmiştir.



Şekil 2. 5. Dönüşümlü voltametride potansiyel zaman değişim grafiği

İndirgenme yükseltgenme reaksiyonlarının mekanizmalarının belirlenmesinde dönüşümlü voltametriden yararlanılmıştır. Bu yöntemde duyarlılık $10^{-3} - 10^{-4}$ M'dır.

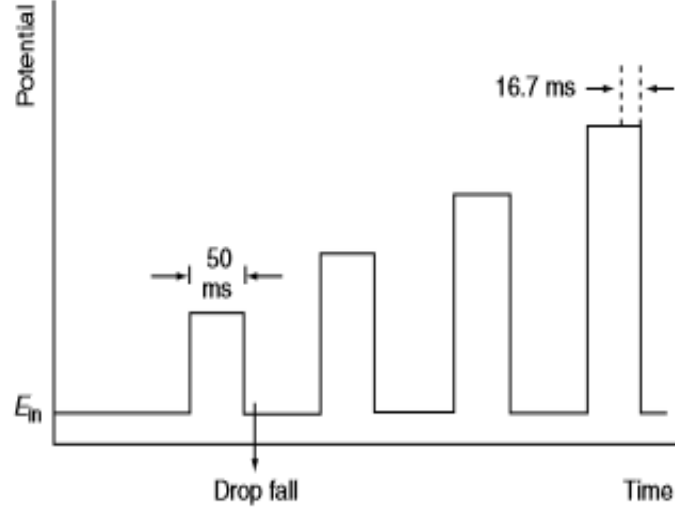
2.2.2. Puls Voltametrisi

Doğrusal taramalı voltametri metodunun düşük hassasiyet ve yavaş olması nedeniyle, bu metodun yerine kullanılması için geliştirilmiştir. Bu yöntem ilk olarak damlayan cıva elektrot için geliştirilmiş sonrasından diğer elektrotlara uygulanmıştır.

Bu yöntemde önemli olan, akımın uygulanan pulstan sonra ölçülmesidir. Diğer bir şekilde ifade edersek, puls yöntemleriyle artık akım giderilmektedir. Buda yapılan analizin duyarlılığını artırır.

2.2.2.1 Normal Puls Voltametrisi

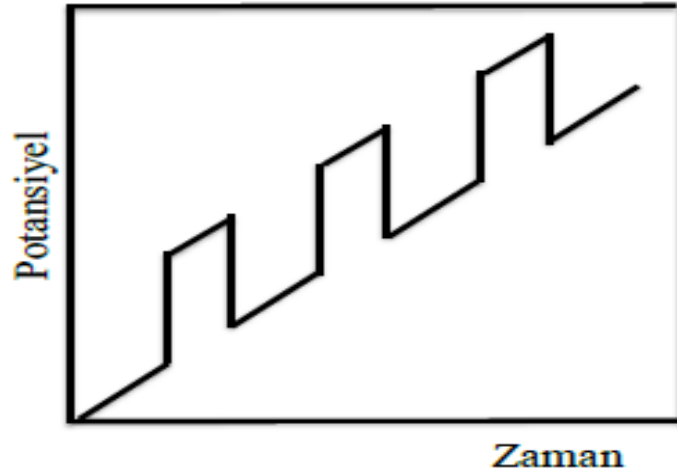
Voltametrizde duyarlılık artık akımla değiştiğinden duyarlılığı artırabilmek için artık akımın giderilmesi ya da en azından sıfıra yakın bir değere getirilmesi gereklidir. Gerilimleri puls şeklinde uygulayıp artık akımının giderilmesiyle duyarlılığın artması sağlanmış olur. Puls şeklinde çalışma elektroduna gerilim uygulandığında artık akım sıfıra yaklaşır. Bu sebepten pulsun sonundaki artık akım, faradaik akımdan kaynaklanmakta ve duyarlılığı artırmaktadır(Wang, 2006).



Şekil 2. 6. Normal puls voltametri için uyarma sinyali grafiği (Wang, 2006)

2.2.2.2 Diferansiyel Puls Voltametrisi

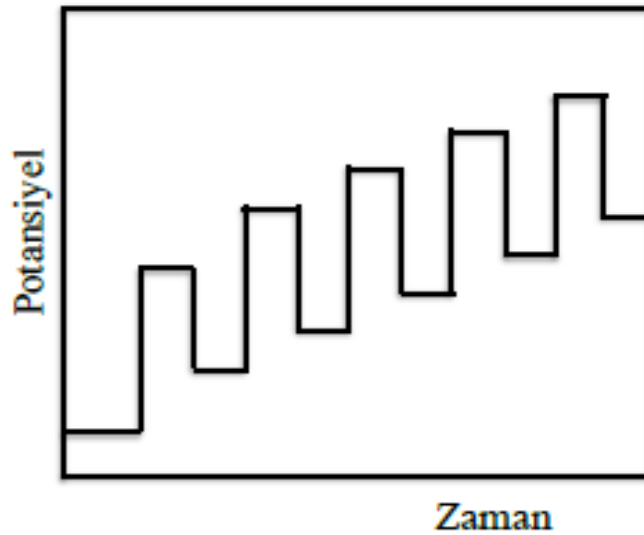
Normal puls voltametrizde giderilmemiş artık akım çok az da olsa kapasitif akım içermektedir. Bu yöntem kapasitif akımın giderilmesi amacıyla geliştirilmiştir. Bu yöntemde de tüm puls yöntemlerinde olduğu gibi belli bir aralıkta puls uygulanmaktadır. Duyarlılığı arttırmak için pulsun sonunda ve başlangıcında ölçülen akımların farkları alınmış ve bu yöntem normal puls yöntemine göre daha fazla duyarlılığa sahip olduğundan, duyarlılığı yüksek oranda artırmaktadır (Wang, 2006).



Şekil 2. 7. Diferansiyel Puls Voltametrizde uygulanan potansiyelin zamana karşı değişim grafiği

2.2.2.3 Kare Dalga Voltametrisi

Kare dalga voltametrisi, yüksek hız ve avantaj sunan bir tür puls voltametrisidir. Grafiklerin tamamı 1V tarama ile elde edilir ve 0,5 s gerektirir. SWV yönteminde de pulstan önce ve sonra akımlar ölçülerek arasındaki fark akımlar grafik olarak çizilir. Bu fark doğrudan derişimle orantılıdır. Çok düşük derişimlerde ölçümün hızından dolayı, analizlerin kesinliğinden, hassasiyetinden dolayı pek çok analizde kullanılmaktadır (Skoog ve ark., 2007).



Şekil 2. 8. Kare dalga voltametrisinde uygulanan potansiyel zaman değişim grafiği

2.2.3. Sıyırma Voltametrisi

Sıyırma voltametrisi, metal ve organik numunelerin ölçülmesi için en önemli ve hassas elektrokimyasal tekniklerden biridir. Bu yöntem yüksek seçicilik ve duyarlığa sahip olmasından dolayı da eser miktar tayinlerinde de kullanılır. Sıyırma voltametrisi cihazların ucuzluğu, analiz kolaylığı, endüstriyel, çevre klinik numunelerinde hatasız analiz sonuçları elde etmesi sebebiyle analizlerde ön plana çıkmıştır. Sıyırma yöntemleri hem anorganik hem de organik tayinlerde kullanılabilmektedir(Skoog ve ark., 2007).

Elektrot yüzeyinde herhangi bir şekilde biriktirilen madde analizi için sıyırma voltametrisi uygulanabilir. Sıyırma yöntemi iki farklı yöntemle uygulanabilir. İlk olarak, analizi yapılacak madde seyreltik çözeltiden yükseltgenme veya indirgenme suretiyle alınarak elektrot yüzeyinde elektrokimyasal yolla veya adsorbe edilerek biriktirilir. Bu basamakta yapılan bir elektrokimyasal ön deriştirme işlemidir. Bu sırada çözelti karıştırılır. Analizi yapılacak maddenin çözeltiden indirgenmesi ya da yükseltgenmesi olayının gerçekleşmesiyle, madde sabit potansiyelde kimyasal bir değişikliğe uğramadan doğrudan elektrot yüzeyinde biriktirilir. İkinci adımda ise sıyırma basamağında elektrot yüzeyine biriktirilmiş olan madde voltametrik yöntemlerden biri ile sıyrılır. Yönteme sıyırma voltametrisi adı verilmesinin nedeni bu basamaktan ileri gelmektedir. Sıyırma voltametrisinde oluşan akım ölçülerek madde miktarı tayin edilir(Wang, 2006)

2.2.3.1. Anodik Sıyırma Voltametrisi

Anodik sıyırma voltametrisi, indirgenebilen metal iyonlarının cıva elektrodu kullanılarak tekrardan yükseltgenmesi işleminde kullanılır. Anodik sıyırma voltametrisi, metal iyonlarının uygun bir negatif potansiyelde tutulan çalışma elektrodunda indirgenme yoluyla biriktirildiği tekniğe uygulanır. Biriktirme potansiyeli, belirlenecek indirgenmiş metal iyonu için standart bir potansiyelden genellikle 0.3-0.5 V daha negatiftir. Anotta sıyırma, katotta biriktirme gerçekleşir(Wang, 2006).

2.2.3.2. Katodik Sıyırma Voltametrisi

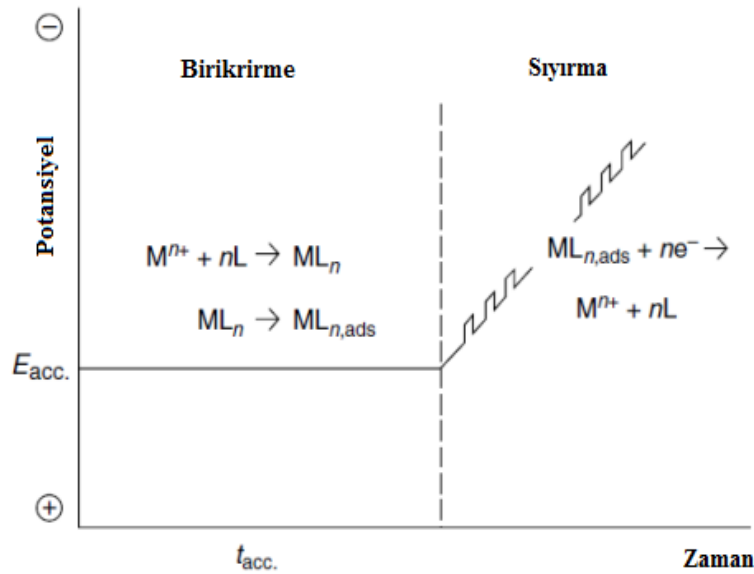
Potansiyel tarama yönü katodik yani negatif olduğundan adını alır. Anyonik türlerin analizinde ve organik moleküllerde bu yöntem kullanılır. Katotta sıyırma, anotta biriktirme gerçekleşir. Klinik ve ilaç ile ilgi alanlarındaki birçok sorun için yaygın olarak uygulanabilir olduğu bulunmuştur.

2.2.3.3. Adsorptif Sıyırma Voltametrisi

Adsorptif sıyırma analizi, çok sayıda eser elementin sıyırma kapsamını büyük ölçüde artırır. Bu yöntemler, metalin yüzey aktif bir kompleksinin oluşumunu, adsorptif birikimini ve indirgenmesini içerir. Adsorbe edilen kompleksin ölçülmesinde sırasıyla hem voltametrik hem de potansiyometrik sıyırma negatif ilerlemeli potansiyel tarama veya sabit katodik akımla birlikte kullanılabilir.

Adsorptif sıyırma voltametrisinde sıyırma kapsamını büyük ölçüde artırır. Bu nispeten yeni strateji, metalin yüzey aktif bir kompleksinin oluşumunu, adsorptif birikimini ve indirgenmesini içerir (Şekil 2.9). Adsorbe edilen kompleksi ölçmek için sırasıyla negatif ilerlemeli potansiyel tarama veya sabit katodik akımla birlikte hem voltametrik hem de potansiyometrik sıyırma şemaları kullanılabilir. Bu yöntemde adsorbe edilmiş kompleks içindeki metalin indirgenmesini içerir. (ligandın indirgenmesinden yararlanmak da mümkündür).

Anodik yönde yapılan taramaya; anodik adsorptif sıyırma voltametrisi, katodik yönde yapılan taramaya; katodik adsorptif sıyırma voltametrisi denir.

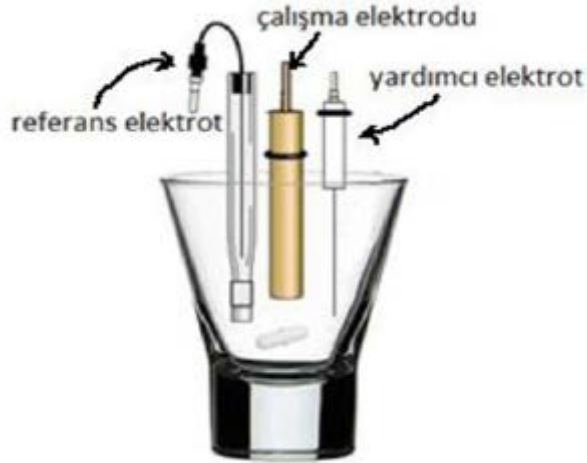


Şekil 2.9. Uygun bir şelat ajanı (L) varlığında bir metal iyonun (M^{n+}) adsorptif sıyırma ölçümlerinde biriktirme ve sıyırma adımları.

2.3. Elektrokimyasal Sistemler

Elektrokimyasal sistemler, elektrokimya kullanılarak yapılacak olan analizler için uygun koşulların sağlandığı sistemlerdir. Elektrokimyasal işlemler, elektrokimyasal hücre adı verilen sistemde gerçekleştirilir. Bir elektrokimyasal hücre elektrolit, ölçüm devresi, elektrotlar olmak üzere üç bölümden oluşur. Burada elektrolit çözeltisine

daldırılmış bulunan üçlü veya ikili elektrot sistemi vardır. Üçlü elektrot sistemlerinde bir çalışma elektrodu, bir referans elektrot, bir de yardımcı elektrot bulunur. İkili elektrot sisteminde sadece çalışma elektrodu ve referans elektrot bulunur, yardımcı elektrot bulunmaz.



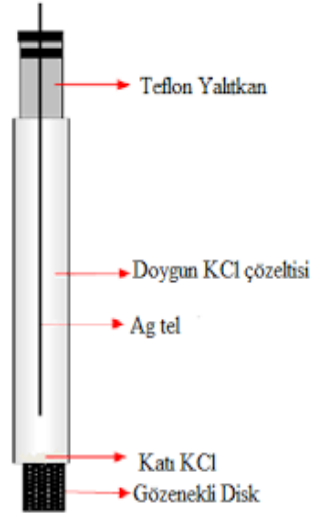
Şekil 2.10. Üç elektrotlu elektrokimyasal hücre

Voltametrik hücreler, voltametrik kap ve elektrotları bünyesinde barındıran sistemlerdir. Voltametrik analizlerin yapılabilmesi için elektrot sistemini içine alabilen bir voltametrik kaba ihtiyaç vardır. Voltametrik çalışmalar kuvars, teflon veya cam kaplarda yapılır. Voltametrik kabın yapıldığı malzeme biriktirme (adsorpsiyon) ve kirlenmenin olabildiğince az olduğu materyallerden seçilmelidir.

Elektrotlar, elektriksel iletkenliğe sahip olan ve indirgenme-yükseltgenme tepkimelerinde kullanılan malzemelerdir. Amaçlarına göre referans (karşılaştırma), yardımcı(karşıt) ve çalışma elektrotu olarak üçe ayrılır.

2.3.1. Voltametrinde Kullanılan Referans Elektrotları

Hücre geriliminin sabit ve çözelti derişiminden bağımsız olduğu elektrotlardır. Bu özelliklere sahip elektrotlara referans (karşılaştırma) elektrotları denir. İdeal özellikteki bir karşılaştırma elektrodunun tersinir ve Nernst eşitliğine uyduğu görülür. Küçük bir akım altında bile tekrar önceki gerilimine döner. Her ne kadar bu koşulları tamamen karşılayan bir referans elektrodu bulunmamakla birlikte kalomel ve gümüş referans elektrotları bu özelliklere yakın davranışlar sergilerler.



Şekil 2.11. Ag/AgCl elektrodun şeması(referans elektrod)

2.3.2. Yardımcı Elektrotu

Karşı(yardımcı) elektrot elektrokimyasal hücrede akımın iletilmesini sağlar ve referans elektroda akım geçmesini önler. Üç elektrotlu hücre sistemlerinde çoğunlukla platinden yapılmış tel karşıt elektrot olarak kullanılır.

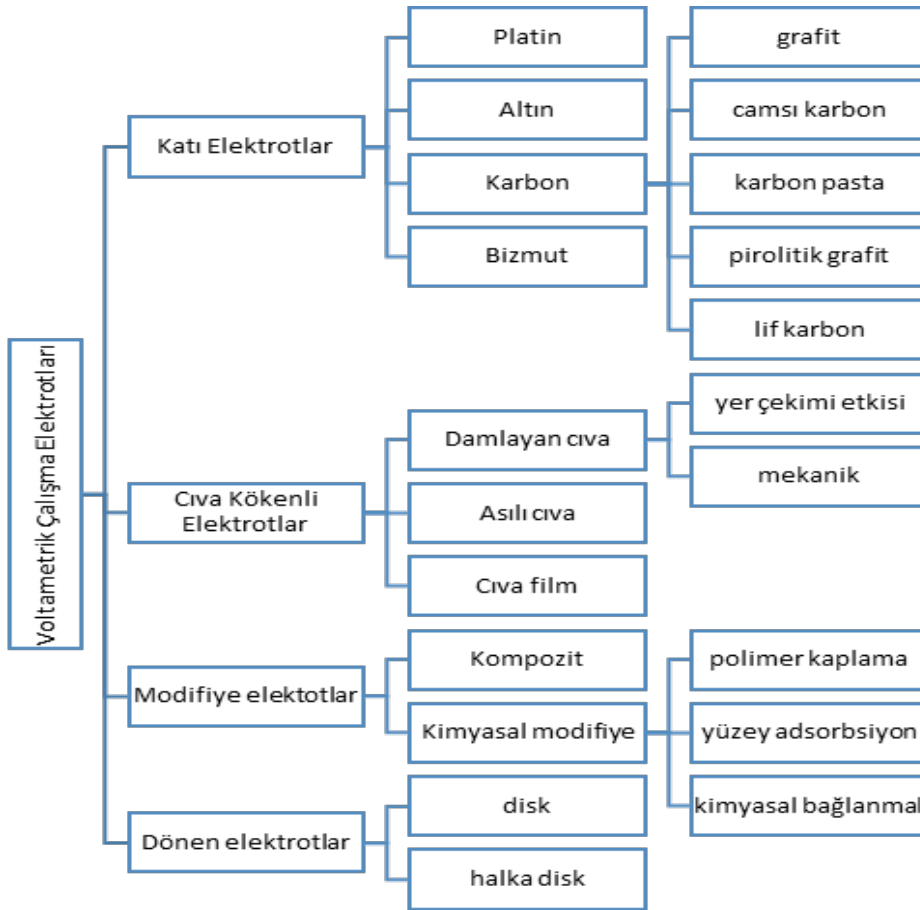


Şekil 2.12. Platin tel elektrot

2.3.3. Voltametrde Kullanılan Çalışma Elektrotları

Çalışma elektrotu analiz süresinde indirgenme-yükseltgenme tepkimelerinin gerçekleştiği, yük aktarımının gerçekleştiği ve gerilimi zamanla doğrusal olarak değişen elektrottur.

Çalışma elektrotlarının çeşitliliğinin fazla olması ve modifikasyon işlemlerine uygun olmasından kaynaklı ve uygulanabilirlik açısından birçok madde ile çalışıla bilindiğinden çok geniş bir kullanım alanı sunmaktadır. Voltametrde genellikle kullanılan çalışma elektrotları Şekil 2.13' deki gibi sınıflandırılır.



Şekil 2. 13. Voltametrik analizlerde kullanılan çalışma elektrotları

2.3.3.1. Katı Elektrotlar

Katı elektrotlar platin, altın ve karbon elektrotlar olarak alt bölümlere ayrılabiliriz.

Metal elektrotların iletkenliği çok iyi olmasına rağmen diğer katı elektrotlara göre maliyetleri yüksek olduğundan pek tercih edilmezler.

Platin elektrotlar iyi bir iletkenliğe sahip olduğundan dolayı voltametrik analizlerde oldukça yaygın kullanılmaktadır. Bu elektrotun çabuk oksitlenebilmesi analizlerde uzun süre kullanılmamasına neden olduğundan dezavantaj olarak karşımıza çıkmaktadır. Altın elektrotu yüksek iletkenliğe sahip bir maddedir ve platin elektrotla göre daha az oksitlenmektedir. Deneylerde tekrar edilebilir sonuçlar elde edilebildiğinden dolayı altın elektrot platin elektrotla göre voltametrik analizlerde daha fazla tercih edilmektedir.

Katı elektrotların kullanılmasında önemli bir faktör, elektrotun yüzey durumuna bağlı olmasıdır. Katı elektrotların en büyük dezavantajı her yeni analizde elektrotun temiz, homojen bir yüzey oluşturma zorunluluğudur. Buna göre, bu gibi elektrotların

kullanımı, tekrarlanabilir sonuçlar elde etmek için hassas bir şekilde temizlenmesi ve parlatılması gerektirir.

2.3.3.1.1. Karbon Elektrotlar

Karbon elektrotlar; tek kullanımlık, ucuz elde edilebilir, hızlıca üretilebilir güvenli ve çeşitlidir. Karbon kökenli elektrotlar taşınabilir sistemlere de uygulanabilir. Karbon kendi doğasındaki iletkenlikten dolayı, çok çeşitli sistemlerde kolay modifiye edilebildiğinden elektrot substratı olarak kullanımına izine ve spesifik analizlerde çok iyi tekrar edilebilirliği yüksek sonuçlar elde edilir. Günümüzde karbon kökenli elektrotlar ile ilgili birçok çalışma yapılmaktadır.

Elektrokimyasal çalışmalarda günümüzde kullanılan çeşitli karbon elektrot türleri bulunmaktadır. Bunlar; kurşun kalem elektrot, camsı karbon, karbon pasta elektrot, boron doped diamond elektrotur(Toghill ve ark., 2011)

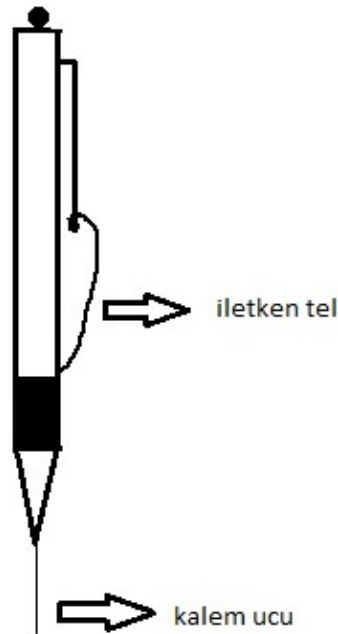
2.3.3.1.2. Kurşun Kalem Elektrot

Katı elektrotlarla çalışırken analiz sırasında bazı maddelerin yükseltgenme ürünlerinin elektrot üzerinde ince bir tabaka şeklinde birikmesinden dolayı analizde duyarlılığın azalması, elektrot temizlendikten sonra da tekrar edilebilirliklerde duyarlı sonuçlar vermemesi dezavantaj oluşturmaktadır. Bundan ötürü elektrot temizliği, voltametrik analizlerde kullanımı kısıtlamaktadır. 1990'lı yılların sonunda başlayarak kurşun kalem elektrotlar (PGE), camsı karbon ve karbon pasta elektrotlara tek kullanımlık olmak üzere alternatif oluşturmuşlardır. Elektrot olarak kurşun kalem uçlarından yararlanılır. Kalem uçları, doğal grafitin kil ve balmumu karışımı içerisine dispersiyonu (dağılması) ve ardından ısıtma işlemi uygulanması ile üretilir. Kil yerine selüloz gibi organik temelli materyal kullanılıp oksijensiz atmosferde yakıldığı zaman selüloz karbon şekline dönüşür. Oluşan yapı son derece elastiktir. PG elektrotlar, ne camsı karbon kadar sert nede pirolitik karbon ve karbon pasta kadar kırılmandır. PG elektrotların üstünlükleri tek kullanımlık olmaları ve elektrot temizleme işlemlerine gerek duyulmamasıdır. Dolayısıyla yeni bir elektrot yüzeyi yaratmak çok daha basit ve hızlı olup tekrar edilebilirlik yüksektir. Kalem ucunun sertlik ve siyahlığı ticari olarak grafit ve kil oranlarının ve sıcaklığının değiştirilmesi ile modifiye edilmektedir. Daha fazla grafit içermesi durumunda daha yumuşak ve daha kalın uçlar elde edilir. Kurşun kalemin sertliği 19 farklı derece olarak 9H (en sert)'den 8B (en yumuşak)'ye kadar değişir. PGE kullanılarak yapılacak analizlerde

sertliği uygun olan kalem seçmek oldukça önemlidir(Wang ve ark 2000, Wang ve Kawde, 2001, Odewunmi N.A. ve ark., 2019).

Karbon esaslı elektrotlar voltametrik sensör amacıyla kullanılmaktadır. PGE ise yeni yaygınlaşmaya başlayan bir karbon elektrot türüdür. Anodik, katotik ve adsorptif sıyırma voltametrisi yöntemlerinde PG elektrod kullanılabilmektedir. Var olan karbon esaslı elektrotlara göre PG elektrodun; yüksek elektrokimyasal reaktif göstermesi, ticari olarak kolay bulunması, mekanik olarak sertliği, kolay modifiye edilebilirliği, tek kullanımlık, ucuz, yüzey yenileme, parlatma gibi zaman alıcı işlemler gerektirmemesi gibi üstünlükleri vardır. Bu özelliklerinden dolayı elektrokimyasal ve elektro analitik çalışmaların farklı uygulamalarında yaygın bir şekilde kullanılmıştır(Levent ve ark., 2009, Özcan ve ark., 2018, Torrinha ve ark., 2018, Vishnu ve ark., 2019).

Şekil 2.13’de kurşun kalem elektrot şematize edilmiştir



Şekil 2. 14. Kurşun kalem elektrot

2.3.3.2. Cıva Kökenli Elektrotlar

Cıva kökenli elektrotlar voltametrik çalışmalarda oldukça sık tercih edilen bir elektrotur. Bunun en temel nedeni, katodik çalışma aralığının çok geniş olması ve bu elektrodun yüksek potansiyellere çıkabilmesidir.

Cıva kökenli elektrotların damlayan, cıva film ve asılı elektrot gibi birbirinden farklı özelliğe sahip olan çeşitleri vardır. Analizi yapılacak maddenin özelliğine, deney şartlarına, tekniklere göre bu elektrotlar arasından seçim yapılır.

2.3.3.3. Modifiye Elektrotlar

Modifiye elektrotlarla analiz uygulamaları, yöntemleri ve çeşitleri değişmektedir. Var olan bazı elektrotlarla analiz yapılırken bazı durumlarda dezavantajlı olmasından kaynaklı bu elektrotların özelliklerinde iyileştirilme gereksinimi duyulmuştur. Ve böylece modifikasyon işlemi elektrotlarda önem kazanmıştır.

Kimyasal ve kompozit modifikasyon olmak üzere iki yöntemle modifiye elektrotlar elde edilebilir. Kimyasal modifikasyonda var olan elektrot yüzeyine iyileştirme işlemi yapılır. Bunun için yüzeye tutunabilecek bir madde seçilir. Elektrot yüzeyine tutturulan maddeden kaynaklı elektrotun yüzey alanı genişler, daha duyarlı sonuçlar elde edilir ve daha küçük derişimler de analiz yapmaya olanak sağlar.

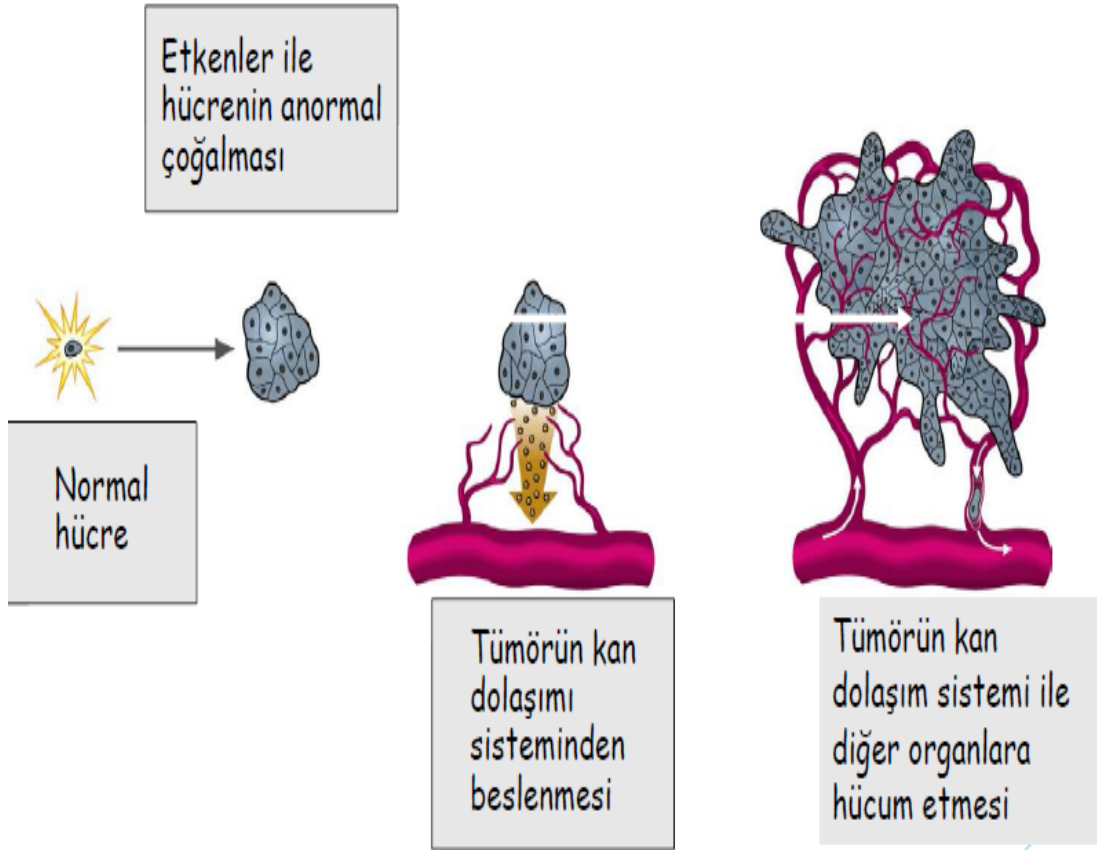
Kompozit elektrotlarda ise modifiye edilecek olan madde elektroda katılarak karıştırılır ve elektrot öyle hazırlanır. Bu şekilde modifiye işlemi elektrodun içinde yapılmıştır (Kachoosangi, 2013)

3. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Bu bölümde kanser ve siğiller hakkında kısa bilgiler verildikten sonra tez çalışmasının konusu olan Podofilotoksinin kimyasal ve fiziksel özelliklerine değinilmiştir. Sonra ki aşamalarda ise Podofilotoksin ve türevleri üzerinde yapılan çalışmalara kısaca değinilmiştir.

3.1.Kanser

Kanser, canlıda bulunan hücrelerin kontrolsüz olarak sürekli çoğalması sonucu hücrelere, organlara yayılan bir hastalıktır. Kanser hücrelerinin genel özellikleri; Şekil 3.1’de görüldüğü gibi farklılaşmama, kontrolsüz çoğalma ve fonksiyon kaybı, diğer hücrelere yayılım olarak özetlenebilir (Weinberg, 1996, Shewach ve Kuchta,2009).



Şekil 3. 1. Kanser hücresi ve çoğalması

Kanser hastalığından ölüm, istatistiklere göre kalp ve damar hastalıklarından sonra ikinci sıradaki ölüm nedenidir. Kanserinin iyileştirilmesinde üç farklı yöntem vardır: bunlar cerrahi girişim, radyoterapi(ışın tedavisi), ilaç kullanılması (kemoterapi). Bazı durumlarda üç yöntemde uygulanabilir. Bazen ışın tedavisi ve ilaç aynı anda uygulanabilir (konkomitan tedavi).

Kemoterapinin ana ilkesi, "*sitotoksik ilaçlar*" olarak da isimlendirilen "*antineoplastik ilaçlar*" ile tedavinin de temel ilkelerini oluşturur. Hastanın normal hücrelerine zarar vermeden kanser hücrelerinin çoğalmasını ve büyümesini durdurmak ya da olabilirse yok etmektir(Moosa ve ark., 2003; Thurston, 2006).

Antineoplastik ilaçların etkinliği ile hücre döngüsü arasında yakın ilişki bulunmaktadır. Bundan dolayı ilaçların aktivitesini azaltan durum; ilaç aktivitesinin hücre döngüsünün dönemine has olmamasıdır. İlaçların bazıları sadece hücre döngüsünün belirli bir aşamasında etki gösterirken (*döneme-özgü ilaçlar*), diğerleri hücre yaşamının tüm aşamalarında etkili olurlar (*döneme-özgü olmayan ilaçlar*). İkinci gruptaki ilaçların genel özelliği, DNA yapısını doğrudan bozmalarıdır.

Antineoplastik ilaçlar, kanserli hücreleri öldürürken bir yandan da hızlı şekilde çoğalan normal hücreleri de öldürebilir. Bunlardan ötürü bugün kullanılmakta olan anti-kanser ilaçları aslında antiproliferatif ilaçlardır. Antineoplastik ilaçlarla yapılan tedavi yaşamı tehdit eden boyuta ulaşan yan etkilere neden olabilir. Bu ilaçlar kanı oluşturan şekilli elementlerden birinin ya da tümünün yapımını azaltan kemik iliğinin baskılanması, lenfotoksik etki ve bağışıklık sisteminin baskılanması, bulantı ve kusma (emezis), oral ve intestinal ülserasyon, diyare, saç dökülmesi gibi genel yan etkilere neden olurlar. Bu ilaçların mutajenik (hücre çekirdeğindeki DNA üzerinde kalıcı yapı değişikliği oluşturma), teratojenik (anne karnındaki bebekte biçim bozukluğu ve noksan gelişme oluşturma) ve kanser yapıcı etkileri de vardır. Bunun yanı sıra, bireysel olarak çok özel yan etkiler de oluşturabilirler. Bu nedenle tedavinin yeterince deneyimli uzmanlar tarafından yapılması gereklidir.

Antineoplastik ilaçların etkinliğini kısıtlayan bir diğer durum, kanser hücresinin ilaca dirençli olması ya da zamanla direnç kazanmasıdır. Tedavi sırasında direnç kazanılmasını önlemek amacıyla ilaçlar karıştırılarak kullanılır ya da tek ilaç yeterli doz ve sürede verilir.

Antineoplastik ilaçlar genel olarak (i) ağızdan tablet ya da kapsül şeklinde, (ii) kas içine ya da cilt altına enjeksiyon yolu ile, (iii) damardan infüzyon şeklinde verilirler. Birçok ilaç sindirim yolu ile emilemediği için damardan verilme tercih edilmektedir. Damar yolu ile verilen ilaçlar dolaşıma hemen katıldığı için etkileri hızlı olmaktadır.

Antineoplastik ilaçlar, genel etki mekanizmalarına ya da kaynaklarına göre aşağıdaki şekilde sınıflandırabiliriz(Kayaalp,2012).

I.Antimetabolitler (Folik asit antimetabolitleri ,Pürin analogları , Pirimidin analogları, Sitozin analogları)

II. Sitotoksik antibiyotikler (Antrasiklinler, Bleomisin, Mitomisin, Daktinomisin, Plikamisin)

III. Bitkisel kaynaklı ilaçlar (Podofilotoksin “Etopozide, Teniposide”, Vinka alkaloidleri “Vinkristin, Vinblastin”, Taksanlar “Paklitaksel, Dosetaksel”, Kaptotesin türevleri “İrinotekan, Topotekan”)

IV. Enzimler (L-Asparaginaz)

V. Monoklonal antikolar (Setuksimab, Bevasizumab, İtuksimab)

VI. Alkileyiciler (Azotlu hardallar “Mekloretamin (azotlu hardal), Siklofosfamid, Klorambusil, Melfalan, İfosfamid”, Alkil sülfonatlar “Busulfan”, Nitrozoüreler “Karmustin, Lemustin, Semustin, Streptozosin”, Etileniminler, Triazinler)

VII. Stereoid Hormonlar ve Antagonistleri (Glukokortikoidler, Östrojen, antiöstrojenler, Androjenler, antiandrojenler, Progestinler, Lüteinleştirici hormon-salgılayan hormon antagonistleri, Oktreotid asetat)

VIII. İmmünmodülatörler (Levamisol, İnterferonlar, İnterlökinler)

IX. Diğer antineoplastik ilaçlar (Hidroksiüre, Mitotan, Heksametilmelamin, Sisplatin, Karboplatin, Okzaliplatin)

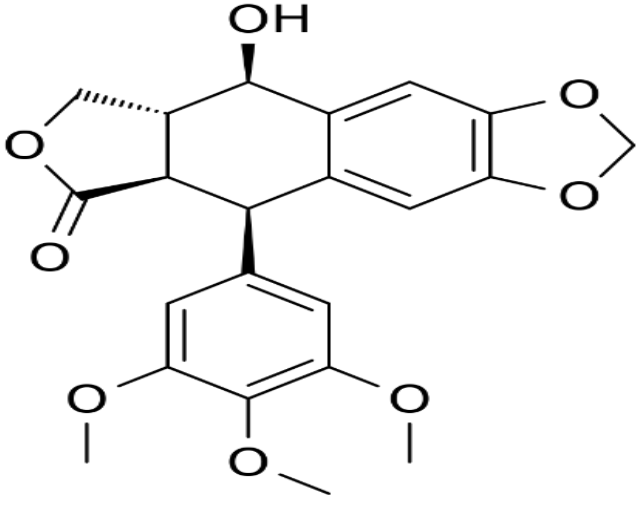
3.2. Podofilotoksin

Podofilotoksin, karmaşık bir yapıya sahip ve Podophyllum türlerinin alkaloid olmayan bir özütüdür. Ciltte, bazı insan papillom virüsü (HPV), diğer siğillerden kaynaklanan dış genital siğillerin tedavisinde kullanılır. Ayrıca temizleyici, anti viral ve anti tümör ajanlar gibi çeşitli tıbbi uygulamalara da sahiptir. Çizelge 3.1. ‘de görüldüğü gibi IUPAC adı : (5R,5aR, 8aR,9R)-9- hidroksi-5-(3,4,5-trimetoksifenil)-5,8,8a, 9-tetrahidro-furo [3',4' :6,7] nafto [2, 3-d] [1,3] dioksol-6 (5aH)-on ‘dur.



Şekil 3. 2. Podophyllum alkaloid özütü

Çizelge 3. 1. Podofilotoksin bileşiğinin moleküler yapısı ve genel özellikleri

Moleküler yapısı	Genel özellikleri
	Kimyasal formülü: C ₂₂ H ₂₂ O ₈
	Molar kütle: 414.41 g/mol
	Görünüş: Katı toz hali beyaz
	Erime noktası: 183.3-184 °C
	Çözünürlük: Etil eter içinde çözünmez, su ve asetonda çok az çözünür, benzen, etanol ve kloroformda çok iyi çözünür.
	Saklama koşulları: 2-8 °C

Podofilotoksin, bitkisel kaynaklı antineoplastik ilaç grubunda yer alır. Molekül ağırlığı 414.41 g/mol dür. Benzen, etanol ve kloroformda çok iyi çözünürken, su ve asetonda az ve etil eter içinde hiç çözünmez.

3.2.1. Podofilotoksin'in Etki Mekanizması

Antineoplastik ve antiviral özellikler, podofilotoksinin en belirgin ve seçkin farmakolojik etkileridir. Ayrıca podofilotoksin bir Topo II (DNA topoizomera II enzimi; hücrelerdeki DNA'nın topolojik durumunu kontrol etmekten sorumlu her yerde bulunan bir enzimdir) ve tubulin inhibitörüdür.

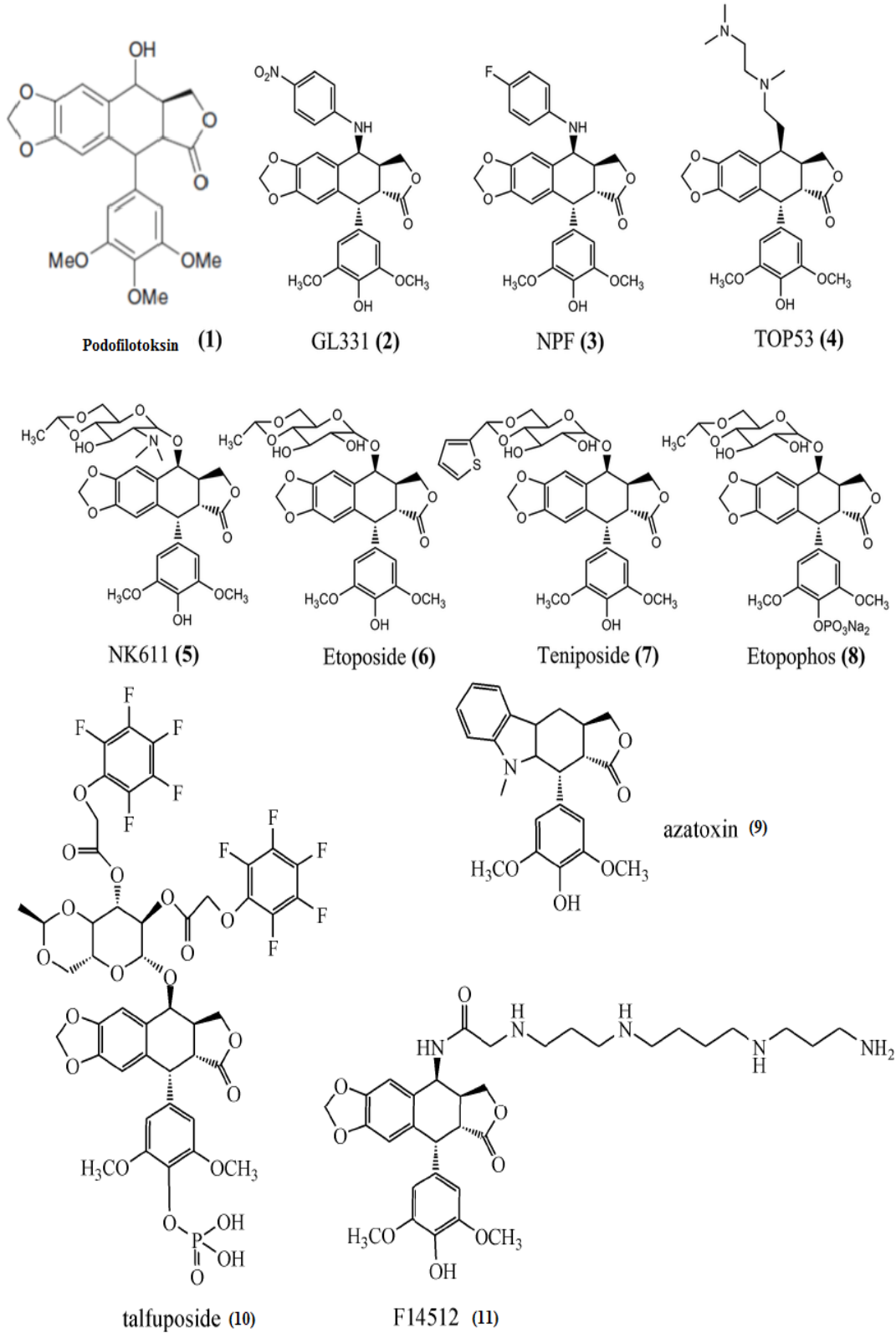
Podofilotoksin, tubuline tersine bağlanır, var olan dinamik dengeyi bozup ve mitozda hücre döngüsünün durmasını sağlayarak mitotik iğ iplikçilerini, mikrotubul oluşumunu durdurur. Tubulin, hücre iskeletinin temel bileşenleri, mitoz gibi birçok hücre fonksiyonunda doğrudan rol oynarlar. Podofilotoksin analoglarının etki mekanizması, sonunda hücre ölümüne yol açan bir dizi biyokimyasal dönüşümün ilk basamağı olarak tek ve çift sarmallı DNA kırılmalarını indükleyen bir nükleik asit-ilâç-enzim oluşumuna dayanır.

3.2.2. Podofilotoksin'in Sentetik Türevleri

Şekil 3.3 de görüldüğü gibi Podofilotoksin (1) podofilum türlerinin bir bileşenidir. Ticari olarak meme kanseri, prostat kanseri, kolon kanseri, küçük hücreli

akciğer kanseri lenfomalar, ve genital tümörler dahil bir çok farklı kanser türüne karşı kemoterapi maddesi olarak kullanılır. Antineoplastik ajanlar olarak Etopozid (6) ve Tenepozid (7) gibi çok sayıda podofilotoksin türevi kullanılır.

Biyolojik ve farmakolojik aktiviteye sahip analogları içeren Podofilotoksin son yıllarda olumlu bir ilgi görmektedir. Günümüzde Podofilotoksinin türevleri farklı anti kanser ilaçlar için sentezlenebilir ve çalışılabilir. Bilim insanları anti kanser tedavisinde etkin yeni türevlerin keşfedilmesi ile dünyayı tehdit eden kansere karşı yeni nesillere sağlıklı bir gelecek sunmak için ışık tutacağını belirtmektedirler(Zhank ve ark, 2018).



Şekil 3. 3. Sentetik podofilotoksin türevlerin bazıları(Zhank ve ark, 2018)

Podofilotoksin için uygulanan diğer analiz yöntemleri

Podofilotoksinin de içinde bulunduğu kaynak araştırmalarında önerilen analiz yöntemleri çizelge 3.2’de yer almıştır.

Çizelge 3. 2. Podofilotoksin ve türevlerinin analiz yöntemleri

Analit	Yöntem	Dedektör	LOD	Matris	Kaynak
Etopozid	HPLC	UV	-	Plazma	Liliemark ve ark., 1995
Podofilotoksin	HPLC	UV	-	Bitki özütü	Konuklugil, 1996
Podofilotoksin	HPLC	ECD-100	-	Plazma	Kitamura ve ark., 1997
TOP-53	HPLC	ECD-100	-	Plazma	Kitamura ve ark., 1997
Etopozid	HPLC	UV	-	serum	Manouilov ve ark., 1998
Podofilotoksin	HPLC	UV	2.40 ng/mL	ilaç	Lin ve ark., 2008
Podofilotoksin	HPLC	UV	-	Bitki özütü	Sultan ve ark., 2010
Podofilotoksin	HPTLC	TLC	45.7 ng spot ⁻¹	ilaç	Kamal ve ark., 2017
Etopozid	HPTLC	TLC	64.57 ng spot ⁻¹	ilaç	Kamal ve ark., 2017

Podofilotoksin için uygulanan elektrokimyasal yöntem

Yapılan kaynak araştırmasına göre podofilotoksin ile ilgili sadece bir elektrokimyasal çalışma var. Bu çalışmada, çok hassas bir elektroanalitik yöntem olan adsorpsiyon sıyırma voltametrisi, çok duvarlı karbon nanotüp ile modifiye edilmiş karbon pasta elektrot yüzeyinde bir tür anti-tümör bitkisel ilaç olan podofilotoksini belirlemek için kullanıldı.

$E_{1/2}/E_p$ ile yükseltgenme piki, 10-120 mVs⁻¹ tarama hızları üzerinde yaklaşık 1.16 V/ 1.18 V gerilim aralığında; çeşitli pH değerlerinin asetat tamponunda podofilotoksinin CV ve SWV tekniklerinde podofilotoksinin yükseltgenmesinde H⁺/e⁻ eşit oranında rol oynamıştır. Podofilotoksin'in ilgili elektrot üzerinde yükseltgenme piki geri dönüşümsüz olduğu görülmüştür. Çalışmalarında; destek elektrolit, pH değeri, biriktirme süresi, iyonik kuvvet gibi deneysel koşullar ve tarama hızı, podofilotoksin tayini için optimize edilmiştir. En iyi sonuçlar, 60 s birikim için 0.04 M KCl (1:49, v/v) içeren 0.02 M asetat/ setik asit tamponunda pH=6'da elde edilmiştir. Yükseltgenme pik akımı, podofilotoksin derişimiyle 199-1796 pg mL⁻¹ aralığında doğrusal olarak değişmiş ve 4.5 pg mL⁻¹ tayin alt sınırı ile Podophyllum hexandrum rizom bitki numunesinde podofilotoksin tayinini başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir (Dar ve ark., 2011).

4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1. Materyal

4.1.1. Voltametrik çalışmalarda kullanılan araç gereç ve malzemeler

Aşağıda bu çalışmada kullanılan araç gereç ve malzemeler sıralanmıştır.

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



Şekil 4. 1. AUTOLAB, PGSTAT128N cihazı

4.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler aşağıda verilmiştir.

Maddenin adı	Üretici Firma
Podofilotoksin	Sigma
Alüminyum oksit, Al_2O_3	Merck
Sodyumhidroksit, NaOH	Merck
Borik Asit, H_3BO_3	Merck
Fosforik asit (%85, a/a), H_3PO_4	Merck
Dimetil Sülfoksit(DMSO), C_2H_6OS	Merck
Nitrik asit (%65. a/a), HNO_3	Merck
Hidroklorik asit (%37, a/a), HCl	Merck
Asetikasit (%99-100 a/a), CH_3COOH	Merck
Disodyum hidrojen fosfat, $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$	Merck
Sodyum klorür, NaCl	Merck

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

4.1.3. Çözeltilerin hazırlanması

4.1.3.1. Stok çözeltilerin hazırlanması

Bu tez çalışmasında etken madde olarak Podofilotoksin bileşiğinin (10mL) stok çözeltisinin (2.41×10^{-3}) hazırlanmasında Dimetilsülfoksit kullanılmıştır. Hazırlanan çözeltiler, ışık almayacak şekilde +4 °C buzdolabında saklandı.

4.1.3.2. Destek elektroliti (tampon) çözeltilerinin hazırlanması

Deneylerde destek elektroliti çözeltisi olarak; asetat tamponu (0.1 M, pH 4.8), fosfat tamponu (0.1 M, pH 3.0, 4.0, 7.4, 9.0) ve Britton-Robinson tamponu (BR, 0.04M, pH 2.0-12.0) çözeltileri kullanılmıştır. Asetat tampon için; 0.1 M CH_3COOH çözeltisine 5 M NaOH eklenerek istenen pH değerine ayarlanmıştır. Fosfat tamponu için 0.1 M $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ çözeltisine 5 M NaOH ya da 5 M HCl çözeltisi eklenerek istenen pH değerine ayarlanmıştır. BR tamponu için ise, 0.04 M H_3BO_3 , 0.04 M H_3PO_4 ve 0.04 M CH_3COOH karışımını içeren çözeltiye 5 M NaOH çözeltisi eklenerek istenen pH değerine ayarlanmıştır.

Tampon çözeltiler uygun koşullarda ayarlandıktan sonra Pyrex® cam şişelerde buzdolabında muhafaza edilmiştir.

4.1.4. Elektrokimyasal ölçümler

Elektroanalitik çalışmalarda üçlü elektrot tekniğinden faydalanıp, referans elektrot, yardımcı elektrot ve çalışma elektrodu kullanılmıştır. Bu çalışmada çalışma elektrodu olarak kurşun kalem, karşıt elektrot olarak platin tel, ve referans olarak ta gümüş/gümüş klorür (Ag/AgCl) elektrot kullanılmıştır.

Kurşun kalem elektrot için gerekli olan kurşun kalem uçları (Model, Tombo 0.5/2B Japan) kırtasiyeden temin edilmiştir. Kalem gövdesinin uç kısmının metalik bölümü ile dış metalik tutacağı iletken tel ile tutturulmuş(Şekil 2.15) ve bu şekilde elektriksel iletkenlik sağlanmıştır. Rotring kalem uçları 0.5 mm çapta ve 6 cm uzunlukta olup 1.5 cm boyutu dışarda kalacak şekilde belirleyip hassas bir şekilde kaleme yerleştirilir. Her yeni deney öncesi yeni bir kalem ucu kullanılır.

PG elektrodu aktif hale getirebilmek için, seçilen destek elektrolitte kalem ucu 1.5 cm çözelti içerisinde olacak şekilde ve çözelti karıştırılmadan her ölçümden önce elektrot yüzeyine 60 s süreyle +1.6 V değerinde gerilim uygulanmış ve her yeni kullanılan kalem uça aynı aktivasyon işlemi tekrarlanmıştır.

Elektroanalitik çalışmalarda ölçümlerin yapıldığı Autolab PGSTAT 128N elektrokimyasal analiz cihazı (Şekil 4.1) ve özel yazılımıyla (Nova1.11), özel olarak üretilmiş bölmeli, kapaklı 10 mL'lik deney hücreleri (MR 1208) içeren cihazdır. Kapağında üç girişi bulunan hücreye elektrotlar yerleştirilir. Deneyde kullanılacak olan hücre kullanılmadan önce 3.0 M HNO₃ içerisinde bir süre bekletildikten sonra saf su ve kullanılan destek elektrolit çözeltisiyle yıkanmıştır.

4.2. Voltametrik Yöntem

Podofilotoksin bileşiğinin elektrokimyasal davranışını gözlemlemek için PG elektrod üzerinde CV ve SWV yöntemleri uygulanmıştır. Podofilotoksinin PG elektrot üzerinde; destek elektrolitin yapısının, pH değerinin, gerilim tarama hızının, biriktirme ve kare-dalga üzerinde etkili olan değişkenlerinin etkileri araştırılmıştır. Geliştirilen teknik ile CV ve SWV performans özellikleri belirlenerek idrar örneklerine uygulanmıştır.

Podofilotoksinin voltametrik tayini için takip edilecek yol aşağıdaki gibi sıralanabilir: Üç elektrotlu sistem içinde belirli bir derişimde Podofilotoksin içeren destek elektrolit çözeltisini içeren deney hücresi cihazdaki ilgili bölmeye yerleştirilir ardından çözelti 750 rpm hızda karıştırılırken çalışma elektrotu yüzeyinde ön biriktirme

süresinde (en iyi süre 60 s) ve seçilen biriktirme gerilimi (en iyi gerilim 0.0 V) uygulanır. Sonra karıştırma işlemine son verilir ve 10 s bekleme süresiyle çözelti dinlenmeye bırakılır. Daha sonra ise SWV tekniği kullanılarak pozitif yönde belli bir gerilim tarama aralığında (0.0 ile +1.6V) akım voltamogramları alınır. Tüm deneylerde ölçümler 3 defa alınmış olup çalışılan laboratuvarın sıcaklığı (25 ± 5 °C)'dir.

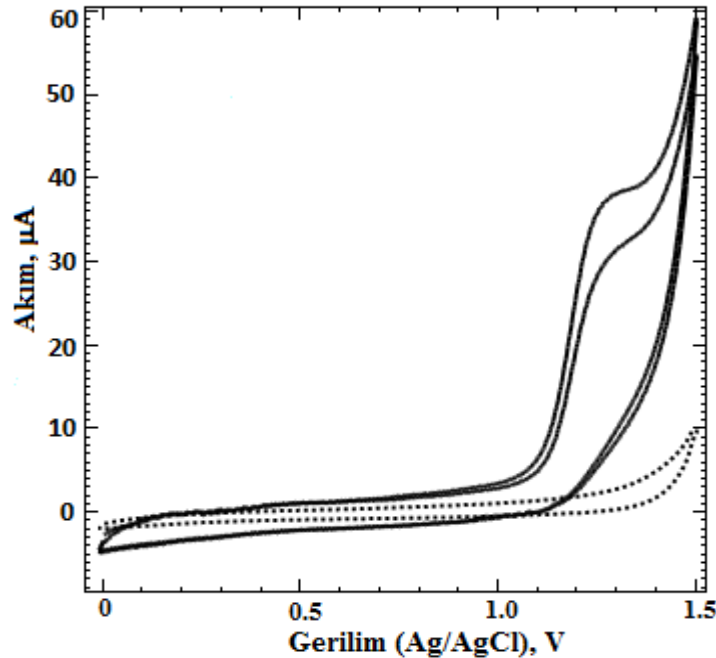
5. BULGULAR VE TARTIŞMA

5.1. Podofilotoksin'in Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi

Karbon temelli bir elektrot olan PG elektrotların kullanarak Podofilotoksin bileşiğinin pik değerleri ve gerilimi üzerinde elektrokimyasal davranışını anlamak için başlangıç deneyleriyle, farklı pH değerlerinde, destek elektrolit çözeltisi içerisinde CV ve SWV teknikleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

5.1.1. Dönüşümlü voltametri

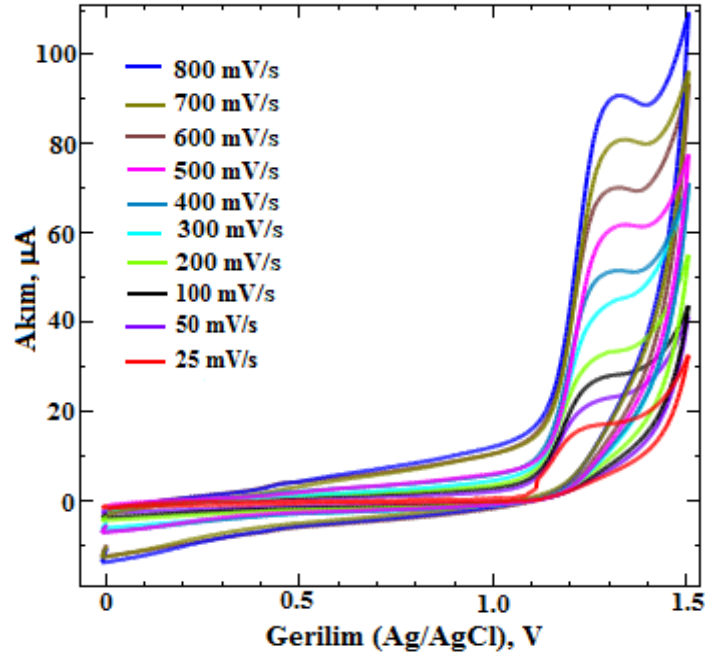
Araştırmanın ilk aşamasında PG elektrot kullanılarak 1.2×10^{-5} M Podofilotoksin BR tamponu (pH 4.0) içerisinde (0.0V)–(+1.5V)–(0.0 V) gerilim aralığında ve 100 mVs^{-1} gerilim tarama hızında CV eğrileri kaydedilmiştir. Bu yöntem ile tarama hızının değiştirilmesiyle pik yüksekliklerinin tarama hızı ile farklı şekilde değişmesinden ötürü difüzyon, adsorpsiyon ve elektron aktarım tepkimesiyle birlikte yürüyen kimyasal tepkime olaylarının varlığını belirlemede yardımcı olur. Şekil 5.1'de BR tamponu (pH 4.0) içinde podofilotoksin bileşiğinin aynı koşullar altında iki döngülü CV eğrisine yer verilmiştir. Yaklaşık olarak +1.242 V'da yükseltgenme piki verildiği görülmektedir. İlgili yükseltgenme pikinin tersinmez olduğu görülmektedir.



Şekil 5.1. 1.2×10^{-5} M Podofilotoksin'in BR (pH 4.0) tamponu içimde iki döngülü akım eğrileri. Elektrot, PG; gerilim tarama hızı, 100 mVs^{-1} . Kesikli çizgi ile gösterilen destek elektroliti.

5.1.1.1. Gerilimin tarama hızına etkisi

Podofilotoksin bileşiğinin gerilim tarama hızına olan etkisini incelemek amacıyla 1.2×10^{-5} M Podofilotoksin'in BR tamponu (pH 4.0) içerisinde $25-800 \text{ mVs}^{-1}$ aralığındaki gerilim tarama hızlarında CV'leri şekil 5.2 de kaydedilmiştir. Tarama hızı arttıkça podofilotoksin'e ait yükseltgenme pikini daha pozitif kaydıği gözlenmiştir(çizelge5.1).

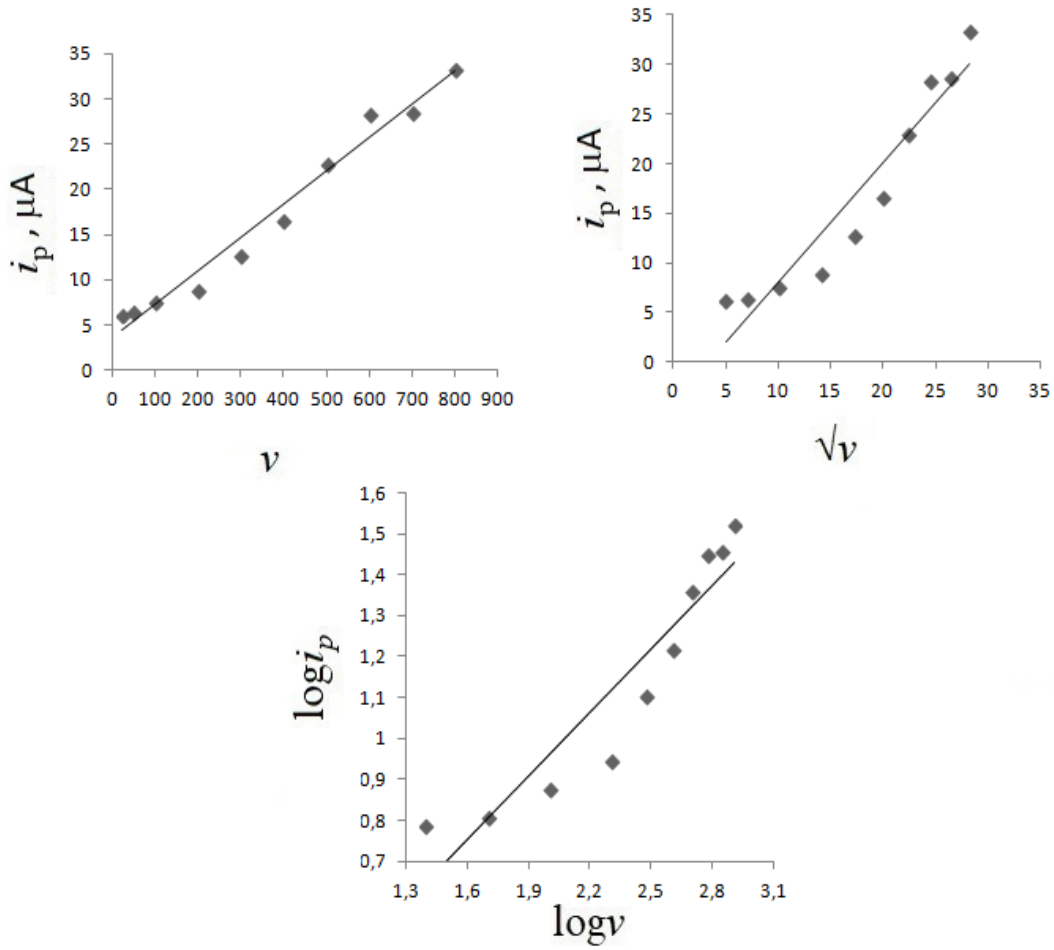


Şekil 5. 2. 1.2×10^{-5} M Podofilotoksin'in BR (pH 4.0) tamponu içinde gerilim tarama hızlarıyla elde edilen dönüşümlü akım eğrileri.

Çizelge 5.1. Podofilotoksin'in akım eğrilerindeki pik gerilimi ve pik akımı üzerinde gerilim tarama hızının etkisi. Podofilotoksinin derişimi 1.2×10^{-5} M; Yöntem, CV; destek elektroliti, BR tamponu (pH 4.0); elektrot PG.

V(mVs ⁻¹)	$\sqrt{v}$	Logv	$i_p(\mu A)$	logE _p (mV)	Logi _p (μa)	E _p (V)
25	5.000	1.398	6.122	3.110	0.7868	1.188
50	7.071	1.699	6.446	3.105	0.8092	1.216
100	10.00	2.000	7.587	3.089	0.8800	1.223
200	14.14	2.301	8.824	3.074	0.9456	1.235
300	17.32	2.477	12.707	3.067	1.1040	1.245
400	20.00	2.602	16.581	3.052	1.2196	1.25
500	22.36	2.699	22.874	3.048	1.3593	1.255
600	24.49	2.778	28.308	3.036	1.4519	1.265
700	26.45	2.845	28.632	3.040	1.4568	1.275
800	28.28	2.903	33.235	3.020	1.5215	1.269

Çizelge 5.1’ de olan verilerden yararlanılarak faydalanarak $\sqrt{v} - i_p$, $v - i_p$ ve $\log v - \log i_p$ grafikler Şekil 5.3’de görülmektedir.



Şekil 5.3. $\sqrt{v} - i_p$, $v - i_p$ ve $\log v - \log i_p$ grafikleri

25-800 mVs⁻¹ aralıktaki pik akımı ile gerilim tarama hızı arasındaki ilişkisinde elde edilen doğru denklemleri ise aşağıdaki gibidir:

$$i_p(\mu A) = 1.2027 \sqrt{v} \text{ (mV s}^{-1}\text{)} - 3.9357 \quad r = 0.9106$$

$$i_p(\mu A) = 0.0369 v \text{ (mV s}^{-1}\text{)} + 3.5807 \quad r = 0.9759$$

$$\log i_p = 0.5207 \log v - 0.0806 \quad r = 0.8784$$

Yükseltgenme piki farklı tarama hızlarında alınarak Şekil 5.3’te gösterilmiş olup PG elektrot üzerinde gerçekleşen sürecin karakteristik özelliğini anlamamızı sağlamıştır. Kontrollü bir difüzyon elektrot reaksiyonunda $i_p/\sqrt{v}$ ilişkisi doğrusal olurken i_p/v grafiğinde ise üstel bir artış göstermesi öngörülür. Adsorpsiyon kontrollü bir pik ele alındığında ise i_p/v grafiği doğrusal çıkması beklenir ayrıca $\log i_p/\log v$ grafiğinin eğimi de idealde 1 olarak bulunur. Difüzyon kontrollü bir adsorpsiyon var ise eğim 0.5-1 aralığında olması beklenirken tamamıyla difüzyon kontrollü olursa eğim 0.5 olur

(Laviron ve ark., 1980). Elde edilen sonuçları bu bilgilerle kıyaslandığında; i_p/v ilişkisinde doğrusal olduğu görülürken $i_p/\sqrt{v}$ ilişkisi kısmen üstel artış göstermiş ve $\log i_p/\log v$ ilişkisinde eğim yaklaşık olarak 0.5-1 arasında olduğundan PG elektrot yüzeyinde gerçekleşen elektrokimyasal süreçte tamamıyla adsorpsiyon difüzyon kontrollü olabileceğini göstermektedir.

Görüldüğü gibi Şekil 5.3 ve Çizelge 5.1'den elde edilen bilgilerden yola çıkarak; 25–800 mV s^{-1} aralığında pik gerilimleri pozitif doğru kaymıştır. Bu ise yarı tersinir ya da tersinmez elektrokimyasal tepkimesi için karakteristik özellik gösterir (Bard ve Faulkner, 2000).

$E_p/\log v$ arasındaki ilişki çalışılan gerilim tarama hızı aralığında elde edilen verilerden aşağıda yazıldığı gibi gösterilebilir (Laviron, 1979).

$$E_p(V) = 0.0515 \log v \text{ (mV s}^{-1}\text{)} + 1.12 \text{ (r=0.982)}$$

E_p ile v arasındaki ilişki, tersinmez bir elektrot işlemi için aşağıdaki şekilde tanımlanır (Laviron, 1979):

$$E_p = E^0 + (2.303RT / \alpha nF) \log(RT k^0 / \alpha nF) + (2.303RT / \alpha nF) \log v$$

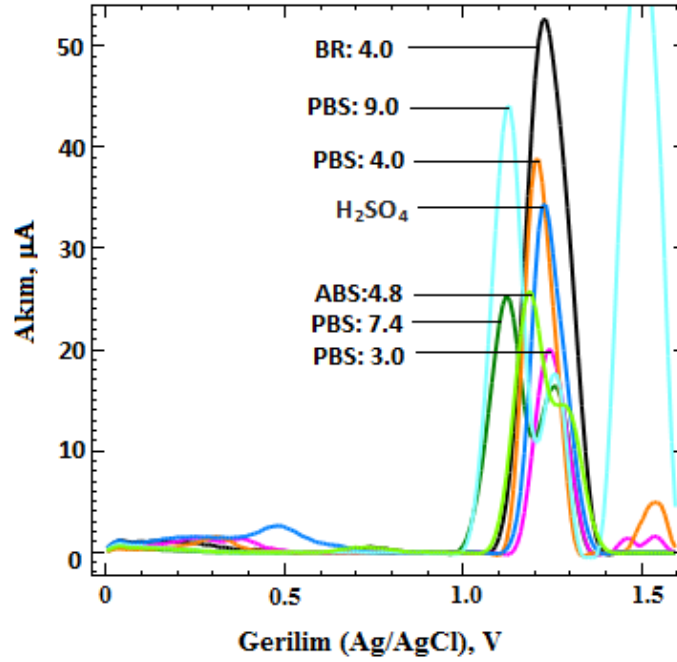
Eşitlikte yer alan R ($8.314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$), T (298 K) ve F (96480 C mol^{-1}) bilenen sabitlerdir. α , yük aktarım katsayısı ve n , redoks tepkimelerinde aktarılan elektron sayısıdır. $E_p - \log v$ eşitliğindeki eğim 0.0515'dir. Yukarıdaki eşitlik kullanıldığında αn değeri 1.148 olarak hesaplanmıştır. Böylece $n = 2.296 (\approx 2)$ değeri elde edilir. Pek çok sistem için tam tersinmez elektrot olayında $\alpha=0,5$ olarak kabul edilir. Elde edilen sonuca göre Podofilotoksin molekülünün yükseltgenmesi işleminde molekül başına 3 elektrot aktarıldığını göstermektedir. Tüm bu sonuçlar göz önüne alındığında Podofilotoksin üzerinde PG elektrot kullanılarak BR tamponunda gerçekleştirilen SWV tekniğiyle başarılı bir sonuç elde edilmiştir. Elde edilen sonuç, çok duvarlı bir karbon nanotüp ile modifiye edilmiş karbon pasta elektrot yüzeyinde bir tür anti-tümör bitkisel ilaç olan Podofilotoksinin adsorbe edici sıyırma voltametrik tayini ile bulguları uyumludur (Dar ve ark., 2011).

5.1.1.2. Destek elektroliti ve pH etkisi

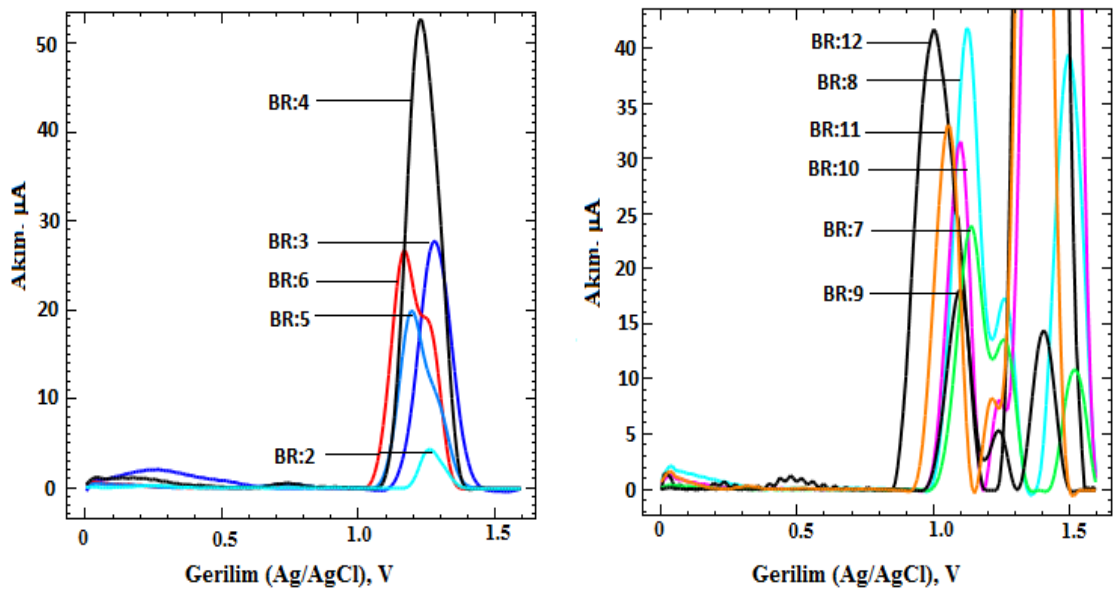
Voltametrik bir çalışmada analit bileşiğinin kullanılan elektrot üzerinde gerçekleşen elektrokimyasal davranışlarını doğru bir şekilde yorumlayabilmek için kullanılacak olan destek elektroliti bileşiminin ve pH değerinin doğru seçilmesi önem arz etmektedir. BR tamponu çok geniş bir çalışma aralığı imkânı sağladığından dolayı bu çalışmalarda tercih edilen bir karma tampon sistemidir. Bunun dışında asetat ve

fosfat tamponları da doğru çalışma aralıkları seçilme koşuluyla sıklıkla kullanılan destek elektroliti ve tampon ortamlarıdır.

Yukarıda verilen bilgilerin öncülüğünde; tezin bu bölümünde Şekil 5.4'te asetat tamponu (pH 4.8), fosfat tamponu (pH 3.0, 4.0, 7.4 ve 9.0) ile 0.5 M H₂SO₄ içerisinde ve BR (pH 2.0-12.0) tamponları (Şekil 5.5) içerisinde SWV tekniği kullanılarak 2.41×10^{-6} M Podofilotoksin PG elektrot üzerinde akım eğrileri kaydedilmiştir.



Şekil 5.4. 2.41×10^{-6} M Podofilotoksin BR (pH 4.0), fosfat (pH 3.0, 4.0, 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 40 Hz, adım gerilimi 10 mV, amplitüd 40 mV.



Şekil 5.5. 2.41×10^{-6} M Podofilotoksin BR tamponu içinde (pH 2.0- 12.0) PG elektrot kullanılarak elde edilen SWV eğrileri. SWV değişkenleri; frekans 40 Hz, adım gerilimi 10 mV, amplitüd 40 mV.

Çizelge 5.2. Podofilotoksin akım eğrilerindeki pik gerilimi (E_p) ve pik akımı (I_p) üzerinde pH etkisi. Podofilotoksin derişimi, 2.41×10^{-6} M; destek elektroliti, BR tamponu; elektrot, PG teknik, SWV

pH(Br)	E_p (mV)	I_p (μ a)
2	1289	4.398
3	1275	28.096
4	1229	52.824
5	1188	12.000
6	1168	26.801
7	1128	16.700
8	1118	34.030
9	1088	16.516
10	1098	31.701
11	1048	33.285
12	997	41.741

BR tamponu içinde PG elektrot üzerinde elde edilen akım eğrileri Şekil 5.5’de görüldüğü gibi Podofilotoksin bileşğinin yükseltgenme mekanizması pH’ya bağımlı olup elektron aktarım işlemini kapsamaktadır. En belirgin yükseltgenme basamağı pH 4.0’da net olarak görülmektedir. pH değeri arttıkça pik gerilimi ise daha negatif değerlere kaymaktadır. Bu sonuçlardan yola çıkarak şunu açıkça diyebiliriz ki Podofilotoksin yükseltgenme sürecinde proton aktarımının da yer aldığının göstergesidir.

Podofilotoksinin elektrokimyasal süreçte elektrot yüzeyinde gerçekleşen E_p -pH ilişkisini incelediğimizde çalışılan pH aralıklarındaki eğim değeri(-27.373mV-pH) sonucuna ulaşılmıştır. Bu sonuçlar neticesinde proton katkısının elektron sayısının yarısına eşit olduğu görülmektedir.

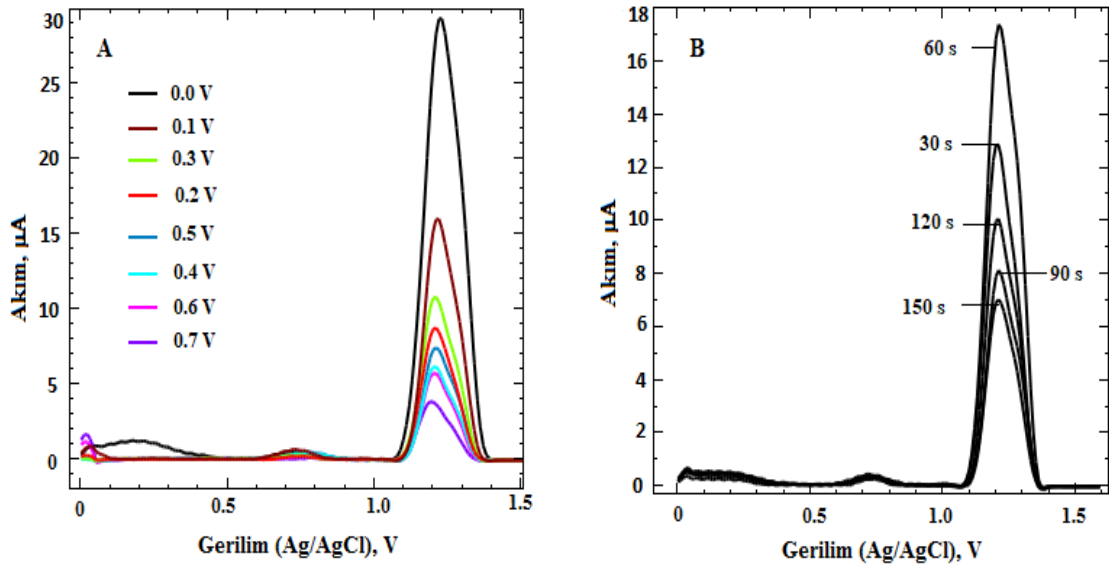
$$pH \text{ 2-12} \quad E_p(mV) = -27.373pH + 1339.4 \quad r=0.9860$$

5.1.3. Biriktirme/sıyırma koşullarının etkisi

Tezin bu bölümünde, Podofilotoksinin bileşğinin PG elektrot kullanılarak adsorptif özellikleri incelenmiştir. 1.2×10^{-6} M derişimdeki Podofilotoksin için BR tamponu (pH 4.0) içinde biriktirme süresi (t_{acc}) ve gerilimi (E_{acc}) koşullarının etkileri Şekil 5.6’da verilmiştir.

E_{acc} değeri 0.0 V’da sabit tutularak biriktirme süresinin sinyal üzerine olan etkisi 30-150 s aralığında incelenmiştir. Sinyal 60 s değerine kadar artmış, sonrasında ise

düşüş göstermiştir. Elektrot yüzeyinin analit molekülü ile doymuş hale geldiğini bu sonuçlar neticesinde söyleyebiliriz. Öte yandan sıyırma pik akımı- E_{acc} ilişkisi 0.0 V ile 0.7 V aralığında ve $t_{acc} = 60$ s koşulunda analiz edildiğinde; pik gerilimi ile pik akımı ters orantılı olduğu görülmüştür. Yani pik gerilimi arttıkça pik akımının azaldığı gözlenmiştir. Bu inceleme sonucunda $t_{acc} = 60$ s ve $E_{acc} = 0.0$ V olarak kullanılmaya karar verilmiştir.



Şekil 5. 6. 1.2×10^{-6} M Podofilotoksinin BR tamponu (pH 4.0) içinde elde edilen SW eğrileri üzerinde biriktirme gerilimi (A) ve biriktirme süresinin etkisi(B). Elektrot, PG; SW değişkenleri; amplitüd, 40 mV, frekans, 40 Hz, Adım gerilimi 10 mV.

5.1.2. Kare-dalga değişkenlerinin etkisi

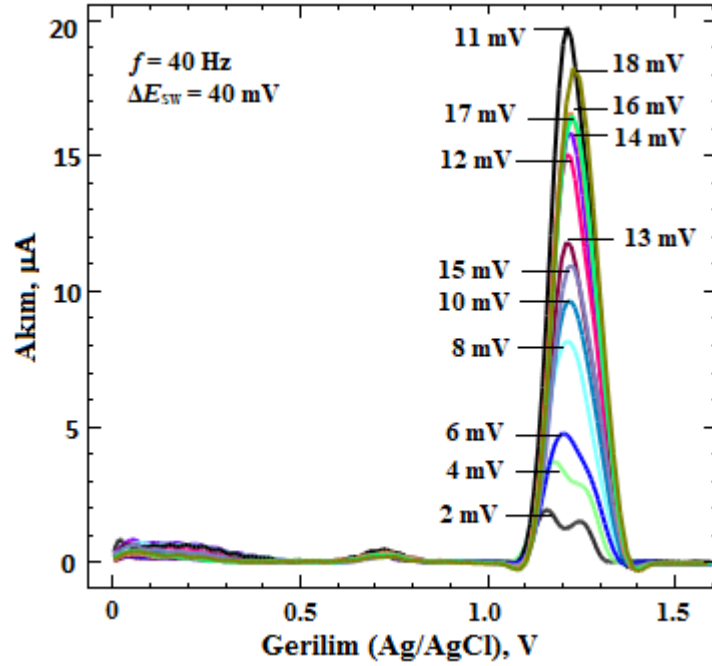
Araştırmanın devamında, duyarlı, en iyi akım eğrileri elde edilmesi ve cihaz için en iyi olan kare dalga değişkenleri belirlemek amacıyla (kare-dalga frekansı, $f = 5$ -130 Hz, kare-dalga amplitüdü, $\Delta E_{sw} = 10$ -140 mV, adım gerilimi, $\Delta E_s = 2$ -18 mV) etkileri araştırılmıştır.

Yapılan deneylerdeki elektrokimyasal ölçümler 1.2×10^{-6} M Podofilotoksin içeren BR tamponu (pH 4.0) çözeltisinde yapılmıştır. Her parametre için diğer iki parametre değerleri sabit tutulup akım eğrileri (voltamogramları) kaydedilmiştir. SWV tekniği frekans, amplitüdü ve adım gerilimiyle ilişkilidir.

Podofilotoksin içeren bileşik farklı adım potansiyelleri BR tamponunda (pH 4.0) içinde SW akım eğrileri ve üçer kez yapılan tekrar deneyleri ile elde edilen dağılım grafiği Şekil 5.7' de verilmiştir.

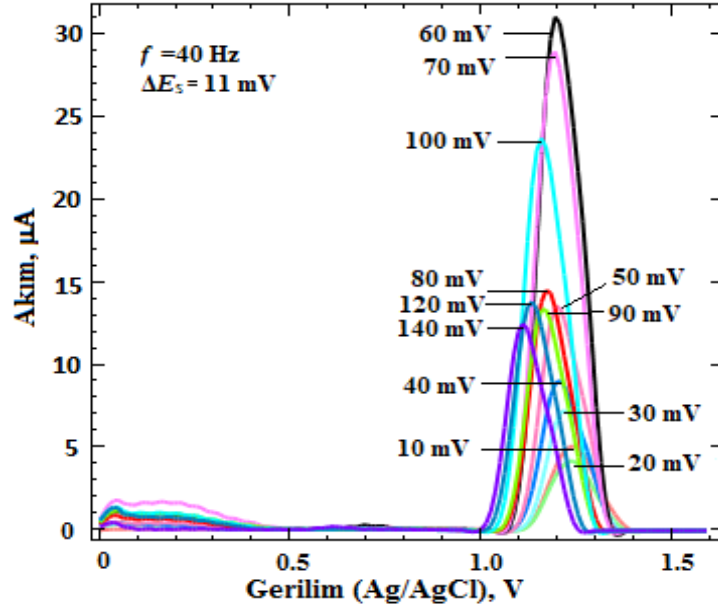
Adım potansiyeli optimum değerini belirlemek için $f = 40$ Hz ve amplitüdü, $\Delta E_{sw} = 40$ mV olarak sabit tutulmuştur. SW akım eğrilerinde adım potansiyeli, $\Delta E_s = 2$ -

4 mV değerlerinde pikte yarıлма gözlemlenmiştir ve adım potansiyeli, $\Delta E_s = 2-11$ mV aralığında ise pik akımı değerlerinde artışı sağlamıştır. $\Delta E_s = 12-18$ mV değerlerinde ise pik akımı sinyali düştüğü gözlenmiştir. Podofilotoksin bileşiğine ait en iyi yükseltgenme piki 11 mV'daki gerilim adımında, akım şiddeti 19.8 μA düzeyinde görülmüştür.



Şekil 5.7. PG elektrot yüzeyinde 1.2×10^{-6} M Podofilotoksinin BR tamponu (pH 4.0) çözelti içerisindeki farklı adım potansiyelindeki SW akım eğrileri.

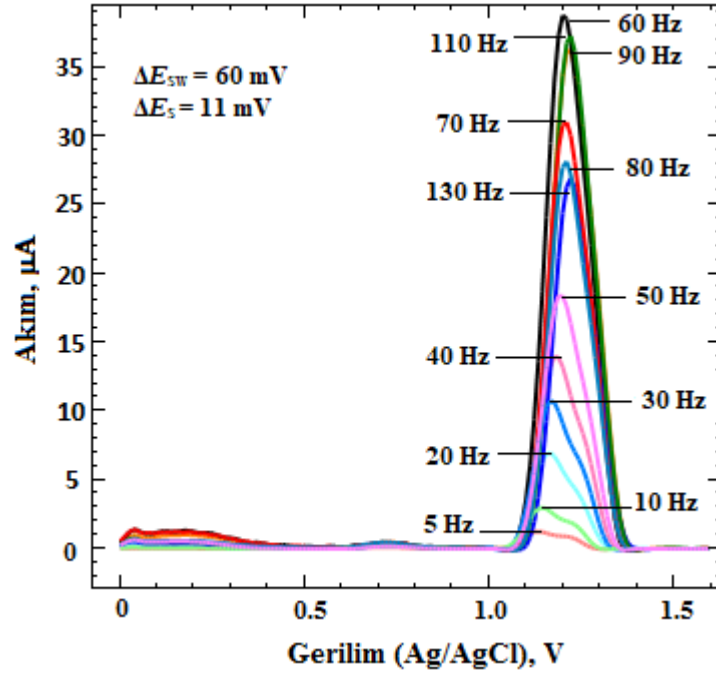
Podofilotoksin bileşiğinin farklı amplitüd değerlerinde optimum BR tampon (pH 4.0) içinde kare dalga akım eğrileri ve üçer kez yapılan tekrar deneyi ile elde edilen dağılım grafiği şekil 5.8 ' de verilmiştir.



Şekil 5.8. PG elektrot yüzeyinde 1.2×10^{-6} M Podofilotoksinin BR tamponu (pH 4.0) çözelti içindeki farklı amplitüd deki kare dalga akım eğrileri

Podofilotoksin bileşiğine ait yükseltgenme piki 10-140 mV gerilim aralığında çalışılmıştır. Amplitüd değerinin optimum değerini belirlemek için ise $f = 40$ Hz ve adım gerilimi, $\Delta E_s = 11$ mV olarak sabit tutulmuştur. Amplitüd değeri arttıkça pik akım şiddetinde bir artış gözlemlendi. Piki şekli ve piki şiddeti bakımından 10-60 mV aralığında artışın görüldüğü, en iyi sonuç 60 mV’de, akım $31.28 \mu A$ düzeyinde görülmüştür.

Yapılan çalışmada Podofilotoksin bileşiğinin üçer kez yapılan tekrar deneyleriyle ve farklı frekans değerlerinde optimum BR tampon (pH 4.0) içinde kare dalga akım eğrileri ile elde edilen dağılım grafiği şekil 5.9 ‘ de verilmiştir.



Şekil 5. 9. PG elektrot yüzeyinde 1.2×10^{-6} M Podofilotoksinin BR tamponu (pH 4.0) çözelti içindeki farklı frekanslardaki kare dalga akım eğrileri.

Podofilotoksin bileşiğine ait yükseltgenme piki, 5-130 Hz aralığında yapıldı çalışmalar. Frekans değerinin optimum değerini belirlemek için ise amplitüdü 60 mV ve adım gerilimi 11 mV olarak sabit tutulmuştur. Frekans değeri arttıkça pik akım şiddetinde bir artış gözlemlendi. Pikin şekli ve pikin şiddeti bakımından 5-60 Hz aralığında artışın görüldüğü, en iyi sonuç ise 60 mV’da, akım 38.98 μ A düzeyinde görülmüştür.

5.1.4. Kalibrasyon çalışması (Geliştirilen yöntemin analitik performans özelliklerinin incelenmesi)

Çalışmada bulunan sonuçların değerlendirilmesi sonucunda, PG elektrot üzerinde geliştirilen voltametrik yöntemin performans özellikleri (duyarlılık, çalışma aralığı, tekrarlanabilirlik), destek çözelti olarak BR tamponunda optimum pH’da (pH 4.0) incelenmiş olup Podofilotoksin bileşiğinin tayinine yönelik optimum cihaz parametreleri ve optimum voltametrik yöntem parametreleri Çizelge 5.3’te verilmiştir.

Çizelge 5. 3. Podofilotoksin tayini için voltametrik yöntem ile elde edilen en iyi deneysel ve aletsel parametreler

Yöntem	SWV
Elektrot	PG
Destek elektoliti	BR tampon (pH 4.0)
Adsorptif sıyırma değişkenleri	
E_{acc}	0 V
t_{acc}	60 s
Kare-dalga değişkenleri	
f	60 Hz
Amlitüd (ΔE_{sw})	60 mV
Adım potansiyeli (ΔE_s)	11 mV

Podofilotoksinin 2.41×10^{-3} M standart çözeltisinden elektrokimyasal hücreye belirli hacimlerde eklenmiş ve yukarıda verilen koşullarda akım eğrileri (üç kez tekrarlanarak) kaydedilmiştir. Her ekleme yapıldıktan sonra eğriler üzerine +1.242 V değerindeki yükseltgenme piki değerlendirilmiştir. İlgili akım eğrileri ve pik akımı-derişim ilişkisi Şekil 5.10'da gösterilmiştir.

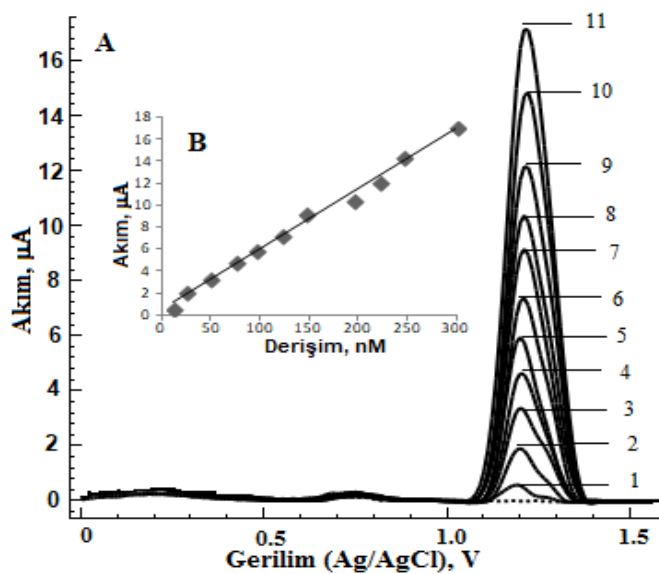
Şekil 5.10 B'de sunulan grafik, $1.24 \times 10^{-8} - 29.4 \times 10^{-8}$ M (12.4-299.5 nM) derişim aralığında [$i_p (\mu A) = 0.0549 C(nM) + 0.4381$ ($r=0.9960$), $n=11$)] doğrusal bir yanıt sunmaktadır. Eşitlikteki C Podofilotoksin derişimi, i_p adsorptif sıyırma pik akımı ve r korelasyon katsayısıdır.

Analitik eğriler yardımıyla elde edilen verilerden yola çıkarak en düşük tayin sınırı (LOQ) ve gözlenebilirlik sınırı (LOD) değerleri; LOQ =10 s/m; LOD 3 s/m eşitliğindeki gibi hesaplanmıştır. Eşitlikte yer alan m ilgili kalibrasyon eşitliğinin eğimi, s ise doğrusallık aralığındaki en düşük derişime karşılık gelen pik akımının (3 değer ortalaması olarak) standart sapmasıdır. Eşitlikte değerler yerine yazıldıktan sonra LOQ=8.50 nM ve LOD=2.55 nM değerleri bulunmuştur.

Yapılan çalışmalar sonucunda görüldüğü üzere PG elektroda herhangi bir modifikasyon işlemi uygulanmadan Podofilotoksin için çok düşük derişimler de bile oldukça iyi sonuçlar elde edilmiştir. Elektrotun elektrokimyasal ön işlemi, modifikasyon işlemi gibi zaman alıcı olmaması çalışmalarda daha hızlı, basit ve maliyetin düşük olup hiçbir toksik kimyasala gerek duyulmadan çalışıldığından ötürü çevre dostudur. Bu tezde yapılan çalışmada PG elektrot kullanılarak elde edilen sonuçlar bu görüşü desteklemektedir. Yapılan literatür taramalarına göre PG elektrot kullanılarak

Podofilotoksinin voltametrik teknikle miktar tayini üzerine bugüne kadar bir çalışma tek bulunmaktadır(Dar ve ark., 2011). İlk defa tarafımızdan geliştirilen yöntemin duyarlılık, hassaslık ve analitik performansı açısından Çizelge 3.2’de sunulan ayırma yöntemlerinin bazıları ile kıyaslanabilecek seviyededir.

PG elektrot yüzeyinde BR tamponunda (pH 4.0) ortamında podofilotoksin bileşiği için geliştirilen voltametrik yöntemin tekrar edilebilirlik düzeyini saptamak için 122.5 nM derişimindeki çözelti aynı gün içinde 9 kez SW-AdSV eğrileri kaydedilmiştir. Bu akım eğrilerinin gerilim değerleri ve pik akım değerleri okunarak elde edilen bulgular gün içi kesinlik olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre yükseltgenme pik gerilimi ve pik akımı için BSS değerleri % 2.92 ve % 4.5 olarak belirlenmiştir.



Şekil 5.10. (A) Podofilotoksinin farklı derişimlerinin [(1) 12.4, (2) 24.5, (3) 49, (4) 75.5, (5) 95, (6) 122.5, (7) 147, (8) 196, (9) 220.5 (10) 245, (11) 299.5 nM] BR tamponu (pH 4.0) içerisinde kaydedilen SW eğrileri, Elektrot, PG; biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans 60 Hz, adım gerilimi 11 mV, amplitüd; 60 mV. kesikli çizgi destek elektroliti. (B) Podofilotoksinin kalibrasyon eğrisi.

5.1.5. Gerçek örnek analizleri

Geliştirilen bu yöntemin gerçek örnekler üzerindeki performans özelliklerini doğrulamak için, idrar (biyolojik sıvı) örneklerinde denenmiştir.

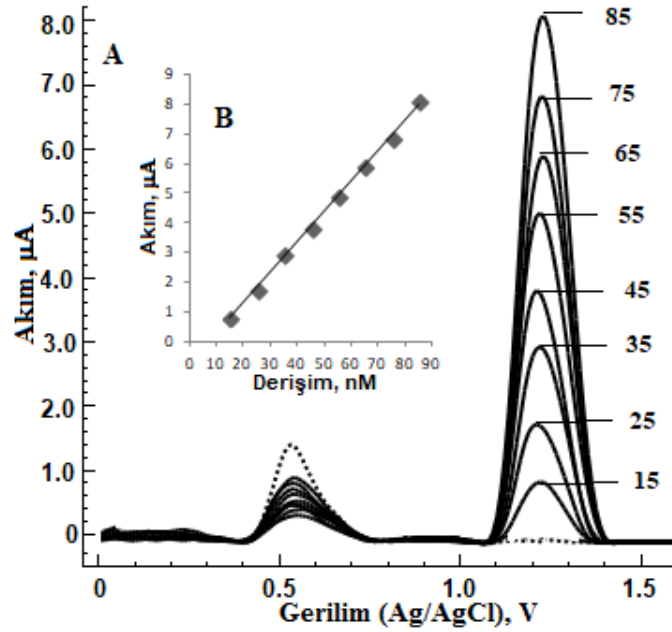
5.1.5.1. İdrar örnekleri

Podofilotoksin miktar tayini için tek kullanımlık PG elektrot üzerinde geliştirilen voltametrik yöntemin çok yüksek duyarlığa ve tekrar deneylerinde iyi sonuçlar elde

edilmesi nedeniyle idrar örneği gibi karmaşık ortamlarda da kullanılabilirliği araştırılmıştır.

Çalışmanın bu bölümünde bölüm 4.1.3.1’de anlatıldığı gibi hazırlanmış ve podofilotoksin katılmamış idrar örneklerinde akım eğrileri, destek elektrolit çözeltisi (BR tampon pH 4.0) içerisinde alınmıştır. Podofilotoksin pik eğrisinin görüldüğü sinyalde idrarda bulunan biyomoleküllere (ürik asit, dopamin, askorbik asit) ilişkin yükseltgenme basamağı görülmemiştir. SW-AdSV tekniği ile idrar örneklerinde ürik asit piki BR tamponu (BR 4.0) içerisinde yaklaşık +0.52 V dolaylarında görülmüştür.

Podofilotoksin 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 5.9’da görülmektedir. Yaklaşık olarak +1.242 V civarında gözlenen pik, her eklenen standart podofilotoksin çözeltisi sonunda pik düzgün olarak artış göstermiştir. Çizelge 5.4’te görüldüğü gibi idrara eklenmiş podofilotoksin derişimi arasındaki doğru orantı önerilen voltametrik yöntemin idrar örneklerinde de başarılı ve ortalama % 101.38 geri kazanım ile doğru bir şekilde podofilotoksin’in tayin edilebileceğini göstermektedir.



Şekil 5. 11. (A) İdrar örneğinin BR tamponu (pH 4.0) içerisinde kaydedilen akım eğrileri, Podofilotoksin eklenmemiş (kesikli çizgi), Podofilotoksin eklenmiş, 15, 25, 35, 45, 55, 65, 75, 85 nM standart eklemeler sonrası ($C_{\text{podofilotoksin}} = 2.41 \times 10^{-3} \text{ M}$). Elektrot, PG; biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans 60 Hz, adım gerilimi 11 mV, amplitüd; 60 mV. (B) Standart ekleme yöntemiyle analiz sonucu.

Çizelge 5. 4. Podofilotoksin içeren voltametrik analiz bulguları

Eklenen	Bulunan(nM)^a	Geri Kazanım^a(%)±%BSS
15	13.80	92±3.97
25	26.50	106±4.35
35	36.75	105±4.17
45	42.75	95±4.05
55	59.40	108±3.65
65	60.45	93±3.95
75	80.25	107±4.32
85	89.25	105±3.85

^aSonuçlar, üç analizin ortalamasıdır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez kapsamında PG elektrodta uygulanan ön işlem süreci ile Podofilotoksinin yükseltgenmesi üzerinde çok iyi bir elektroanalitik etki göstermiştir. Bu çalışmanın ilk aşamasında Podofilotoksinin PG elektrot ile yükseltgenme davranışı CV ve SWV yöntemlerinden faydalanılarak incelenmiştir. Destek elektrolit seçimi, tampon ortamı, pH'nın ve Podofilotoksin derişiminin yükseltgenme olayı üzerindeki etkileri hassas bir şekilde incelenmiştir. En uygun ortamı belirlemek için asetat tamponu (pH 4.8), fosfat tamponu (pH 3.0, 4.0, 7.4 ve 9.0) ile 0.5 M H₂SO₄ içerisinde ve BR tamponları (pH 2.0-12.0) kullanılmıştır. Tekrar edilebilirliğin, hassas, duyarlı ve keskin pikin yapılan deneysel çalışmalar sonucunda pH 4.0 'da BR tamponunda elde edildiği görülmüştür (Şekil 5.5). Podofilotoksinin pik potansiyelinin, pH'daki artışla negatife doğru kaydığı görülmüştür.

CV yöntemiyle (pH 4.0) BR tamponunda 25-800 mVs⁻¹ tarama hızında kinetik incelemesi yapılmıştır(Şekil 5.2 ve Şekil 5.3). Bu bulgulara $\sqrt{v}/i_p$, v/i_p ve $\log v/\log i_p$ verileri incelenmiştir. Gerçekleşen elektrokimyasal süreçte PG elektrot yüzeyinde +1.242 V'da tersinmez bir yükseltgenme piki gözlenmiş(Şekil 5.1) ve 25-800 mVs⁻¹ tarama hız aralığında yükseltgenme piki pozitifte doğru kayması; i_p/v ilişkisinde doğrusal olduğu görülürken $i_p/\sqrt{v}$ ilişkisi kısmen üstel artış göstermiş ve $\log i_p/\log v$ ilişkisinde eğim yaklaşık olarak 0.5-1 arasında olduğundan PG elektrot yüzeyinde gerçekleşen elektrokimyasal süreçte tamamıyla adsorpsiyon difüzyon kontrollü olabileceğini göstermektedir. İlgili bileşiğe ait olan yükseltgenme dalgasında, 25-800 mVs⁻¹ tarama hız aralığında; E_p - $\log v$ arasında olan ilişki [$E_p(V)=0.0381 \log v(mVs^{-1}) +1.1562$] den elektrokimyasal süreçte PG elektrot yüzeyinde gerçekleşen yükseltgenmede 2 elektronun katkı sağladığı ve E_p -pH (pH 2-12) arasındaki ilişkiden ise [$E_p(mV)=-27.373pH +1339.4$] proton katkısının elektron sayısının yarısına eşit olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Dar ve ark., 2011 deki çalışmalarında podofilotoksin için önerilen elektrokimyasal yükseltgenme sürecinde $2H^+/2e^-$ eşit oranında rol oynarken PG elektrot yüzeyinde gerçekleşen elektrokimyasal süreçte $H^+/2e^-$ katkı sunduğu görülmüştür.

Çalışmanın ikinci aşamasında ise PG elektrot kullanılarak Podofilotoksin için geliştirilen SW-AdSV tekniği, Şekil 5.10 B'de görüldüğü gibi BR tamponunda pH 4.0'da 12.4– 299.5 nM derişimler aralığında çok iyi doğrusal bir yanıt [$i_p (\mu A)=0.0549 C(nM)+0.4381$] vermektedir. PG elektrot yüzeyinde geliştirilen voltametrik teknik 2.55 nM (1.06 µg/L) gözlenebilme düzeyi ile oldukça duyarlı olduğu ifade edilebilir. Bu tez

alışmasında, Podofilotoksin için geliştirilen voltametrik yöntem idrar numunelerinde başarılı bir şekilde uygulanmış ve PG elektrotun ilgili bileşik için oldukça seçici olduğu saylenebilir.

(Dar ve ark., 2011) tarafından podofilotoksin'nin miktar tayini için önerilen elektro analitik yöntemde kullanılan modifikasyon işleminde kullanılan malzemelerden dolayı bu tez çalışmasında ilk defa kullanılan PG elektrotun, herhangi bir modifikasyon işlemine gerek duyulmadan ekonomik, hızlı ve çevre dostu özelliği nedeniyle kaynakçada podofilotoksin ve türevleri için uygulanabilirliği önemli bir avantaj olarak görülebilir. Ayrıca PG elektrot kullanılarak Podofilotoksin için ilk defa denenmiş olan bu voltametrik yöntem, bu bileşik ya da yapısal olarak kimyasal benzerlik gösteren türevlerinin biyolojik örnek tayininde çoğunlukla kullanılan fakat zaman alıcı, ekonomik olmaması, çeşitli kimyasalların kullanılması ve özel beceri isteyen ön ayırma işlemlerinin uygulandığı spektroskopik ve kromatografik yöntemlere de alternatif olabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Bard, A.J., Faulkner, L.R., 2000. *Electrochemical Methods: Principles and Applications*, 2nd ed.; JohnWiley and Sons: *New York, USA*.
- Bard J.A, Faulkner L.R., 2001. *Electrochemical methods Fundamentals and applications*, 3rd ed, *New York*, 643.
- Bond, A.M., Oldham, K.B. ve Zoski, C.G.,1989. Steady State Voltammetry. *Anal. Chim. Acta*. 216: 177-230.
- Dar R.A., Brahman P.K., 2011. Adsorptive stripping voltammetric determination of podophyllotoxin, an antitumour herbal drug, at multi-walled carbon nanotube paste electrode, *J Appl Electrochem*(41), 1311-1321
- Kachoosangi RT, Compton RG.,2013, Voltammetric determination of chromium (VI) using a gold film modified carbon composite electrode, *Sens Actuators B*, (178) 555-562
- Kamal A., Singh M., Ahmad F.J., Saleem K., 2017. A validated HPTLC method for the quantification of podophyllotoxin in Podophyllum hexandrum and etoposide in marketed formulation, *Arabian Journal of Chemistry*,(10), 2539-2546
- Kayaalp, O., 2012. Kanser Kemoterapisinin Esasları ve Antineoplastik ilaçlar, 36. Konu. *Akılci Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji* 1.Cilt, 13. baskı, Pelikan Tıp ve Teknik Kitapçılık Tic. Ltd. Şti., Ankara
- Toghill K.E., Lu M., Compton R.G., 2011. Electroanalytical determination of antimony, *International Journal of Electrochemical Science*,(6), 3057-3076
- Kitamura R., Bando T., Tsuda M., Satoh T., 1997. Determination of a new podophyllotoxin derivative, TOP-53, and its metabolite in rat plasma and urine by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection, *Journal of Chromatography B* (690), 283-288
- Konuklugil B., 1996, Investigation of Podophyllotoxin in some plants in lamiaceae using HPLC, *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi* (1), 25-27
- Laviron, E., 1979. General expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 101: 19-28.
- Laviron, E., Roullier, L., Degrand, C., 1980. A multilayer model for the study of space distributed redox modified electrodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 112: 11-23.

- Levent, A., Yardım, Şentürk, Z., 2009. Voltammetric behavior of nicotine at pencil graphite electrode and its enhancement determination in the presence of anionic surfactant, *Electrochimica Acta* (55),190-195
- Liliemark E., Pettersson B., Peterson C., Liliemark J., 1995, High-performance liquid chromatography with fluorometric detection for monitoring of etoposide and its cis-isomer in plasma and leukaemic cells, *Journal of Chromatography B* (669), 311-317
- Lin M.C., Lin J.H., Chen S.K., Cheng Y.W., Cheng H.W., 2008, Simultaneous determination of podophyllotoxin, quercetin and Kaempferol in Podophyllin by liquid chromatography tandem mass spectrometry, *Journal of Food and Drug Analysis* (16), 29-40
- Manouilov K.K., McGuire T.R., Gordon B.G., Gwilt P.R., 1998, Assay for etoposide in human serum using solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection, *Journal of Chromatography B* (707), 342-346
- 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
- Odewunmi N.A., Kawde A.N., Ibrahim M., 2019, In-situ single-step electrochemical AgO modified graphite pencil electrode for trace determination of DL-methionine in human serum sample, *Sensors and Actuators B: Chemical* (281), 765-773
- Özcan A., Gürbüz M., Özcan A.A., 2018, Preparation of a disposable and low-cost electrochemical sensor for prothion detection based on over-oxidized poly(thiophene) modified pencil graphite electrode, *Talanta*(187), 125-132
- 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., Crouch S.R., 2007. Principles of Instrumental Analysis, sixth edition, Thomson Higher Education 10 davis drive, Canada, USA. Pp. 717-754.
- Sultan P., Shawl A.S., Abdellah A.A., Ramteke P.W., 2010, Isolation, Characterization and comparative study on podophyllotoxin and related glycosides of podophyllum heaxandrum, *Current Research Journal of Biological Sciences* (5), 345-351
- Torrinha A., Amorim C.G., Montenegro M. C.B.S.M., Araujo A.N., 2018, Biosensing based on pencil graphite electrodes, *Talanta*(190), 235-247
- Thurston, D.E. 2006, *Chemistry and Pharmacology of Anticancer Drugs*, CRC Press. Taylor and Francis Group, Boca Raton

- Vishnu N., Badhulika S., 2019, Single step grown MoS₂ on pencil graphite as an electrochemical sensor for guanine and adenine: A novel and low cost electrode for DNA studies, *Biosensors and Bioelectronics*, 122-128
- Wang, J., Kawde, A.N., Sahlin, E., 2000. Renewable pencil electrodes for highly sensitive stripping potentiometric measurements of DNA and RNA. *Analyst* (125), 5-7.
- Wang, J., Kawde, A.N., 2001. Pencil-based renewable biosensor for label-free electrochemical detection of DNA hybridization, *Analytica Chimica 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.
- Zhang X., Rakesh K.P., Shantharam C.S., Manukumar H.M., Asiri A.M., Marwani H.M., Qin H.A., 2018, Podophyllotoxin derivatives as an excellent anticancer aspirant for future chemotherapy: A key current imminent needs, *Bioorganic Medicinal Chemistry*, (26), 341-342

ÖZGEÇMİŞ**KİŞİSEL BİLGİLER**

Adı Soyadı : Mehmet ÖZER
Uyruğu : T.C
Doğum Yeri ve Tarihi : Diyarbakır/1986
Telefon : 0542 207 02 17
E-Mail : noname22626@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Fatih Lisesi, Diyarbakır	2003
Üniversite	: Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Adilcevaz Meslek Yüksekokulu, Bilgisayar Teknolojisi ve Programcılık Van	2009
Üniversite	: Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Diyarbakır	2014