

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ANTİNEOPLASTİK İLAÇ ETKEN MADDELERİNİN  
MODİFİYE ELEKTROTLAR İLE ELEKTROANALİTİK  
İNCELENMESİ VE NANOSENSÖR TASARIMI**

**Nurgül KARADAŞ BAKIRHAN**

**ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Sibel A. ÖZKAN**

**2017-ANKARA**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ANTİNEOPLASTİK İLAÇ ETKEN MADDELERİNİN  
MODİFİYE ELEKTROTLAR İLE ELEKTROANALİTİK  
İNCELENMESİ VE NANOSENSÖR TASARIMI**

**Nurgül KARADAŞ BAKIRHAN**

**ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Sibel A. ÖZKAN**

**Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nün  
12L3336002 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**2017-ANKARA**

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Antineoplastik ilaç etken maddelerinin modifiye katı elektrotlar ile elektroanalitik incelenmesi ve nanosensör tasarımı” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikri tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Nurgül Karadaş Bakırhan

Tarih: 13.02.2017

İmza:

## KABUL ve ONAY



## İÇİNDEKİLER

|                                                                        |          |
|------------------------------------------------------------------------|----------|
| Etik Beyan .....                                                       | ii       |
| Kabul ve Onay .....                                                    | iii      |
| İçindekiler .....                                                      | iv       |
| Önsöz .....                                                            | viii     |
| Simgeler ve Kısaltmalar .....                                          | ix       |
| Şekiller .....                                                         | xii      |
| Çizelgeler .....                                                       | xviii    |
| <b>1. GİRİŞ .....</b>                                                  | <b>1</b> |
| 1.1. Giriş ve Amaç .....                                               | 1        |
| 1.1.1. Kanser Hastalığının Nedenleri .....                             | 2        |
| 1.1.2. Kanser Hastalığının Tanısında Kullanılan Yöntemler .....        | 3        |
| 1.1.3. Kanser Hastalığının Tedavisinde Kullanılan Yöntemler .....      | 4        |
| 1.1.4. Kanser Tedavisinde Kullanılan İlaçlar .....                     | 6        |
| 1.2. Tez Çalışması Kapsamında Çalışılan İlaçlar .....                  | 9        |
| 1.2.1. Pemetrekset Disodyum .....                                      | 9        |
| 1.2.2. Sorafenib Tosilat .....                                         | 10       |
| 1.2.3. Erlotinib Hidroklorür .....                                     | 12       |
| 1.3. Tez Maddelerine Ait Literatür Çalışmaları .....                   | 13       |
| 1.4. Elektrokimya .....                                                | 17       |
| 1.4.1. Elektrokimyada Hücre Tipleri ve Hücreler .....                  | 17       |
| 1.4.2. Elektrokimyasal Hücrede İletim ve Çözelti Yapısı .....          | 18       |
| 1.4.3. Elektrokimyasal Yöntemler .....                                 | 19       |
| 1.4.3.1. Voltametri .....                                              | 20       |
| 1.4.3.1.1. Voltametrizde Akım .....                                    | 21       |
| 1.4.3.1.2. Kütle Transferi .....                                       | 23       |
| 1.4.3.1.3. Tez Kapsamında Kullanılan Voltametrik Teknikler .....       | 24       |
| 1.4.3.1.3.1. Dönüşümlü Voltametri (DV) .....                           | 24       |
| 1.4.3.1.3.2. Puls Voltametri .....                                     | 27       |
| 1.4.3.1.3.2.1. Diferansiyel Puls Voltametri .....                      | 28       |
| 1.4.3.1.3.2.2. Kare Dalga Voltametrisi (KDV) .....                     | 29       |
| 1.4.3.1.3.3. Sıyırma Teknikleri .....                                  | 31       |
| 1.4.3.1.4. Voltametri Yönteminde Kullanılan Çalışma Elektrotları ..... | 32       |
| 1.4.3.1.4.1. Katı Elektrotlar .....                                    | 33       |
| 1.4.3.1.4.1.1. Metal Elektrotlar .....                                 | 34       |
| 1.4.3.1.4.1.2. Karbon Elektrotlar .....                                | 34       |
| 1.4.3.1.4.1.3. Modifiye Elektrotlar .....                              | 39       |
| 1.4.3.1.5. Voltametrizde Kullanılan Referans Elektrotları .....        | 39       |
| 1.4.3.1.6. Voltametrizde Kullanılan Yardımcı (Karşıt) Elektrot .....   | 40       |
| 1.4.3.2. Elektrokimyasal İmpedans Yöntemi .....                        | 41       |
| 1.5. Nanosensör .....                                                  | 44       |
| 1.5.1. Nanopartiküllerin Özellikleri .....                             | 45       |
| 1.5.1.1. Karbon Nanotüpler .....                                       | 46       |

|                                                                                                     |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1.5.1.1.1. Karbon Nanotüplerin Kullanım Alanları .....                                              | 47        |
| 1.5.1.2. Grafen.....                                                                                | 50        |
| 1.5.1.2.1. Grafenin Kullanım Alanları .....                                                         | 51        |
| 1.5.1.3. Polimerler.....                                                                            | 52        |
| 1.5.1.3.1. Redoks Polimerleri.....                                                                  | 53        |
| 1.5.1.3.2. İletken Polimerler.....                                                                  | 54        |
| 1.5.1.3.2.1. İletken Polimerlerde Yük Taşınımı .....                                                | 54        |
| 1.6. Validasyon .....                                                                               | 57        |
| 1.6.1. Validasyon Neden Yapılır? .....                                                              | 58        |
| 1.6.2. Validasyon Parametreleri .....                                                               | 59        |
| 1.6.2.1. Özgünlük.....                                                                              | 60        |
| 1.6.2.2. Doğruluk (Accuracy) .....                                                                  | 60        |
| 1.6.2.3. Kesinlik .....                                                                             | 62        |
| 1.6.2.4. Tekrarlanabilirlik (Repeatibility) .....                                                   | 62        |
| 1.6.2.5. Tekrar Üretilirlik(Reproducibility) .....                                                  | 63        |
| 1.6.2.6. Seçicilik .....                                                                            | 63        |
| 1.6.2.7. Duyarlılık .....                                                                           | 63        |
| 1.6.2.8. Doğrusallık ve Aralık (Range).....                                                         | 64        |
| 1.6.2.9. Teşhis Sınırı (TS) .....                                                                   | 64        |
| 1.6.2.10. Tayin Alt Sınırı (TAS) .....                                                              | 64        |
| 1.6.2.11. Metot Sağlamlığı (Robustness, Ruggedness).....                                            | 65        |
| 1.6.2.12. Tutarlılık.....                                                                           | 65        |
| 1.6.2.13. Stabilitate .....                                                                         | 66        |
| <b>2. GEREÇ ve YÖNTEM .....</b>                                                                     | <b>68</b> |
| 2.1. Cihaz ve Elektrotlar.....                                                                      | 68        |
| 2.2. Deneylerde Kullanılan Etken Maddeler, İlaç ve Kimyasal Maddeler .....                          | 69        |
| 2.3. Voltametrik Analizlerde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması.....                              | 70        |
| 2.4. Elektrot Modifikasyonunda Kullanılan Nanopartikül ve Monomer Çözeltilerinin Hazırlanması ..... | 74        |
| 2.5. Deneylerin Yapılışında Kullanılan Teknikler .....                                              | 75        |
| 2.5.1. Dönüşümlü Voltametri.....                                                                    | 75        |
| 2.5.2. Diferansiyel Puls Voltametrisi .....                                                         | 75        |
| 2.5.3. Kare Dalga Voltametrisi .....                                                                | 75        |
| 2.5.4. Adsorptif Sıyırma Voltametrisi.....                                                          | 76        |
| 2.6. Kalibrasyon Eğrilerinin Hazırlanması.....                                                      | 76        |
| 2.7. Farmasötik dozaj şekillerinde ve serumda ilaç etken madde analizleri .....                     | 77        |
| 2.8. Validasyon Parametrelerinin İncelenmesi.....                                                   | 77        |
| 2.8.1. Doğrusal Çalışma Aralığı.....                                                                | 77        |
| 2.8.2. Teşhis Sınırı (TS) ve Tayin Alt Sınırı (TAS).....                                            | 77        |
| 2.8.3. Doğruluk .....                                                                               | 78        |
| 2.8.4. Tekrarlanabilirlik.....                                                                      | 78        |
| 2.8.5. Duyarlık .....                                                                               | 78        |
| <b>3. BULGULAR.....</b>                                                                             | <b>79</b> |
| 3.1. Pemtrekset Disodyum Etken Maddesine Ait Bulgular .....                                         | 79        |
| 3.1.1. Pemtrekset Disodyum Etken Maddesi Cevabının Farklı Elektrotlarda Karşılaştırılması .....     | 79        |

|                                                                                                                                                   |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.1.2. Pemetrekset Disodyum Etken Maddesinin Cevabına Pirol Monomerinin Etkisi .....                                                              | 81  |
| 3.1.3. Pemetrekset Disodyum Etken Maddesinin Elektrokimyasal Davranışının Voltametrik Yöntemler ile İncelenmesi .....                             | 83  |
| 3.1.3.1. Pemetrekset Disodyum Etken Maddesinin Dönüşümlü Voltametri Yöntemiyle Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi.....                      | 84  |
| 3.1.3.2. Pemetrekset Disodyum Etken Maddesinin Diferansiyel Puls Voltametri Yöntemiyle Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi.....              | 86  |
| 3.1.3.3. Pemetrekset Disodyum Etken Maddesinin Kare Dalga Voltametri Yöntemiyle Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi.....                     | 88  |
| 3.1.4. Pemetrekset Disodyum Etken Maddesinin Dönüşümlü Voltametri Yöntemiyle Hız Taraması Çalışmasının İncelenmesi .....                          | 90  |
| 3.1.5. Pemetrekset Disodyum Etken Maddesi Cevabına Adsorptif Sıyırma Diferansiyel Puls Voltametrisi Yöntem Optimizasyonunun Etkisi .....          | 91  |
| 3.1.6. Pemetrekset Disodyum Etken Maddesinin Adsorptif Sıyırma Diferansiyel Puls Voltametrisi Yöntemi ile Analizi .....                           | 93  |
| 3.1.7. Pemetrekset Disodyum Etken Maddesinin Adsorptif Sıyırma Diferansiyel Puls Voltametrisi Yöntemiyle Tablet ve Geri Kazanım Çalışmaları ..... | 95  |
| 3.1.8. Girişim Maddelerinin Pemetrekset Disodyum Etken Maddesi Cevabına Etkisi .....                                                              | 96  |
| 3.1.9. Elektrot Kararlılığının Araştırılması .....                                                                                                | 97  |
| 3.2. Sorafenib Tosilat Etken Maddesine Ait Bulgular .....                                                                                         | 98  |
| 3.2.1. Sorafenib Tosilat Etken Maddesi Cevabının Farklı Elektrotlarda Karşılaştırılması .....                                                     | 98  |
| 3.2.2. Sorafenib Tosilat Etken Maddesinin Elektrokimyasal Davranışının Voltametrik Yöntemler ile İncelenmesi .....                                | 100 |
| 3.2.2.1. Sorafenib Tosilat Etken Maddesinin Dönüşümlü Voltametri Yöntemiyle Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi .....                        | 100 |
| 3.2.2.2. Sorafenib Tosilat Etken Maddesinin Diferansiyel Puls Voltametri Yöntemiyle Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi.....                 | 103 |
| 3.2.2.3. Sorafenib Tosilat Etken Maddesinin Kare Dalga Voltametri Yöntemiyle Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi .....                       | 104 |
| 3.2.3. Sorafenib Tosilat Etken Maddesinin Dönüşümlü Voltametri Yöntemiyle Hız Taraması Çalışmasının İncelenmesi.....                              | 105 |
| 3.2.4. Sorafenib Tosilat Etken Maddesi Cevabına Adsorptif Sıyırma Diferansiyel Puls Voltametrisi Yönteminin Optimizasyonunun Etkisi.....          | 106 |
| 3.2.5. Sorafenib Tosilat Etken Maddesinin Adsorptif Sıyırma Diferansiyel Puls Voltametrisi Yöntemi ile Analizi .....                              | 108 |
| 3.2.6. Sorafenib Tosilat Etken Maddesinin Adsorptif Sıyırma Diferansiyel Puls Voltametrisi Yöntemiyle İnsan Serum Çalışmaları .....               | 112 |
| 3.2.7. Girişim Maddelerinin Sorafenib Tosilat Etken Maddesi Cevabına Etkisi.....                                                                  | 112 |
| 3.2.8. Modifiye Camsı Karbon Elektrodun Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi ile Karakterizasyonu.....                                         | 113 |
| 3.2.9. Modifiye Camsı Karbon Elektrodun Taramalı Elektron Mikroskopu ile Karakterizasyonu.....                                                    | 114 |
| 3.2.10. Elektrot Kararlılığının Araştırılması .....                                                                                               | 115 |
| 3.3. Erlotinib Hidroklorür Etken Maddesine Ait Bulgular .....                                                                                     | 116 |

|                                                                                                                                             |            |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 3.3.1. Erlotinib Hidroklorür Etken Maddesi Cevabının Farklı Elektrotlarda Karşılaştırılması .....                                           | 116        |
| 3.3.2. Erlotinib Hidroklorür Etken Maddesinin Elektrokimyasal Davranışının Voltametrik Yöntemler ile İncelenmesi .....                      | 117        |
| 3.3.2.1. Erlotinib Hidroklorür Etken Maddesinin Dönüşümlü Voltametri Yöntemiyle Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi .....              | 118        |
| 3.3.2.2. Erlotinib Hidroklorür Etken Maddesinin Diferansiyel Puls Voltametri Yöntemiyle Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi.....       | 120        |
| 3.3.2.3. Erlotinib Hidroklorür Etken Maddesinin Kare Dalga Voltametri Yöntemiyle Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi .....             | 122        |
| 3.3.3. Erlotinib Hidroklorür Etken Maddesinin Dönüşümlü Voltametri Yöntemiyle Hız Taraması Çalışmasının İncelenmesi.....                    | 125        |
| 3.3.4. Erlotinib Hidroklorür Etken Maddesi Cevabına Kare Dalga Voltametrisi Yöntem Optimizasyonunun Etkisi .....                            | 127        |
| 3.3.5. Erlotinib Hidroklorür Etken Maddesinin Adsorptif Sıyırma Kare Dalga Voltametrisi Yöntemi ile Analizi .....                           | 129        |
| 3.3.6. Erlotinib Hidroklorür Etken Maddesinin Adsorptif Sıyırma Kare Dalga Voltametrisi Yöntemiyle Tablet ve Geri Kazanım Çalışmaları ..... | 134        |
| 3.3.7. Girişim Maddelerinin Erlotinib Hidroklorür Etken Maddesi Cevabına Etkisi .....                                                       | 135        |
| 3.3.8. Modifiye Camsı Karbon Elektrodun Taramalı Elektron Mikroskopi ile Karakterizasyonu.....                                              | 136        |
| 3.3.9. Elektrot Kararlılığının Araştırılması .....                                                                                          | 137        |
| <b>4. TARTIŞMA .....</b>                                                                                                                    | <b>138</b> |
| <b>5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>                                                                                                            | <b>145</b> |
| <b>ÖZET.....</b>                                                                                                                            | <b>147</b> |
| <b>SUMMARY .....</b>                                                                                                                        | <b>148</b> |
| <b>KAYNAKLAR .....</b>                                                                                                                      | <b>148</b> |
| <b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>                                                                                                                        | <b>160</b> |

## ÖNSÖZ

Bu çalışma kapsamında bazı antineoplastik ilaçların, analitik yöntemlerden biri olan elektrokimyasal yöntemler ile redoks davranışları incelenmiş, nanomalzemeler kullanılarak geliştirilen nanosensörler ile farmasötik dozaj formlarına ya da biyolojik sıvılara duyarlı ve tekraredilebilir uygulamaları yapılmıştır.

Bu tez çalışmasının planlandığı günden başlayarak, yürütülmesi ve tamamlanması süresince değerli bilgi ve tecrübeleriyle beni aydınlatan, her konuda yardımını esirgemeyen, bilimsel çalışmayı bana sevdirek hayatıma yön veren kıymetli hocam Prof. Dr. Sibel Aysıl ÖZKAN'a şükranlarımı sunmayı bir borç bilirim.

Bu çalışmanın ilerlemesi ve tamamlanması süresince engin bilgi ve desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Prof.Dr. Bengi USLU ve Doç. Dr. Burcu DOĞAN-TOPAL'a teşekkür ederim.

Anabilim dalımızdaki değerli öğretim üyelerine ve yardımlarını esirgemeyen araştırma görevlileri; Burçin BOZAL-PALABIYIK, Mehmet GÜMÜŞTAŞ, Sevinç TUNÇAĞIL, Özgür ÜSTÜNDAĞ, M. Gökhan ÇAĞLAYAN, Engin ER, Z. Ceren ERTEKİN-ÖZKAN'a teşekkür ederim.

Doktora çalışmalarımı maddi olarak destekleyen 12L3336002 numaralı proje ile Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne (BAP) teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım süresince manevi desteklerini esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Hayatı birlikte paylaştığımız günden beri her zaman yanımda olduğunu hissettiren, özellikle anlayışı ve sabrı ile çalışmalarına destek olan sevgili eşim Gökhan BAKIRHAN'a en içten duygularıyla teşekkür ederim.

## SİMGELER VE KISALTMALAR

|            |                                                           |
|------------|-----------------------------------------------------------|
| $\alpha$   | Alfa (transfer katsayısı)                                 |
| A          | Amper                                                     |
| AdSDPV     | Adsorpsif sıyırma diferansiyel puls voltametrisi          |
| AdSKDV     | Adsorpsif sıyırma kare dalga voltametrisi                 |
| ASV        | Anodik sıyırma voltametrisi                               |
| BDDE       | Bor ile katkılanırılmış elmas elektrot                    |
| BH         | Bağıl hata                                                |
| BR         | Britton-Robinson                                          |
| BSS        | Bağıl standart sapma                                      |
| CKE        | Camsı karbon elektrot                                     |
| cm         | Santimetre                                                |
| ÇDKNT      | Çok duvarlı karbon nanotüp                                |
| DAD        | Diod-array dedektör                                       |
| DMF        | Dimetilformamid                                           |
| DPV        | Diferansiyel puls voltametrisi                            |
| DV         | Dönüşümlü voltametri                                      |
| $E^0$      | Standart potansiyel                                       |
| $E_{1/2}$  | Yarı dalga potansiyeli                                    |
| ED         | Elektrokimyasal dedektör                                  |
| EIS        | Elektrokimyasal impedans spektroskopisi                   |
| $E_p$      | Pik potansiyeli                                           |
| PGE        | Pirolitik grafit elektrot                                 |
| F          | Faraday sabiti                                            |
| ÇDKNT-COOH | -COOH ile fonksiyonlandırılmış çok duvarlı karbon nanotüp |

|         |                                            |
|---------|--------------------------------------------|
| FDA     | Food and Drug Agency (Gıda ve İlaç Kurumu) |
| g       | Gram                                       |
| GK      | Gaz kromatografisi                         |
| GR      | Grafen                                     |
| Hz      | Hertz                                      |
| ICH     | Uluslararası Harmonizasyon Konferansı      |
| $I_d$   | Difüzyon akımı                             |
| $I_f$   | Faradayik akım                             |
| $i_p$   | Pik akımı                                  |
| $k^0$   | Hız sabiti                                 |
| KDV     | Kare dalga voltametrisi                    |
| KNT     | Karbon nanotüp                             |
| KPE     | Karbon pasta elektrot                      |
| KRE     | Kalomel referans elektrot                  |
| KS      | Kütle spektroskopisi                       |
| L       | Litre                                      |
| LED     | Light Emitting Diode (Işık Yayan Diyot)    |
| $m$     | Eğim                                       |
| M       | Molar                                      |
| $\mu A$ | Mikroamper                                 |
| mg      | Miligram                                   |
| $\mu g$ | Mikrogram                                  |
| mL      | Mililitre                                  |
| $\mu L$ | Mikrolitre                                 |
| mm      | Milimetre                                  |
| mM      | Milimolar                                  |
| $\mu m$ | Mikrometre                                 |
| ms      | Milisaniye                                 |
| $\mu s$ | Mikrosaniye                                |

|           |                                                             |
|-----------|-------------------------------------------------------------|
| mV        | Milivolt                                                    |
| $n$       | Elektron sayısı/Veri sayısı                                 |
| $\eta$    | Elektrodun aşırı gerilimi                                   |
| ng        | Nanogram                                                    |
| nm        | Nanometre                                                   |
| O         | Yükseltgenme                                                |
| PSV       | Potansiyometrik Sıyırma Voltametrisi                        |
| $R$       | Gaz Sabiti                                                  |
| $R$       | İndirgenme                                                  |
| $r$       | Korelasyon katsayısı                                        |
| s         | Saniye                                                      |
| SHE       | Standart hidrojen elektrot                                  |
| SK        | Sıvı Kromatografisi                                         |
| ss        | Standart Sapma                                              |
| $t$       | Zaman                                                       |
| $T$       | Kelvin cinsinden sıcaklık                                   |
| $t_{1/2}$ | Yarı ömür                                                   |
| TAS       | Tayin alt sınırı                                            |
| TDKNT     | Tek duvarlı karbon nanotüp                                  |
| TS        | Teşhis Sınırı                                               |
| UPSK      | Ultra performanslı sıvı kromatografisi                      |
| USP       | United States Pharmacopeia (Birleşik Devletler Farmakopesi) |
| UV        | Ultraviyole                                                 |
| $v$       | Tarama hızı                                                 |
| V         | Volt                                                        |
| YPİTK     | Yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi              |
| YPSK      | Yüksek performanslı sıvı kromatografisi                     |

## ŞEKİLLER

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 1.1.</b> Pemetrekset'in hücre içindeki etki mekanizması: pemetreksetin DNA sentezindeki pürin ve pürimidin yolları üzerindeki etkileri. dUMP, Deoksiüridin monofosfat; TMP, Timidine monofosfat; $\text{CH}_2\text{FH}_2$ , Metilentetrahidrofolat; $\text{CHOFH}_4$ , 10-Formiltetrahidrofolat; $\text{FH}_2$ , Dihidrofolat; $\text{FH}_4$ , Tetrahidrofolat; DHFR, Dihidrofolat Redüktaz; GARFT, Glisinamit Ribonüleotid Formil Transferaz..... | 10 |
| <b>Şekil 1.2.</b> Sorafenib'in hücre içindeki etki mekanizması. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 11 |
| <b>Şekil 1.3.</b> Erlotinib'in hücre içindeki etki mekanizması .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 12 |
| <b>Şekil 1.4.</b> Çözelti ile elektrot yüzeyi arasında oluşan elektriksel çift tabaka.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 19 |
| <b>Şekil 1.5.</b> Elektrokimyasal yöntemlerin sınıflandırılması.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 20 |
| <b>Şekil 1.6.</b> Üç elektrotlu elektrokimyasal hücre .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 21 |
| <b>Şekil 1.7.</b> Bir elektrokimyasal polarogramda, sınır akımı, artık akım, yarı dalga potansiyeli ve difüzyon akımının gösterimi .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 22 |
| <b>Şekil 1.8.</b> Tersinir, yarı tersinir ve tersinmez voltamogramlar .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 24 |
| <b>Şekil 1.9.</b> Dönüşümlü voltametrde potansiyel-zaman ilişkisi .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 25 |
| <b>Şekil 1.10.</b> Voltametrik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan potansiyel-akım işaret ve yönlerinin Amerikan sistemi (yukarıdaki) ve IUPAC'a (aşağıdaki) göre isimlendirilmesi.....                                                                                                                                                                                                                                                                   | 26 |
| <b>Şekil 1.11.</b> Çalışma elektroduna potansiyel uygulandığında kapasitif ve faradayik iki akımın zamana karşı değişimi .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 27 |
| <b>Şekil 1.12.</b> DPV yönteminde kullanılan dalga formu. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 28 |
| <b>Şekil 1.13.</b> Kare dalga potansiyel zaman dalga formu.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 30 |
| <b>Şekil 1.14.</b> Voltametrik yöntemlerde kullanılan çalışma elektrotları. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 33 |
| <b>Şekil 1.15.</b> Camsı karbon elektrot.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 35 |
| <b>Şekil 1.16.</b> Bor ile katkılanmış elmas elektrot .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 36 |
| <b>Şekil 1.17.</b> Pirolitik grafit elektrot .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 37 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 1.18.</b> Karbon pasta elektrot.....                                                                                                                                                                                                                            | 37 |
| <b>Şekil 1.19.</b> Perde baskılı elektrot .....                                                                                                                                                                                                                          | 38 |
| <b>Şekil 1.20.</b> Modifiye elektrot .....                                                                                                                                                                                                                               | 39 |
| <b>Şekil 1.21.</b> Referans elektrot örnekleri .....                                                                                                                                                                                                                     | 40 |
| <b>Şekil 1.22.</b> Karşıt elektrot .....                                                                                                                                                                                                                                 | 41 |
| <b>Şekil 1.23.</b> Nyquist diyagramları ve olası eşdeğer devreler.....                                                                                                                                                                                                   | 43 |
| <b>Şekil 1.24.</b> Bode ve faz açısı-frekans diyagramları .....                                                                                                                                                                                                          | 44 |
| <b>Şekil 1.25.</b> Tek duvarlı karbon nanotüp oluşumu .....                                                                                                                                                                                                              | 46 |
| <b>Şekil 1.26.</b> Çok duvarlı karbon nanotüp .....                                                                                                                                                                                                                      | 47 |
| <b>Şekil 1.27.</b> Karbon nanotüp uygulamalarına örnekler .....                                                                                                                                                                                                          | 49 |
| <b>Şekil 1.28.</b> Grafen yapısı.....                                                                                                                                                                                                                                    | 51 |
| <b>Şekil 1.29.</b> Polimer filmiyle modifiye edilmiş bir elektrottaki yük alışverişi.....                                                                                                                                                                                | 52 |
| <b>Şekil 1.30.</b> Metal-polimer ve polimer-çözelti arayüzlerinin şematik gösterimi .....                                                                                                                                                                                | 53 |
| <b>Şekil 1.31.</b> Pirol, tiyofen ve furan bileşiklerinin polimerleşme mekanizmalarının başlangıç safhası ve meydana gelen dimerleşme olayı .....                                                                                                                        | 55 |
| <b>Şekil 1.32.</b> Polipirol filminin yükseltgenmesi ve sonrasında aşırı yükseltgenmesi ...                                                                                                                                                                              | 56 |
| <b>Şekil 3.1.</b> Pemetrekset disodyum etken maddesinin kimyasal yapısı.....                                                                                                                                                                                             | 79 |
| <b>Şekil 3.2.</b> CKE (---), ÇDKNT/CKE (○), TDKNT-COOH/CKE (—), ÇDKNT-COOH/CKE (◆), AyPPr/ÇDKNT-COOH/CKE (—) elektrotlarıyla $5 \times 10^{-5}$ M pemetrekset disodyum'un 0,1 M fosfat tamponunda (pH 6,0) alınan DP voltamogramları .....                               | 80 |
| <b>Şekil 3.3.</b> 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2,0) (---) CKE, $5 \times 10^{-5}$ M pemetrekset disodyum varlığında CKE (—) ve AyPPr/ÇDKNT-COOH/CKE (—) 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2,0) alınan dönüşümlü voltamogramları. Tarama hızı: $100 \text{ mVs}^{-1}$ .<br>..... | 81 |
| <b>Şekil 3.4.</b> 0,02 M Pr'un 0,001 M SDS varlığında $20 \text{ mVs}^{-1}$ tarama hızında polimerleşmesi .....                                                                                                                                                          | 82 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Şekil 3.5.</b> $5 \times 10^{-5}$ M pemetrekset disodyum etken maddesinin farklı pH değerlerine sahip 0,1 M fosfat (FT) ve 1 M asetat (AT) ortamındaki dönüşümlü voltamogramları.....                                                                                                                                                         | 84  |
| <b>Şekil 3.6.</b> $5.00 \times 10^{-5}$ M pemetrekset disodyum'un pik akımı ve potansiyeline 0,1 M fosfat pH 2,0; 3,0; 6,0; 7,0; 8,0 ve asetat tamponlarının (1.0 M) pH 3,7; 4,7; 5,7 etkileri .....                                                                                                                                             | 85  |
| <b>Şekil 3.7.</b> $5 \times 10^{-5}$ M pemetrekset disodyum etken maddesinin farklı pH değerlerine sahip 0,1 M fosfat (FT) ve 1 M asetat (AT) ortamındaki DP voltamogramları.....                                                                                                                                                                | 86  |
| <b>Şekil 3.8.</b> $5 \times 10^{-5}$ M pemetrekset disodyum etken maddesinin DPV yöntemiyle elde edilen anodik pik potansiyelinin ve akımının pH değişimine karşı grafiği .....                                                                                                                                                                  | 84  |
| <b>Şekil 3.9.</b> $5 \times 10^{-5}$ M pemetrekset disodyum etken maddesinin farklı pH değerlerine sahip 0,1 M fosfat (FT) ve 1 M asetat (AT) ortamındaki KD voltamogramları .....                                                                                                                                                               | 88  |
| <b>Şekil 3.10.</b> $5 \times 10^{-5}$ M pemetrekset disodyum etken maddesinin KDV yöntemiyle elde edilen anodik pik potansiyelinin ve akımının pH değişimine karşı grafiği .....                                                                                                                                                                 | 89  |
| <b>Şekil 3.11.</b> 5-500 mVs <sup>-1</sup> aralığında artan tarama hızları ile alınan $5 \times 10^{-5}$ M pemetrekset disodyum'e ait dönüşümlü voltamogramlar .....                                                                                                                                                                             | 90  |
| <b>Şekil 3.12.</b> $1.00 \times 10^{-6}$ M pemetrekset disodyum varlığında 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0) AyPPr/ÇDKNT-COOH/CKE ile optimize edilen $E_{acc}$ ( $t_{acc}$ : 60 s) (a) ve $t_{acc}$ ( $E_{acc}$ : 100 mV).....                                                                                                                   | 92  |
| <b>Şekil 3.13.</b> $1 \times 10^{-6}$ M pemetrekset disodyum'un 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0) CKE'nin DP ve AyPPr/ÇDKNT-COOH/CKE 'nin AdSDP voltamogramları .....                                                                                                                                                                             | 93  |
| <b>Şekil 3.14.</b> Destek elektrolit, $1.00 \times 10^{-8}$ M, $2.00 \times 10^{-8}$ M, $4.00 \times 10^{-8}$ M, $8.00 \times 10^{-8}$ M ve $1.00 \times 10^{-7}$ M artan derişimlerdeki pemetrekset disodyum etken maddesinin 0,1 M fosfat tamponunda AdSDP voltamogramları .....                                                               | 94  |
| <b>Şekil 3.15.</b> Sorafenib tosilat etken maddesinin kimyasal yapısı.....                                                                                                                                                                                                                                                                       | 98  |
| <b>Şekil 3.16.</b> a) %Kitosan (gmL <sup>-1</sup> ) miktarının optimizasyonu b) %0,1 (gmL <sup>-1</sup> ) Kitosan+ÇDKNT-COOH (1mg mL <sup>-1</sup> ) süspansiyonunun damlatma miktarı (µL) optimizasyonu ile elde edilen elektrotlarla $5 \times 10^{-5}$ M sorafenib tosilat'ın 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0) alınan DP voltamogramları..... | 99  |
| <b>Şekil 3.17.</b> a; 2,5, b; 1,25, c; 5,0, d; 10, e; 15 µL Kitosan+ÇDKNT-COOH süspansiyonunun CKE yüzeyine damlatılması ile oluşturulan elektrotlarda $5 \times 10^{-5}$ M sorafenib tosilat'ın 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0, %50 metanol) DP voltamogramları .....                                                                          | 100 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                         |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Şekil 3.18.</b> $5 \times 10^{-5}$ M sorafenib tosilat etken maddesinin farklı pH değerlerine sahip 0,1 M fosfat (FT) ve 1 M asetat (AT) ortamındaki dönüşümlü voltamogramları....                                                                                   | 101 |
| <b>Şekil 3.19.</b> $5 \times 10^{-5}$ M sorafenib tosilat'ın 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0 + 50 % metanol) a) Kitosan+ÇDKNT-COOH/CKE ve b) Perde baskılı elektrot ile alınan dönüşümlü voltamogramları .....                                                          | 102 |
| <b>Şekil 3.20.</b> $5 \times 10^{-5}$ M sorafenib tosilat'ın anodik pik potansiyelinin ve akımının pH değişimine karşı grafiği (0,1 M fosfat pH 2,0; 3,0; 6,0; 7,0; 8,0 ve 1 M asetat tamponu pH 3,7; 4,7; 5,7). ....                                                   | 103 |
| <b>Şekil 3.21.</b> $5 \times 10^{-5}$ M sorafenib tosilat etken maddesinin etken maddesinin farklı pH değerlerine sahip 0,1 M fosfat (FT) ve 1 M asetat (AT) ortamındaki DP voltamogramları .....                                                                       | 104 |
| <b>Şekil 3.22.</b> $5 \times 10^{-5}$ M sorafenib tosilat etken maddesinin DPV yöntemiyle elde edilen anodik pik potansiyelinin ve akımının pH değişimine karşı grafiği .....                                                                                           | 105 |
| <b>Şekil 3.23.</b> 5-500 mVs <sup>-1</sup> aralığında artan tarama hızları ile alınan $5 \times 10^{-5}$ M sorafenib tosilat'a ait dönüşümlü voltamogramlar. ....                                                                                                       | 106 |
| <b>Şekil 3.24.</b> $5,00 \times 10^{-6}$ M sorafenib tosilat varlığında 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0) Kitosan/ÇDKNT-COOH/CKE ile optimize edilen $E_{acc}$ ( $t_{acc}$ : 180 s) (a) ve $t_{acc}$ ( $E_{acc}$ : 400 mV).....                                          | 106 |
| <b>Şekil 3.25.</b> $5 \times 10^{-6}$ M sorafenib tosilat'ın 0,1 M fosfat tamponunda (pH:7,0; %50 metanol) CKE ve Kitosan/ÇDKNT-COOH/CKE ile alınan AdSDP voltamogramları .....                                                                                         | 108 |
| <b>Şekil 3.26.</b> a) Standart madde ve b) Serum örneğindeki artan derişimlerdeki sorafenib tosilat etken maddesinin 0,1 M fosfat tamponunda AdSDP voltamogramları .....                                                                                                | 110 |
| <b>Şekil 3.27.</b> EIS yöntemi kullanılarak a) CKE ve b) Kitosan/ÇDKNT-COOH/CKE ile elde edilen Nyquist diyagramları .....                                                                                                                                              | 114 |
| <b>Şekil 3.28.</b> a) CKE; b) Kitosan/CKE; c) ÇDKNT-COOH/CKE; d) Kitosan/ÇDKNT-COOH/CKE ile alınan taramalı elektron mikroskopu görüntüleri. ....                                                                                                                       | 115 |
| <b>Şekil 3.29.</b> Erlotinib hidroklorür etken maddesinin kimyasal yapısı .....                                                                                                                                                                                         | 116 |
| <b>Şekil 3.30.</b> $\beta$ -siklodekstrinin CKE yüzeyine 5-25 $\mu$ L hacimlerde damlatma miktarları ile bu elektrotlar kullanılarak 0,1M fosfat tamponunda $1 \times 10^{-5}$ M erlotinib hidroklorür'ün a) DPV b) KDV yöntemleriyle elde edilen akım değerleri.. .... | 117 |

|                                                                                                                                                                                                                                        |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Şekil 3.31.</b> $5 \times 10^{-5}$ M erlotinib hidroklorür etken maddesinin farklı pH değerlerine sahip 0,1 M fosfat (FT) ortamındaki dönüşümlü voltamogramları; Tarama hızı, $100 \text{ mV s}^{-1}$ .....                         | 118 |
| <b>Şekil 3.32.</b> $5 \times 10^{-5}$ M erlotinib hidroklorür etken maddesinin farklı pH değerlerine sahip 1 M asetat (AT) ortamındaki dönüşümlü voltamogramları; Tarama hızı, $100 \text{ mV s}^{-1}$ .....                           | 119 |
| <b>Şekil 3.33.</b> $5 \times 10^{-5}$ M erlotinib hidroklorür'ün anodik pik potansiyelinin ve akımının pH değişimine karşı grafiği (0,1 M fosfat pH 2,0; 3,0; 6,0; 7,0; 8,0 ve 1 M asetat tamponu pH 3,5; 4,5; 5,5). ....              | 120 |
| <b>Şekil 3.34.</b> $5 \times 10^{-5}$ M erlotinib hidroklorür etken maddesinin farklı pH değerlerine sahip 0,1 M fosfat (FT) ortamındaki DP voltamogramları .....                                                                      | 121 |
| <b>Şekil 3.35.</b> $5 \times 10^{-5}$ M erlotinib hidroklorür etken maddesinin farklı pH değerlerine sahip 1 M asetat (AT) ortamındaki DP voltamogramları.....                                                                         | 121 |
| <b>Şekil 3.36.</b> $5 \times 10^{-5}$ M erlotinib hidroklorür etken maddesinin DPV yöntemiyle elde edilen anodik pik potansiyelinin ve akımının pH değişimine karşı grafiği... ..                                                      | 122 |
| <b>Şekil 3.37.</b> $5 \times 10^{-5}$ M erlotinib hidroklorür etken maddesinin farklı pH değerlerine sahip 0,1 M fosfat (FT) ortamındaki KD voltamogramları.....                                                                       | 123 |
| <b>Şekil 3.38.</b> $5 \times 10^{-5}$ M erlotinib hidroklorür etken maddesinin farklı pH değerlerine sahip 1 M asetat (AT) ortamındaki KD voltamogramları .....                                                                        | 124 |
| <b>Şekil 3.39.</b> $5 \times 10^{-5}$ M erlotinib hidroklorür etken maddesinin KDV yöntemiyle elde edilen anodik pik potansiyelinin ve akımının pH değişimine karşı grafiği .....                                                      | 125 |
| <b>Şekil 3.40.</b> $5-500 \text{ mVs}^{-1}$ aralığında artan tarama hızları ile alınan $5 \times 10^{-5}$ M erlotinib hidroklorür'e ait dönüşümlü voltamogramlar... ..                                                                 | 126 |
| <b>Şekil 3.41.</b> KDV yöntemiyle elde edilen frekans, genlik, basamak potansiyeli optimizasyon sonuçları.....                                                                                                                         | 129 |
| <b>Şekil 3.42.</b> $5.00 \times 10^{-6}$ M erlotinib hidroklorür varlığında 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0) $\beta$ -siklodekstrin/CKE ile optimize edilen $E_{acc}$ ( $t_{acc}$ : 75 s) (a) ve $t_{acc}$ ( $E_{acc}$ : 100 mV) ..... | 130 |
| <b>Şekil 3.43.</b> 0,1 M fosfat tamponunda erlotinib hidroklorür yokluğunda CKE; $8 \times 10^{-6}$ M erlotinib hidroklorür varlığında CKE ve $\beta$ -siklodekstrin/CKE ile elde edilen AdSKD voltamogramları.....                    | 131 |
| <b>Şekil 3.44.</b> a) Erlotinib hidroklorür'ün artan derişimiyle 0,1 M fosfat tamponunda elde edilen AdSKD voltamogramları ve b) kalibrasyon eğrileri. ....                                                                            | 133 |

**Şekil 3.45.** a) CKE; b)  $\beta$ -siklodekstrin/CKE ile alınan taramalı elektron mikroskopu görüntüleri..... 137



## ÇİZELGELER

|                                                                                                                                                                                                                                              |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Çizelge 1.1.</b> En yaygın bulunan kanser türleri ve taramaları .....                                                                                                                                                                     | 4   |
| <b>Çizelge 1.2.</b> Antineoplastik ilaçların genel sınıflandırılması.....                                                                                                                                                                    | 9   |
| <b>Çizelge 1.3.</b> Pemetrekset disodyum etken maddesine ait literatür çalışmaları .....                                                                                                                                                     | 14  |
| <b>Çizelge 1.4.</b> Sorafenib etken maddesine ait literatür çalışmaları.....                                                                                                                                                                 | 14  |
| <b>Çizelge 1.5.</b> Erlotinib etken maddesine ait literatür çalışmaları .....                                                                                                                                                                | 15  |
| <b>Çizelge 1.6.</b> ICH'e göre validasyon için gerekli parametreler .....                                                                                                                                                                    | 59  |
| <b>Çizelge 1.7.</b> USP'ye göre validasyon için gerekli parametreler.....                                                                                                                                                                    | 59  |
| <b>Çizelge 2.1.</b> Kullanılan ilaç etken maddeleri ve dozaj formları .....                                                                                                                                                                  | 69  |
| <b>Çizelge 2.2.</b> Çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan kimyasal maddeler .....                                                                                                                                                          | 70  |
| <b>Çizelge 3.1.</b> Pemetekset disodyum etken maddesinin 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0) elde edilen kalibrasyon eğrisine ait regresyon analizi sonuçları ve validasyon parametreleri .....                                                 | 95  |
| <b>Çizelge 3.2.</b> 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0) pemetrekset disodyum içeren PEMENTREX® enjeksiyon çözeltisinden elde edilen analiz bulgularının sonuçları ....                                                                          | 96  |
| <b>Çizelge 3.3.</b> Girişim maddelerinin $1 \times 10^{-5}$ M pemetrekset disodyum cevabı üzerindeki tolerans miktarları .....                                                                                                               | 97  |
| <b>Çizelge 3.4.</b> Sorafenib tosilat etken maddesinin AdSDPV yöntemi kullanılarak 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0) Kitosan/ÇDKNT-COOH/CKE ile elde edilen kalibrasyon doğrusuna ait regresyon analizi sonuçları ve validasyon parametreleri | 110 |
| <b>Çizelge 3.5.</b> AdSDPV yöntemi kullanılarak 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0) Kitosan/ÇDKNT-COOH/CKE ile sorafenib tosilat etken maddesi içeren insan serumundan elde edilen geri kazanım sonuçları .....                                 | 112 |
| <b>Çizelge 3.6.</b> Erlotinib hidroklorür etken maddesinin 0,1 M fosfat tamponunda (pH 3,0) elde edilen kalibrasyon eğrisine ait regresyon analizi sonuçları ve validasyon parametreleri .....                                               | 134 |
| <b>Çizelge 3.7.</b> 0,1 M fosfat tamponunda (pH 3,0) erlotinib hidroklorür içeren Tarceva® tablet çözeltisinden elde edilen analiz bulgularının sonuçları.....                                                                               | 135 |

**Çizelge 3.8.** Girişim maddelerinin  $4 \times 10^{-6}$  M erlotinib hidroklorür cevabı üzerindeki tolerans miktarları ..... 136



# 1. GİRİŞ

## 1.1. Giriş ve Amaç

Kanser terimi ilk kez, Yunan fizikçi Hippocrates tarafından keşfedilmiştir. Kanser, vücudun bazı bölgelerindeki hücrelerin düzensiz veya kontrolsüz bir şekilde bölünüp çoğalmasıyla oluşan bir hastalıktır. Birçok kanser çeşidi olmasına rağmen, bunların hepsinde hücreler kontrolsüz olarak çoğalır. Tedavi edilmediğinde ciddi rahatsızlıklara hatta ölüme neden olabilir.

Vücudumuzdaki ölen hücrelerin yenilenmesi veya yaralanan dokuların onarılması için hücrelerin bölünebilme özelliğinin olması gerekmektedir. Bu özellik kas ve sinir hücrelerinde bulunmamaktadır. Hücrelerin bölünebilme yeteneği, yaş ile ters orantılıdır. Aynı zamandan bölünme sayısı da sınırlıdır yani sağlıklı bir hücre ömrü boyunca ne kadar bölüneceğini ve ne zaman sonlanacağını bilir. Buna da hücrenin programlı ölümü (apoptosis) denmektedir. Hücre çekirdeklerinde bulunan DNA iplikçikleri hücrenin gereksinimi olan fonksiyonlarını yerine getirmesi için gereklidir. DNA; virüslerden, kimyasallardan, aşırı güneş ışığından veya başka birçok nedenden dolayı hasar görebilir. Sağlıklı hücrelerde DNA hasarı meydana geldiğinde, hücre bunu ya onarır ya da ölür. Ancak kanserli hücrelerde DNA hasarı onarımı zordur ve hücre kontrolsüz bir şekilde çoğalmaya başlar. Kanserli hücrelerde kontrolsüz çoğalmaya neden olan genlere ‘Onkogen’ denmektedir. Kanserli hücrelerin başka bir dokuya ya da organa kan veya damar yolu ile ya da komşuluk nedeniyle sıçraması ya da bulaşmasına ‘Metastaz’ denir.

Kanser hastalığının tedavisi için her geçen gün çok sayıda araştırma yapılmakta olup ilaç sanayisine yeni ilaçlar eklenmektedir. Yapılan doktora tezinde antikanser ilaç etken maddelerinden pemetrekset disodyum, sorafenib tosilat ve erlotinib hidroklorür’ün farmasötik dozaj formlarından ve/veya biyolojik numunelerde elektrokimyasal yöntemlerle duyarlı, güvenilir, hızlı ve tekraredilebilir

tainlerine yönelik çalışmalar hedeflenmiştir. Yapılan elektrokimyasal çalışmalarla etken maddelerin farklı ortamlardaki davranışları incelenerek, bulundukları ortamda yüzeyde gerçekleşen redoks reaksiyonunun difüzyon ve/veya adsorpsiyon kontrollü olup olmadığı araştırılmıştır. Duyarlı, tekrarlanabilir ve hızlı bir tavin için sensör geliştirilmesi ve voltametrik metodun bulunması hedeflenmiştir. Geliştirilecek metod ve sensör ile ilaç etken maddelerinin farmasötik dozaj formlarından veya biyolojik numuneden tavinine uygulanması amaçlanmıştır.

Yaptığımız literatür araştırmalarında seçilen antikanser ilaç etken maddeleri ile herhangi bir elektrokimyasal çalışmanın yapılmamış olması, geliştirdiğimiz yöntemler ile yaptığımız çalışmaların hem orjinal olması, hem de bu ilaç etkenlerin bulunduğu ilaçların klinik ortamlarda hızlı ve güvenilir analizleri için diğer çalışmalara ışık tutması ve yeni yöntem ve sensörlerin geliştirilmesi açısından önemlidir.

#### **1.1.1. Kanser Hastalığının Nedenleri**

Günümüzde kanser hastalığında kesin olarak sebep belirtilememektedir. Bu hastalık için iki grup risk faktörü vardır. Bunlardan birincisi kişinin yaşam şekillerine, yaşa, ailede bulunan hastalıklara, cinsiyete bağlı olmaktadır. İkincisi ise çevresel etmenlerdir.

Kanserin sebebi henüz kesin olarak bilinmemektedir. Kanser hastalığı için iki grup risk faktörü vardır. Birinci gruptaki risk faktörleri yaşam şekillerine, yaşa, cinsiyete ve aile öykülerine bağlı olarak değişir. Bunlar; sigara, alkol kullanımı, bozuk beslenme alışkanlığı, aileden gelen genetik yatkınlıktır. Bir başka risk grubu ise çevresel faktörlerdir. Hava kirliliği, kimyasallar (benzin, boya maddeleri, asbest, katran), aşırı güneş ışınlarına maruz kalma, X ışınları, radyasyona maruz kalma, ısı, mekanik darbeler, ağrı kesiciler, doğum kontrol hapları, yağlı yiyecekler, yanmış yağlar, bazı küfler, kırmızı et ağırlıklı diyetler, bazı virüsler (Hepatit B ve C), stres.

Ülkemizde cinsiyete göre bulunma sıklığı fazla olan kanserler: Erkeklerde; akciğer, prostat, kalın barsak, rektum, mide ve pankreas kanserleri ve kadınlarda; meme, akciğer, kalın barsak, rektum, rahim ağzı, yumurtalık, mide ve pankreas kanserleridir.

### **1.1.2. Kanser Hastalığının Tanısında Kullanılan Yöntemler**

Kanser hastalığında erken tanı oldukça önem arz etmektedir. Bunun için de herhangi bir belirti oluşmadan kanser taramalarının yapılması gerekmektedir. Kanser türlerine göre yapılan taramalar aşağıda verilmiştir (Çizelge 1.1).

**Çizelge 1.1.** En yaygın bulunan kanser türleri ve taramaları

| Meme                          | Prostat                              | Akciğer                                     | Kolorektal              | Rahim                 | Mesane           | Deri           |
|-------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------------|-------------------------|-----------------------|------------------|----------------|
| Kendi kendine muayene         | Parmakla rektal muayene              | Göğüs Grafisi                               | Gaitada Gizli Kan Testi | Pap Test              | Tam İdrar Testi  | Deri Muayenesi |
| Klinik muayene                | Prostat Spesifik Antijen (PSA) Testi | Balgam Sitolojisi                           | Sigmoidoskopi           | Transvajinal Ultrason | İdrar Sitolojisi |                |
| Mamogram                      |                                      | Spiral Bilgisayarlı Tomografi Görüntülemesi | Barium Enema            | Endometrial Örnekleme | Sistoskopi       |                |
| Ultrason                      |                                      |                                             | Kolonoskopi             |                       |                  |                |
| Manyetik rezonans görüntüleme |                                      |                                             | Parmakla Rektal Muayene |                       |                  |                |
| Doku örnekleme                |                                      |                                             | Virtual Kolonoskopi     |                       |                  |                |
|                               |                                      |                                             | DNA Gaita Testi         |                       |                  |                |

### 1.1.3. Kanser Hastalığının Tedavisinde Kullanılan Yöntemler

**Cerrahi:** Kanser tedavisinde en çok kullanılan yöntemlerden biridir. Bu yöntem kanserin tanısını ve ne kadar yayıldığını öğrenme olanağı verir. Bu yöntem ile başka dokulara yayılmamış kanserli dokunun uzaklaştırılması mümkün olmaktadır.

**Kemoterapi:** Bu yöntemde çok güçlü ilaçlar kullanılmaktadır. Bu ilaçlar ile kanserin başka dokulara yayılması engellenir, kanserin büyümesi yavaşlar, kanserin yol açtığı ağrı ve tıkanıklık gibi şikâyetler azalır.

**Radyoterapi:** Radyasyonun kanserli hücelere fazla dozda verilmesi ile olur. Radyasyon kanserli hücelerin yakınındaki sağlıklı hüceleri de etkileyebilir. Ancak sağlıklı hücre kendini yenileyebilirken, kanserli hücre yenileyemez.

**Hedeflenmiş tedavi:** Karsinogenez sürecinde normal hüceler hasar görerek kanserli hücelere dönüşürler. Hedeflenmiş tedavi ile hastaya verilen ilaçlar bu süreci bozarak kanserin büyümesini ve gelişmesine neden olan hücredeki kısmı hedef alır.

**İmmünoterapi:** Bu yöntem iki ayrı uygulamadan oluşur, birinci uygulamada hastanın bağışıklık sisteminin uyarılarak daha fazla çalışması ve uyarılması sağlanır. İkinci uygulamada ise bağışıklık sistemindeki özel proteinlerin kişiye verilmesi yer almaktadır.

**Hipertermi:** Vücut sıcaklığı normalden daha yüksek yapılarak kanserli hücelere radyoterapi veya kemoterapi etkisi oluşturulur. Yüksek sıcaklıklarda kanserli ve normal hüceler ölebilir bundan dolayı bu işlemin çok dikkatli yapılması gerekmektedir.

**Kök hücre nakli:** Kemoterapi ya da radyasyon kemik iliğinin yok olmasına neden olabilir. Bu durumda kemik iliğinde bulunan ve kırmızı kan hüceleri, beyaz kan hüceleri ve trombositlerin yapımında rol alan kök hücelerin nakli yapılır.

**Fotodinamik tedavi:** Bu yöntemde fotosensitize ilaçlar ile lazer ışınları birarada kullanılır. Vücutta tedavi edilecek kısma fotosensitize ilaçlar damar yoluyla veya deriden kan dolaşımıyla verilir. Verilen ilaç zamanla kanserli hüceler tarafından absorplanır. Bir sonraki aşamada lazer ışığı vücutta tedavi edilecek bölgeye uygulanır. Lazer ışınları, fotosensitize ilaçların, kanserli hüceleri besleyen kan damarlarını tahrip etmesini sağlar.

**Kan transfüzyonu:** Kemoterapi, cerrahi yöntem sonrası kansızlık oluşabilir veya sindirim sistemi gibi bazı kanser türlerinde, böbrek ve dalağın etkilendiği durumlarda da bu sıkıntı olabilir. Bu durumda hastaya kan transfüzyonu gerekebilir.

#### **1.1.4. Kanser Tedavisinde Kullanılan İlaçlar**

Kanser tedavisinde kullanılan maddelere, antineoplastik ilaçlar ve bu maddeler ile yapılan tedaviye de kanser kemoterapisi denir. Antineoplastik ilaçlarla kanser tedavisinin hedefi, kimyasal maddeler, hormonlar, bitkisel kaynaklı ilaçlar ve antibiyotikler ile sağlıklı hücreleri etkilemeksizin kontrolsüz proliferasyon gösteren hücrelerin durdurulması ve ortadan kaldırılmasıdır. Antineoplastik ilaçların seçicilikleri, malin (kötü) hücrelerle sağlıklı hücrelerin arasında büyük yapısal farkların olmaması sebebiyle antimikrobik ilaçların seçiciliklerine göre çok daha düşüktür. Antineoplastik ilaçların terapötik indeksleri son derece düşüktür.

Kanser tedavisinde cerrahi girişim, tümörün metastaz yapmadığı, erken evrede son derece yararlıdır. Kemoterapi ve radyo terapi ile birlikte başarı şansı daha da yüksektir. Radyoterapinin, bazı olgularda (ağız boşluğu, larenks, serviks ve prostat kanserlerinde) radikal tedaviye olanak tanıdığı ve alınan sonuçların cerrahi girişime eşdeğer olduğu ileri sürülmüş olsa da, cerrahi yol ve kemoterapi birlikte uygulandığında tedavinin başarı şansı artacaktır. Kanserde ilaç kullanılması, çok az sayıdaki neoplazma için radikal bir çözümdür. Buna karşılık uygun bir ilaç seçimiyle, diğer yöntemlere yardımcı olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Gerek tek başlarına gerekse kombine kullanıldıklarında tüm neoplastik hücreler ortadan kalkmayacakları için, antineoplastik ilaçlar genellikle hastalık belirtileri ortaya çıktıktan sonra kullanılmaya başlarlar. En büyük yararı, kanser hücrelerinin azaldığı postoperatif ya da radyoterapi sonrası gösterirler. Antineoplastik ilaçlardan olan alkilleyici ilaçlar (daunorubisin mitramisin sisplatin), siklusun her döneminde etkili olan ilaçlardır. G1 döneminde etkin olanlar L-Asparajinaz S döneminde etkin olanlar: Metotreksat- Hidroksikarbamid G2 döneminde etkin olanlar: Bleomisin

Sülfat M döneminde etkin olanlar: Vinca Alkaloidleri, Kolşisin, Podofilotoksin gibi ilaçlardır.

Kanser kemoterapisinde kombine ilaç uygulaması sık başvuru yöntemlerinden birisidir. Kombinasyona gidilmesinin nedenleri, maksimum etki elde ederken, minimum toksik etki görülmesidir. Ayrıca doz titrasyonu ile vücuda alınacak ilaç miktarının minimum düzeyde tutulması da hedeflenmiştir. Kombinasyona alınacak ilaçların, kötücül hücreye farklı mekanizmalarla etkili olmaları gerekir.

Antineoplastik ilaçların büyük bir kısmının emniyet aralığı dar olduğundan toksisite kaygıları nedeniyle olabildiğince küçük dozlarda verilmeleri beklenir. Böyle bir durumda doz kısıtlayıcı toksik etkileri engelleyerek daha yüksek dozda ilaç kullanılması için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Örneğin, ilaç tümörün yerleşmiş olduğu bölgeye lokal olarak yüksek konsantrasyonda verilebilir. İlacın antineoplastik etkinliğini azaltmadan toksisitesini azaltan bir antidotla birlikte verilebilir (metotreksat: folinik asid) ya da hematopoietik büyüme faktörleri uygulanarak myelotoksik etki azaltılabilir.

Antineoplastik ilaçlar koryokarsinoma, wilms tümörü, testis tümörleri, prostat kanseri, over kanseri, akut myelojen lösemi, akut lenfositik lösemi, hodgkin hastalığı, burkitt lenfoması tedavilerinde kullanılır.

### **Olası yan etkiler**

Antineoplastik ilaçlar, kullanımdaki ilaçlar arasında toksisitesi en yüksek olan ilaçlar grubundadırlar. Ancak kanser hastalığının ölümcül bir hastalık olması nedeniyle ilaçların toksisitesi ikinci planda kalmaktadır. Bu ilaçlar kemik iliğini baskılayıp sistemik toksisite yaratabilirler. Tedavi bittiğinde ise bu baskı ortadan kalkıp kemik iliği depresyonu oluşabilir. Bu depresyonun düzelme ihtimali

olmayabilir ve ilik nakli yapılmadığı takdirde hastalık ölüm ile sonuçlanabilir. Bu ilaçların kemik iliğine yaptığı baskılar ilaç türüne göre değişebilir.

### **Teratojenik Etki**

Antineoplastik ilaçların çoğu güçlü teratojenik ilaçlardır. Yeni doğan bebeklerde deformasyona veya düşüklere neden olabilirler. Gebelerde kullanılmadan önce, kesinlikle dikkat edilmeli ve bir uzmana danışılmalıdır.

### **Karsinojenik Etki**

Antineoplastik ilaçlar arasındaki alkilleyici ilaçlar ile prokarbazin, güçlü karsinojeniktirler. Bu ilaçlar alındıktan birkaç yıl sonra sekonder kanserlere neden oldukları gösterilmiştir.

### **Mutajenik Etki**

Özellikle alkilleyici ilaçlar kullanıldığında mutajenik etki görülür. Alkilleyici ilaçların uygulandığı kliniklerdeki personelde ve hastalarda kromozom bozuklukları görülmüştür. Işın tedavisi de kemoterapinin hem mutajenik hem de karsinojenik etkinliğini artırır. Antikanser ilaçların çoğu IV infüzyon yoluyla hastaya verilir. Bu yöntem ile verilen ilaç çözeltilerinin doku içine kaçması olabilir ki bu da ağrılı irritasyon ve nekroza neden olabilir. Pemetrekset ve azasitidin bu tip risk taşıyan ilaçlardır.

Antineoplastik ilaçların genel sınıflandırılmaları aşağıdaki Çizelge 1.2’de verilmiştir.

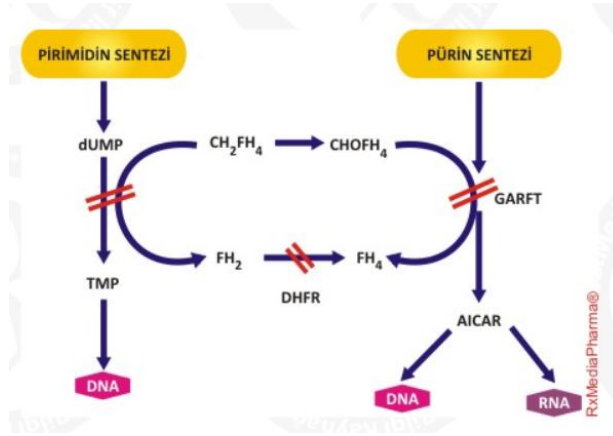
**Çizelge 1.2. Antineoplastik ilaçların genel sınıflandırılması**

|                                     |                                                                                                                                                                                                                  |
|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Alkilleyici ajanlar</b>          | <ul style="list-style-type: none"><li>• Azotlu hardal analogları - Alkil sülfonatlar - Etilen iminler - Nitrozürler - Epoksitler</li></ul>                                                                       |
| <b>Antimetabolitler</b>             | <ul style="list-style-type: none"><li>• Folik asit analogları - Pürin analogları - Pirimidin analogları</li></ul>                                                                                                |
| <b>Sitotoksik antibiyotikler</b>    | <ul style="list-style-type: none"><li>• Aktinomisinler - Antrasiklinler</li></ul>                                                                                                                                |
| <b>Bitkisel alkaloidler</b>         | <ul style="list-style-type: none"><li>• Vinka alkaloidler - Podofilotoksin türevleri - Kolşisin türevleri - Taksanlar</li></ul>                                                                                  |
| <b>Diğer antineoplastik ilaçlar</b> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Platin bileşikler - Metil hidrazinler - Monoklonal antikorlar - Fotodinamik/radyasyon tedavisinde kullanılan duyarlılaştırıcılar - Protein kinaz inhibitörleri</li></ul> |

## **1.2. Tez Çalışması Kapsamında Çalışılan İlaçlar**

### **1.2.1. Pemetrekset Disodyum**

Pemetrekset, malignan plevral mezotelyoma (MPM) hastalarının tedavisinde platin ile kombine olarak kullanılan kemoterapötik bir ajandır. Pemetrekset ilerlemiş lokal veya metastatik küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastalarda kemoterapi sonrası monoterapi olarak kullanılmaktadır. Pemetrekset pirrolopirimidin çekirdeği içeren antifolat bir ajandır. Antineoplastik etkisini hücre çoğalması için temel önemi olan folata bağımlı metabolik süreçleri bozarak gösterir. Pemetrekset hücre içine redüklenmiş folat taşıyıcı ve membran folat bağlayan protein taşıma sistemlerinin her ikisi tarafından taşınır. Hücre içine girdiğinde folilpoliglutamat sentez enzimi tarafından hızla ve etkin bir şekilde poliglutamat formlarına dönüştürülür (Şekil1.1). Hücre içinde alıkonulan bu poliglutamat formları TS ve GARFT inhibitörü etki gösterirler. Poliglutamata dönüştürülmüş metabolitlerin hücre içi yarı ömrü uzar ve böylece pemetrekset malignan hücrelerde daha uzun süreli etki gösterir (Rx Media Pharma 2016).



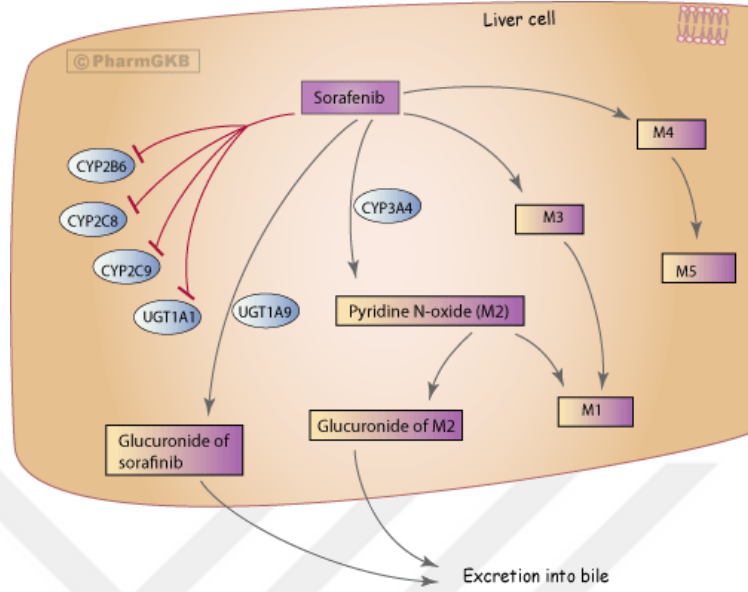
**Şekil 1.1.** Pemetrekset etki mekanizması: pemetreksetin DNA sentezindeki pürin ve pürimidin yolları üzerindeki etkileri. dUMP, Deoksiüridin monofosfat; TMP, Timidine monofosfat;  $\text{CH}_2\text{FH}_2$ , Metilentetrahidrofolat;  $\text{CHOFH}_4$ , 10-Formiltetrahidrofolat;  $\text{FH}_2$ , Dihidrofolat;  $\text{FH}_4$ , Tetrahidrofolat; DHFR, Dihidrofolat Redüktaz; GARFT, Glisinamit Ribonükleotid Formil Transferaz (Rx Media Pharma 2016).

Pemetrekset intravenöz infüzyonla uygulanır. Farmakokinetik özellikleri, solid tümörü bulunan 426 kanser hastasında tek ajan olarak 0.2 ile 838 mg/m<sup>2</sup> arası dozlarda, 10 dakikalık infüzyon sonrası değerlendirilmiştir. Pemetreksetin kararlılık durumundaki dağılım 16.1 L'dir. Pemetreksetin toplam sistemik klirensi 91.8 mL/dk olup, plazmadan atılım yarı-ömrü böbrek fonksiyonu normal olan hastalarda 3.5 saattir (Rx Media Pharma 2016).

### 1.2.2. Sorafenib Tosilat

Sorafenib, in vitro tümör hücresi proliferasyonunu azaltan bir multikinaz inhibitörüdür. Sorafenibin çok sayıda hücre içi (c-CRAF, BRAF ve mutant BRAF) ve hücre yüzeyi kinazlarını (KIT, FLT-3, RET, VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, ve PDGFR-B) inhibe ettiği tespit edilmiştir. Bu kinazlardan bazılarının tümör hücresi sinyal iletimi, anjiyogenez ve apoptozda rol aldığı düşünülmektedir. Sorafenib immünokompromize farelerde, insan hepatoselüler karsinoma ve renal hücreli karsinomada ve çeşitli başka insan tümör ksenograftlarında tümör büyümesini inhibe etmiştir. Sorafenib sekiz metabolite (M1-8) sahiptir (Şekil 1.2). Bunlardan beş tanesi (M2, M3, M4, M6, M7) plazmada, üç tanesi (M3, M4, M6) feçeste, iki tanesi de

idrarda (M7, M8) bulunmaktadır. Plazmadaki temel metabolit sorafenibin oksidasyonu ile oluşan Piridin N-oksit (M2)'tir (Nielka ve ark., 2009).



**Şekil 1.2.** Sorafenib'in hücre içindeki rolü ve metabolitleri (Nielka ve ark., 2009)

Sorafenib (Nexavar®, BAY-43-9006) etkisini tümör hücreleri ve tümörü besleyen damarlarda hem hücre proliferasyonunu hem de anjiyojenezi inhibe ederek gösteren yeni bir antineoplastik ilaçtır. Sorafenib hem tümör hücreleri hem de damar yatağında serin/treonin ve reseptör tirozin kinazları hedefleyen bir mültikinaz inhibitörü olarak işlev görür.

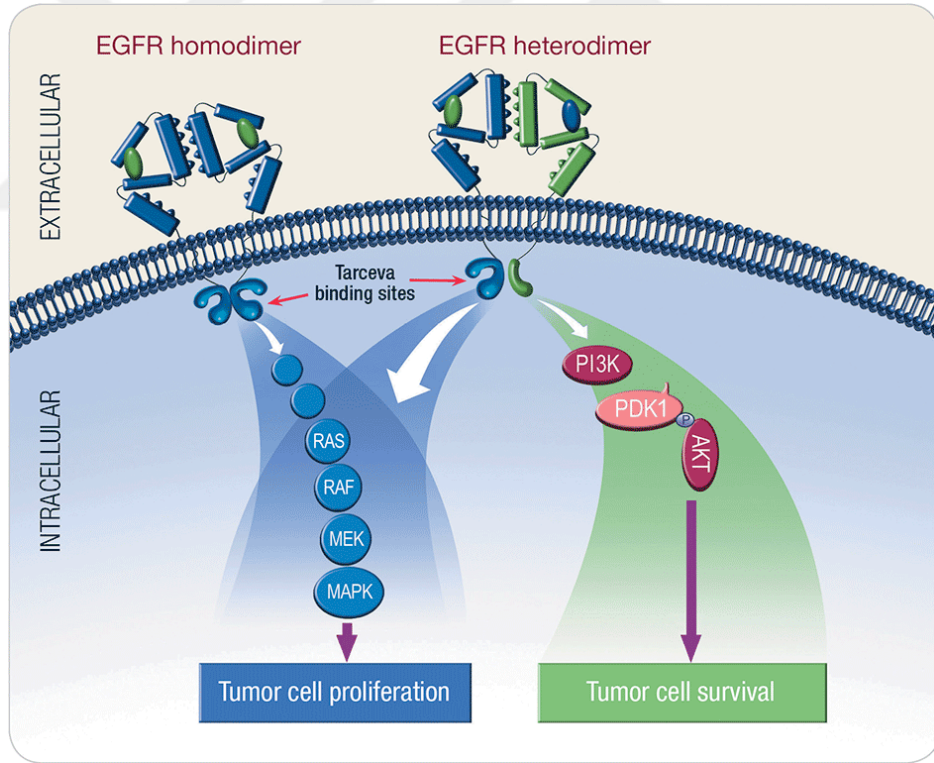
Sorafenib antikanser etkisini sitostatik etki yaparak gösterir ve büyümesinin inhibisyonu için tümörün sürekli olarak bu ilaca maruz kalması gerekir. Preklinik araştırmalarda, sorafenib ortamda olduğu sürece tümör büyümesinin inhibe olduğu görülmüş, fakat ilacın ortamdan uzaklaştırılmasıyla büyüme hızı bazal düzeye geri dönmüştür.

Sorafenib oral yoldan kullanılır. Absorpsiyonu göreceli olarak zayıftır ve plazma doruk konsantrasyonuna doz sonrası yaklaşık 3 saatte ulaşır. Tabletlerin ortalama biyoyararlanımı %38-49' dur. Klinik ile ilişkili konsantrasyon düzeylerinde

%99.5'i plazma proteinlerine bağlanır. Ortalama eliminasyon yarı ömrü 25-48 saattir. Sorafenib karaciğerde sitkrom P450 (CYP) izoenzim 3A4 enzimi aracılığıyla oksidatif olarak metabolize edilir (Rx Media Pharma 2016).

### 1.2.3. Erlotinib Hidroklorür

Erlotinib epidermal büyüme faktör tip 1 reseptörünün (EGFR/HER1) tirozin kinaz inhibitörüdür. Epidermal büyüme reseptörünün intrasellüler fosforilasyonunu güçlü bir şekilde inhibe eder (Şekil 1.3). Klinik dışı örneklerde, bu reseptörün fosfotirozinin inhibisyonu sonucunda hücre stazı ve/veya ölümü ile sonlanmaktadır (Rx Media Pharma 2016).



Şekil 1.3. Erlotinib'in hücre içinde etki mekanizması (Rx Media Pharma 2016)

Erlotinib insanlarda hepatik sitokrom P450 enzimleri tarafından, birincil olarak CYP3A4 ve daha az ölçüde CYP1A2 tarafından metabolize edilmektedir. Metabolitleri plazmada erlotinibin <%10'u oranında mevcut bulunup, erlotinib ile benzer farmakokinetik özellik gösterirler (Rx Media Pharma 2016).

Oral erlotinib iyi emilir ve gecikmiş absorpsiyon süresine bağlı olarak ortalama doruk plazma düzeylerine oral dozdan yaklaşık 4 saat sonra ulaşılır. Ortalama maksimum plazma konsantrasyonları 1,995 ng/mL'ye ulaşır (Rx Media Pharma 2016).

### **1.3. Tez Maddelerine Ait Literatür Çalışmaları**

Pemetrekset disodyum, sorafenib tosilat ve erlotinib hidroklorür etken maddelerine ait kromatografik ve spektrofotometrik yöntemler ile yapılmış son on yıla ait çalışmalar aşağıda çizelgeler halinde gösterilmiştir. Bu maddelere ait elektrokimyasal çalışma bulunmamıştır.

**Çizelge 1.3.** Pemetrekset disodyum etken maddesine ait literatür çalışmaları

| Analit               | Metod           | Kalibrasyon aralığı (M)                       | LOD/LOQ (M)           | Matriks          | Referans              |
|----------------------|-----------------|-----------------------------------------------|-----------------------|------------------|-----------------------|
| Pemetrekset          | LC-MS/MS        | $2,34 \times 10^{-7}$ - $2,3 \times 10^{-5}$  | $2,34 \times 10^{-7}$ | Serum            | Jingya ve ark., 2012  |
| Pemetrekset disodyum | RP-LC           | $2,12 \times 10^{-7}$ - $2,12 \times 10^{-5}$ | $5,3 \times 10^{-8}$  | İlaç dozaj formu | Rakesh ve ark., 2012  |
| Pemetrekset          | LC-UV-ELSD      | $1,05 \times 10^{-3}$ - $1,40 \times 10^{-3}$ | $9,36 \times 10^{-4}$ | -                | Renaud ve ark., 2011  |
| Pemetrekset          | MALDI-QqQ-MS/MS | $8,7 \times 10^{-9}$ - $1,43 \times 10^{-7}$  | $4,0 \times 10^{-16}$ | Serum            | Roland ve ark., 2010  |
| Pemetrekset disodyum | RP-LC           | $1,32 \times 10^{-4}$ - $1,06 \times 10^{-3}$ | $5,35 \times 10^{-8}$ | İlaç dozaj formu | Thahera ve ark., 2010 |
| Pemetrekset          | LC-MS           | $1,15 \times 10^{-8}$ - $1,15 \times 10^{-5}$ | $5,75 \times 10^{-9}$ | Serum            | Bobin ve ark., 2009   |
| Pemetrekset disodyum | Kiral LC        | $1,06 \times 10^{-5}$ - $5,09 \times 10^{-3}$ | $3,39 \times 10^{-6}$ | İlaç dozaj formu | Ramulu ve ark., 2007  |

**Çizelge 1.4.** Sorafenib etken maddesine ait literatür çalışmaları.

| Analit            | Metod      | Kalibrasyon aralığı (M)                       | LOD/LOQ (M)           | Matriks          | Referans                          |
|-------------------|------------|-----------------------------------------------|-----------------------|------------------|-----------------------------------|
| Sorafenib         | HPLC       | $2,15 \times 10^{-7}$ - $4,3 \times 10^{-6}$  | $2,15 \times 10^{-7}$ | Sıçan plazması   | Lian-hua ve ark., 2016            |
| Sorafenib         | UPLC-MS/MS | $4,30 \times 10^{-9}$ - $4,30 \times 10^{-6}$ | -                     | Sıçan plazması   | Jiazhi ve ark., 2015              |
| Sorafenib tosilat | HPLC/UV    | $1,52 \times 10^{-7}$ - $1,57 \times 10^{-4}$ | $7,22 \times 10^{-8}$ | -                | Hashemi ve ark., 2014             |
| Sorafenib         | HPLC/UV    | $6,45 \times 10^{-8}$ - $6,45 \times 10^{-5}$ | -                     | Serum            | Miki ve ark., 2014                |
| Sorafenib         | LC-MS      | $1,08 \times 10^{-8}$ - $1,08 \times 10^{-6}$ | $1,08 \times 10^{-8}$ | Sıçan plazması   | Jinzhang ve ark., 2014            |
| Sorafenib         | LC-UV      | $2,15 \times 10^{-7}$ - $4,30 \times 10^{-5}$ | $1,29 \times 10^{-7}$ | Serum            | Vanesa ve ark., 2014              |
| Sorafenib         | LC-MS/MS   | $1,08 \times 10^{-7}$ - $7,53 \times 10^{-5}$ | $1,08 \times 10^{-7}$ | Serum            | Irina ve ark., 2013               |
| Sorafenib         | LC-MS/MS   | $4,3 \times 10^{-8}$ - $2,15 \times 10^{-5}$  | -                     | Serum            | Lankheet ve ark., 2013            |
| Sorafenib tosilat | RP-LC      | $7,85 \times 10^{-6}$ - $1,26 \times 10^{-4}$ | $2,09 \times 10^{-7}$ | İlaç dozaj formu | Kalaichelvi ve Jayachandran, 2013 |

| Çizelge 1.4'ün Devamı          |          |                                               |                        |                  |                         |
|--------------------------------|----------|-----------------------------------------------|------------------------|------------------|-------------------------|
| Sorafenib                      | LC-MS    | $2,15 \times 10^{-8}$ - $2,15 \times 10^{-5}$ | $1,08 \times 10^{-8}$  | Serum            | Christine ve ark., 2011 |
| Sorafenib                      | RP-LC    | $3,14 \times 10^{-5}$ - $1,88 \times 10^{-4}$ | $1,61 \times 10^{-6}$  | İlaç dozaj formu | Rao ve ark., 2011       |
| Sorafenib                      | LC-MS/MS | $2,15 \times 10^{-8}$ - $1,08 \times 10^{-5}$ | $2,15 \times 10^{-8}$  | Serum            | Stephane ve ark., 2011  |
| Sorafenib<br>Sorafenib N-oksit | LC-MS    | $1,08 \times 10^{-7}$ - $2,15 \times 10^{-5}$ | -                      | Serum            | Lie ve ark., 2010       |
|                                |          | $2,15 \times 10^{-8}$ - $5,40 \times 10^{-7}$ | -                      | Serum            |                         |
| Sorafenib                      | LC-MS/MS | $2,15 \times 10^{-9}$ - $8,60 \times 10^{-6}$ | $1,08 \times 10^{-8}$  | Serum            | Honeywell ve ark., 2010 |
| Sorafenib                      | LC-UV    | $1,08 \times 10^{-4}$ - $4,30 \times 10^{-2}$ | $1,08 \times 10^{-4}$  | Serum            | Blanchet ve ark., 2009  |
| Sorafenib                      | LC-MS/MS | $1,08 \times 10^{-8}$ - $4,32 \times 10^{-6}$ | $4,30 \times 10^{-10}$ | Serum            | Lokesh ve ark., 2008    |
| Sorafenib                      | LC-MS/MS | $1,57 \times 10^{-8}$ - $1,57 \times 10^{-5}$ | $1,57 \times 10^{-8}$  | Serum            | Ming ve ark., 2007      |

Çizelge 1.5. Erlotinib etken maddesine ait literatür çalışmaları.

| Analit                              | Metod      | Kalibrasyon aralığı (M)                       | LOD/LOQ (M)           | Matriks          | Referans                 |
|-------------------------------------|------------|-----------------------------------------------|-----------------------|------------------|--------------------------|
| Erlotinib HCl                       | LC-MS/MS   | $2,54 \times 10^{-8}$ - $1,27 \times 10^{-5}$ | $2,54 \times 10^{-8}$ | Serum            | Ramarao ve ark., 2015    |
| Erlotinib HCl<br>OSI-413<br>OSI-420 | LC-MS/MS   | $2,54 \times 10^{-8}$ - $7,62 \times 10^{-5}$ | $2,54 \times 10^{-8}$ | Serum            | Takuya ve ark., 2015     |
|                                     |            | $5,08 \times 10^{-9}$ - $1,27 \times 10^{-6}$ | $5,08 \times 10^{-9}$ | Serum            |                          |
|                                     |            | $5,08 \times 10^{-9}$ - $2,54 \times 10^{-7}$ | $5,08 \times 10^{-9}$ | Serum            |                          |
| Erlotinib HCl                       | HPLC       | $1,27 \times 10^{-7}$ - $2,54 \times 10^{-5}$ | $1,27 \times 10^{-7}$ | Sıçan plazması   | Yi ve ark., 2015         |
| Erlotinib HCl                       | LC-MS/MS   | $2,54 \times 10^{-8}$ - $2,54 \times 10^{-5}$ | $2,54 \times 10^{-8}$ | Sıçan plazması   | Hui ve ark., 2015        |
| Erlotinib HCl                       | UPLC-MS/MS | $5,08 \times 10^{-9}$ - $5,08 \times 10^{-6}$ | $5,08 \times 10^{-9}$ | Sıçan plazması   | Wang ve ark., 2015       |
| Erlotinib HCl                       | CE-UV      | $3,81 \times 10^{-7}$ - $5,08 \times 10^{-5}$ | $1,02 \times 10^{-7}$ | İdrar            | Rodriguez ve ark., 2014  |
| Erlotinib HCl                       | LC-MS      | $1,27 \times 10^{-8}$ - $5,08 \times 10^{-6}$ | -                     | Sıçan plazması   | Chongliang ve ark., 2013 |
| Erlotinib HCl                       | LC-MS/MS   | $5,08 \times 10^{-8}$ - $2,54 \times 10^{-5}$ | -                     | Serum            | Lankheet ve ark., 2013   |
| Erlotinib HCl                       | UPLC       | $1,27 \times 10^{-4}$ - $5,08 \times 10^{-4}$ | $1,27 \times 10^{-6}$ | İlaç dozaj formu | Naveen ve ark., 2012     |

| Çizelge 1.5'in Devamı |                           |                                               |                       |                  |                              |
|-----------------------|---------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------|------------------|------------------------------|
| <b>Erlotinib</b>      | Spektroflorimetrik method | $3,18 \times 10^{-7}$ - $2,54 \times 10^{-6}$ | $3,81 \times 10^{-8}$ | Serum            | Bivash ve ark., 2012         |
| <b>Erlotinib HCl</b>  | RP-LC                     | $1,27 \times 10^{-5}$ - $1,02 \times 10^{-4}$ | -                     | İlaç dozaj formu | Mohammed ve ark., 2011       |
| <b>Erlotinib</b>      | RP-LC                     | $1,91 \times 10^{-4}$ - $5,72 \times 10^{-4}$ | -                     | İlaç dozaj formu | Chakravarthy ve Sankar, 2011 |

## **1.4. Elektrokimya**

### **1.4.1. Elektrokimyada Hücre Tipleri ve Hücreler**

Elektrokimyasal çalışmalarda kullanılan hücre tipleri aşağıda kısaca özetlenmiştir (Skoog ve ark., 1998, syf: 565).

#### **Sıvı Bağlantılı (Poröz Cam Diskli) Hücreler**

İki yarı hücrede doğrudan tepkimenin oluşması istenmiyor ise bu tip hücreler kullanılır.

#### **Sıvı Bağlantısız Hücreler**

Elektrotlar aynı hücre içerisinde bulunurlar.

#### **Tuz Köprülü Hücreler**

İki yarı hücredeki elektrotları birbirinden ayırmak için tuz köprüsü kullanılır. Tuz köprüsü doymun potasyum nitrat ile doludur.

#### **Galvanik Hücreler**

Dışarıdan herhangi bir potansiyel uygulanmadan hücre içerisindeki reaksiyon gerçekleşir.

## **Elektrolitik Hücreler**

Galvanik hücrede bakır elektrotu katot, çinko elektrotu anottur. Bu hücreye, bir dış kaynaktan yeterli miktarda potansiyel uygulaması halinde hücre, elektrolitik hücre şeklinde çalışır.

## **Tersinir ve Tersinmez Hücreler**

Termodinamik tersinir (reversible) reaksiyon, şarjdan deşarja geçerken elektrot reaksiyonunun tersine dönüşmesidir. Ortama eklenen bir reaktif ile reaksiyon tersinmezliğe yaklaşabilir.

## **Değişim Hücreleri**

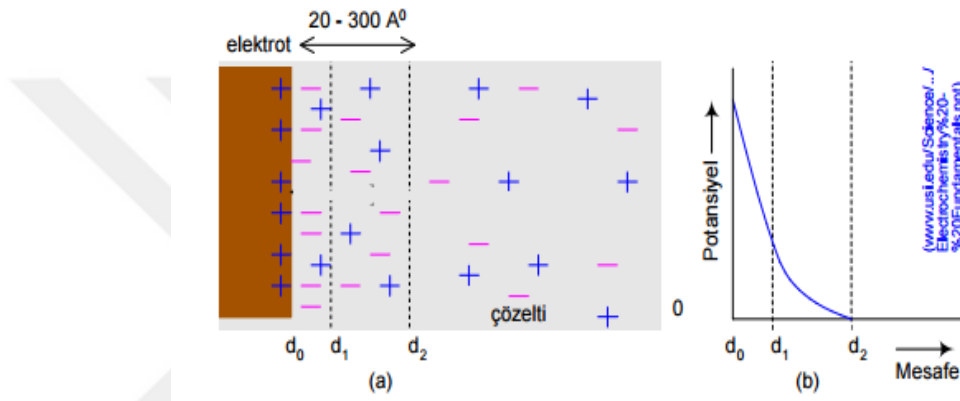
İki yarım hücrede de aynı çeşit elektrotlar bulunur ancak elektrolit değişimleri birbirinden farklıdır.

### **1.4.2. Elektrokimyasal Hücrede İletim ve Çözelti Yapısı**

Bir elektrokimyasal hücrede iletimin olması için aşağıda belirtilen üç işlem gereklidir. Bu işlemler için aşağıda gösterilen Şekil 1.4 örnek temsil etmektedir. (Skoog ve ark., 1998, syf: 565).

- 1) Elektrotların bir metal iletken ile dış bağlantılarının olması gerekir.
- 2) Çözeltiler arasında iyonların geçişi için temas sağlanmalıdır.
- 3) Her iki elektrotta da elektron aktarım reaksiyonu gerçekleşmelidir.

Elektrokimyasal bir hücrede elektrot bulunduğu çözelti içerisinde kendisine bitişik çözelti tabakasına elektron verebilir veya alabilir. Bundan dolayı heterojen sistem oluşturur yani aradaki tabakanın bileşimi ile çözeltinin diğer kısımlarının bileşimleri farklı olabilir. Elektroda pozitif bir potansiyel uyguladığımızda elektrotun yüzeyinde sıfıra düşen anlık bir akım oluşacaktır. Bu akım her iki elektrot yüzeyinde negatif yük eksikliği ya da fazlalığı oluşturacaktır. Ortamda iyonik hareketlilik olduğundan dolayı elektrotlara bitişik olan çözelti tabakalarında hızla zıt yüklenme oluşacaktır. Bu etkileşim Şekil 1.4’ de gösterilmiştir (Skoog ve ark., 1998, syf: 566).

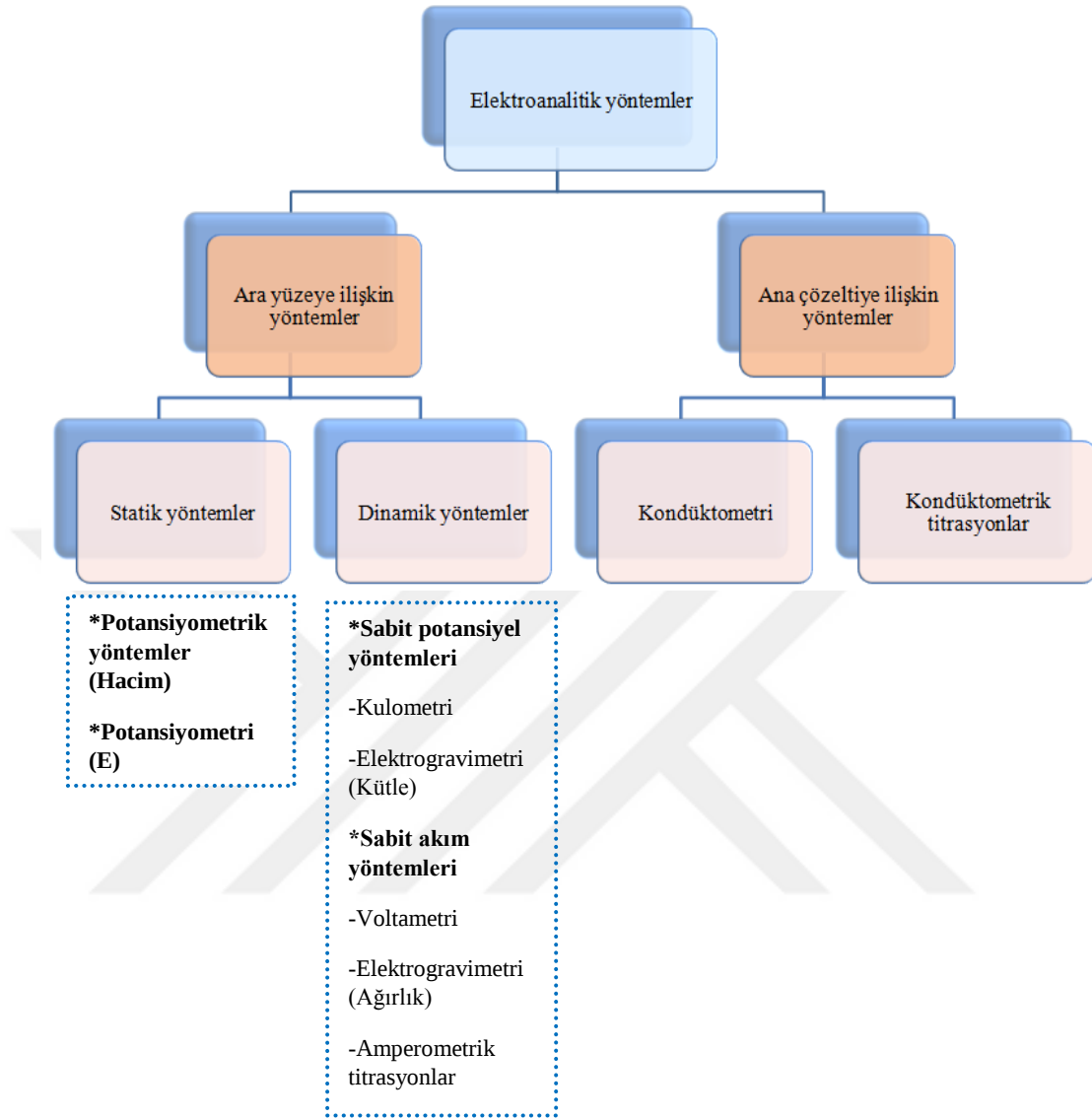


**Şekil 1.4.** Çözelti ile elektrot yüzeyi arasında oluşan elektriksel çift tabaka (Skoog ve ark., 1998, syf: 566).

### 1.4.3. Elektrokimyasal Yöntemler

Elektrokimyasal yöntemler, elektrot yüzeyinde heterojen olarak gerçekleşen veya çözelti ortamında homojen olarak aktarılan yük miktarının madde miktarı ve elektron sayısı ile ilgilenildiği analitik yöntemlerdir.

Elektrokimyasal yöntemlerin sınıflandırılmasında Şekil 1.5 en yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu gösterime göre, elektroanalitik yöntemler “ara yüzeye ilişkin yöntemler” ve “ana çözeltiye ilişkin yöntemler” olmak üzere ikiye ayrılır (Skoog ve ark., 1998, syf: 588).



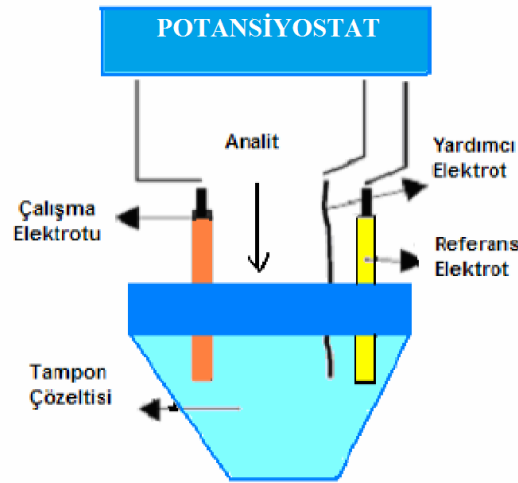
Şekil 1.5. Elektrokimyasal yöntemlerin sınıflandırılması (Skoog ve ark., 1998, syf: 588).

Tez kapasamında çalışılan yöntemlerle ilgili bilgiler kısaca aşağıda verilmiştir.

#### 1.4.3.1. Voltametri

Elektrokimyasal yöntemlerden biri olan voltametri, farklı ortamlarda oluşan redoks reaksiyonlarını, elektrot yüzeylerindeki adsorpsiyon olaylarını ve elektron aktarım mekanizmalarını inceleyen oldukça duyarlı ve güvenilirdir. Voltametri,

indikatör elektrodun polarize olduğu şartlarda sürekli olarak değişen bir potansiyelin küçük elektrotlara uygulanması ile oluşan akımın ölçümüne dayanan bir tekniktir. Şekil 1.5’de voltametrik ölçüm yapmak için kullanılan bir elektrokimyasal hücre ve bileşenleri yer almaktadır. Bu hücre elektrolit, analit ve elektrolit içerisine daldırılmış üç elektrottan oluşmaktadır. Bu elektrotlardan birincisi, deney süresince potansiyeli sabit olan referans elektrotudur. Genelde Ag/AgCl veya doymuş kalomel elektrotlar referans elektrot olarak kullanılmaktadır. İkincisi, potansiyeli zamanla ve ortama göre değişebilen çalışma elektrodudur. Karbon bazlı, modifiye, metal ve civa elektrotlar örnek olarak verilebilir. Polarizasyonu artırmak için, bunların yüzey alanları küçük olanları tercih edilir. Üçüncüsü ise, elektriğin sinyal kaynağından çözelti ortamındaki elektrota taşınmasını sağlayan karşıt elektrottur. Genelde platin tel kullanılmaktadır (Yıldız ve Genç, 1993, syf: 341).

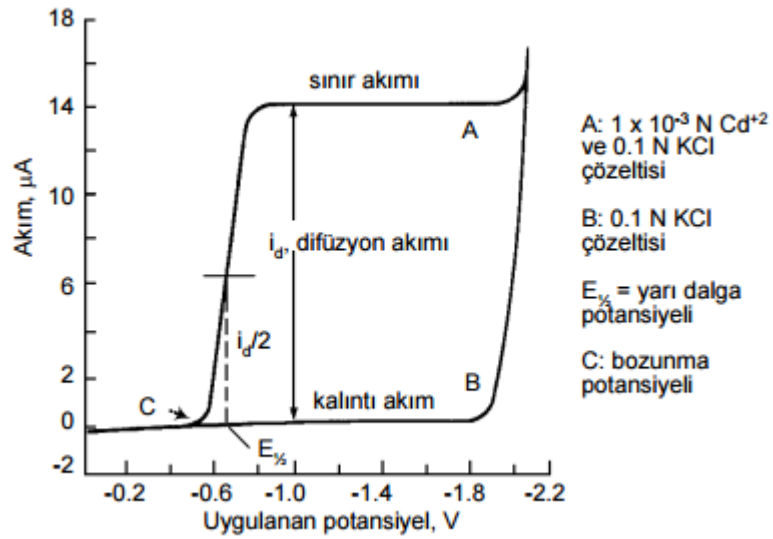


**Şekil 1.6.** Üç elektrotlu elektrokimyasal hücre (Yıldız ve Genç, 1993, syf: 341).

#### 1.4.3.1.1. Voltametrde Akım

İndirgenme reaksiyonundan dolayı oluşan akıma katodik akım, yükseltgenme reaksiyonundan dolayı oluşan akıma ise anodik akım adı verilir. Belli bir potansiyelden sonra akımın sabit kaldığı bir plato bölgesine ulaşılır. Bu akıma sınır akımı,  $i_l$  adı verilir. Elektrot üzerinde henüz reaksiyon olmadığı zaman küçük de

olsa bir akım gözlenir. Bu akıma artık (kalıntı) akım denir. Sınır akımı ile artık akım arasındaki yükseklik dalga yüksekliğidir. Dalga yüksekliği, elektroaktif maddenin derişimi ile doğrusal olarak artar. Difüzyon-kontrollü bir sınır akımına "difüzyon akımı"denir ve  $i_d$  sembolü ile gösterilir. Difüzyon akımı reaktif maddenin derişimi ile doğru orantılıdır ve bu nedenle de analizde en önemli veri niteliğindedir (Bard ve ark., 2008, 444). Şekil 1.6' da görüldüğü gibi difüzyon akımı, sınır akımı ile artık (kalıntı) akımlar arasındaki farktır.



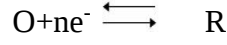
**Şekil 1.7.** Bir elektrokimyasal polarogramda, sınır akımı, artık akım, yarı dalga potansiyeli ve difüzyon akımının gösterimi (Bard ve ark., 2008, 444).

Sınır akımı, maddenin kütle aktarım işlemiyle elektrot yüzeyine taşınma hızındaki sınırlamadan kaynaklanır. Sınır akımları genellikle analitin derişimi ile doğru orantılıdır.

$$i_l = k \cdot C_A$$

Burada,  $C_A$  analit derişimi ve  $k$  ise bir sabittir.

Voltametrde akım, çalışma elektrotu üzerinde maddelerin indirgenmesi (R) veya yükseltgenmesi (O) sonucunda oluşur.



O yükseltgenmiş, R indirgenmiş hali ifade eder. Bu çerçevede Alman bilim adamı Walther Nernst'in ortaya koyduğu denklem ile elektrot potansiyelinin saptanması sağlanır. Buna göre elektrot potansiyeli elektroaktif türün elektrot yüzeyindeki derişimine bağılı olarak ortaya çıkar. Nernst denkleminin formülü şudur:

$$E = E^0 + \frac{2.3RT}{nF} \log \frac{C_0}{C_R}$$

Bu formülde  $E^0$  yükseltgenme/indirgenme tepkimeleri için standart potansiyeli, R gaz sabitini ( $8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ ), T sıcaklığı (K), n tepkimede transfer edilen elektron sayısını ve F Faraday sabitini (96487 coulomb) ifade eder (Bard ve ark., 2008, 444).  $C_0$  ve  $C_R$  sırasıyla yükseltgenen ve indirgenen türlerin derişimini göstermektedir.

#### 1.4.3.1.2. Kütle Transferi

Kütle aktarımı adı verilen maddenin elektrot yüzeyine taşınması olayı üç farklı şekilde olabilir. Bunlar,

##### ***i. Difüzyon:***

Çözeltinin iki farklı noktasında bir maddenin derişim farkı nedeniyle, daha derişik noktadan seyreltik noktaya doğru taşınmasıdır.

##### ***ii. İyon göçü (migrasyon):***

Potansiyel uygulanmış bir elektrot etrafında oluşan elektriksel alan etkisiyle yüklü parçacıkların elektrotta doğru veya aksi yönde hareket etmesidir.

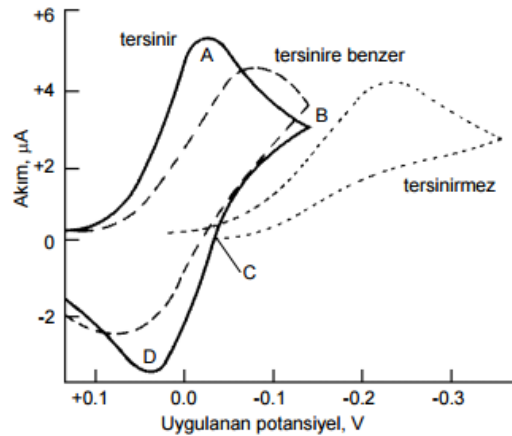
### iii.Konveksiyon:

Çözeltinin karıştırılması veya farklı bölgelerindeki yoğunluk ve sıcaklık farkı sebebiyle maddenin bir bölgeden diğer bir bölgeye taşınmasıdır.

### 1.4.3.1.3. Tez Kapsamında Kullanılan Voltametrik Teknikler

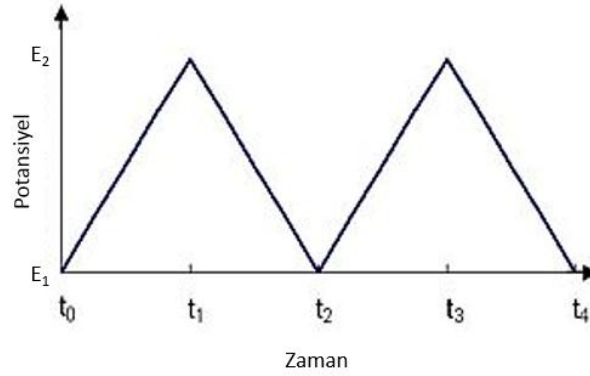
#### 1.4.3.1.3.1. Dönüşümlü Voltametri (DV)

Elektrokimyasal teknikler içerisinde dönüşümlü voltametri en yaygın kullanılanıdır. Bu tekniğin temelinde; potansiyel, doğrusal olarak pik noktasına kadar artırılır ve aynı hızda, başlangıç noktasına kadar düşürülür (Şekil 1.7).



**Şekil 1.8.** Tersinir, yarı tersinir ve tersinmez dönüşümlü voltamogramlar (Tural ve ark., 2003,131)

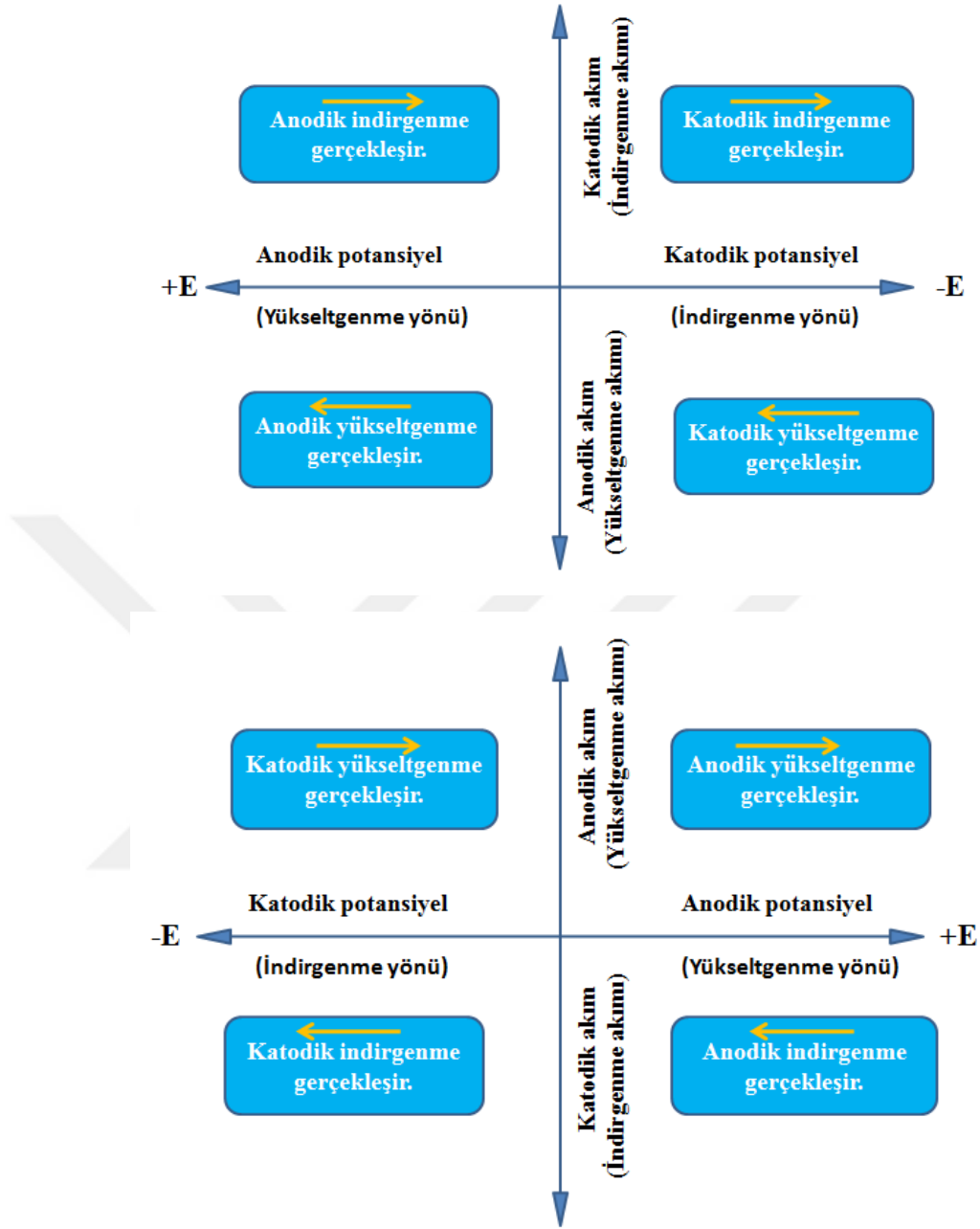
Dönüşümlü voltametri tekniği elektrokimyasal teknikler içinde en yaygın kullanılan tekniktir. Bu teknikte tarama hızı çalışmalarında; potansiyel, zamanla doğrusal olarak değiştirilir. Uygulanan potansiyelin zamanla değişim grafiği Şekil 1.8’de verilmiştir.



**Şekil 1.9.** Dönüşümlü voltametrde potansiyel-zaman ilişkisi (Tural ve ark., 2003,131).

Eğer voltametrde, potansiyel taraması bir  $E_1$  başlangıç potansiyeli ve  $E_2$  potansiyeli arasında yapılırsa metota doğrusal taramalı voltametri denir. Eğer  $E_2$  potansiyeline ulaşıldıktan sonra aynı tarama hızıyla ilk tarama yönüne göre ters yönde tarama yapılırsa metodun adı dönüşümlü voltametri olur. İleri taramada indirgenme olmuşsa ters taramada yükseltgenme meydana gelir. Doğrusal taramalı voltametri analitik çalışmalar için uygun bir metottur. Dönüşümlü voltametri tekniği ile elektrot mekanizmaları incelenebilir, kinetik çalışmalar yapıp, adsorpsiyon mekanizmaları aydınlatılabilir.

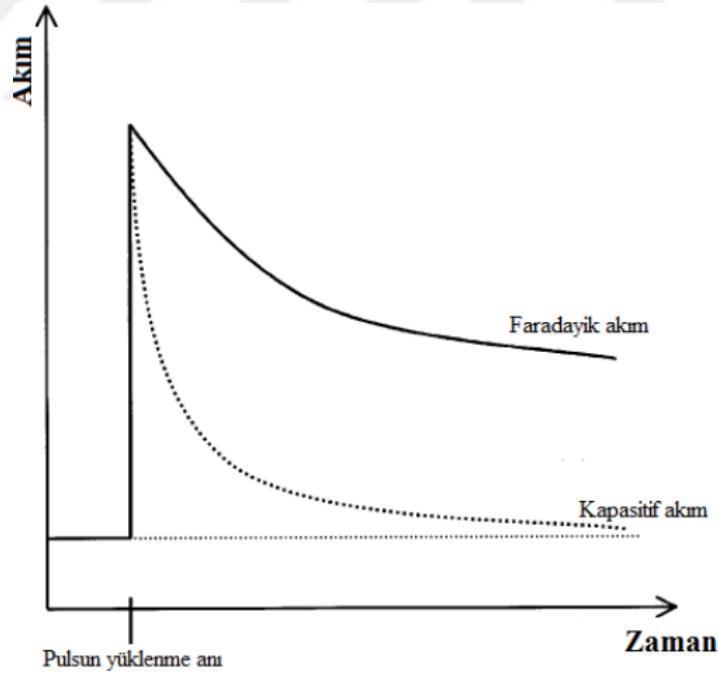
Dönüşümlü voltametrde katodik tarama, negatif potansiyel yönündeki taramalara, anodik tarama ise pozitif potansiyel yönündeki taramalara denilmesi konusunda bir birlik sağlanmıştır ancak eksen üzerinde pozitif ve negatif kısımların neresi olması konusunda henüz uzlaşma sağlanamamıştır. Aşağıdaki Şekil 1.9'da potansiyel-akım işaret ve yönlerinin isimlendirilmeleri Amerikan sistemi ve IUPAC'a göre gösterilmiştir (Bard ve Faulkner 2001, Zoski ve ark., 2007, Scholz ve ark., 2010).



**Şekil 1.10.** Voltametrik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan potansiyel-akım işaret ve yönlerinin Amerikan sistemi (yukarıdaki) ve IUPAC'a (aşağıdaki) göre isimlendirilmesi.

#### 1.4.3.1.3.2. Puls Voltametri

Elektrokimyasal çalışmalarda elde edilen akıma, faradayik ve faradayik olmayan akım bileşenlerinin katkıları vardır. Normalde faradayik olmayan (kapasitif) akımın en aza indirgenmesi çalışmalarda istenen durumdur. Ancak bu akımın tamamen sıfırlanması yapılan çalışmalara göre henüz başarılammıştır. Bundan dolayı son yıllarda yapılan çalışmalarda faradayik akımın faradayik olmayan akıma oranının maksimum olacağı yöntemler geliştirilmektedir. Geliştirilen bu yöntemler arasında puls voltametrisi bulunmaktadır. Bu yöntemde çalışma elektroduna belirli aralıklarla potansiyel pulsları uygulanır ve puls uygulamalarının öncesinde ve sonrasında akım ölçülür. Bu yöntemde faradayik akımın faradayik olmayan akıma oranının önemli derecede arttığı kaydedilmiştir. Şekil 1.10' da çalışma elektroduna potansiyel uygulandığında faradayik olmayan ve faradayik iki akımın zamana karşı değişimi gösterilmiştir (Wang 2000, Scolz vd. 2010).



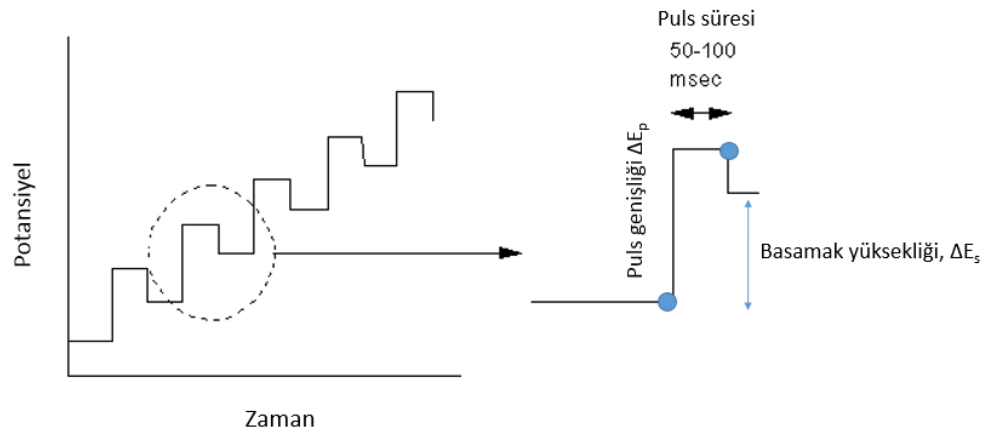
**Şekil 1.11.** Çalışma elektroduna potansiyel uygulandığında kapasitif ve faradayik iki akımın zamana karşı değişimi (Tural ve ark., 2003,131).

Puls voltametrisinin birçok çeşidi olmasına rağmen burada tez çalışmasında kullanılan iki farklı puls voltametrisinden bahsedilecektir. Bunlar diferansiyel ve kare dalga puls voltametridir.

#### 1.4.3.1.3.2.1. Diferansiyel Puls Voltametri

Elektrokimyasal çalışmalarda faradayik olmayan akım çok istenmez, bu akımın azaltılması için kullanılan yöntemlerden biri de diferansiyel puls voltametrisidir (DPV). Çalışma elektroduna uygulanan pulsun şekli ve akımın ölçülmesi faradayik olmayan akımın etkisini azaltmaktadır.

Bu yöntemin temelinde aynı puls için iki akım değeri ölçülür (Şekil 1.11). Birinci akım ölçümü pulsun hemen öncesinde, ikinci ise pulsun bitiminden önce yapılır. Daha sonra bu akım değerleri arasında fark alınır böylece faradayik olmayan akım göz ardı edilmiş olur ve toplam akım değeri elde edilir. Elde edilen akım değeri ile analitin derişimi doğru orantılıdır (Wang 2000, Bard ve Faulkner 2001).



Şekil 1.12. DPV yönteminde kullanılan dalga formu (Wang 2000, Bard ve Faulkner 2001).

DPV yönteminde faradayik olmayan akımın bu kadar minimize edilebilmesinin yönteme kattığı en önemli üstünlüklerden birisi nanomolar ve mikromolar seviyedeki birçok analitin analizine olanak sağlamasıdır. Ayrıca bu yöntem ile iki farklı pik potansiyeline sahip türlerin eş zamanlı tayini de mümkün olmaktadır.

#### 1.4.3.1.3.2.2. Kare Dalga Voltametrisi (KDV)

Barker ve Jenkins 1952 yılında kare dalga voltametrisini geliştirmişlerdir. Bu yöntem diğerlerine göre oldukça hızlı ve duyarlıdır (Barker ve Jenkins, 1952). Kare dalga voltametrisinin sabit elektrotlarda potansiyel-zaman dalga şekli Şekil 1.12’de görülmektedir. Bu yöntemde de DPV yönteminde olduğu gibi her bir puls döngüsünde iki defa akım ölçülmektedir. DPV yönteminden ana farkları ise geri yönde de puls uygulanması sonucu, akımın ileri yönde uygulanan pulsun bitişi ile geri yönde uygulanan pulsun bitişinde ölçülmesi ve net akım olarak iki akım arasındaki farkın alınmasıdır (O’Dea vd. 1981).

Bir kare dalganın tamamlanma süresi olan periyod,  $\tau$  ile gösterilir (Şekil 1.12). Birbirini takip eden kare dalgalar arasındaki yükseklik farkına basamaklı adım yüksekliği adı verilir ve  $\Delta E_s$  ile gösterilir. Kare dalga genliği ( $E_{sw}$ ), herbir dalganın alt ve üst noktaları arasındaki farkın yarısına eşittir. Puls genişliği ( $t_p$ ),  $\tau/2$ ’ye eşittir. Genellikle periyod yerine  $1/\tau$ ’ a eşit olan frekans ( $f$ ) kullanılır. Frekansın artması ve buna bağlı olarak periyodun azalması ile kare dalga pik akımı ve hassasiyet artar. Kare dalga voltametrisinde deneysel parametreler belirli aralıklarda seçilir. Deneylerde frekans genellikle  $10 \leq f \leq 1000$  Hz veya periyod  $1 \leq \tau \leq 100$  ms aralığında olmalıdır. Basamaklı adım yüksekliği ise aktarılan elektron sayısına ( $n$ ) bağlı olarak  $\Delta E_s = 10/n$  mV eşitliğinden bulunur.  $E_{sw}$  ise genelde  $50/n$  mV’dur (Bard ve Faulkner 2001, Wang 2000).



#### 1.4.3.1.3.3. Sıyırma Teknikleri

Voltametik çalışmalarda kullanılan sıyırma teknikleri hassasiyeti (duyarlılığı) artırmak için geliştirilmişlerdir. Bu teknikler ile sinyal/gürültü oranı artırılır. Bu da beraberinde duyarlılığı artırmaktadır.

Bu tekniğin temelinde, analit uygun bir potansiyel altında genellikle karıştırılan çözeltide, elektrot yüzeyinde biriktirilir. Bu işlemten sonra ise çalışılacak potansiyel aralığına göre tarama yapılır ve akım potansiyel eğrileri elde edilir. Sıyırma tekniği; biriktirme, durulma ve sıyırma aşamalarından oluşmaktadır. Biriktirme aşamasında analitin sadece ufak bir kesri elektrot yüzeyinde birikir. Bundan dolayı analiz sonuçları,

- Elektrot potansiyelinin kontrol edilmesine,
- Biriktirme süresine,
- Karıştırma hızına bağlıdır.

Sıyırma teknikleri arasında en çok kullanılan diferansiyel puls anodik sıyırma voltametrisidir. Bu yöntem ile elde edilen sonuçlarda pikler daha keskin bulunmuştur ve eş zamanlı tayinlerde de bu yöntem tercih edilmiştir. Biriktirme basamağı ve ve sıyırma aşamasında çalışılacak potansiyel aralığı sıyırma tekniğinin çeşidini belirlemektedir. Anodik bölgede tarama yapılıyorsa, anodik sıyırma voltametrisi (ASV), katodik bölgede yapılıyorsa da katodik sıyırma voltametrisi (KSV) adını alır. Biriktirme basamağında elektron aktarımı gerçekleşmiyorsa yöntem adsorptif sıyırma voltametri (AdSV) denir. Sıyırma işlemi anodik bölgede yapılırsa yöntem adsorptif sıyırma voltametri (AAdSV) denir. Katodik yönde yapılırsa yöntem katodik adsorptif sıyırma voltametri (KAdSV) adını alır. Bundan dolayı, adsorptif sıyırma tekniği için, analitin biriktirilmesi için seçilen potansiyelin indirgenme veya yükseltgenme potansiyelinden daha küçük bir potansiyelde biriktirme yapılmalıdır (Bond, A.M. 1980, Zoski vd. 2007, Barek vd. 2008, Scholz vd. 2010).

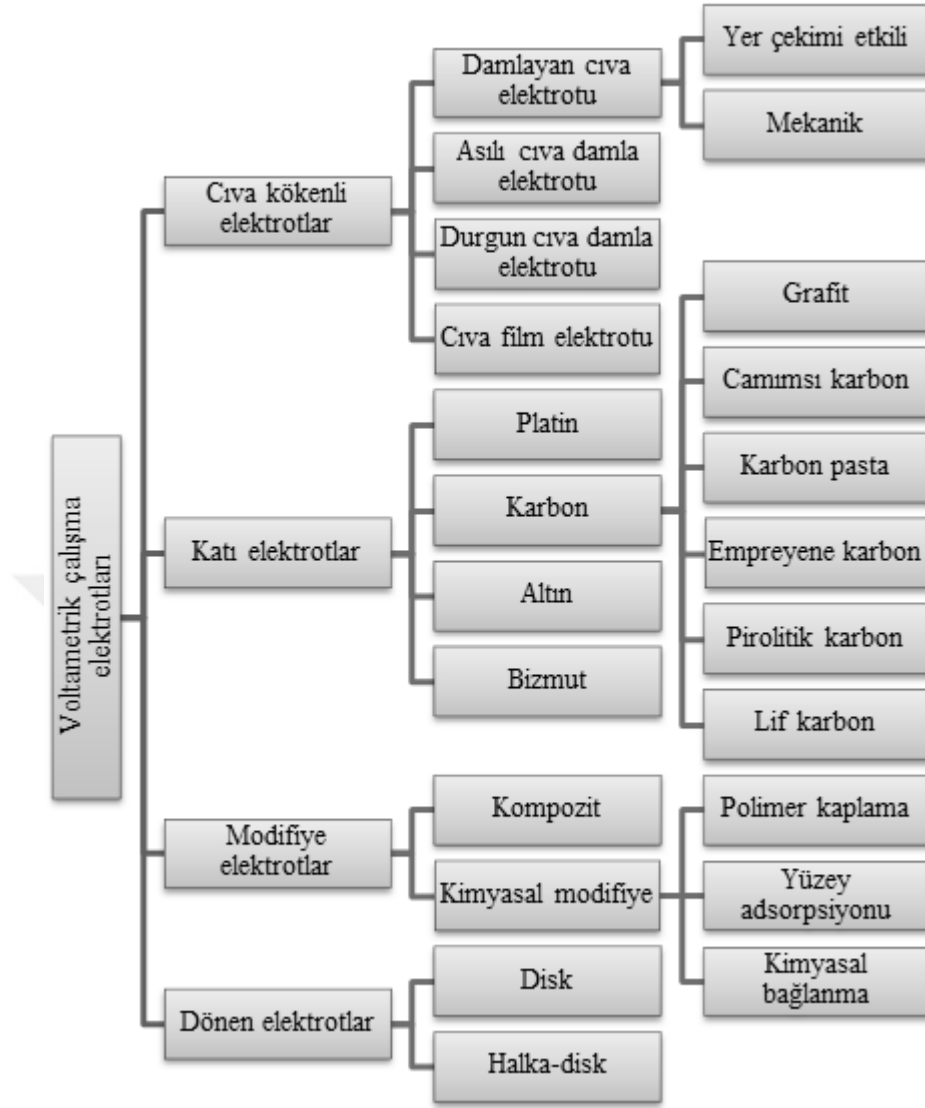
Sıyırma voltametrisinde uygulanacak tekniğe karar verildikten sonra, biriktirme potansiyeli ve süresi optimize edilir. Biriktirme potansiyeli optimizasyonunda birkaç potansiyel denenerek, cevabın maksimum olduğu potansiyele karar verilir. Biriktirme süresi optimize edilirken, optimize edilmiş potansiyel değeri sabit tutularak biriktirme süreleri değiştirilir. Burada analitin derişimi oldukça önemlidir. Biriktirme süresi optimizasyonunda elektrot yüzeyinin analite ne zaman doyacağı belirlenir. Bu yüzden geliştirmeyi düşündüğümüz yöntemin uygulama alanları ve bu alanlarda çalışmaların yapılacağı örneklerde analit derişimleri dikkate alınarak biriktirme süresi optimize edilmelidir.

#### **1.4.3.1.4. Voltametri Yönteminde Kullanılan Çalışma Elektrotları**

Voltametrik çalışmalarda, çalışma elektrodu oldukça önemlidir. Çalışma elektrodu seçerken dikkat edilmesi gereken özellikler başlıca şunlardır;

- Tekraredilebilir ve yüksek sinyal/gürültü oranı,
- Geniş çalışma potansiyel aralığı (potansiyel penceresi),
- Elektriksel iletkenlik,
- Tekraredilebilir yüzey,
- Mekanik özellik,
- Maliyetinin düşük olması ve kolay bulunabilmesi,
- Toksik özellik.

Voltametrik metotlar ile kullanılan çalışma elektrotları aşağıda şematize edilmiştir (Şekil 1.13). Tez kapsamında ise katı elektrotlar kullanılmıştır.



**Şekil 1.14.** Voltametrik yöntemlerde kullanılan çalışma elektrotları (Tural ve ark., 2003, syf:131)

#### 1.4.3.1.4.1. Katı Elektrotlar

Katı elektrotlar; metal (platin, altın gibi) elektrotlar, karbon bazlı elektrotlar veya modifiye elektrotlardır (Tural ve ark., 2003, syf:131).

#### **1.4.3.1.4.1.1. Metal Elektrotlar**

Gümüş, altın, platin, bakır, bizmut, palladyum, rutenyum ve rodyum gibi metaller de elektrot çeşidi olarak kullanılmaktadır. Bunların tercih edilme sebebi ise hem düşük zemin akımı hem de yüksek iletkenliğe sahip olmalarıdır. Aynı zamanda geniş potansiyel aralığı (Gümüş elektrotlar hariç) ve çeşitli yüzeye sahip olmaları nedeniyle tercih edilmektedirler. Bu elektrotların hem kimyasal hem de elektrokimyasal modifiye edilmesi ve temizliklerinin kolay olması da önemli avantajları arasındadır (Solomen, 1987; Wang, 2006; Kissinger ve Heineman, 1996; Smyth ve Vos, 1992; Adams, 1969; Trasatti, 1980).

#### **1.4.3.1.4.1.2. Karbon Elektrotlar**

Karbon elektrotlar, geniş bir katodik-anodik potansiyel aralığına, düşük zemin akımı ve zengin yüzey yapısına ve düşük elektriksel dirence sahiptirler (Tural ve ark., 2003, syf: 131; Tural ve ark., 2003, syf: 132). Metal elektrotlara göre maliyetleri daha düşük ve uygulama alanları daha geniştir. Ancak elektron aktarımı metal elektrotlardan daha düşüktür (Wang, 2006; Kissinger ve Heineman, 1996; Smyth ve Vos, 1992; Brett ve Brett, 1993; Adams, 1969; Koryta ve ark., 1993; Meyyapan, 2005; Bagotsky, 2006).

#### **Camsı Karbon Elektrot**

Camsı karbon (Şekil 1.14) 1962 yılında Yamada ve Sato tarafından keşfedilmiştir. Fenol formaldehit reçinesinde inert bir gaz varlığında ısıtılarak elde edilmiştir. Diğer karbon çeşitlerine göre daha farklı fiziksel özellikler taşır. Yani yüzeylerinde bulunan gözenekler daha küçüktür bu nedenle daha çok tercih edilirler. Camsı karbon, 1800°C’de bazı polimerlerin ısıl bozundurulması ile sert bir yapıda elde edilir. Yapısal özelliğinden dolayı elektrokimyasal çalışmalarda ölçüm

öncesinde yüzeyi parlatılır (Tural ve ark., 2003, syf: 131). Yapımları ve yüzey temizliği kolaydır. Çalışma öncesi camsı karbon elektrodun aktivasyonunu sağlamak ve tekrar edilebilir sonuçlar elde edebilmek için çeşitli ön işlemler uygulanır. Bunlar standart işlemler olmayıp çalışılacak maddenin yapısına ve çözelti ortamına bağlı olarak değişmektedir (Shearer ve ark., 1972; Tjaden ve ark., 1976; Ozkan ve ark., 1998; Senturk ve ark., 1998; Yılmaz ve ark., 1998). Bu işlemler;

- parlatma (Rusling, 1984; Thornton ve ark., 1985; Hu ve ark., 1985),
- kimyasal ve elektrokimyasal işlemler (Taylor ve Humpff, 1973; Wang ve Hutchins, 1985),
- radyofrekans (Evans ve Kuwana, 1977),
- düşük basınç altında sıcaklık uygulaması (Stutts ve ark., 1983; Wightman ve ark., 1984)
- vakum-sıcaklık uygulaması (Fagan ve ark., 1985),
- lazer ışını ile uyarılma (Hershenhart ve ark., 1984)
- ve elektrot yüzeylerinin metal oksit filmler ile kaplanması (Cox ve ark., 1988) olarak sınıflandırılabilir.



**Şekil 1.15.** Camsı karbon elektrot.

### **Bor ile Katkılanmış Elmas Elektrot**

Elmas bor ile katkılandırılarak iletkenlik kazandırılır. Bor ile katkılanmış elmas elektrot (BDD) (Şekil 1.15), grafit veya camsı karbon gibi geleneksel karbon

elektrotlarından daha üstün özelliklere sahip bir elektrottur. Özellikle geniş çalışma potansiyeline sahip olması en önemli özelliğidir. 2V' a kadar çalışma imkanı vermektedir. Düşük kapasitans, kararlılık ve bozulmaya karşı dirençli olması da üstünlükleri arasındadır (Ozkan, 2012, syf:73).

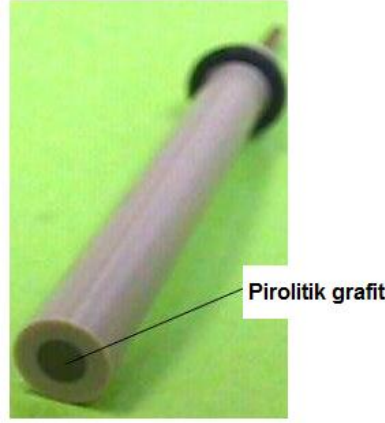


**Şekil 1.16.** Bor ile katkılanmış elmas elektrot.

Metal elektrotlar ile kıyaslandığında özellikle platinden 2V kadar daha fazla çalışma potansiyeline sahiptir. BDD elektrodunun genel uygulama alanları arasında elektroanaliz, ağır metal analizi ve geri kazanımı ve organik kirliliklerin arıtımı yer almaktadır.

### **Pirolitik Grafit Elektrot ve Grafit Elektrot**

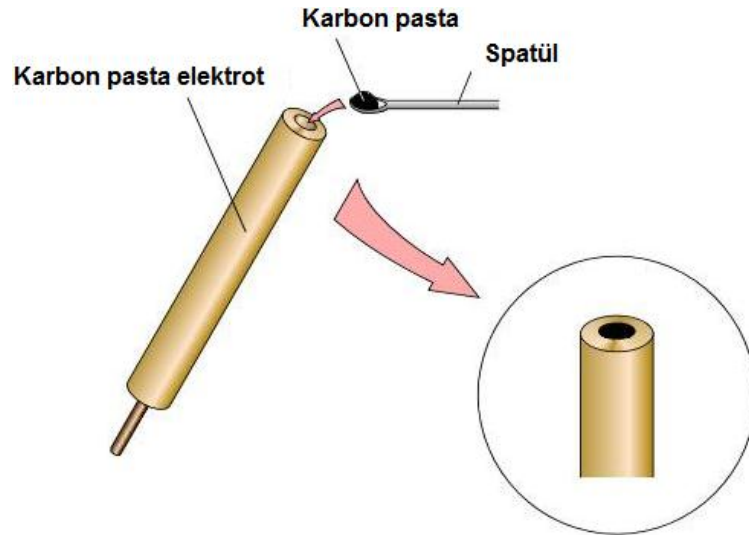
Pirolitik grafit elektrot (Şekil 1.16), karbonun yine farklı şekillerinden biridir. Bu elektrotlar camsı karbon eldesinde olduğu gibi çok yüksek sıcaklıklarda hidrokarbon içeren maddelerin ısıl bozundurulmaları ile elde edilirler. Grafit elektrot camsı karbon, elmas veya bir karbon pasta elektrot kadar sık kullanılmamaktadır (Ozkan, 2012, syf:57).



**Şekil 1.17.** Pirolitik grafit elektrot.

### **Karbon pasta elektrot**

Karbon pasta elektrot, grafit ve parafin belirli oranlarda karıştırılıp elektrot gövdesine yerleştirilerek hazırlanır (Şekil 1.17). Elektriksel bağlantı elektrot gövdesinde bulunan bakır tel ile yapılır. Bu elektrotların düşük zemin akımına sahip olmaları, diğer karbon elektrotlar gibi geniş potansiyel aralığında çalışmaya izin vermeleri ve kolay bir şekilde hazırlanabilmeleri üstünlükleri arasındadır (Ozkan, 2012, syf:65).



**Şekil 1.18.** Karbon pasta elektrot.

Pasta yapımında kullanılan grafitin kül içeriği elektrokimyasal uygulanabilirliğini sınırlamaktadır. Bundan dolayı grafitin sentezlenmesi yerine yapay formunun alınması tercih edilir. Grafitin gözenekli ve yumuşak yapıya sahip olması adsorpsiyon kapasitesinin artmasına neden olmaktadır (Ozkan, 2012, syf:65).

### Perde baskılı elektrot

Kullanımı en kolay karbon bazlı elektrotlardan biridir. Elektrokimyada kolay, ucuz, uzun süre kullanılabilen ve güvenilir sensör geliştirilmesi önem arz etmektedir (Sljukic ve ark., 2006).

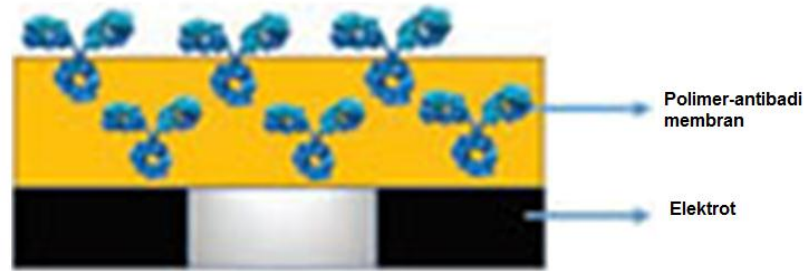


**Şekil 1.19.** Perde baskılı elektrot (<https://www.emaze.com/@AFRILFQC/KOL%C4%B0N%27%C4%B0N%C3%96NEM%C4%B0-VE>)

Şekil 1.18’ den de görüldüğü üzere perde baskı tekniği kullanılarak seramik veya PVC üzerine bir film elektrot tutturulur. Bu film üzerinde karşıt, çalışma ve referans elektrotlar bulunur. Yaklaşık 50  $\mu$ L çözelti hacmi yeterli olmaktadır. Perde baskılı elektrotların temizlik problemi olmamaktadır. Bu da bu elektrotların biyosensör çalışmalarında rahatlıkla kullanılabilmesine neden olmaktadır. göstermektedir.

#### 1.4.3.1.4.1.3. Modifiye Elektrotlar

Elektrokimyasal çalışmalarda kullanılan elektrotlar ile çalışma potansiyellerine ya da duyarlılıklarına bağlı olarak problemler yaşanabilmektedir. Modifiye elektrotların çıkış nedenleri arasında en büyük yeri bu neden tutmaktadır. Kullanılan elektrotların kimyasal ya da elektrokimyasal özellikleri değiştirilerek veya elektrot yüzeyine film, polimer, nanotüp, nanopartikül gibi malzemeler bağlanarak veya biriktirilerek çalışma potansiyelleri ve duyarlılıkları artırılmaktadır. Aşağıdaki Şekil 1.19’ da görüldüğü üzere camsı karbon yüzeyinde grafen ve polimer oluşturularak ürik asitin tayini daha duyarlı bir şekilde yapılabilmiştir. Bu elektrotların geliştirilmesinde elektrot yüzeyinde biriktirme sağlayan maddeler kullanılabilir veya nanopartikül, polimer gibi malzemelerle de elektron aktarma niteliği değiştirilebilir (Tural ve ark., 2003, syf: 131). Elektrot yüzeyinin modifikasyonu tamamlandıktan sonra genelde elektrodun aktivasyonunu sağlamak amacıyla elektrot saf suda yıkanır böylece bağlanmamış gruplar yüzeyden ayrılır. Sonrasında destek çözelti ortamında genelde dönüşümlü voltametri tekniği ile çoklu döngü alınır ve bu işlem tamamlanmış olur (Ozkan, 2012, syf:75).



Şekil 1.20. Modifiye elektrot ([http://www.putechcomposites.com/Haber\\_Biyosensorlerin\\_Hazirlanmasinda-Poliuretan-Membranlar.html](http://www.putechcomposites.com/Haber_Biyosensorlerin_Hazirlanmasinda-Poliuretan-Membranlar.html))

#### 1.4.3.1.5. Voltametricde Kullanılan Referans Elektrotları

Elektrokimyasal çalışmalarda özellikle voltametric yöntemlerde referans elektrot olarak ikinci sınıftan metal-metal iyonu elektrotları kullanılmaktadır.

Referans elektrotları küçük akım şiddetlerinde polarlanmazlar. Akım şiddetleri arttığında ideal durumlarından sapma gösterirler. Çalışmalarda en çok kullanılan referans elektrotlar doygun kalomel elektrot ve Ag/AgCl elektrodudur (Şekil 1.20) (Ozkan, 2012, syf: 33). Bu elektrotlardan anodik akım geçtiğinde metaller yükseltgenir ve ortamdaki aşırı klorür iyonlarıyla çökerler ve elektrot yüzeyindeki derişimleri aynı kalarak potansiyelleri akıma bağı kalmaz. Katodik bir akım geçtiğinde ise, metal iyonları indirgenir ve elektrot yüzeyinde oluşan klorürlü çökelekler ayrışarak tekrar metal iyonları oluşur ve potansiyel yine akımdan etkilenmeyerek değışmez. Çalışmada sulu ortam yerine asetonitril kullanılacaksa genelde  $\text{Ag}/\text{Ag}^+$  ( $\text{Ag}/\text{AgNO}_3$ ) elektrodu kullanılır.



**Şekil 1.21.** Referans elektrot örnekleri

#### **1.4.3.1.6. Voltametrیده Kullanılan Yardımcı (Karşıt) Elektrot**

Elektrokimyasal çalışmalarda iki elektrotlu sistem kullanıldığında, polarlanmayan çalışma elektrodu üzerinden akım geçtiğinde polarize olur. Sistemde çözelti direnci yüksek ise bu direnci yenmek için gerekli olan potansiyel (IR) önemli olabilir. Bu sebeplerden dolayı çalışma elektrodunun polarizasyon potansiyelinde okuma hatalı olabilir ve analit pikleri kaybolabilir. Bu durumda üç elektrotlu sistem önerilir yani ortama yardımcı elektrot eklenir. Böyle olduğunda ise, çalışma elektrodu ve yardımcı elektrot üzerinden akım geçirilir. Çalışma elektrodunun potansiyeli referans elektroduna karşı sıfır akım ile elde edilir. Akım yardımcı elektrot üzerinden geçtiğinden dolayı soy metal olmaları gerekmektedir. Platin,

grafit, tungsten yardımcı elektrot olarak kullanılmaktadır (Şekil 1.21) (Ozkan, 2012, syf: 35). Burada dikkat edilmesi gereken nokta ise, yardımcı elektrotların yüzey alanlarının çalışma elektrodunununkinden 50 kat kadar fazla olmalıdır.



**Şekil 1.22.** Karşıt elektrot

#### **1.4.3.2. Elektrokimyasal İmpedans Yöntemi**

Bir devredeki toplam dirence impedans denir. İmpedans spektroskopisi elektrokimyasal sistemleri araştırmak için etkili bir tekniktir. Elektrokimyasal impedans spektroskopisi elektrokimyasal tekniklerden farklı olarak, hem hacim araştırmalarında hem de dakikalardan mikrosaniyelere uzanan zaman sabitleriyle bağlantılı ara yüzey işlemlerinde kullanılabilir. İmpedans temelde yüksek frekanslar uygulandığında kapasitans ve indüktif değişikliklerden etkilenen direncin ölçümüne dayanmaktadır (Bard ve Faulkner, 2001).

Elektriksel direnç, bir devre elemanının elektriksel akıma karşı gösterdiği dirençtir. İmpedans ile direnç arasındaki benzerlik; impedans da direnç gibi elektriksel akıma karşı bir devrenin direnç göstermesi ile ölçülen bir değerdir. Dirençten farkı ise; ideal direncin sahip olduğu basit özellikler ile sınırlandırılmamasıdır. Eşdeğer devre elemanına bağlı olarak üçlü elektrot sisteminde, en az üç tane değere ihtiyaç vardır. Bunlar; referans elektrot ile çalışma elektrodu arasında kalan elektrolit çözeltinin direnci ( $R_s$ ), çift tabaka kapasitansı  $C_{dl}$ ,

faradaik impedans olarak adlandırılan yük transfer impedansı ( $Z_f$ ) olarak sıralanabilir.

Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi tekniğinde metal yüzeyine uygulanan alternatif akım frekansına bağlı olarak iki farklı direnç değeri elde edilir. Bunlardan biri reel direnç ( $Z'$ ), diğeri sanal dirençtir ( $Z''$ ) (Eşitlik 1).

$$Z^I = R_s + \frac{R_p}{1 + (\omega C_{dl} R_p)^2} \quad Z^{II} = -\frac{\omega C_{dl} R_p^2}{1 + (\omega C_{dl} R_p)^2} \quad (1)$$

Bu dirençlerin birbirlerine göre değişimini gösteren Nyquist eğrilerinden istenilen polarizasyon direnci değerleri belirlenmeye çalışılır (Şekil 1.22). Bunun için, metal/çözelti ara yüzeyinde kuramsal olarak beklenen olası direnç ve kapasitif elemanlara göre uygun bir eşdeğer devre oluşturup, uyarlama (fitting) programları ile tüm elemanlar için değerler tahmin edilerek yüzeydeki gelişim izlenebilir.

Elektrokimyasal sistemlerde metal/çözelti ara yüzeyinde yük birikimi ile birlikte akım geçişi de gerçekleşir. Bu nedenle eşdeğer devrelerde kapasitör yerine geçecek ama koşullara göre direnç etkisi de gösterebilecek bir kavram olarak yüzeyin faz sabiti (constant phase element,  $Q_{dl}$ ) tanımlanmıştır. Bu yeni kavramın kapasite ile direnç arasındaki olası değerleri 2 eşitliği ile tanımlanmıştır.

$$Q = \frac{(j\omega)^{-n}}{C} \quad (2)$$

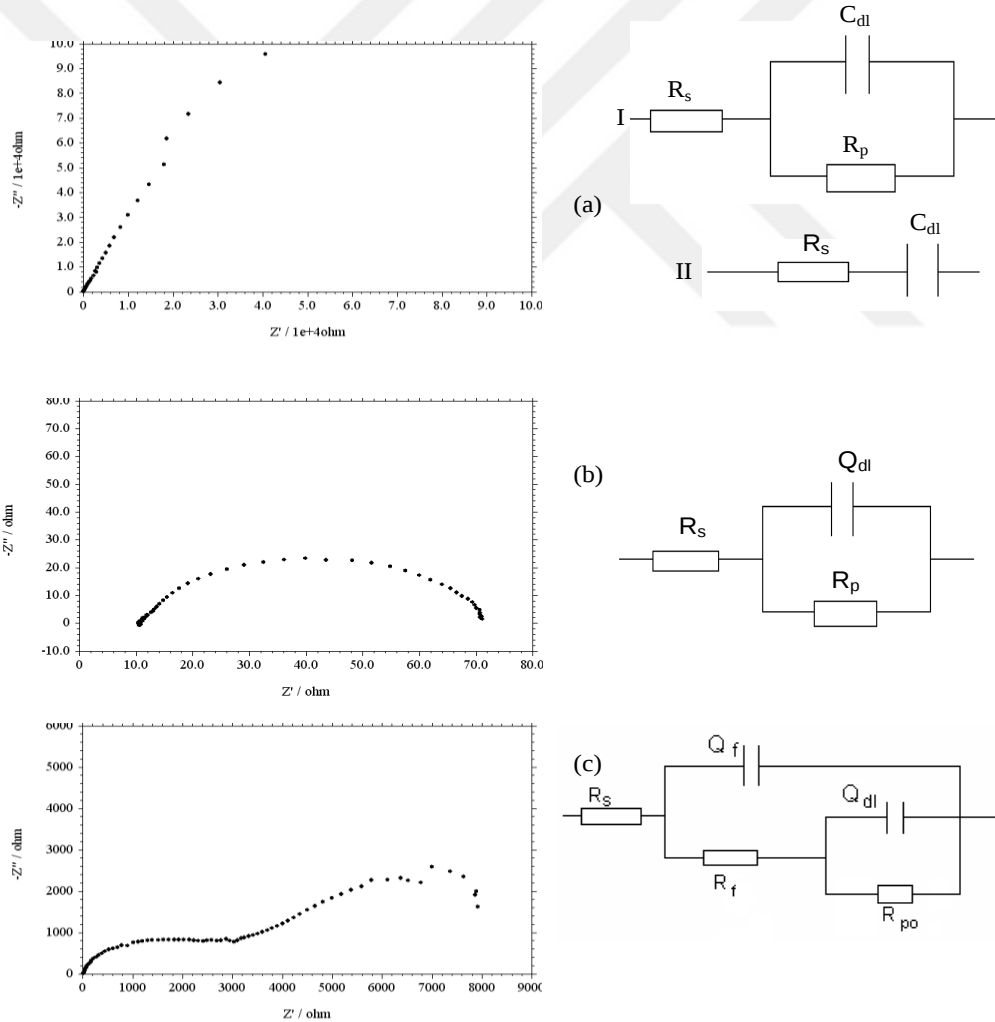
Burada  $n$ ,  $-1 \leq n \leq 1$  aralığındadır ve alacağı değerlere göre faz sabitinin anlamı değişmektedir.  $n = -1$ , indüktif etki,  $n = 0$  direnç etkisi,  $n = 1/2$  Warburg ve  $n = 1$  ise ideal kapasitör etkisi hakim olmaktadır.

EIS' nin en basit devresi Randles devresidir. Çözelti direnci, bir çift tabaka kapasitörü ve bir yük transfer veya polarizasyon kapasitörüne ( $R_p$  ya da  $R_{ct}$ ) sahiptir. Aşağıdaki şekilde a ile gösterilen basit bir Randles devresidir.  $Z''$ ,  $\omega$  açılal frekansındaki ( $\omega = 2\pi f$ ) sanal direnç olup, bu sanal direncin oluştuğu kapasitörün kapasitesi C dir.

$$C = \frac{\epsilon \cdot \epsilon_0 \cdot A}{d} \quad (3)$$

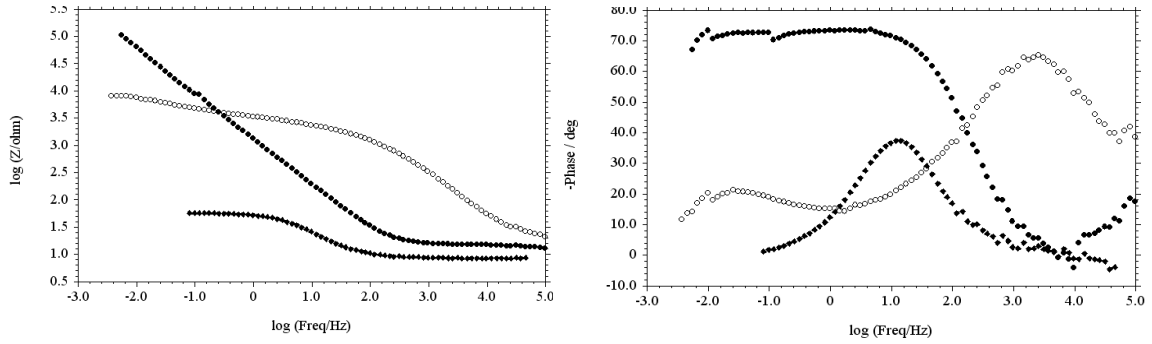
$$C = \frac{1}{\omega Z''} \quad (4)$$

Bazı örnek Nyquist diyagramları ve olası eşdeğer devreler:



Şekil 1.23. Nyquist diyagramları ve olası eşdeğer devreler

Şekil 1.23’de Reel direnç-frekans ve faz açısı-frekans değişimlerini gösteren Bode çizimlerini de görmekteyiz:



Şekil 1.24. Bode ve faz açısı-frekans diyagramları.

Elektrokimyasal impedans yönteminin kullanım alanları aşağıda sıralanmıştır;

- Korozyon çalışmaları,
- Metal kaplama çalışmaları,
- Yarı iletken elektrotların özelliklerinin incelenmesi,
- Bataryalarda,
- Biyolojik sistemler,
- Biyosensör,
- İletken polimer özelliklerinin incelenmesi,
- İnce organik film özelliklerinin tespiti,
- Yarı iletken polimerlerin özelliklerinin incelenmesi.

## 1.5. Nanosensör

Nanopartikül, boyutu dispers edilmesiyle değişen ve 10-100 nm boyutunda olan, doğal ya da sentetik yapıdaki, şekilsiz veya yarı kristal yapılardır. Yarı iletken malzemelerden yapılan nanopartiküller ‘quantum dot’ olarak adlandırılır ve boyutları 10 nm civarındadır (Fahlman, 2007). Nanopartiküller biyomedikal, optik ve elektronik alandaki geniş uygulama alanı nedeniyle ve yığın malzemeler ile atomik

ya da moleküler yapılar arasında bir köprü olduklarından dolayı çok büyük ilgi uyandırmaktadır. Nanopartiküller hacime göre çok yüksek bir yüzey alanına sahiptir. Bu difüzyon için oldukça önemli bir özelliktir. Yüzey alanı /hacim oranının fazla olması nanopartiküllerin erime sıcaklığını düşürmektedir (Buffat ve ark., 1976). Böylesine küçük yapılar (yığın malzemeler ile kıyaslandığında Bohr yarıçapından daha küçük veya yakın) kuvantum kapama etkisi nedeniyle yığın katılardan farklı davranış gösterirler (Alivisatos, 1996; Murphy ve Coffey, 2002). Kuvantum nokta nanopartiküller yüksek emisyon kuvantum verimleri, boyutları ile ayarlanabilir emisyon profilleri ve dar spektral bantları ile önemli optoelektronik özelliklere sahiptirler (Murphy ve Coffey, 2002; Weller, 1993). Bu özellikleri nedeniyle bilim ve teknolojide yeni uygulamalara yön vermektedirler.

#### 1.5.1. Nanopartiküllerin Özellikleri

**Kararlılık:** Nanopartiküller çok kararlı malzemelerdir. İnert yapıya sahiptirler ve fotokimyasal etkilere karşı dayanıklıdır. Kolloidal yapıda olanlar daha dayanıklıdır. Çevresel şartlara karşı kararlılıkları ligandlar ile oluşturdıkları yapılarla sağlanabilir.

**Emisyon spektrumu:** Emisyon dalga boyları partikül boyutlarına bağlıdır.

**Uyarılma spektrumu:** Nanopartiküller emisyon piklerinden daha düşük dalga boylarında uyarılma özelliklerine sahip olduklarından uyarılma spektrumları çok geniştir. Çok parlak floresans yayabilirler. Uyarılma ve emisyon dalga boyları arasındaki fark yüksek olduğundan ışınları ayırt edilir ve saçılmadan dolayı gürültü azalır.

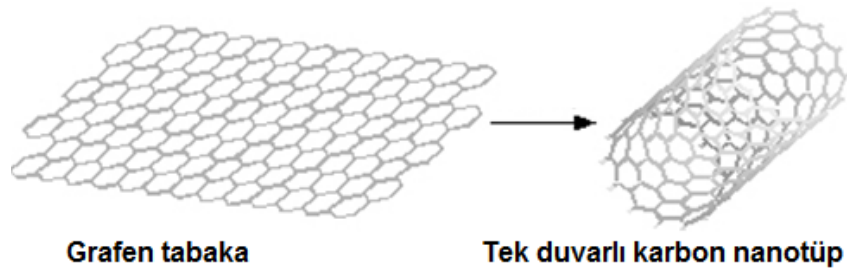
**Floresans ömrü:** Nanopartiküller, organik boyalar (1-5 ns) ve hücresel oto floresanslara (2-3 ns) göre uzun floresans ömrüne sahiptirler (10 ns).

**Yüzey kimyası:** yüzey kimyası çalışmaları oldukça geniştir çünkü farklı kaplama malzemeleri ile birlikte kullanılabilirler. Bazı biyolojik moleküllere bağlanabilirler (Knight ve ark., 2004). Yarı iletken kuvantum nokta nanopartiküller değerlik ve iletken elektron bandları arasındaki band aralığına bağlı olarak karakterize edilebilir. Materyalin türüne ve büyüklüğüne bağlı olarak kuvantum nokta nanopartiküller gönderilen ışığı farklı dalga boylarında yayarlar. Örneğin 4-5 nm büyüklüğündeki CdSe UV ışığında tutulduğunda yüksek floresans özellik gösterir (José ve ark., 2006).

#### 1.5.1.1. Karbon Nanotüpler

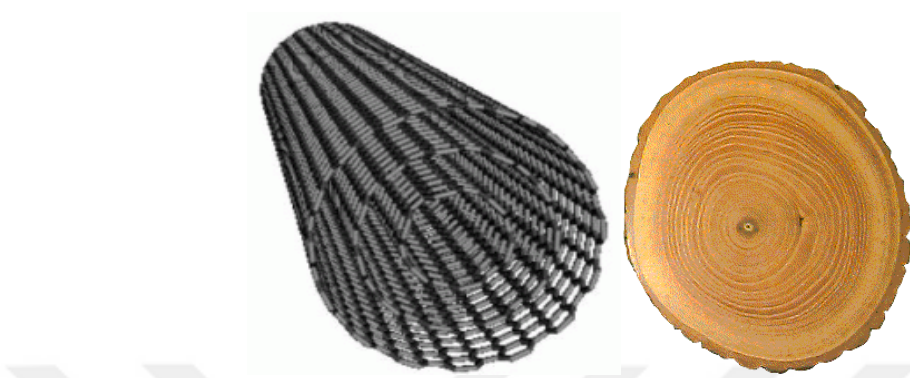
Karbon nanotüpler (KNT) 1991 yılında Sumia Iijima tarafından keşfedilen uzun, ince karbon silindirlerdir. Karbon nanotüpler boyut, şekil ve olağanüstü fiziksel özelliklerinden dolayı eşsiz makromoleküllerdir. Nanometre tanımsal olarak milimetrenin milyonda birine eşit uzunluktur. Daha somut bir ifadeyle saç telimizin kalınlığının on binde birine eşittir. (<http://www.resimoloji.com/2010/08/karbon-nanotupleri-carbon-nanotubes/>)

Nanotüpler çeşitlerine bağlı olarak değişen, oldukça geniş aralıkta elektronik, termal ve yapısal özelliklere sahiptirler. Tek bir grafen şeridinin silindirik hale getirilmesiyle tek duvarlı karbon nanotüp (TDKNT) oluşur (Şekil 1.24).



**Şekil 1.25.** Tek duvarlı karbon nanotüp oluşumu.

Bunların pek çoğunun iç içe geçmiş şekline çok duvarlı karbon nanotüp (ÇDKNT) denir ve bir ağacın gövdesindeki yaş halkaları gibi görünmektedir (Şekil 1.25) (Erdem ve ark., 2008).



**Şekil 1.26.** Çok duvarlı karbon nanotüp

Nanotüplerin uzunluğu birkaç yüz nanometreden birkaç mikrometreye kadar ve çapları TDKNT için 0.2-2 nm arasında, ÇDKNT için 2-100 nm arasında olabilir. Nanotüpler büyük yüzey alanları ve iyi mekanik, elektriksel, kimyasal ve iletkenlik özellikleri ile tanımlanırlar. Bilinen materyallere göre daha geniş esneklik katsayısına ve elmastan daha iyi termal iletkenliğe sahiptir, çelikten daha dayanıklıdır. Karbon nanotüpler metalik ve yarı-iletken elektron aktarım özellikleri sergileyebilir, elektriği bakırdan daha iyi iletirler. Boşluklu yapıları sayesinde misafir molekülleri depolayabilirler. Kimyasal olarak inerttirler ve grafen levhalardan daha reaktiftirler.

#### **1.5.1.1.1. Karbon Nanotüplerin Kullanım Alanları**

**Depolamada:** Lityum atomlarının karbon nanotüplerde depolanabilmesinin keşfedilmesinden sonra, karbon nanotüplerin pil yapımında kullanılması düşünülmüştür. Pillerin karbon anotlarına karbon nanotüp eklenmesinden sonra yük depolama kapasitesinde artış gözlenmiştir. Bundan dolayı lityum pillerinin yerini alabilirler. Hidrojen depolamada da kullanılmaktadırlar. Zayıf Van der Waals etkileşmesi ile depolama olur ve depolanan hidrojen geri alınıp tekrar yüklenebilir.

Kovalent bağlar ile oluşmuş hidrojenin geri alınabilmesi için yüksek sıcaklıklar gerekmektedir (Atkinson ve ark., 2001). Yapılan teorik çalışmalara göre karbon bazlı malzemelerden fullerenin hidrojen depolamada kullanılabileceği öne sürülmüştür (Erkoç ve Türker, 2003). Karbon nanotüplerle de hidrojen depolamanın mümkün olduğu ispatlanmıştır (Meregalli ve Parrinello, 2001). Yapılan çalışmalarda kullanılan karbon nanotüplerin hidrojen depolama kapasiteleri; nanotüplerin cinsine, kapalı-açık olmasına, tüp çaplarına, uzunluklarına bağlı olarak değişmektedir (Darkrim ve ark., 2002; Chen ve ark., 1999; Yang, 2000). Tek duvarlı karbon nanotüplerde hidrojen depolamanın ağırlıkça %1 olduğu bulunmuştur (Atkinson ve ark., 2001). Bor nitrür kullanılarak da hidrojen depolanabilmiştir (Oku ve Kuno, 2003)

**Çevre Temizlemesinde:** Nano malzemeler yüzey alanlarının fazla olması, sağlam olması gibi özelliklerinden dolayı çevre temizleme filtrelerinde tercih edilmişlerdir.

**Sensörlerde:** Karbon nanotüpler çevredeki değişime çok kuvvetli bir elektronik tepki verdiği için, birçok şirket nanotüplerden sensör üretmeye çalışmaktadır. Karbon nanotüpler bazı gazlarla temasa geçtiklerinde iletkenlikleri değişmektedir. Eğer nanotüp belli bir antijenle birleşecek yapıda yapılırsa, mekanik rezonansındaki değişime göre nanotüpün bu antijeni tutup tutmadığı anlaşılabilir. Karbon nanotüpten yapılmış ve CO gazına çok hassas bir sensör ile soba zehirlenmeleri azaltılabilir ya da fabrikalardaki tehlikeli maddelerinin sızıntıları anında tespit edilebilir.

**Yapı malzemesi olarak:** Karbon nanotüpler kullanılarak daha yüksek çözünürlükte görüntüler elde edilmektedir. Malzeme yapımında karşılaşılan zorluklar ise şöyle sıralanabilir:

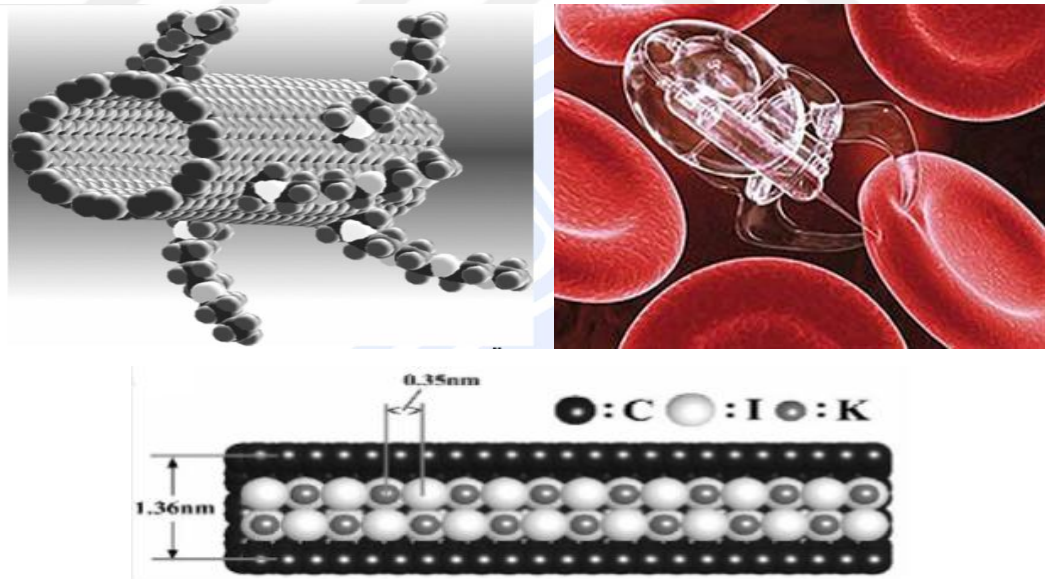
- 1-Nanotüplerin yüzeyine atom bağlanamadığı için kompozit malzeme yapımı zordur.
- 2-Nanotüpler çok güzel bir biçimde dizilememektedir.

3-Nanotüpler günümüzde çok pahalıdır.

Nanotüplerin kullanıldığı diğer alanlar: tekstil, askeriye, köprülerin çelik halatları (bir parmak kalınlığındaki karbon nanotüpün, şimdiki kalın çelik halatların yerini alacağı düşünülmektedir), spor malzemeleri (tenis raketi)

**Elektronikte:** Bilim adamları karbon nanotüpten işlemci yapmak için uğraşmaktadırlar. Transistör, ekran, süperiletkenler, mıknatıs da uygulamaların içindedir.

**Tıpta:** Dış yüzeyinin fonksiyonlaştırılması sonucu, nanotüplerin tıbbi uygulamalarda kullanılması düşünülmektedir. Nanotüplerle ilaç taşınması yapılmak istenmektedir. En büyük sorun ise nanotüplerin insan sağlığı için uygun olup olmadığının bilinmemesidir (Şekil 1.26).



**Şekil 1.27.** Karbon nanotüp uygulamalarına örnekler (<https://www.slideshare.net/mehmetkemalyozgat/nanotp>)

**Uzayda:** Bilim adamları uzay çalışmalarının maliyetlerini düşürmek istemektedirler. Roket yakıtının yüzde 90'ı ilk birkaç yüz kilometrede harcamaktadır. Bu yakıt problemine çözüm olarak ise uzay asansörü yapılması düşünülmektedir.

Nanotüpler uzaydan sarkıtılıp dünyanın dönmesine karşı direnebilen bir malzeme olduğu için nanotüpten yapılan bir asansörle uzaya çıkılabileceği düşünülmektedir. (<http://www.nanoturkiye.net/>)

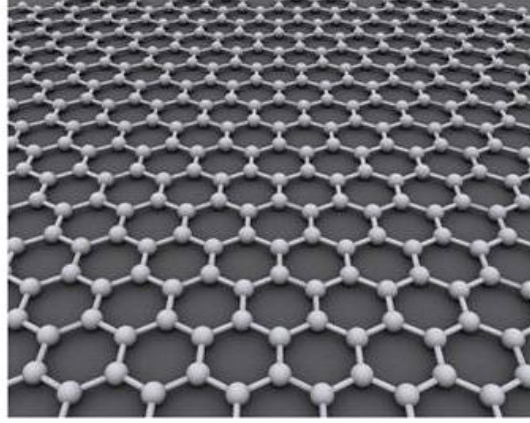
Nanotüplerin gelecekte düşünülen kullanım alanları

- Mikro-elektronik / yarı iletken
- Kontrollü ilaç iletimi
- Süperkapasitörler
- Alan etkili tranzistörler
- Nano lithografi
- Doplama
- Nano cımbızlar
- Magnetik nanotüpler
- Nanotüp hareketlendiriciler
- Hidrojen depolama
- Güneş enerjisi depolama
- Elektromagnetik kalkan
- Termal koruma
- Polimerler için takviye elemanı
- Çarpma korumalı malzemeler
- Savaş malzeme ve cihazları için takviye elemanı
- Alan yayıcı düz kare monitörler
- İletken kompozitler
- Yapay adaleler
- Piller
- Tekli elektron tranzistörleri
- Nano elektronik
- Nano teraziler ve denge
- Data saklama
- Nano dişliler
- Moleküler kuvantum telleri
- Soy radyoaktif gaz depolama
- Atık geri dönüşüm
- Diyaliz filtreleri
- Nanotüp takviyeli kompozitler
- Havacılık
- Sürtünmesiz tekerlekler

#### 1.5.1.2. Grafen

Grafen tek atom kalınlığında yalnızca karbon-karbon bağlarından oluşan, bal peteği yapısında sıkıca paketlenmiş düzlemsel bir yapıdır (Şekil 1.27). Dünyada bilinen en sağlam malzemedir. Grafen adı grafitten gelmektedir. Grafit çok katmanlı grafen yapısıdır. Grafen karbon nanotüpler, grafitin ve fullerenin temel yapı taşıdır.

oluşturmaktadır. Grafen aynı zamanda sonsuz büyüklükteki bir aromatik organik kimyasal olarak ta düşünülebilir.



**Şekil 1.28.** Grafen yapısı (<https://en.wikipedia.org/wiki/Graphene>)

#### 1.5.1.2.1. Grafenin Kullanım Alanları

**Kumaşlar ve piller:** Grafen oksit malzemesinin çok güçlü, esnek ve sert yapıya sahip olması nedeniyle kumaşlarda kullanılmıştır. Pillerde şarj depolanmasında da kullanılmışlardır.

**Hesaplama:** Transistör yapımında grafen kullanıldığında silikon transistörlere göre daha fazla verim alındığı görülmüştür.

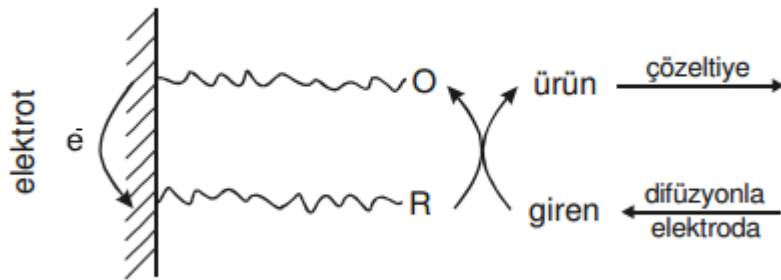
**Cihazlar:** Televizyon ve bilgisayarlar elektriksel algılama yöntemini kullanmaktadırlar. Elektrik iletken ITO (İndium-tin-kalay-oksit ) gibi şeffaf bir maddeyle kaplanırlar. Grafenin zamanla ITO nun yerini alması beklenmektedir.

Diğer uygulama alanları olarak da şunlar sıralanabilir; Grafen fotodetektörler, grafen mikroçipler, grafen güneş hücreleri, grafen transistörler, grafen oledler (organik ışık

yayan diotlar), grafen yarıiletken diyotlar (led: light-emitting diode), grafen ultrakapasitörler, grafen antibakteriyeller, grafen biyoaygıtlar.

### 1.5.1.3. Polimerler

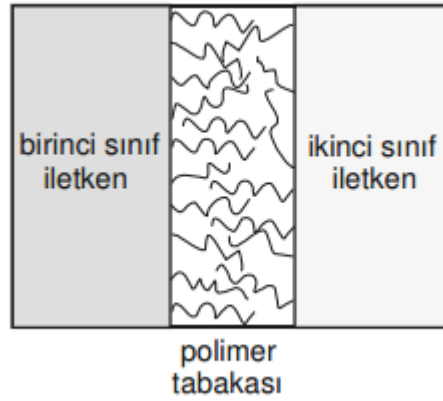
Tekrarlanan birimlerden (monomerlerden) oluşan büyük moleküllerin biraraya gelmesiyle polimerik maddeler oluşur. Monomerlerden polimerik maddelerin elde edilmesini sağlayan reaksiyonlara da polimerleşme reaksiyonları denir. Geçen yüzyılın başından beri hayatımıza girmeye başlayan yapay polimerler, çeşitli amaçlar için yaygın biçimde kullanılmaktadır. “Polimerler yalıtkan malzemelerdir” fikri 70’li yıllarda son bulmaya başladı; zira daha önce sentezlenmiş olan fakat iletkenlik özelliklerinden bahsedilmeyen bazı polimerlerin, şartlara bağlı olarak, elektrik akımını iletebildiği gözlenmiştir (Murray, 1984). Sonrasında, iletken polimerlere artan ilgiyle beraber, hakkında yapılan çalışma sayısı artmış, sağlanan gelişme neticesinde “organik metaller” adı altında çalışma sahası doğmuştur. Analitik kimyacılar tarafından, polimerlerin daha çok iletkenlik özellikleri dikkat çekilmiştir. Ancak iletken polimerlerden önce modifiye elektrotlar üzerinde çalışmalar başlamıştır.



**Şekil 1.29.** Polimer filmiyle modifiye edilmiş bir elektrottaki yük alışverişi (Murray, 1984)

Modifiye film elektrotlarından biri olan polimer filmi elektrotlarının ayırteci özelliği, polimer filmlerinin elektrokimyasal reaktif merkezler içeriyor

olmasıdır. Elektrokimyasal aktif merkezler, elektrot ile substrat arasındaki elektron transfer reaksiyonlarını yürütürler (Şekil 1.28). Elektrot yüzeyi belirli bir kalınlıktaki polimer filmi ile kaplanmış bu tip bir elektrot, elektrokimyasal bir sisteme sahiptir (Şekil 1.29). Bu tür elektrotlarda birinci sıra iletken olarak genelde bir metal, ikinci sıra iletken genelde bir çözelti ve bu ikisinin arasında elektrokimyasal olarak aktif bir polimer tabakası bulunmaktadır. Bu polimer tabakası genelde elektronik ve iyonik iletkenlik özelliklerinin her ikisine de sahiptir. Çözeltideki türlere elektronların transferi iki arayüz (metal-polimer ve polimer-çözelti arayüzleri) dahilinde ve filmin içinde olduğu düşünülen bir reaksiyon vasıtası ile gerçekleşir. Bu konuyla ilgili olarak Murray ve ark., (1984) bir redoks polimer filmi elektrodunu, birden fazla tek tabaka (mono-layer) içeren moleküler bir kaplamaya sahip herhangi bir iletken olarak tarif etmiştir. Her bir tabakanın da elektroaktif merkez gibi davranacağını belirtmiştir. Bu açıdan bakıldığında, tek bir tabaka polimerik madde ile kaplı olan elektrotlarda polimer ayrı bir faz halinde bulunmadığından polimer film elektrotları kategorisine girmezler. Tek tabaka filmleri, kuvvetlice adsorplanmış bir molekülün oluşturduğu tabaka gibidir.



**Şekil 1.30.** Metal-polimer ve polimer-çözelti ara yüzlerinin şematik gösterimi (Murray, 1984).

Polimer elektrotlarındaki polimer filmlerin kalınlığı  $\mu\text{m}$  hatta  $\text{nm}$  seviyesindedir. Bu elektrotlar iki gruba ayrılırlar: Redoks Polimerleri, İletken Polimerler.

#### **1.5.1.3.1. Redoks Polimerleri**

İndirgenebilir veya yükseltgenebilir redoks merkezleri bulunan polimerlerdir. Kısmen yükseltgenmiş merkezleri bulunanları yüksek elektronik iletkenliğe sahiptirler. Redoks merkezleri polimer zincirine ya kovalent bağla ya da elektrostatik olarak bağlı olabilirler (Murray, 1984).

#### **1.5.1.3.2. İletken Polimerler**

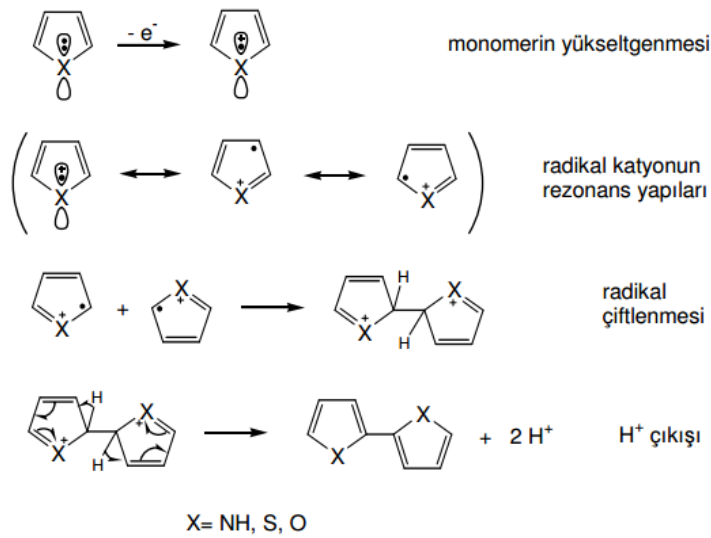
Polikonjuge, poliaromatik ve poliheterosiklik moleküllerden oluşan ve doping edilmiş hallerinde yüksek elektriksel iletkenliğe sahip olan polimerlerdir. Yük taşınımının farklı olmasıyla redoks polimerlerinden ayrılırlar. İletken polimerler denince akla gelen ilk hususlardan biri kuşkusuz doping olayıdır. Sentezlenen polimer, doping yardımıyla daha büyük bir iletkenliğe ulaşır. Bu iletkenlik, metallerin gösterdiği iletkenliğe yakındır. Konjuge polimerlerdeki (polipirrol gibi) doping işlevi, polimerin kısmen yükseltgenmesiyle (nadiren indirgenmesiyle) meydana gelen bir yük değişimi reaksiyonudur. Doping mekanizması bakımından da iletken polimer filmleri, redoks polimerlerine kıyasla farklılık göstermektedirler.

##### **1.5.1.3.2.1. İletken Polimerlerde Yük Taşınımı**

İletken polimer film elektrotlarındaki yük taşıma mekanizmasını açıklamak için birbirinden farklı iki tip model geliştirilmiştir. Bunlardan birinci tip yaklaşımda, polimer zinciri üzerindeki yükler ve çiftlenmemiş elektronlar, büyük oranda monomer birimleri üzerinde delokalize halde bulunduğundan delokalize band modelinin elektronik iletkenliği sağlamada asıl işlevci olduğunu kabul etmişlerdir. İkinci yaklaşım ise polimer zinciri üzerindeki yüklerin lokalize halde bulunduğu bir kimyasal modeli tercih etmektedirler.

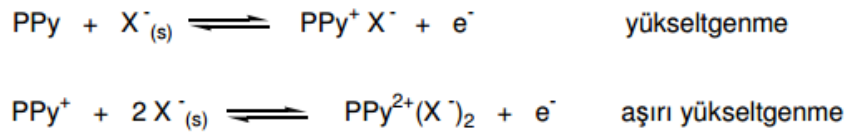
**Genelde yük taşıyıcılar:** Nötral noktacıklar halindeki solitonlar, kimyacıların radikal katyonlar diye belirttiği aynı zincirdeki bir nötral ve bir yüklü soliton (yani polaron) ve yükseltgendikten sonra çiftlenmiş iki yüklü nokta halindeki bir dikatyon formu (bipolaron) olmak üzere üç tanedir. Polipiroldeki yük taşınmasına dair temel yüklü türlerin bipolaron olduğu tartışmasını bazı ESR sonuçları desteklemektedir. Diğer bazı sonuçlar da iletkenlik ve spin (polaron) konsantrasyonu arasında iyi bir ilişki olduğunu göstermiştir ve daha yüksek doping derecesinde görülen iletkenlikteki azalma bipolaron yapısıyla ilişkilendirilmiştir. Keza, hem polianilin hem de polipirol için alınan elektrokimyasal ESR verileri, lokalize redoks bölge modeliyle yorumlanmıştır.

Anodik aktif aromatik monomerlerden pirol ve tiyofenin polimerleştirilmesinde, monomer katyonu radikale yükseltgenmektedir. Meydana gelen rezonans yapı, radikalın kararlılığını artırır. Monomer radikalleri, dimeri oluşturur; oluşan dimerin yükseltgenme potansiyeli monomerinkine göre daha düşük olduğundan dimer büyür, sürekli katılmalarla pasifleşme olmadan polimerleşme meydana gelir (Şekil 1.30). Bu polimerler elektrot üzerine birikir. Diğer polimerleşme türlerinden farklı olarak polimerin molekül kütlesi elektrot üzerinde birikme ile belirlenmez.



**Şekil 1.31.** Pirol, tiyofen ve furan bileşiklerinin polimerleşme mekanizmalarının başlangıç safhası ve meydana gelen dimerleşme olayı (Çelikkan, 2007).

**Uygulanan voltajın etkisi:** Belirli şartlar altında aynı çözeltiye uygulanan elektrokimyasal parametreler (potansiyel büyüklüğü ve uygulama şekli) değiştirilerek, elektroaktif iletken polimer filmlerinin özellikleri değiştirilebilir. Özellikle sulu çözeltilerde potansiyostatik olarak hazırlanan polipirol filmlerinin iletkenliği, polimerleştirme esnasında uygulanan potansiyelle değişir. Yüksek iletkenliğe sahip filmler elde etmek için optimum bir potansiyel uygulanması söz konusudur. Polipirol filmlerin sentezinde uygulanan yüksek bir potansiyel, filmin aşırı yükseltgenmesine sebep olacağından film oluştuktan sonra gerçekleşecek olan doping hadisesini olumsuz etkileyecektir (Şekil 1.31) (Arrigan ve Lowens, 1998; Yuan ve ark., 1999; Li ve Qian, 2000).



**Şekil 1.32.** Polipirol filminin yükseltgenmesi ve sonrasında aşırı yükseltgenmesi.

Polimer film elektrotların hazırlanması:

- Elektrot monomer çözeltisine daldırılır ve yüzeye tutunan monomer foto-yükseltgeme veya çapraz bağlama yapan bir reaktif yardımıyla polimerleştirilir.
- Monomer çözeltisi döngüsel voltametik teknikle elektropolimerleşme ile elektrot yüzeyine kaplanır.
- Elektrot yüzeyine kaplanan polimer film hidrofobik koşullarda uzun süre kararludur.

Polimer filmler içinde en fazla ilgiyi, seçimli fonksiyonel gruplara sahip iletken polimerlerden politiyofen, poliprol, polianilin ve bunların türevleri görmektedir. Polimer filmler, fotovoltaiik piller, enerji dönüşümü ve depolama,

elektrokromik sistemler, korozyon önleme, görüntüleme teknolojisi ve kimyasal ve biyokimyasal sensör yapımında geniş çapta kullanılmaktadır.

## 1.6. Validasyon

Validasyon, bir metodun veya cihazın sistem performansının belirlenen koşullara uygun olduğunu göstermektir. Bunun için de test veya ölçümler alınır ki bunların da yazılı kayıtlar ile kanıtlanması gerekir.

Validasyon çalışmalarının genel isimlendirilmesinde Uluslararası Standardizasyon Komitesi, ISO/IEC 17025 yöntem geçerliliği (ISO/IEC 17025, 1999), Uluslararası Metroloji Sözlüğü (VIM) yöntem geçerliliği (VIM, 1993) ve İyi Laboratuvar Uygulamaları (GLP) standart çalışma yöntemi (SOP) (Huber, 1993) ifadelerini kullanır.

Uluslararası Harmonizasyon Konferansı (ICH), insanlarda kullanılan ilaçların kayıdındaki teknik ihtiyaçları karşılamak için, analitik işlemlerin geçerliliği üzerine ortak bir döküman geliştirmiştir (ICH, 1994; 1995; 1996). Validasyon için geliştirilen rehberler aşağıda verilmiştir:

**US EPA (1995):** Amerika Çevre Koruma Bürosu tarafından hazırlanan konservasyon kaynakları ve geri kazanım rolü için bir rehberdir.

**US FDA (2000):** Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi'nin validasyon için hazırladığı rehberdir.

**USP:** Amerikan Farmakopesi tarafından hazırlanan bileşik değerlendirilmesi üzerine validasyon rehberidir.

**Biyolojik sıvılar:** Herhangi bir rehber yoktur (Ertas ve Tezel, 2004).

**İlaç endüstrisi:** Literatürdeki yöntemleri kullanır (Gazdag ve Mihalyfi, 1991; Gonzalo-Lumbreras ve Izquierdo-Hornillos, 2003).

**HPLC:** Green (1996), Wegscheider (1996), Renger ve ark., 1995, El-Saharty, 2003, Huber ve George, 1993’de bu yöntem için validasyonu geliştirmişlerdir.

Elektroanalitik yöntemler için validasyon aşağıdaki durumlarda gereklidir:

- Yeni bir elektoranalitik teknik geliştirildiğinde,
- Yeni geliştirilen bu tekniklerin rutin kullanımına geçilmeden önce,
- Tekniğin validasyonu yapıldıktan sonra kullanılan şartlardan biri veya birkaçı değiştirildiğinde,
- Kullanılan yöntem veya bu yöntemin parametreleri değiştirildiğinde ve bu değişiklikler elektroanalitik tekniğin ilk baştaki kapsamı dışında kaldığında,
- Kullanılan teknik başka bir laboratuvar tarafından kullanıldığında,
- Ölçümler farklı kişiler tarafından alındığında (Özkan, 2012, syf:295-296).

#### **1.6.1. Validasyon Neden Yapılır?**

Kimyasal analizlerde analiz metodunun uygulama performansı değişik faktörlere bağlıdır. Metodun performansının belirlenen analiz ihtiyacına uygun olduğunu belirlemek ve göstermek için metot validasyonu yapılır. Validasyon herhangi bir analitik işlemin güvenilirliğini ortaya koymak için de kullanılır ve bir laboratuvarın analitik verilerinin güvenilir olduğunu anlayabilmek için o laboratuvarda kullanılan yöntemlerin validasyonu şarttır (Özkan, 2012, syf:294).

- Laboratuvar koşulları
- Cihaz
- Kullanılan kimyasal madde
- Standart
- Operatör deneyimi
- Matriks

Yöntem geçerliliğine başlamadan önce kullanılacak cihazın başarımının standartla test edilmesi ve uygunluğunun saptanması gerekir. ICH ve USP ye göre, analizlere göre yöntem geçerliliği için tanımlanması gereken geçerlilik göstergeleri Çizelge 1.6 (ICH, 1994; 1995;1996) ve Çizelge 1.7’de (USP, 1995) verilmiştir.

**Çizelge 1.6.** ICH'e göre validasyon için gerekli parametreler

| Validasyon göstergeleri     | Teşhis | Saflık analizi |                | Deneme |
|-----------------------------|--------|----------------|----------------|--------|
|                             |        | Miktar tayini  | Sınır testleri |        |
| <b>Doğruluk</b>             | -      | +              | -              | +      |
| <b>Kesinlik</b>             |        |                |                |        |
| <b>Tekrarlanabilirlik</b>   | -      | +              | -              | +      |
| <b>Tekraryapılabilirlik</b> | -      | +              | -              | +      |
| <b>Özgünlük</b>             | +      | +              | +              | +      |
| <b>Teşhis sınırı</b>        | -      | -              | +              | -      |
| <b>Tayin sınırı</b>         | -      | -              | +              | -      |
| <b>Doğrusallık</b>          | -      | -              | -              | +      |
| <b>Arahk</b>                | -      | -              | -              | +      |

**Çizelge 1.7.** USP'ye göre validasyon için gerekli parametreler

| Validasyon göstergeleri | Teşhis | Saflık analizi |                | Deneme |
|-------------------------|--------|----------------|----------------|--------|
|                         |        | Miktar tayini  | Sınır testleri |        |
| <b>Doğruluk</b>         | +      | +              | *              | *      |
| <b>Kesinlik</b>         | +      | +              | -              | +      |
| <b>Özgünlük</b>         | +      | +              | +              | *      |
| <b>Teşhis sınırı</b>    | -      | -              | +              | *      |
| <b>Tayin sınırı</b>     | -      | +              | -              | *      |
| <b>Doğrusallık</b>      | +      | +              | -              | *      |
| <b>Arahk</b>            | +      | +              | *              | *      |
| <b>Sağlamlık</b>        | +      | +              | +              | +      |

\*Deneyin özelliğine göre gerekebilir.

### 1.6.2. Validasyon Parametreleri

Metot Validasyon parametreleri metodun uygulama amacına ve kapsamına bağlı olarak belirlenmelidir.

### 1.6.2.1. Özgünlük

Özgünlük bir yöntemin aranan analiti yardımcı veya endojen maddeler gibi ortamda bulunması beklenen bütün bileşenlerin varlığında tayin edebilme yeteneği olarak tanımlanır. Bu parametre farmasötik aktif bileşiklerin kararlılığı ve kantitatif tayini için kullanılan yöntemlerin en kritik parametresidir ve genellikle ilk validasyon parametresi olarak dikkate alınır (Özkan, 2012, syf:301).

Özgünlük işleminde analit içermeyen bir numune ile belirli miktarda analit içeren bir numunede, analitin numunede bulunan diğer maddelerle etkileşip etkileşmediğinin kontrolü yapılır ve etkileşme olmadığından emin olunmaya çalışılır. Bununla beraber bu işlem aynı zamanda stres degradasyon çalışmalarıyla stabilite ölçümünde de kullanılır ve ısı, asitler, alkaliler, oksidasyon ve UV ışığı gibi dış etkilerin analitte bir bozunmaya yol açıp açmadığı anlaşılmaya çalışılır. Bozunmanın %10'un altında olması beklenir (Willets ve Wood, 2000, syf:264; Özkan, 2012, syf:302).

### 1.6.2.2. Doğruluk (Accuracy)

İki bileşeni vardır. Gerçeklik: Gerçek değere yakınlığının ölçüsüdür. Tekrarlanabilirlik: Ölçüm sonuçlarının birbirine yakınlığının ölçüsüdür. Gerçeklik testinde referans madde (CRM) kullanılarak analiz yapılır. Sistemik hata hesaplanır. t-testi ile düzeltme uygulanıp uygulanamayacağına karar verilir. Gerçeklik ölçümü: ölçüm sonucu ortalaması ile gerçek değer (Referans değer) arasındaki fark hesaplanır. Aradaki fark ölçümün sistemik hatasıdır.

$$\%Hata = ((C_S - C_{REF}) / C_{REF}) * 100$$

$C_S$  = Ölçüm sonucu ortalaması

$C_{REF}$  = Gerçek değer

Doğruluk geri kazanım çalışmaları ile belirlenir ve geri kazanım sonuçları %100'e ne kadar yakınsa yöntemin o kadar doğru olduğu düşünülür. Doğruluğun tespit edilebilmesi için aşağıda belirtilen dört yöntemden biri veya birkaçı kullanılır (Özkan, 2012, syf:315-319):

- *Referans standart ile karşılaştırma:* Bir elektroanalitik yöntemi en ideal şekilde doğrulayabilmek için çalışılan bileşiğin bileşimiyle aynı bileşime sahip bir referans malzemesi analiz edilir. Eğer analit daha önce çalışıldıysa, dış kaynaklardan tespit edilmiş bir standart elde edilebilir. Ancak yeni sentezlenen maddelerde standart her zaman mevcut olmayabilir. Böyle durumlarda ilgili maddenin mümkün olan en saf halinin nitelikleri referans olarak alınabilir. Doğruluğun belirlenmesi için bu yöntem kullanılacaksa, önerilen yöntemle üç farklı derişim seviyesinde (tayin alt sınırında veya yakın konsantrasyonda alçak seviye, çalışma aralığının ortasında yer alan bir konsantrasyonda orta seviye ve çalışma aralığının üst sınırında veya yakın konsantrasyonda yüksek seviye) en az dokuz ölçüm alınır. Elde edilen sonuçlar yüzde geri kazanım sonuçlarına dönüştürülerek doğruluk değeri elde edilir.
- *Kör matriks ortamında bileşiğin geri kazanımı:* Bu yöntemde analizi yapılacak madde boş matrikse değişik derişimlerde eklenir ve olası etkileşimler ve aktif olmayan içeriklerle aktif bileşiğin arasındaki potansiyel etkiler incelenir. Bu yöntemde doğrusal olarak artan oranlarda (%50, 75, 100, 125 ve 150) madde ilavesi yapılır ve her seviyede en az 3 ölçüm alınır. Sonuçlar yüzde geri kazanım olarak ifade edilir ve yüzde bağıl standart sapma ve yüzde bağıl hata ile beraber verilir.
- *Standart bileşiğin eklenmesi:* Bu yöntem bir boş matriks olmadığı durumlarda kullanılır. Analizi yapılacak maddenin bilinen ve değişik miktarları matriks içerisinde yer alan ve miktarı bilinmeyen veya daha önce tayin edilmiş aynı maddenin üzerine ilave edilir. Asıl numunedeki etken madde derişimi deney verilerinden matematiksel olarak hesaplanır. Genellikle %25, 50, 100 oranında madde ilavesi yapılır ve maddenin ilave edildiği ve edilmediği bütün numuneler en az 3 defa analiz edilir. Sonuçlar yüzde geri kazanım olarak ifade edilir ve yüzde bağıl standart sapma ve yüzde bağıl hata ile beraber verilir.

- *Başka bir referans yöntemi kullanarak sonuçların kıyaslanması:* Bu yöntemde önerilen yöntem ile 3 farklı derişimde, üçer ölçüm alınır ve bu değerler yüzde geri kazanım değerlerine çevrildikten sonra sonuçların tümü bir araya getirilerek referans kabul edilen başka bir yöntemle elde edilen sonuçlar ile istatistiksel olarak karşılaştırılır. Bunun için Student  $t$  ve  $F$  testleri kullanılır.  $t$  testi ile iki yöntemle elde edilen sonuçların ortalamaları arasındaki farklar,  $F$  testi ile de standart sapmalar arasındaki farklar mukayese edilir. Hesapla bulunan  $t$  ve  $F$  değerleri çizelgelerde verilen teorik  $t$  ve  $F$  değerleri ile kıyaslanır. Hesapla bulunan değerler çizelgede yer alan değerlerden küçük ise geliştirilen yöntemin en az referans olarak kabul edilen yöntem kadar hassas olduğu düşünülür. Sonuçlar yüzde geri kazanım olarak ifade edilir ve yüzde bağıl standart sapma ve yüzde bağıl hata ile beraber verilir.

#### 1.6.2.3. Kesinlik

Kesinlik, herhangi bir değerin tekrarlanabilmesi veya test sonuçlarının birbirine yakınlığının bir derecesidir (ICH, 1995; Rodriguez, 1993). Kesinlik için kabul edilen kriter analizin çeşidine bağlıdır. İlaçta, kalite kontrol analizi için bağıl standart sapma % 1 den daha iyi olan kesinlik kolaylıkla başarılabılırken, biyolojik örnek için % 15' den fazla ve diğer konsantrasyon seviyelerinde % 10 bağıl standart sapma ile kesinlik sağlanabilir. Çevresel ve besin örneklerinde kesinlik, daha çok örnek matriksine dayanır. Ayrıca kesinlik, analit konsantrasyonuna, analiz tekniğine bağlı olup bağıl standart sapma % 2 ve %20 den fazlaya kadar çeşitlilik gösterebilir (Renger ve ark., 1995; Lang ve Bolton, 1991).

#### 1.6.2.4. Tekrarlanabilirlik (*Repeatability*)

Tekrarlanabilirlik, aynı kişi tarafından aynı şartlarda kısa zaman zarfında bir örneğin belli bir yöntem kullanılarak yapılan bir dizi işlemin, kesinliği olarak tanımlanır (Ertas, 1997; Gardner ve ark., 1993). Tekrarlanabilirlik bir laboratuvar

bir analizci ve bir cihaz kullanılarak kısa bir zaman diliminde sağlanır. Üç farklı matrikste en azından 5 veya 6 tayin, 2 veya 3 farklı konsantrasyonda yapılmalıdır.

#### **1.6.2.5. Tekraryapılabilirlik (*Reproducibility*)**

ICH tarafından tanımlanan tekraryapılabilirlik laboratuvarlar arasındaki kesinlik değerini temsil eder. Uygulanan yöntemin farklı laboratuvarlarda da aynı sonuçları vermesi gerekir. Bir analitik yöntemin tekraryapılabilirliği; farklı analizcilerin farklı laboratuvarlarda homojen karışımlardan elde edilen örnek analizlerine ve yöntemin özgünlük göstergeleri içinde olan, fakat yine de farklılık gösterebilen çevresel ve operasyonel durumların kullanılmasına bağlıdır (US EPA, 1995). Tekraryapılabilirlik, farklı laboratuvarlar kullanıldığından önemlidir. Örneğin; odanın sıcaklığı ve nemindeki farklılıklar, farklı özelliklere sahip araç ve gereçler, farklı tecrübeye sahip analizciler, materyal ve kullanılan malzemenin durumundaki çeşitlilikler gibi (US FDA, 2000).

#### **1.6.2.6. Seçicilik**

Yöntemin seçiciliği; analit ve diğer türler bulunan aynı ortamda, analiti diğerlerinden ayrıca ölçebilme yeteneğidir (Green, 1996).

#### **1.6.2.7. Duyarlılık**

Analiz işleminde en küçük derişimleri ölçebilme yeteneğidir. Aynı zamanda kalibrasyon eğrisinin eğimidir.

#### 1.6.2.8. Doğrusallık ve Aralık (Range)

Doğrusallık, analitin farklı derişimlerinin belirli bir sırayla test edilmesinden elde edilir. Eğer elektroanalitik cevabın derişime göre kalibrasyonunun grafiksel gösterimi doğrusal bir çizgi oluşturmaya yakınsa ve korelasyon katsayısı  $r = 0,999$  ve üzerinde ise o zaman doğrusallıktan söz edilebilir (Özkan, 2012, syf:307).

Aralık; bir yöntemin doğruluğu, doğrusallığı ve kesinliği kullanılarak kararlaştırılmış en düşük en yüksek derişim değerleridir. Sınırlar, normalde bir analitik yöntemden elde edilen test sonuçları olarak aynı üniteler içinde açıklanır (Green, 1996; Ertas, 1997)

#### 1.6.2.9. Teşhis Sınırı (TS)

Örnekte ölçülebilen fakat kesin olarak miktarı belirlenemeyen en düşük miktardır. İlk yöntemde TS değeri bilinen miktarda analit içeren farmasötik aktif bileşenlerin elektroanaliziyle ve bileşenin güvenilir olarak teşhis edilebildiği en düşük seviyenin saptanmasıyla belirlenir. İkinci yöntem genellikle kromatografik ve spektrometrik yöntemlerde sinyal-gürültü oranının ölçümdeki göreceli sapma üzerindeki etkisinin belirlenmesi için kullanılır. 3:1 ve 2:1 oranları kabul edilebilir oranlar olarak değerlendirilir. Üçüncü yöntemde ise TS değeri şu denklemle hesaplanır:  $C_{TS} = 3 s/m$ . Bu denklemde  $s$  standart sapmayı,  $m$  ise ilgili kalibrasyon çizgisinin eğimini ifade eder. Bu denklem aynı zamanda eğri fonksiyonuna bağlı olarak TS ve duyarlılık arasındaki ilişkiyi de gösterir (Özkan, 2012, syf:309-310).

#### 1.6.2.10. Tayin Alt Sınırı (TAS)

Analitik bir yöntemle analitin, uygun doğruluk ve kesinlikle tayin edilebilecek en düşük konsantrasyonudur. TS değerinin belirlenmesinde kullanılan

yöntemler küçük farklılıklarla TAS değerinin belirlenmesinde de kullanılır. Görsel değerlendirme yönteminde tıpkı TS değerinin belirlenmesinde olduğu gibi, bilinen miktarda analit içeren farmasötik aktif bileşenlerin elektroanalizi ve bileşenin miktarının güvenilir ve kesin olarak tayin edilebildiği en düşük seviyenin saptanmasıyla TAS değeri belirlenmiş olur. Sinyal-gürültü oranı yöntemi kullanıldığında genellikle 10:1 oranı kullanılır. Cevabın standart sapması ve eğim hesaplaması yönteminde ise formül  $C_{TAS}$ : 10 s/m olarak ifade edilir (Özkan, 2012, syf:313).

#### **1.6.2.11. Metot Sağlamlığı (Robustness, Ruggedness)**

Sağlamlık, yöntemin bir veya birden daha fazla parametresi değiştirildiğinde tekrar validasyona ihtiyacı olup olmadığına karar verilmesini sağlar. ICH dökümanları; bir yöntemin sağlamlık gelişimini dikkate almayı tavsiye eder (ICH-Q2A, 1994; ICH-Q2A, 1995; ICH-Q2B, 1996). Farklı oda sıcaklığı ve farklı laboratuvarlardaki nem, farklı tecrübeye sahip analizciler, farklı firmaların aletleri, farklı kaynaklardan belirteçler sağlamlığa etki eden faktörler arasındadır (Ertas, 1997)

#### **1.6.2.12. Tutarlılık**

Tutarlılık, kullanılan yöntemin gerçek pratik koşullar altında tekrar edilebilirliğinin saptanmasıdır ve tekraredilebilirlik ve tekraryapılabilirlik gibi değerlerle de yakından alakalıdır. Bu koşullar arasında çalışmanın aynı laboratuvarda farklı analizciler tarafından, aynı laboratuvarda farklı cihazlar tarafından, farklı laboratuvarda aynı analizciler tarafından gerçekleştirilmesi, reaktif ve çözücülerini markalarının değiştirilmesi veya aynı marka ve modelde aygıt bileşenlerinin yenilerinin eskilerinin yerine kullanılması gibi değişiklikler sayılabilir. Özellikle yöntemin farklı bir laboratuvarda denendiği durumlarda bu parametre önemlidir ve

elde edilen sonuçlar bağıl standart sapma değeri ile ifade edilir (Özkan, 2012, syf: 325).

#### 1.6.2.13. Stabilité

Bir analitik yöntem kullanılan numune ve reajanların eskimesini de hesaba katmak zorundadır ve stabilité bu maddelerin zamanla miktarlarının azalıp azalmadığının veya bozunma meydana gelip gelmediğinin belirlenmesini sağlar. Bir validasyon yöntemi olarak stabilité bozunma ürünlerinin tayininde ve test tarihlerinin yenilenmesinde son derece önemlidir. Stabilité yalnızca zaman ile belirlenmez; çalışma sıcaklığı aralığı da son derece önemli bir parametredir (Özkan, 2012, syf:326).

- *Dondurma-çözme stabilitesi:* Bu yolla yapılan stabilité çalışmalarında üç dondurma ve çözme döngüsü kullanılır. Düşük ve yüksek derişimlerde en az üç çözelti istenen sıcaklıkta 24 saat süreyle dondurulur, sonra oda sıcaklığında kendiliğinden çözülmesi beklenir. Tamamen çözüldükten sonra numuneler aynı şartlarda 12–24 saat süreyle yeniden dondurulur ve sonra oda sıcaklığında çözündürülür. Aynı işlem üçüncü kez gerçekleştirildikten sonra tayin işlemi yapılır (Özkan, 2012, syf: 331; Selinger, 1996, syf:272).
- *Kısa süreli stabilité:* Bu yöntemde düşük, orta ve yüksek derişimlerdeki numuneler oda sıcaklığında çözülür ve bu sıcaklıkta 4–24 saat aralığında tutulur ve sonrasında analiz edilir ve sonuçlar taze hazırlanmış stok çözelti ile karşılaştırılarak stabilité tayin edilmiş olur (Özkan, 2012, syf:330; Swartz ve Krull, 2012, syf:148).
- *Uzun süreli stabilité:* Bu yöntem bir farmasötik aktif bileşenin uzun süre sonra kullanıldığında bozulma sürecine girip girmediğini ve çalışma matriksinde kararlı olup olmadığını test etmek için kullanılır. Yöntem validasyonu süreci ile başlar ve 3 aya kadar analitin kararlılığını ölçmeye çalışır. Bu çerçevede düşük, orta ve yüksek derişimlerdeki numuneler aynı koşullar altında uzun süre saklanır ve sonra tayinleri

yapılır. Elde edilen sonuçlar taze hazırlanmış stok çözelti veya ilk toplandığı andaki sonuçlar ile karşılaştırılarak stabilite tayin edilmiş olur (Özkan, 2012, 330; Swartz ve Krull, 2012, syf:148).

- *Zorlanmış bozunma (stres şartları) çalışmaları:* Bu yöntem numuneye uygulanan bazı şartların numune üzerindeki etkilerini incelemeyi amaçlar. Bu şartlardan birincisi sıcaklıktır ve her 10°C'lik sıcaklık artışının etkileri ölçülür. İkincisi nemdir ve %75'ten fazla veya ona eşit bir nemlilik oranından analitin etkilenip etkilenmediği anlaşılmaya çalışılır. Üçüncü bir şart hidrolizdir; analit 8 saat süreyle ayrı ayrı 0,1 N HCl ve 0,1 N NaOH çözeltilerinde bekletilir ve bozunma ürünlerinin ortaya çıkıp çıkmadığı incelenir. Dördüncüsü %3–30 oranında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kullanılarak oksidasyon ölçümü yapılır. Son olarak analit UV, floresan ve/veya beyaz ışığa maruz bırakılarak fotolize uğrayıp uğramadığı saptanır (Özkan, 2012, 329; Aubrey ve ark., 2009, syf:140).

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu bölümde elektrokimyasal deneylerde kullanılan:

Cihazlar, elektrotlar, gereçler,

Kullanılan ilaç etken maddeleri, ilaçlar ve kimyasal maddeler,

Etken madde, destek, tablet, serum ve geri kazanım çözeltilerinin hazırlanması,

Karbon nanotüp, grafen süspansiyonlarının, altın ve polimer çözeltilerinin hazırlanması,

Modifiye elektrotların hazırlanması,

Deneylerin yapılışında kullanılan teknikler,

Kalibrasyon eğrilerinin hazırlanması,

İlaç ve serumda ilaç etken madde analizleri,

Validasyon parametrelerinin incelenmesine yer verilmiştir.

### 2.1. Cihaz ve Elektrotlar

#### Cihazlar

- AUTOLAB 302 (Eco Chemie, Hollanda) ve AUTOLAB PGSTAT100N (Eco Chemie, Hollanda) elektrokimyasal analizör
- Üç elektrotlu voltametrik deney hücresi
- pH metre: Model 526 (WTW, Austria) ve kombine elektrot (cam elektrot-referans elektrot)
- Santrifüj
- Ultrasonik banyo
- Hassas terazi: Labor Alliance ve Shimadzu Libror AEG –220
- Manyetik karıştırıcı – ısıtıcılı: Ikamag RH (Jange and Kungel IKA-Labor Technic)

- Taramalı elektron mikroskobu: Zeiss Evo® 40

## Elektrotlar

- Çalışma elektrodu: Camı karbon elektrot (BAS, MF-2012), modifiye elektrotlar
- Karşıt elektrot: Platin tel elektrot (BASi MF 1032)
- Referans elektrodu: Ag/AgCl (3 M NaCl) (BASi MF 2052)

## Gereçler

- Farklı hacimlerde balonjoje (10 mL, 25 mL, 50 mL, 100 mL, 1 L)
- Beherler,
- Hacmi belirli deney tüpleri,
- Mikro pipetler,
- Elektrot yüzeyi parlatma işlemi için kullanılan BAS marka pedler.

## 2.2. Deneylerde Kullanılan Etken Maddeler, İlaç ve Kimyasal Maddeler

### Etken maddeler

Deneylerde kullanılan etken maddeler ve temin edilen firmalar Çizelge 2.1’de verilmiştir.

**Çizelge 2.1.** Kullanılan ilaç etken maddeleri ve dozaj formları.

| Etken madde           | Firma | Müstahzar | Uygulama  | Dozaj formun İçerdiği etken madde miktarı |
|-----------------------|-------|-----------|-----------|-------------------------------------------|
| Pemetrekset disodyum  | Koçak | Pentrex®  | Enjektabl | 500 mg/20 mL                              |
| Sorafenib tosilat     | Bayer | -         | Serum     | -                                         |
| Erlotinib hidroklorür | Roche | Tarceva   | Tablet    | 25 mg/tablet                              |

## Kimyasal maddeler

Deneyleerde çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan kromatografik ve/veya analitik saflıktaki kimyasal maddeler ve temin edilen firmalar Çizelge 2.2’de verilmiştir.

**Çizelge 2.2.** Çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan kimyasal maddeler.

| Kimyasal madde                 | Firma          |
|--------------------------------|----------------|
| Sülfürik asit                  | Merck          |
| Sodyum hidroksit               | Fluka          |
| Metanol                        | Merck          |
| Dimetil formamit               | Sigma-Aldrich  |
| Asetonitril                    | Sigma-Aldrich  |
| Borik asit                     | Pancreac       |
| Fosforik asit                  | Sigma-Aldrich  |
| Glasiyel asetik asit           | Sigma-Aldrich  |
| Sodyum dodesil sülfat          | Sigma-Aldrich  |
| Sodyum dihidrojen fosfat       | Riedel-de Haen |
| Alüminyum oksit                | Sigma-Aldrich  |
| Karbon nanotüp                 | DropSens       |
| Au nanopartikül (10 nm; %0,01) | Nanocs         |
| Pirol                          | Aldrich        |
| Kitosan                        | Sigma-Aldrich  |
| $\beta$ -siklodekstrin         | Sigma-Aldrich  |

## 2.3. Voltametrik Analizlerde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

### Etken madde stok çözeltileri

Pemetrekset disodyum suda çözünmektedir. 10 mL hacimde ve  $1,00 \times 10^{-3}$  M derişimde pemetrekset disodyum stok çözeltisi hazırlamak için standart madde tartılarak balon jojede 10 mL'ye distile su ile tamamlanmıştır.

Sorafenib tosilat metanolde çözünmektedir. Sorafenib tosilat stok çözeltisi için 10 mL hacimde ve  $1,00 \times 10^{-3}$  M derişimde standart madde tartılarak 10 mL'ye

metanol ile tamamlanmıştır. Elektrokimyasal ölçüm için kullanılan çözeltilerde %50 metanol oranı sabit tutulmuştur.

Erlotinib hidroklorür metanolde çözünmektedir. Erlotinib hidroklorür stok çözeltisi için 10 mL hacimde ve  $1,00 \times 10^{-3}$  M derişimde standart madde tartılarak 10 mL'ye metanol ile tamamlanmıştır. Elektrokimyasal ölçüm için kullanılan çözeltilerde %20 metanol oranı sabit tutulmuştur.

Stok çözeltilerden yola çıkarak hazırlanan çalışma çözeltilerinin seyreltilmesinde tampon çözeltiler kullanılmıştır.

### **Destek çözeltileri**

Elektrokimyasal çalışmalarda kullanılan destek çözeltileri seçerken analit ile herhangi bir çökme gibi problem yaratmayacak ve çalışabilecek farklı pH ortamlarını oluşturabilecek çözeltiler tercih edilmiştir.

0,1 M  $H_2SO_4$  ve 0,5 M  $H_2SO_4$  çözeltileri asidik ortamlarda çalışmak için ve elektrot yüzeylerinin aktivasyonunda kullanılmıştır. Asidik ve bazik tampon çözeltileri (Asetat, Borat, Fosfat ve Britton-Robinson) de farklı pH ortamlarında analitlerin davranışlarını araştırmak için kullanılmıştır. Bu tampon çözeltilerin hazırlanışı aşağıda kısaca anlatılmıştır.

Asetat tamponunun hazırlanışı: Asetat tamponu hazırlamak için glasiyel asetik asit distile su ile seyreltilerek 1 M stok çözelti hazırlanmış ve 5 M NaOH ile pH 3,7 – 5,7 aralığında üç farklı pH değerine ayarlanmıştır.

Fosfat tamponunun hazırlanışı: Fosfat tamponu hazırlamak için 0,1 M  $H_3PO_4$  ve  $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$  çözeltileri ayrı ayrı hazırlanmıştır.  $H_3PO_4$  stoğundan 5 M NaOH

ile pH 2,0 ve 3,0;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  stoğundan 5 M NaOH ile pH 6,0 – 8,0 aralığında çözeltiler hazırlanmıştır.

### **Enjektabl ve Tablet çözeltileri**

Pemetrekset disodyum içeren enjektabl çözeltisi hazırlanışı: 500 mg/20 mL pemetrekset disodyum içeren Pemtrex® enjektabl dozaj formundan belirli hacimde alınarak 50 mL  $1 \times 10^{-3}$  M pemetrekset disodyum'a eşdeğer miktarda balon jodede distile su ile tamamlama yapılarak enjektabl çözeltileri hazırlanmıştır. Ultrasonik banyoda 15 dk karıştırıldıktan sonra analiz çözeltileri için istenilen derişimlerde tampon çözeltiler ile seyreltme yapılarak hazırlanmıştır.

Erlotinib hidroklorür içeren tablet çözeltisi hazırlanışı: 10 adet Tarceva® tablet hassas olarak tartılmış (1,0603 g) ve bir havanda toz haline getirilmiştir. Bu tozdan  $1 \times 10^{-3}$  M erlotinib hidroklorür'e eşdeğer miktarda tam tartılmış ve balon jodede metanol ile çözölüp balon jodede 10 mL'ye tamamlanıp ve ultrasonik banyoda 15 dakika karıştırılmıştır.

Tablet çözeltilerinin hazırlanışından sonra, çalışma çözeltilerine geçiş yapmadan önce, tablet çözeltileri 15 dk ultrasonik banyoda bekletilmiştir. Bu işlemde sonra 10 dk, 5000 devir/dakika hızla santrifüj yapılmış ve üstteki berrak çözeltilerden alınarak, farklı derişimde çalışma çözeltileri tampon kullanılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltilerin standart çözeltilerle aynı koşullarda voltamogramları alınmıştır.

### **Serum çözeltisi**

Serum örnekleri ilaç kullanmayan sağlıklı kişiden alınmıştır. Çalışma zamanına kadar, serum örnekleri -20 °C' de dolapta saklanmıştır. Uygun hacimdeki serum örneğine, metanolde çözülmüş sorafenib tosilat çözeltisinden ilave edilerek sorafenib tosilat'ın derişiminin  $1 \times 10^{-3}$  M olması sağlanmıştır. Bu karışıma asetonitril eklenerek (3:2, asetonitril: karışım) ortamdaki proteinlerin denature olması ve çökmesi sağlanmıştır. Serum karışımındaki proteinlerin hızlı bir şekilde çökmesi için 10 dk, 5000 devir/dakika hızla santrifüj yapılmıştır. Üstteki berrak çözeltiden alınıp, istenen derişimde çalışma çözeltisi, tampon çözeltiler ile seyreltme yapılarak hazırlanmıştır.

### **Geri kazanım çözeltileri**

Tablet ve enjektabl içerisinde bulunan elektroaktif madde dışındaki katkı maddelerinin etken madde cevabı üzerinde girişim yapıp yapmadığını araştırmak amacıyla geri kazanım çalışmaları yapılmıştır.

Bu çalışmada tablet ve enjektabl stoğunun bilinen miktarı belirli miktarda o farmasötik şekil içinde bulunan saf etken madde karışımı tampon çözeltisi ile seyreltilip, metanol (%20) ve asetonitrilde (%50) çözünenlerde organik çözücü oranları sabit tutulacak şekilde, tabletlerin hazırlanmasındaki işlemler burada da uygulanmış ve voltamogramları kaydedilmiştir. Bu sonuçlardan tabletlerde bulunan standart etken madde miktarı çıkartılarak, tartılan saf madde miktarının yüzde ne kadarının geri kazanılabildiği hesaplanmıştır.

## **2.4. Elektrot Modifikasyonunda Kullanılan Nanopartikül ve Monomer Çözeltilerinin Hazırlanması**

### **Karbon nanotüp süspansiyonlarının hazırlanışı**

0,5 mg karboksilik asit fonksiyonlu çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNTs-COOH) 0,5 mL dimetil formamit çözeltisinde süspansiyonu hazırlanmıştır. Bu süspansiyon 2 saat süreyle ultrasonik su banyosunda tutulmuştur. Çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT) ile tek duvarlı karbon nanotüp (SWCNT) süspansiyonlarının hazırlanışında da aynı basamaklar izlenmiştir.

### **Pirol çözeltisi**

Pirol monomeri 0,01 M sodyum dodesil sülfat çözeltisinde 0,01 M- 0,08 M derişimleri arasında hazırlanmıştır.

### **Kitosan/Karbon nanotüp süspansiyonu**

%0,05, %0,1, %0,25, %0,50 kitosan ve 1 mg/mL MWCNT-COOH içeren 0,1 M pH 5,0 asetat tamponu ultrasonik su banyosunda 2 saat karıştırılarak hazırlanmıştır.

## **2.5. Deneylerin Yapılışında Kullanılan Teknikler**

### **2.5.1. Dönüşümlü Voltametri**

Çalışma çözeltileri 10 mL olacak şekilde hazırlandıktan sonra elektrokimyasal üç elektrotlu hücreye alınmıştır. Bu teknikte başlangıç ve bitiş potansiyelleri aynı olacak şekilde parametreler girilmiştir. pH taramaları için sabit tarama hızı (100), hız taraması çalışmalarında da giderek azalan tarama hızları (500-5) kullanılmıştır.

### **2.5.2. Diferansiyel Puls Voltametrisi**

Çalışma çözeltileri 10 mL olacak şekilde hazırlandıktan sonra elektrokimyasal üç elektrotlu hücreye alınmıştır.

Pemetrekset disodyum ve sorafenib tosilat çalışmasında kullanılan DPV yönteminde, puls potansiyeli, 8 mV; modülasyon genliği, 50 mV; modülasyon zamanı, 50 ms; aralık zamanı, 500 ms; pik genişliği, 10 mV; tarama hızı, 20 mV/s parametreleri girilerek voltamogramlar elde edilmiştir.

### **2.5.3. Kare Dalga Voltametrisi**

Erlotinib hidroklorür etken maddesinin çalışmasında kullanılan KDV yönteminde, puls genliği, 50 mV; puls potansiyeli, 8 mV; frekans, 80 Hz parametreleri girilerek voltamogramlar elde edilmiştir.

#### 2.5.4. Adsorptif Sıyırma Voltametrisi

Pemetrekset disodyum çalışmasında kullanılan adsorptif diferansiyel puls voltametrisinde kullanılan parametreler şunlardır: puls potansiyeli, 8 mV; modülasyon genliği, 50 mV; modülasyon zamanı, 50 ms; aralık zamanı, 500 ms; pik genişliği, 10 mV; biriktirme potansiyeli, 100 mV; biriktirme süresi, 180 s olarak kullanılmıştır.

Sorafenib tosilat çalışmasında kullanılan adsorptif diferansiyel puls voltametrisinde kullanılan parametreler şunlardır: puls potansiyeli, 8 mV; modülasyon genliği, 50 mV; modülasyon zamanı, 50 ms; aralık zamanı, 500 ms; puls genişliği, 10 mV; biriktirme potansiyeli, 400 mV; biriktirme süresi, 180 s olarak kullanılmıştır.

Erlotinib hidroklorür çalışmasında yukarıda kare dalga voltametrisi kısmında verilmiş optimum değerlerin yanında biriktirme potansiyeli, 400 mV; biriktirme süresi, 75 s olarak kullanılmıştır.

Pik akımı ve şekli dikkate alınarak parametreler optimize edilmiştir.

#### 2.6. Kalibrasyon Eğrilerinin Hazırlanması

KDV, DPV, KDAdSV ve DPAdSV tekniklerinde, farklı derişimlerde hazırlanan etken madde çözeltilerinin voltamogramları alınmıştır. Bu voltamogramlardan okunan pik akımları derişime göre grafiğe geçirilmiştir. Kalibrasyon grafiklerinden eğim, korelasyon katsayısı, eğimin ve kesişimin standart hataları bulunmuştur. Doğrusal çalışma aralığı da belirlenmiştir.

## 2.7. Farmasötik dozaj şekillerinde ve serumda ilaç etken madde analizleri

Pemetrekset disodyum ve erlotinib hidroklorür çalışmalarında, destek elektrolit ortamına farmasötik dozaj şekillerinin çözeltilerinden, sorafenib tosilat çalışmasında da serum numunesinden belirli miktarda ilave edilerek KDV, DPV, KDAdSV ve DPAdSV voltamogramları alınmıştır. Okunan pik akımlarına göre kalibrasyon eğrileri kullanılarak etken madde miktarları hesaplanmıştır.

## 2.8. Validasyon Parametrelerinin İncelenmesi

### 2.8.1. Doğrusal Çalışma Aralığı

Etken madde çözeltilerinden farklı derişimler hazırlanarak elde edilen voltamogramlarda okunan derişime karşı pik akımı kalibrasyon grafiklerini oluşturmuştur. Bu grafiklerin regresyon katsayısının ( $R^2$ ) 0,98 ve daha büyük olduğu derişim aralığı doğrusal aralık olarak belirlenmiştir.

### 2.8.2. Teşhis Sınırı (TS) ve Tayin Alt Sınırı (TAS)

TS ve TAS değerleri kalibrasyon verilerinden yola çıkarak hesaplanmıştır. Aşağıda verilen formüller kullanılmıştır.

$$TS = \frac{(3 \times s_b)}{m} \quad TAS = \frac{(10 \times s_b)}{m}$$

Burada  $s_b$ , en düşük konsantrasyondaki etken madde voltamogramlarından elde edilen akım değerlerinin standart sapmasını,  $m$  ise kalibrasyon doğrusunun eğimini göstermektedir.

### **2.8.3. Doğruluk**

Geri kazanım çalışmaları yöntemin doğruluğunun bir ölçüsüdür. Kullanılan yöntemin doğru olup olmadığını ilaçlar için tablet ve enjektabl dozaj formu üzerinde verilen değer, voltamogramlardan deneysel olarak elde edilen değer ile oranlanması ile bulunur.

### **2.8.4. Tekrarlanabilirlik**

Tekrarlanabilirlik, iki parametre altında incelenmiştir. Bunlar gün içi ve günler arası tekrarlanabilirliktir. Gün içi ölçümlerde; aynı çözelti aynı gün içerisinde en az 5 ölçüm alınmıştır. Günler arası ölçümlerde ise aynı şekilde hazırlanmış farklı çözeltiler farklı günlerde kullanılarak en az 5 ölçüm alınmıştır. Voltamogramlarda pik akımı ve pik potansiyellerinin tekrarlanabilirliğine bakılmıştır.

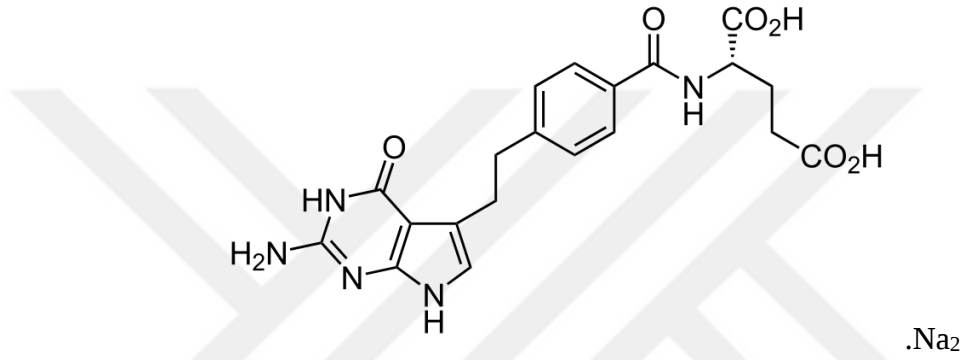
### **2.8.5. Duyarlık**

Kalibrasyon grafiklerinden elde edilen eğimler geliştirilen yöntemin duyarlılığını göstermektedir.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Pemetrekset Disodyum Etken Maddesine Ait Bulgular

Pemetrekset disodyum etken maddesinin molekül yapısı Şekil 3.1’de verilmiştir.

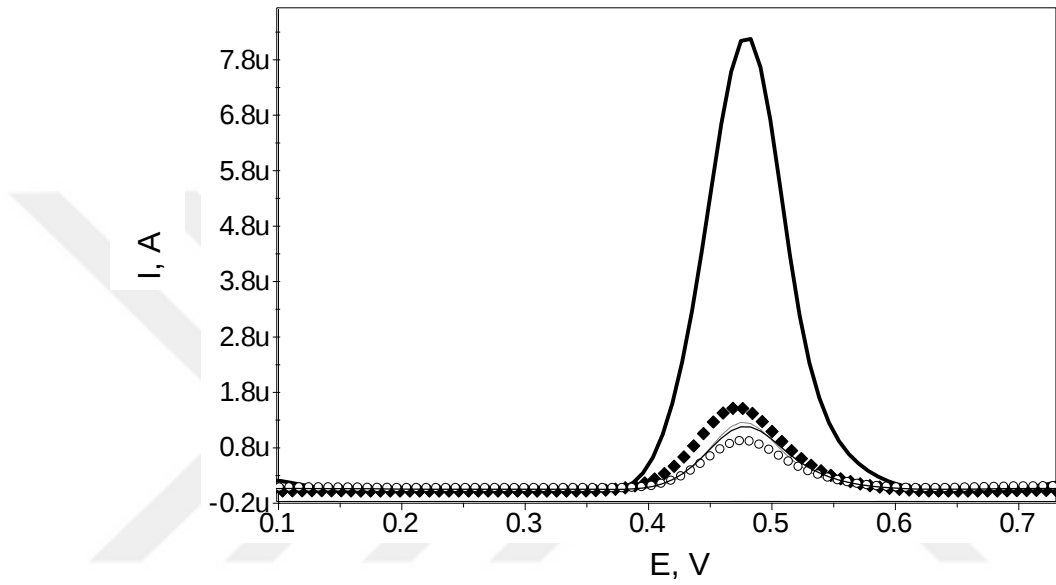


Şekil 3.1. Pemetrekset disodyumun kimyasal yapısı.

##### 3.1.1 Pemetrekset Disodyum Etken Maddesi Cevabının Farklı Elektrotlarda Karşılaştırılması

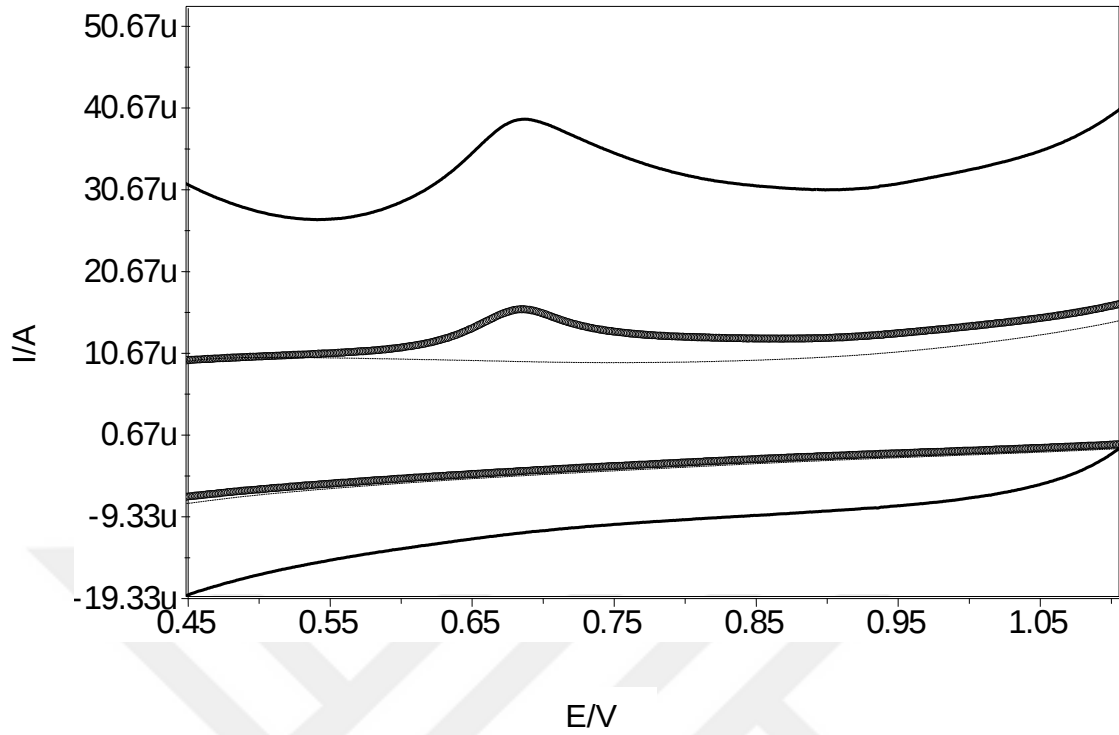
Pemetrekset disodyum’un farklı elektrotlar ile voltametrik cevabı incelenmiştir. Şekil 3.2’de  $5 \times 10^{-5}$  M pemetrekset disodyum’un 0,1 M fosfat tamponunda (pH 6,0) DPV yöntemiyle alınmış voltamogramları verilmiştir. Modifiye edilmemiş camı karbon elektrot (CKE), çok duvarlı karbon nanotüp ile modifiye edilmiş camı karbon elektrot (ÇDKNT/CKE), karboksilik asit fonksiyonlu çok duvarlı karbon nanotüp ile modifiye edilmiş camı karbon elektrot (ÇDKNT-COOH/CKE), karboksilik asit fonksiyonlu tek duvarlı karbon nanotüp ile modifiye edilmiş camı karbon elektrot (TDKNT-COOH/CKE), tek duvarlı karbon nanotüp ile

modifiye edilmiş camı karbon elektrot (TDKNT/CKE), aşırı yükseltgenmiş polipirol/karboksilik asit fonksiyonlu çok duvarlı karbon nanotüp ile modifiye edilmiş camı karbon elektrot (AyPPr/ÇDKNT-COOH/CKE) gibi farklı elektrot yüzeyleri oluşturmuştur. Bu elektrotlar ile pemetrekset disodyum varlığında alınan cevaplarda, AyPPr/ÇDKNT-COOH/CKE ile en duyarlı sonuç elde edilmiştir.



**Şekil 3.2.** CKE (---), ÇDKNT/CKE ( $\circ$ ), TDKNT-COOH/CKE (—), ÇDKNT-COOH/CKE ( $\blacklozenge$ ), AyPPr/ÇDKNT-COOH/CKE (—) elektrotlarıyla  $5 \times 10^{-5}$  M pemetrekset disodyum'un 0,1 M fosfat tamponunda (pH 6,0) alınan DP voltamogramları

CKE ve AyPPr/ÇDKNT-COOH/CKE ile  $5,0 \times 10^{-5}$  M pemetrekset disodyum'un 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2,0) alınan dönüşümlü voltamogramları Şekil 3.3'de verilmiştir. Bu ortamda da AyPPr/ÇDKNT-COOH/CKE ile daha duyarlı cevap alınmıştır.



**Şekil 3.3.** 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2,0) (---) CKE,  $5 \times 10^{-5}$  M pemetrekset disodyum varlığında CKE (—) ve AyPPr/ÇDKNT-COOH/CKE (—) 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2,0) alınan dönüşümlü voltamogramları. Tarama hızı:  $100 \text{ mVs}^{-1}$ .

### 3.1.2. Pemetrekset Disodyum Etken Maddesinin Cevabına Pirol Monomerinin Etkisi

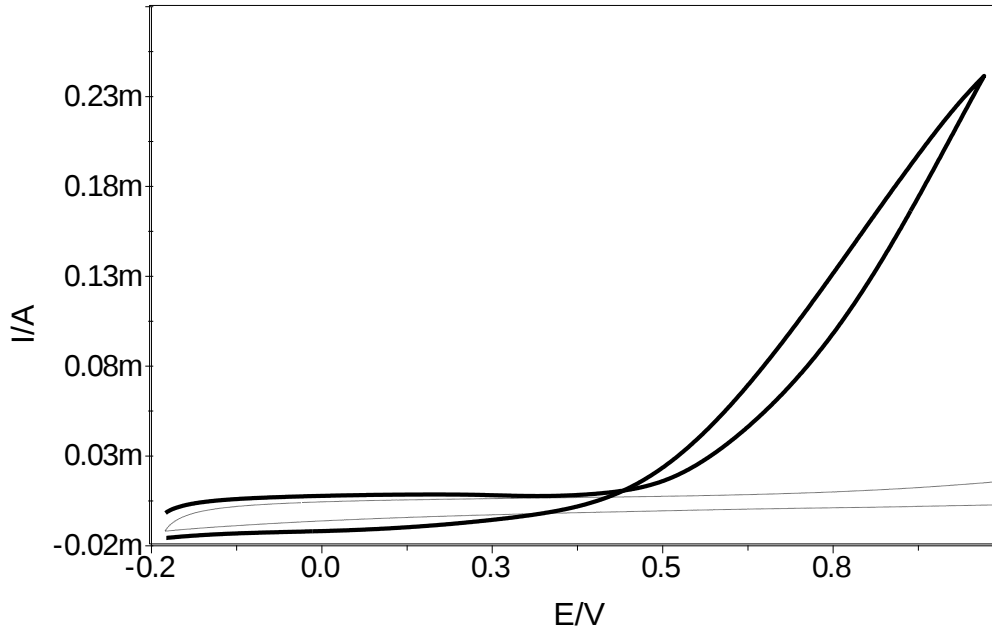
#### Pirol monomeri derişiminin etkisi

$5 \times 10^{-5}$  M pemetrekset disodyum varlığında 0,1 M fosfat tamponunda (pH 2,0) ÇDKNT-COOH/CKE ile alınan cevabın diğer elektrotlar ile karşılaştırıldığında daha duyarlı olduğu sonucuna varıldıktan sonra bu elektrodun daha da güçlendirilmesi düşünülmüştür. ÇDKNT-COOH süspansiyonun elektrot yüzeyine damlatma miktarı optimizasyonu çalışılmıştır. 2,5  $\mu\text{L}$  ile 12,5  $\mu\text{L}$  arasında damlatma miktarları çalışılmış ve pemetrekset etken maddesi için en duyarlı sonucu 5  $\mu\text{L}$  vermiştir. Bu nedenle bundan sonraki modifikasyon işlemlerinde 5  $\mu\text{L}$  ÇDKNT-

COOH süspansiyonu damlatılarak devam edilmiştir. Optimum nanotüp modifikasyonu üzerine AyPPr polimerleştirilerek çalışma elektrodunun duyarlılığı daha da artırılmıştır. Pr'ün derişiminin cevaba etkisi araştırılmıştır. 0,01-0,08 M derişimleri arasında çalışma yapılmış ve 0,02 M Pr kullanımı en duyarlı sonucu vermiştir.

### Pirol monomerinin elektrokimyasal polimerleşmesinde döngü sayısının etkisi

Elektrokimyasal polimerleşme sürecinde yüzeyde oluşturulan filmin kalınlığı önemlidir. Bu kalınlık döngü sayısı ile kontrol edilebilmektedir. ÇDKNT-COOH/CKE yüzeyine 0,02 M Pr'ün polimerleşmesindeki döngü sayısı 1-5 arasında çalışılmıştır. Döngü sayısı 1, pemetrekset disodyum cevabını en çok artırmıştır. Şekil 3.4'de Pr'ün polimerleşmesi görülmektedir. 0,02 M Pr'ün, ÇDKNT-COOH/CKE yüzeyinde 1 döngü ile polimerleştirilmesi 0.001M SDS varlığında 20 mVs<sup>-1</sup> tarama hızında gerçekleştirilmiştir. SDS Pr'ün sulu ortamdaki çözünürlüğünü artırması nedeniyle kullanılmıştır.



**Şekil 3.4.** 0,02 M Pr'ün 0,001 M SDS varlığında 20 mVs<sup>-1</sup> tarama hızında polimerleşmesi

### **Aşırı yükseltgeme potansiyelinin etkisi**

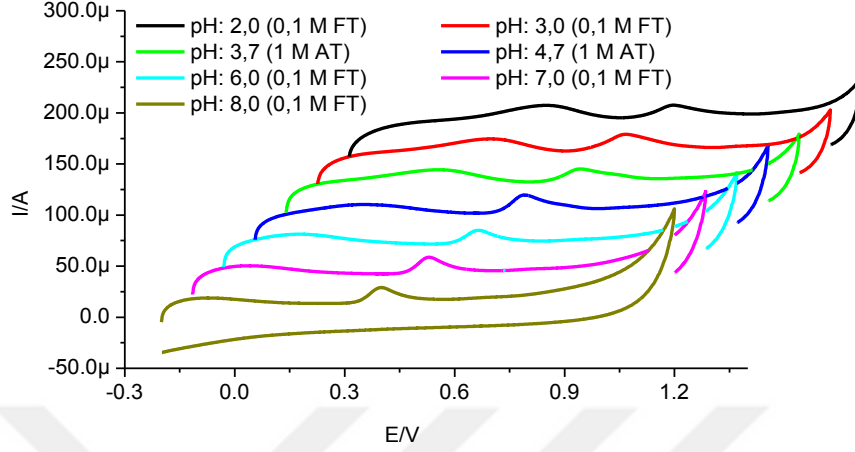
Pirol derişim ve döngü sayısının etkisi araştırıldıktan sonra elektrot yüzeyindeki PPr'ün yükseltgenme potansiyeli üzerinde durulmuştur. PPr 1,1-1,3 V gibi farklı potansiyellerde aşırı yükseltgenerek voltametrik ölçümler yapıldı. 1,2V optimum potansiyel olarak belirlenmiştir. Aşırı yükseltgenme prosesinde AyPPr'ün yapısında fazla yoğunluğa sahip C=O ve COO<sup>-</sup> gibi karbonil grupları oluşmaktadır. Bu da destek elektrolit varlığında etken maddenin elektrot yüzeyinde iyon değişimi prosesinden dolayı birikmesine, toplanmasına neden olmaktadır.

### **3.1.3. Pemetreket Disodyum Etken Maddesinin Elektrokimyasal Davranışının Voltametrik Yöntemler ile İncelenmesi**

Pemetreket disodyum etken maddesinin redoks davranışı dönüşümlü voltametri, diferansiyel puls voltametrisi, kare dalga voltametrisi yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır. Aşağıdaki bölümlerde ayrıntılı bir şekilde anlatılmıştır.

#### **3.1.3.1. Pemetreket Disodyum Etken Maddesinin Dönüşümlü Voltametri Yöntemiyle Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi**

Pemetreket disodyum'un farklı ortamlardaki davranışları DV (Şekil 3.5) yöntemiyle incelenmiştir.



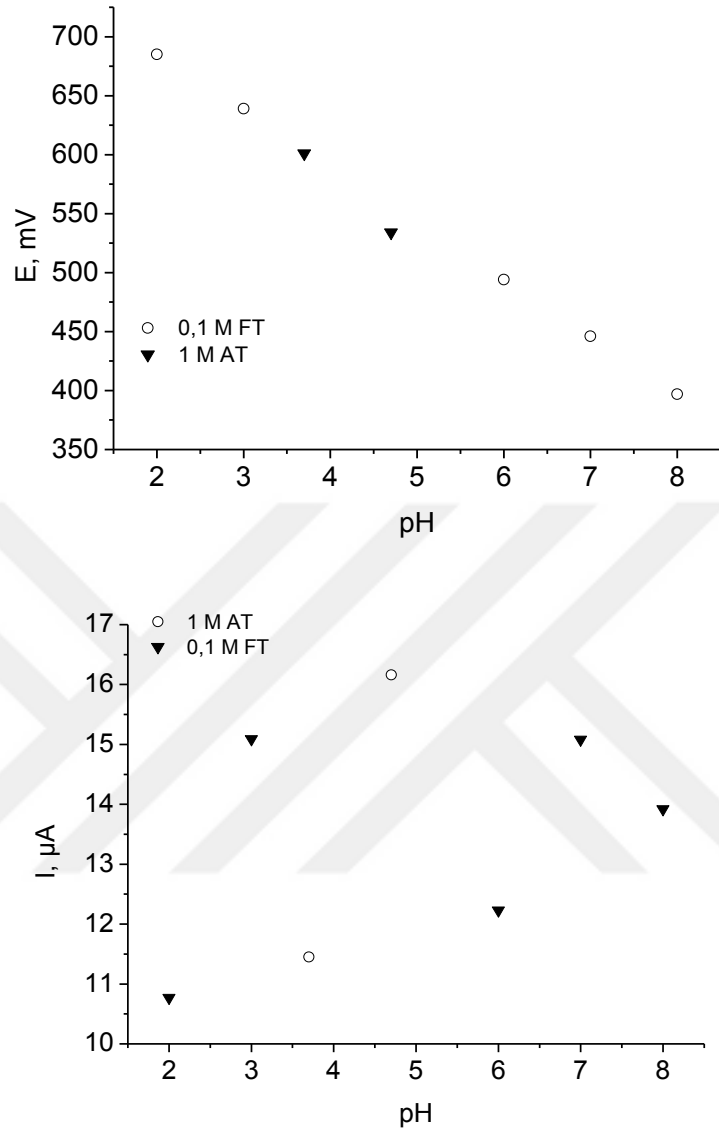
**Şekil 3.5.**  $5 \times 10^{-5}$  M pemetrekset disodyum etken maddesinin farklı pH değerlerine sahip 0,1 M fosfat (FT) ve 1 M asetat (AT) ortamındaki dönüşümlü voltamogramları

Pemetrekset disodyum pik potansiyeli ile pH değişimi ilişkisi aşağıdaki bağıntı ile verilmektedir.

$$E_p \text{ (mV)} = 710,9 - 46,4 \text{ pH} \quad (r=0,997)$$

Burada eğimin -46.4 olarak bulunması yükseltgenme reaksiyonunda eşit proton ve elektron olduğunu göstermektedir (Ghico ve Brett, 2009; Maio ve ark., 2006)

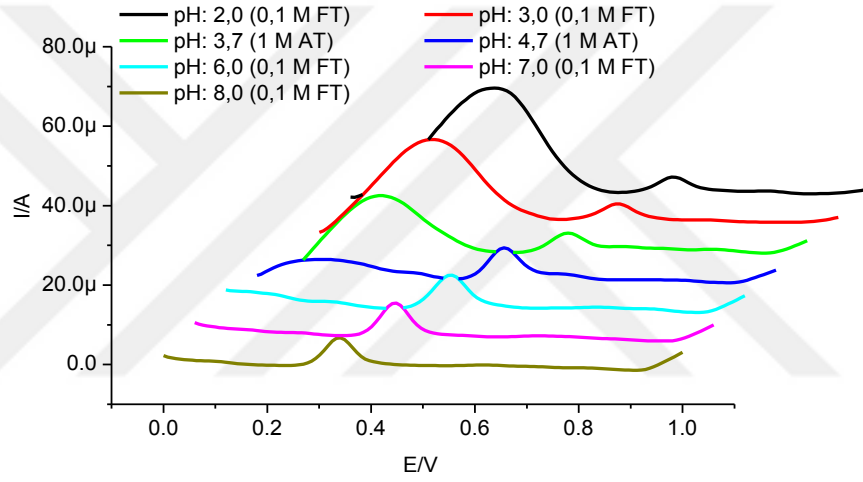
AyPPr/ÇDKNT-COOH/CKE kullanılarak DV yöntemiyle elde edilen  $5.00 \times 10^{-5}$  M pemetrekset disodyum anodik pik potansiyelinin ve akımının pH değişimine karşı grafiği Şekil 3.6'da gösterilmiştir.



**Şekil 3.6.**  $5.00 \times 10^{-5}$  M pemetrekset disodyum'un pik akımı ve potansiyeline 0,1 M fosfat pH 2,0; 3,0; 6,0; 7,0; 8,0 ve asetat tamponlarının (1.0 M) pH 3,7; 4,7; 5,7 etkileri

### 3.1.3.2. Pemetrekset Disodyum Etken Maddesinin Diferansiyel Puls Voltametri Yöntemiyle Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi

Pemetrekset disodyum'un farklı ortamlardaki davranışları DPV (Şekil 3.7 ve Şekil 3.8) yöntemiyle incelenmiş ve Şekil 3.8'de  $E_p$ -pH ve  $I_p$ -pH eğrileri çizilerek, redoks reaksiyonundaki elektron, proton sayıları tahmin edilmiştir.

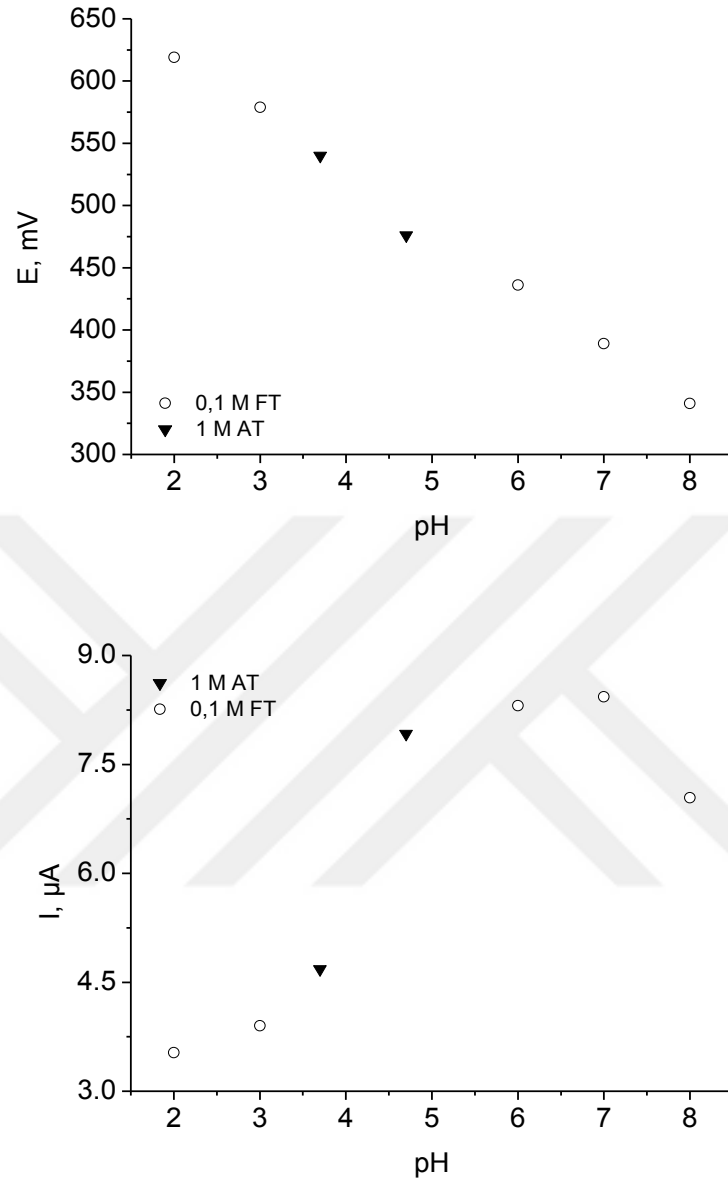


**Şekil 3.7.**  $5 \times 10^{-5}$  M pemetrekset disodyum etken maddesinin farklı pH değerlerine sahip 0,1 M fosfat (FT) ve 1 M asetat (AT) ortamındaki DP voltamogramları

Pemetrekset disodyum pik potansiyeli ile pH değişimi ilişkisi aşağıdaki bağıntı ile verilmektedir.

$$E_p \text{ (mV)} = 777,0 - 47,8 \text{ pH} \quad (r=0,999)$$

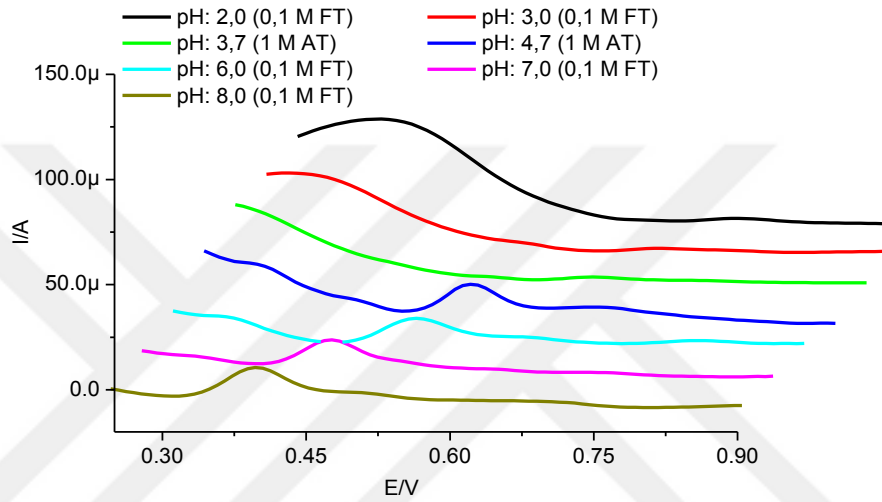
Burada eğimin -47,8 olarak bulunması yükseltgenme reaksiyonunda eşit proton ve elektron olduğunu göstermektedir (Ghico ve Brett, 2009; Maio ve ark., 2006)



**Şekil 3.8.**  $5 \times 10^{-5}$  M pemetrekset disodyum etken maddesinin DPV yöntemiyle elde edilen anodik pik potansiyelinin ve akımının pH değişimine karşı grafiği

### 3.1.3.3. Pemetrekset Disodyum Etken Maddesinin Kare Dalga Voltametri Yöntemiyle Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi

Pemetrekset disodyum'un farklı ortamlardaki davranışları KDV (Şekil 3.9) yöntemiyle incelenmiş ve sonuçlar grafiğe aktarılmıştır (Şekil 3.10).

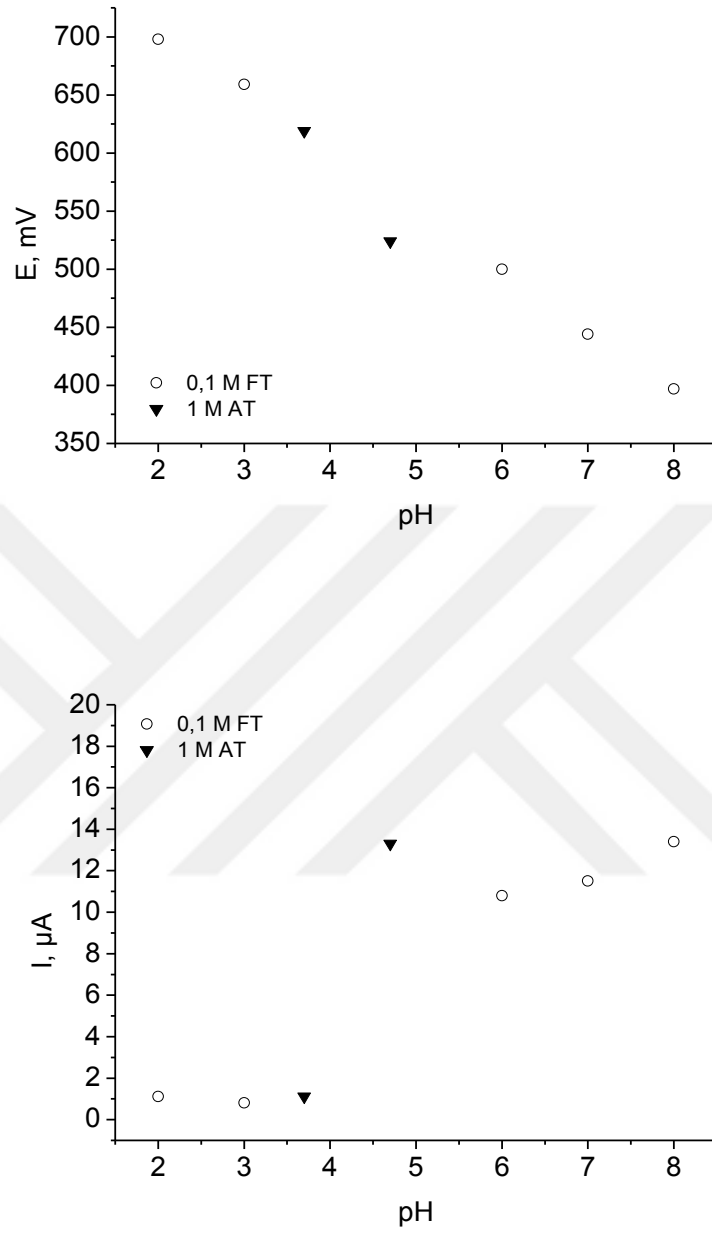


**Şekil 3.9.**  $5 \times 10^{-5}$  M pemetrekset disodyum etken maddesinin farklı pH değerlerine sahip 0,1 M fosfat (FT) ve 1 M asetat (AT) ortamındaki KD voltamogramları

Pemetrekset disodyum pik potansiyeli ile pH değişimi ilişkisi aşağıdaki bağıntı ile verilmektedir.

$$E_p \text{ (mV)} = 805,9 - 51,2 \text{ pH} \quad (r=0,999)$$

Burada eğimin -51,2 olarak bulunması yükseltgenme reaksiyonunda eşit proton ve elektron olduğunu göstermektedir (Ghico ve Brett, 2009; Maio ve ark., 2006).

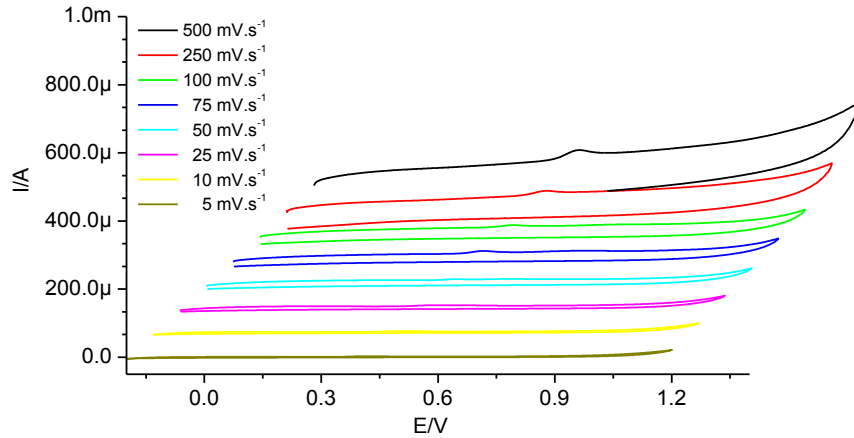


**Şekil 3.10.**  $5 \times 10^{-5}$  M pemetrekset disodyum etken maddesinin KDV yöntemiyle elde edilen anodik pik potansiyelinin ve akımının pH değişimine karşı grafiği

### 3.1.4. Pemetrekset Disodyum Etken Maddesinin Dönüşümlü Voltametri Yöntemiyle Hız Taraması Çalışmasının İncelenmesi

0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0) pemetrekset disodyum'un pik potansiyelinin ve akımının tarama hızından nasıl etkilendiği dönüşümlü voltametri yöntemi kullanılarak araştırılmıştır (Şekil 3.11). Ayrıca bu çalışmalar ile etken maddenin elektrot yüzeyinde difüzyon veya adsorpsiyon kontrollü olup olmadığı aydınlatılmıştır. Artan tarama hızı ile  $5 \times 10^{-5}$  M pemetrekset disodyum çözeltisinin pik potansiyelinin de arttığı gözlenmiştir. Pik akımının tarama hızı ile ilişkisi doğrusal olarak bulunmuştur.

Pik akımı ile tarama hızının ( $5-500 \text{ mVs}^{-1}$ ) logaritmik değerleri arasındaki ilişki incelendiğinde doğrusal bir davranış gösterdiği ve elde edilen doğrunun eğimi de 1,0'e yakın bulunmuştur. Bu da pemetrekset disodyum'un elektrot yüzeyindeki reaksiyonunun adsorpsiyon kontrollü olarak gerçekleştiğini göstermiştir (Hammam, 2002).



**Şekil 3.11.** 5-500 mVs<sup>-1</sup> aralığında artan tarama hızları ile alınan  $5 \times 10^{-5}$  M pemetrekset disodyum'a ait dönüşümlü voltamogramlar

$$I_p (\mu\text{A}) = 1,038 v^{1/2} - 3,376 \quad (r = 0,989) \quad 0,1 \text{ M fosfat tamponu (pH 7,0)}.$$

$\log(I_p) = 0,910 \log v - 1,141 (r= 0,994)$  0,1 M fosfat tamponu (pH 7,0).

Elektron transfer katsayısı ve elektron sayısı 'an' pik potansiyeli ( $E_p$ ) ve yarı dalga potansiyeli ( $E_{p/2}$ ) arasındaki fark ile hesaplanmıştır (Bard ve Faulkner, 1980).

$$\Delta E_p = E_p - E_{p/2} = (47.7 / \alpha n) \text{ mV (tersinmez reaksiyonlar, 25 °C)}$$

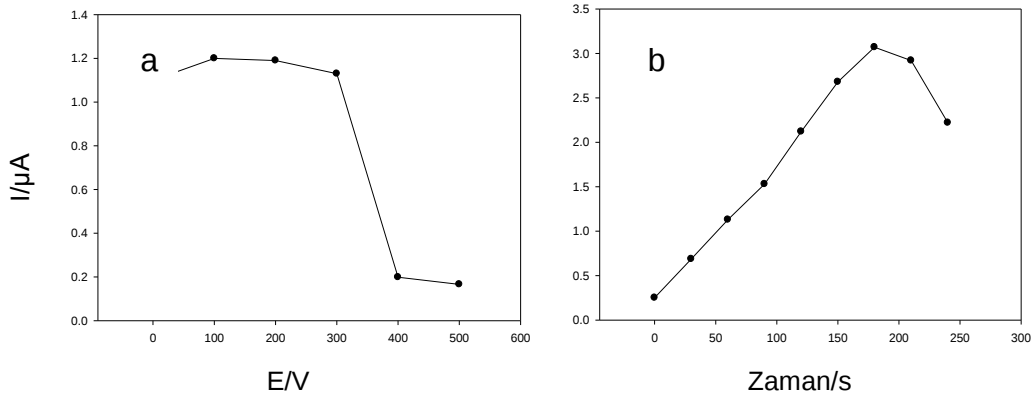
Transfer katsayısı ( $\alpha$ ) ve elektron sayısı ( $n$ ) hesaplanarak 1,08 olarak bulunmuştur.  $\alpha$  0,50 olarak kabul edildiğinde,  $n$  2,17 olarak hesaplanmıştır. 2,17 elektron sayısı da 2'ye oldukça yakın olduğu için reaksiyondaki elektron sayısı 2 olarak kabul edilmiştir.

### **3.1.5. Pemetrekset Disodyum Etken Maddesi Cevabına Adsorptif Sıyırma Diferansiyel Puls Voltametrisi Yöntem Optimizasyonunun Etkisi**

#### **Biriktirme potansiyeli ve süresinin etkisi**

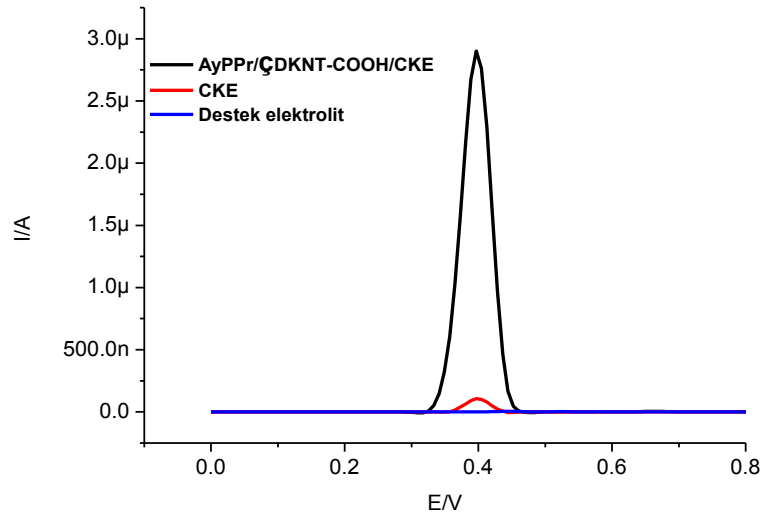
Pemetrekset disodyum'un elektrot yüzeyindeki reaksiyonu adsorpsiyon kontrollü olduğundan dolayı analizlerde adsorptif sıyırma diferansiyel puls voltametrisi yöntemi kullanılmıştır. Biriktirme potansiyeli ve süresinin optimize edilmesi gerekmiştir.

$1 \times 10^{-6}$  M pemetrekset disodyum çözeltisinde anodik pik akımına biriktirme potansiyelinin ve süresinin etkisi incelenmiştir. Şekil 3.12'de görüldüğü üzere maksimum anodik pik akımı 100 mV 180 s' de elde edilmiştir. Daha sonraki deneylere bu parametreler ile devam edilmiştir.



**Şekil 3.12.**  $1.00 \times 10^{-6}$  M pemetrekset disodyum varlığında 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0) AyPPr/ÇDKNT-COOH/CKE ile optimize edilen  $E_{acc}$  ( $t_{acc}$ : 60 s) (a) ve  $t_{acc}$  ( $E_{acc}$ : 100 mV).

Şekil 3.13'de gösterildiği gibi biriktirme potansiyeli ve süresinin optimizasyonu ile modifiye elektrodun modifiye edilmemiş CK elektroda ve optimize olmamış DPV yöntemiyle alınan ölçüme göre cevabı yaklaşık 30,47 kat artırılmıştır.



**Şekil 3.13.**  $1 \times 10^{-6}$  M pemetrekset disodyum'un 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0) CKE'nin DP ve AyPPr/ÇDKNT-COOH/CKE 'nin AdSDP voltamogramları

### 3.1.6. Pemetreksit Disodyum Etkin Maddesinin Adsorptif Sıyırma Diferansiyel Puls Voltametrisi Yöntemi ile Analizi

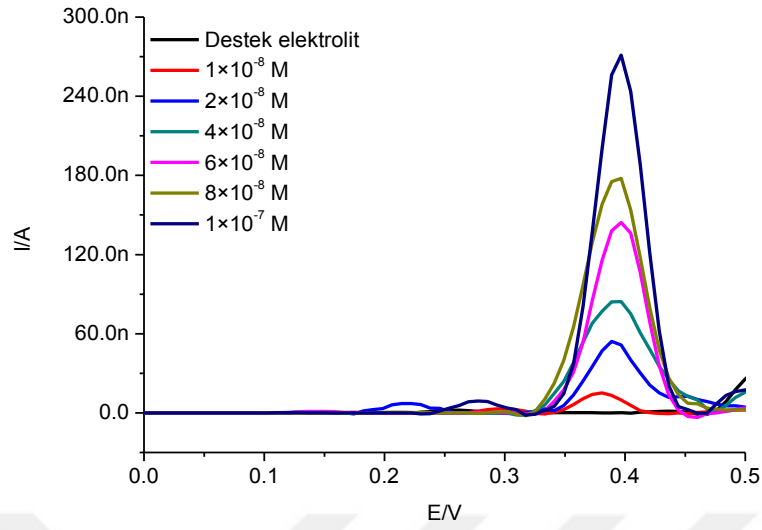
Optimum parametreler belirlendikten sonra pemetreksit disodyum maddesinin anodik pik akımının değişen derişimiyle doğru orantılı olduğu saptanmıştır (Şekil 3.14).

TS ve TAS değerleri kalibrasyon verilerinden yola çıkarak hesaplanmıştır. Aşağıda verilen formüller kullanılmıştır.

$$TS = \frac{(3 \times s_b)}{m} \quad TAS = \frac{(10 \times s_b)}{m}$$

Burada  $s_b$ , en düşük konsantrasyondaki etkin madde voltamogramlarından elde edilen akım değerlerinin standart sapmasını,  $m$  ise kalibrasyon doğrusunun eğimini göstermektedir (Ozkan, 2012; Karadas ve ark., 2012).

0,1 M fosfat tamponunda (pH 7.0) kalibrasyon doğrusal aralığı  $1.00 \times 10^{-8}$  M -  $1.00 \times 10^{-7}$  M ( $r = 0.9995$ ) olarak bulunmuştur. TS,  $3,28 \times 10^{-9}$  M ve TAS,  $9,94 \times 10^{-9}$  M olarak hesaplanmıştır.



**Şekil 3.14.** Destek elektrolit,  $1.00 \times 10^{-8}$  M,  $2.00 \times 10^{-8}$  M,  $4.00 \times 10^{-8}$  M,  $8.00 \times 10^{-8}$  M ve  $1.00 \times 10^{-7}$  M artan derişimlerdeki pemetrekset disodyum etken maddesinin 0,1 M fosfat tamponunda AdSDP voltamogramları

Çizelge 3.1'de kalibrasyon doğrusuyla ilgili validasyon parametreleri de verilmiştir. Gün içi, günler arası tekraredilebilirlik değerleri de çizelgede verilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Pemetekset disodyum etken maddesinin 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0) elde edilen kalibrasyon eğrisine ait regresyon analizi sonuçları ve validasyon parametreleri

| Parametreler                                      | AyPPr/ÇDKNT-COOH/CKE                        |
|---------------------------------------------------|---------------------------------------------|
| Ölçülen potansiyel (V)                            | 0.390                                       |
| Doğrusal aralık (M)                               | $1.00 \times 10^{-8} - 1.00 \times 10^{-7}$ |
| Eğim ( $\mu A M^{-1}$ )                           | $2.789 \times 10^6$                         |
| Kesişim ( $\mu A$ )                               | $-8.310 \times 10^{-4}$                     |
| Korelasyon katsayısı                              | 0.9996                                      |
| Eğimin standart hatası                            | $3.753 \times 10^4$                         |
| Kesişimin standart hatası                         | $2.278 \times 10^{-3}$                      |
| TS (M)                                            | $3.28 \times 10^{-9}$                       |
| TAS (M)                                           | $9.94 \times 10^{-9}$                       |
| Gün içi pik akımı (RSD %) <sup>a</sup>            | 1.66                                        |
| Gün içi pik potansiyeli (RSD %) <sup>a</sup>      | 0.92                                        |
| Günler arası pik akımı (RSD %) <sup>a</sup>       | 1.75                                        |
| Günler arası pik potansiyeli (RSD %) <sup>a</sup> | 1.11                                        |

<sup>a</sup> 5 değerden hesaplanmıştır.

### 3.1.7. Pemetrekset Disodyum Etken Maddesinin Adsorptif Sıyırma Diferansiyel Puls Voltametrisi Yöntemiyle Tablet ve Geri Kazanım Çalışmaları

Pemetrekset disodyum etken maddesi için geliştirilen yöntemin doğruluğunu ve kesinliğini kontrol etmek için tablet ve geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Ayrıca tablet içerisinde bulunan katkı maddelerinin girişim etkisi yapıp yapmadığı da bu çalışmalar ile araştırılmıştır. Geri kazanım çalışmalarında bilinen miktarda etken madde çözelti ortamına eklenmiştir. Sonuçlar doğrultusunda, tabletteki katkı

maddelerinin sonuçları etkilemediği görülmüştür. Bu da geliştirilen yöntemin kesin ve doğru olduğunu ortaya koymuştur (Çizelge 3.2).

**Çizelge 3.2.** 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0) pemetrekset disodyum içeren PEMTREX® enjeksiyon çözeltisinden elde edilen analiz bulgularının sonuçları

| AyPPr/ÇDKNT-COOH/CKE             |        |
|----------------------------------|--------|
| Etiket miktarı (mg)              | 500.00 |
| Bulunan miktar <sup>a</sup> (mg) | 502.55 |
| BSS %                            | 0.367  |
| BH %                             | -0.505 |
| Eklenen (mg)                     | 500.00 |
| Bulunan <sup>a</sup> (mg)        | 505.61 |
| Geri kazanım %                   | 101.13 |
| Geri kazanımın % BSS             | 0.753  |
| BH%                              | -0.50  |

<sup>a</sup> 5 değerden hesaplanmıştır.

### 3.1.8. Girişim Maddelerinin Pemetrekset Disodyum Etken Maddesi Cevabına Etkisi

Bazı iyon ve biyolojik moleküllerin etkisini pemetrekset disodyum ile birlikte inceledik. K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, Cl<sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, dopamin, askorbik asit ve ürik asit'in farklı derişimlerde çalışmaları yapılmış ve aşağıdaki çizelgede tolerans limitleri pemetrekset disodyum'un derişimi ile orantılı olarak verilmiştir. Pemetrekset disodyum derişimi 1×10<sup>-5</sup> M olarak sabit tutulmuş ve iyon ve moleküllerin derişimleri değiştirilerek AdSDPV yöntemiyle 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0)

voltamogramlar alınmıştır. Tolerans limitinin yaklaşık bağıl hata olarak  $\pm 10\%$  olması tayinlerde kabul edilebilmektedir (Lin ve ark., 2008). Çizelge 3.3'de görüldüğü gibi  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $Cl^-$ ,  $NO_3^-$  iyonlarının derişimleri önemli derecede artsa bile pemetreket disodyum cevabını etkilememiştir.

**Çizelge 3.3.** Girişim maddelerinin  $1 \times 10^{-5}$  M pemetreket disodyum cevabı üzerindeki tolerans miktarları

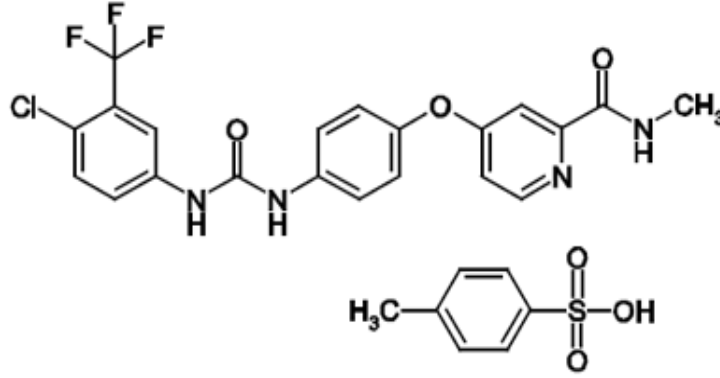
|               | Tolerans seviye oranı<br>(Girişim maddesi:PMX) | $\pm\%$ Bağıl Hata |
|---------------|------------------------------------------------|--------------------|
| $K^+$         | 1000:1                                         | 2.54               |
| $Na^+$        | 100:1                                          | 5.08               |
| $Ca^{2+}$     | 1000:1                                         | 5.93               |
| $Cl^-$        | 1000:1                                         | 4.24               |
| $SO_4^{2-}$   | 100:1                                          | 10.01              |
| $NO_3^-$      | 1000:1                                         | 2.54               |
| Dopamin       | 1:1                                            | 10.0               |
| Askorbik asit | 10:1                                           | 6.78               |
| Ürik asit     | 10:1                                           | 5.08               |

### 3.1.9. Elektrot Kararlılığının Araştırılması

AyPPr/ÇDKNT-COOH/CK elektrodunun kararlılığı,  $4 \times 10^{-8}$  M pemetreket disodyum'un 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0) 1 hafta boyunca çözelti taze hazırlanıp, ölçümler alınarak araştırılmıştır. Deney sonrasında elektrot buzdolabında  $4^\circ C$ 'de muhafaza edilmiştir. 1 hafta boyunca 7 ayrı ölçüm alınarak bunların bağıl standart sapması % 2,1 olarak bulunmuştur. Bu da elektrodun pemetreket disodyum analizinde kararlı olduğunu göstermiştir.

### 3.2. Sorafenib Tosilat Etken Maddesine Ait Bulgular

Sorafenib tosilat etken maddesinin molekül yapısı Şekil 3.15’de verilmiştir.

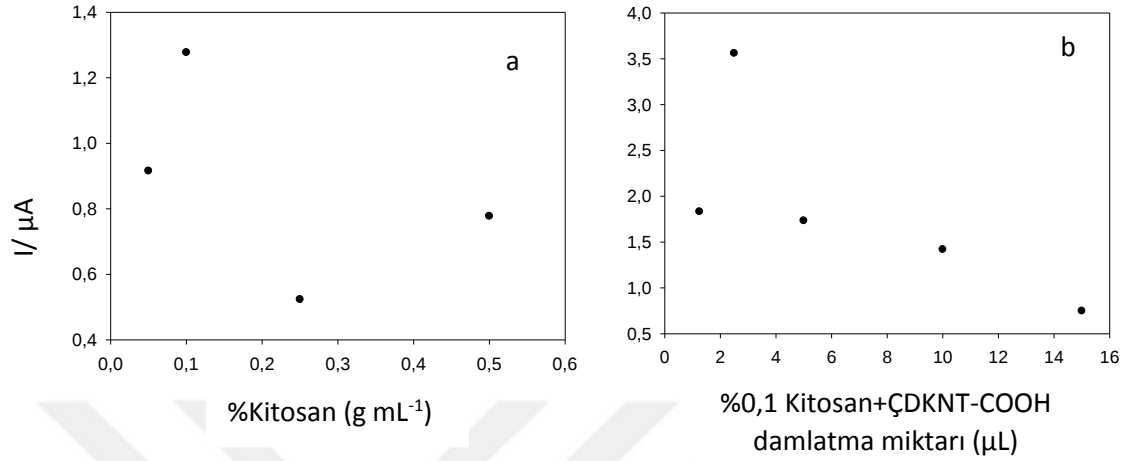


Şekil 3.15. Sorafenib tosilat etken maddesinin kimyasal yapısı

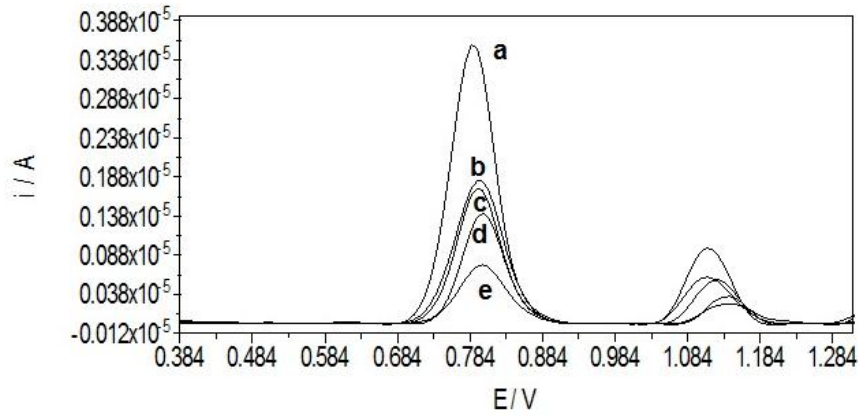
#### 3.2.1. Sorafenib Tosilat Etken Maddesi Cevabının Farklı Elektrotlarda Karşılaştırılması

Sorafenib tosilat analizi için öncelikle doğal bir polimer olan kitosan ile duyarlı bir elektrot hazırlandı. Doğal bir polimer olan kitosan tercih edilmiştir. Kitosan, karbon nanotüpün 0,1 M asetat (pH 5.0) tamponunda çözünürlüğünü artırmaktadır. Öncelikle farklı yüzdelerde kitosan içeren ÇDKNT-COOH (1mg mL<sup>-1</sup>) süspansiyonları hazırlanmıştır. %0,05-0,5 arasında kitosan miktarları DPV yöntemiyle 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7.0) çalışılmıştır. %0,1 Kitosan (g mL<sup>-1</sup>) en yüksek akım değerini vermiştir (Şekil 3.16a). Kitosan miktarı optimizasyonundan sonra karışımın damlatma miktarı üzerinde çalışılmıştır. 1,25-15 µL arasında değişen farklı hacimlerdeki %0,1 Kitosan+ÇDKNT-COOH süspansiyonu CKE yüzeyine damlatılmıştır. 5×10<sup>-5</sup> M Sorafenib tosilatın DPV yöntemiyle 0,1 M fosfat

tamponunda (pH 7.0) alınan voltamogramları sonucunda süspansiyonun damlatma miktarı 2,5  $\mu\text{L}$  olarak bulunmuştur (Şekil 3.16b ve Şekil 3.17).



**Şekil 3.16.** a) %Kitosan ( $\text{g mL}^{-1}$ ) miktarının optimizasyonu b) %0,1 ( $\text{g mL}^{-1}$ ) Kitosan+ÇDKNT-COOH ( $1\text{mg mL}^{-1}$ ) süspansiyonunun damlatma miktarı ( $\mu\text{L}$ ) optimizasyonu ile elde edilen elektrotlarla  $5 \times 10^{-5}$  M sorafenib tosilat'ın 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7.0) alınan DP voltamogramları



**Şekil 3.17.** a; 2.5, b; 1.25, c; 5.0, d; 10, e; 15  $\mu\text{L}$  Kitosan+ÇDKNT-COOH süspansiyonunun CKE yüzeyine damlatılması ile oluşturulan elektrotlarda  $5 \times 10^{-5}$  M sorafenib tosilat'ın 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0, %50 metanol) DP voltamogramları

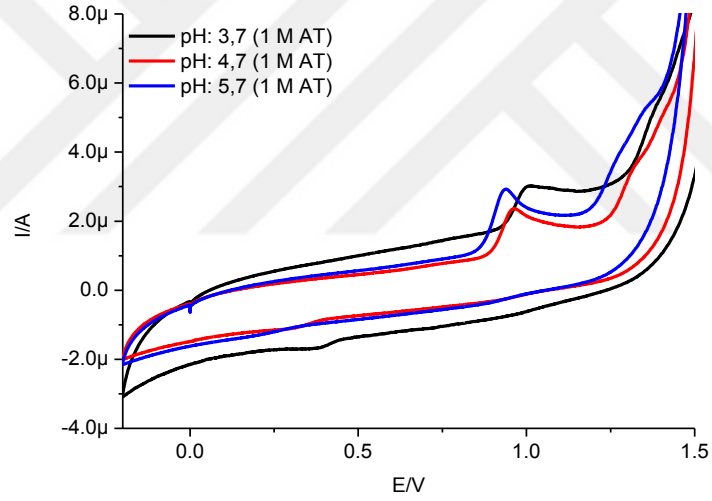
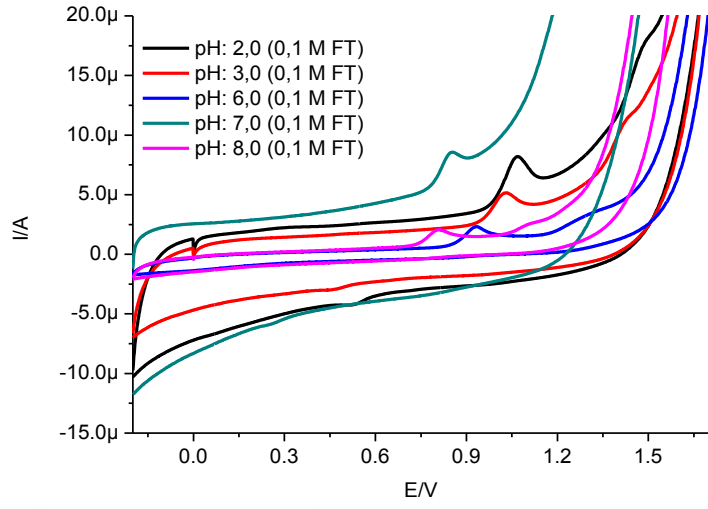
Daha sonraki deneylerde kullanılacak olan Kitosan+ÇDKNT-COOH/CKE ilk önce distile su ile yıkanmıştır. Elektrodun aktivasyonu için birbirini tekrar eden ölçümler dönüşümlü voltametri yöntemi ile - 0,25 V ve 1,7 V arasında alınmıştır.

### **3.2.2. Sorafenib Tosilat Etken Maddesinin Elektrokimyasal Davranışının Voltametrik Yöntemler ile İncelenmesi**

Sorafenib tosilat etken maddesinin redoks davranışı dönüşümlü voltametri, diferansiyel puls voltametrisi, kare dalga voltametrisi yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır. Aşağıdaki bölümlerde ayrıntılı bir şekilde anlatılmıştır.

#### **3.2.2.1. Sorafenib Tosilat Etken Maddesinin Dönüşümlü Voltametri Yöntemiyle Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi**

Destek elektroliti ve pH değeri, sorafenib tosilat'ın anodik cevabı üzerinde etkili olmaktadır. 0,1M fosfat (2,0; 3,0; 6,0; 7,0; 8,0) ve 1,0 M asetat (3,7; 4,7; 5,7) tamponlarında DV ve DPV yöntemleriyle bu etki araştırılmıştır. İki yöntem ile elde edilen pik akımlarına bağlı veriler paralel sonuçlar göstermiştir.



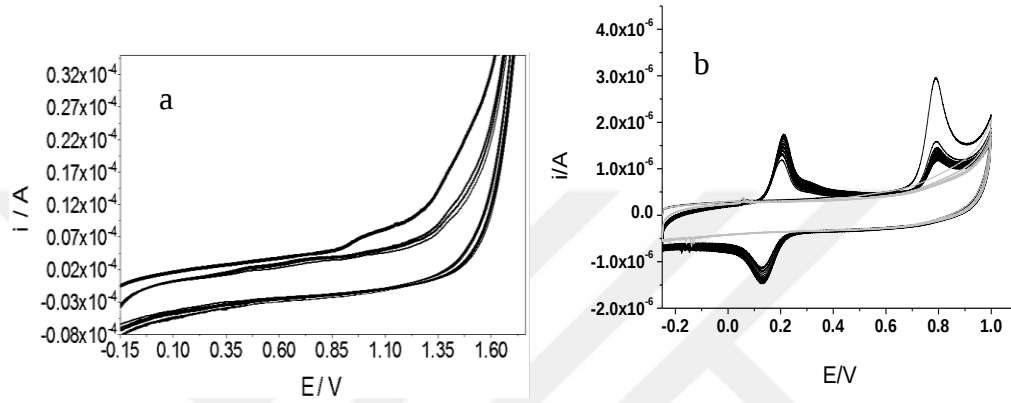
**Şekil 3.18.**  $5 \times 10^{-5}$  M sorafenib tosilat etken maddesinin farklı pH değerlerine sahip 0,1 M fosfat (FT) ve 1 M asetat (AT) ortamındaki dönüşümlü voltamogramları

DV yöntemiyle farklı pH ortamlarında voltamogramlar alınmıştır (Şekil 3.18). Sorafenib tosilat'ın tersinmez pik potansiyelinin değişen pH ile ilişkisi;

$$E_p = 1124,0 - 33,5 \text{ pH}; r = 0.989 \quad (\text{pH } 2,0-8,0; \text{DV})$$

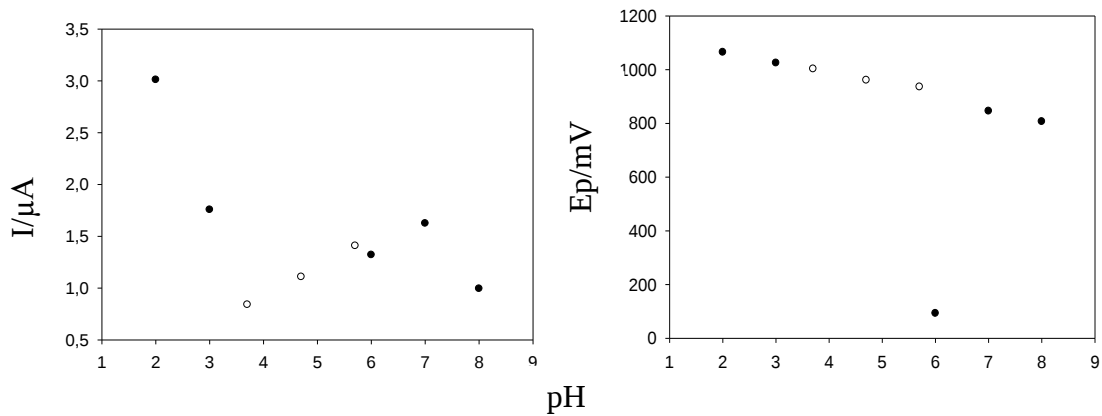
bağıntısı ile elde edilmiştir.

Eğimin 30 mV/pH' ya yakın olması, yükseltgenme reaksiyonunun eşit proton ve elektron ile gerçekleştiğini göstermektedir. Şekil 3.19'a baktığımızda  $5 \times 10^{-5}$  M sorafenib tosilat'ın (pH 7,0 + 50 % metanol) Kitosan+ÇDKNT-COOH/CKE ile alınan dönüşümlü voltamogramında ana pik (1,0 V) oluşumundan sonra tersinir pik oluşmuş ve ana pik kaybolmuştur. Tersinir pik oluşumu perde baskılı elektrot kullandığımızda daha rahat gözlemlenmiştir (Şekil 3.19b).



**Şekil 3.19.**  $5 \times 10^{-5}$  M sorafenib tosilat'ın 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0 + 50 % metanol) a) Kitosan+ÇDKNT-COOH/CKE ve b) Perde baskılı elektrot ile alınan dönüşümlü voltamogramları

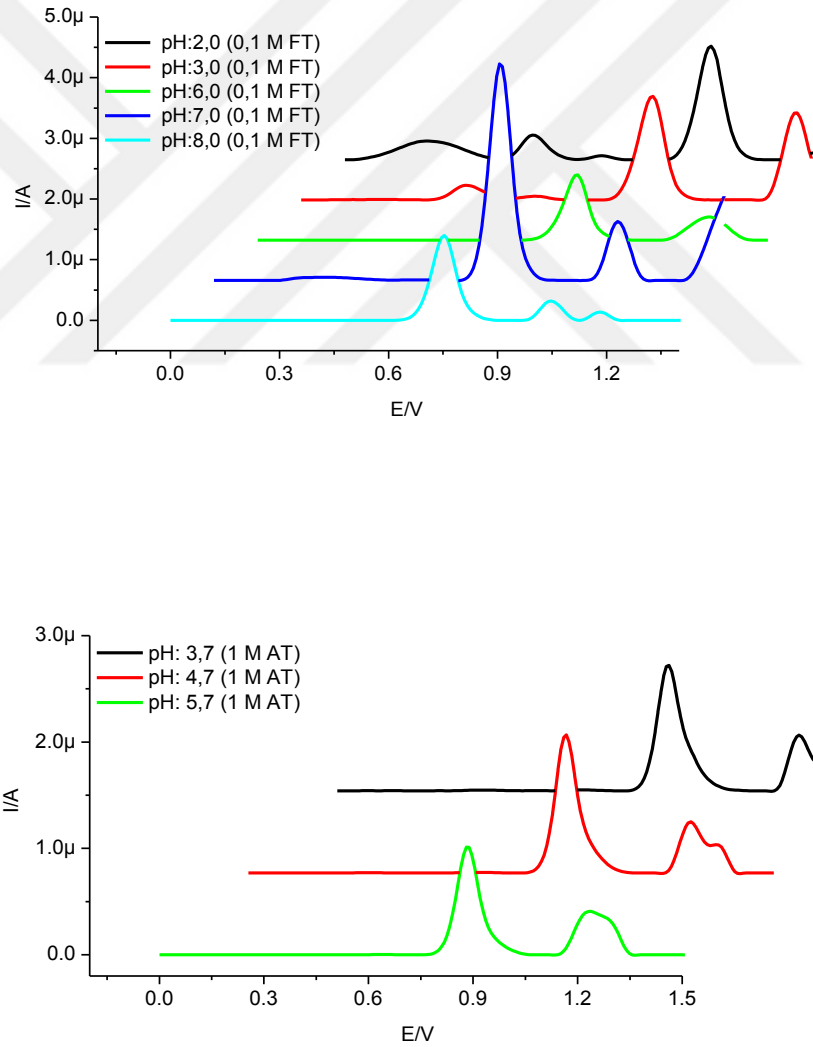
DV yöntemiyle pH tarama ile elde edilen sonuçlarına göre sorafenib tosilat'ın pik akımı en yüksek pH 2,0 fosfat tamponunda çıkmıştır (Şekil 3.20).



**Şekil 3.20.**  $5 \times 10^{-5}$  M sorafenib tosilat'ın anodik pik potansiyelinin ve akımının pH değişimine karşı grafiği (0,1 M fosfat pH 2,0; 3,0; 6,0; 7,0; 8,0 ve 1 M asetat tamponu pH 3,7; 4,7; 5,7 )

### 3.2.2.2. Sorafenib Tosilat Etken Maddesinin Diferansiyel Puls Voltametri Yöntemiyle Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi

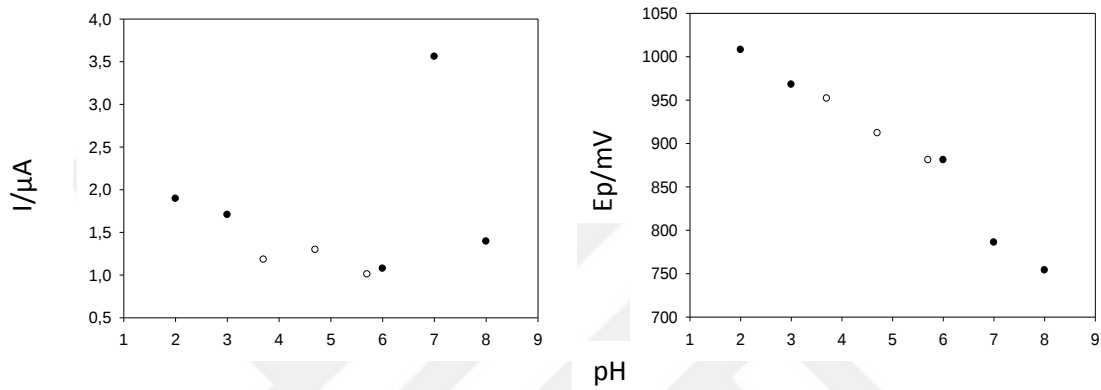
Sorafenib tosilat'ın pik akımı ve potansiyeline ortamın etkisi DPV yöntemiyle de araştırılmıştır (Şekil 3.21) ve sonuçlar grafiğe geçirilmiştir (Şekil 3.22). Pik potansiyeli ile pH değişimi arasında DV ile elde edilen bağıntıya benzer bir bağıntı bu yöntem ile de elde edilmiştir.



**Şekil 3.21.**  $5 \times 10^{-5}$  M sorafenib tosilat etken maddesinin etken maddesinin farklı pH değerlerine sahip 0,1 M fosfat (FT) ve 1 M asetat (AT) ortamındaki DP voltamogramları

$$E_p = 1081,0 - 35,5 \text{ pH}; r = 0.997 \text{ (pH 2,0-8,0, DPV)}$$

Eğimin 30 mV/pH' ya yakın olması, yükseltgenme reaksiyonunun eşit proton ve elektron ile gerçekleştiğini göstermektedir.



**Şekil 3.22.**  $5 \times 10^{-5}$  M sorafenib tosilat etken maddesinin DPV yöntemiyle elde edilen anodik pik potansiyelinin ve akımının pH değişimine karşı grafiği

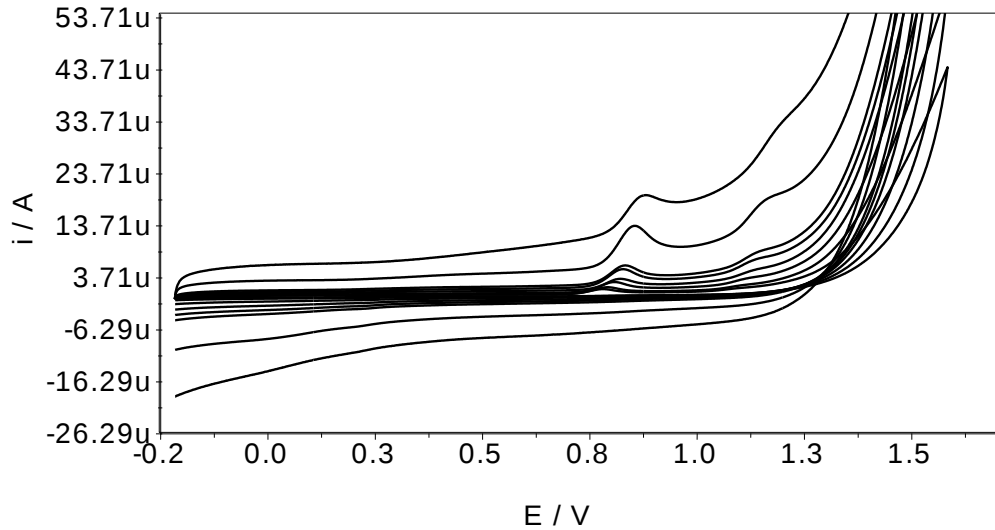
### 3.2.2.3. Sorafenib Tosilat Etken Maddesinin Kare Dalga Voltametri Yöntemiyle Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi

KDV yöntemiyle alınan sonuçlar oldukça gürültülü ve sorafenib tosilat cevabı DPV yöntemine göre oldukça düşük bulunmuştur. Bu nedenle bu yöntem ile devam edilememiştir.

### 3.2.3. Sorafenib Tosilat Etken Maddesinin Dönüşümlü Voltametri Yöntemiyle Hız Taraması Çalışmasının İncelenmesi

0,1 M fosfat tamponunda (pH 7.0) sorafenib tosilat 'ın pik potansiyelinin ve akımının tarama hızından nasıl etkilendiği dönüşümlü voltametri yöntemi kullanılarak araştırılmıştır (Şekil 3.23). Ayrıca bu çalışmalar ile etken maddenin elektrot yüzeyinde difüzyon veya adsorpsiyon kontrollü olup olmadığı aydınlatılmıştır. Artan tarama hızı ile  $5 \times 10^{-5}$  M sorafenib tosilat çözeltisinin pik potansiyelinin de arttığı gözlenmiştir. Pik akımının tarama hızı ile ilişkisi doğrusal olarak bulunmuştur.

Pik akımı ile tarama hızı ( $5\text{-}500 \text{ mVs}^{-1}$ ) arasındaki ilişki incelendiğinde doğrusal bir davranış göstermiştir. Bu da sorafenib tosilat'ın elektrot yüzeyindeki reaksiyonunun adsorpsiyon kontrollü olarak gerçekleştiğini göstermiştir (Hammam, 2002).



Şekil 3.23.  $5\text{-}500 \text{ mVs}^{-1}$  aralığında artan tarama hızları ile alınan  $5 \times 10^{-5}$  M sorafenib tosilat'a ait dönüşümlü voltamogramlar.

$$I_p (\mu\text{A}) = 0.021 v + 0.811 \quad (r = 0.993) \quad 0,1 \text{ M fosfat tamponu (pH 7.0)}$$

Adsorpsiyon kontrollü bir rekasiyon çıktığı için adsorptif sıyırma voltametri uygulanmış ve sorafenib tosilat'ın pik akımının arttığı gözlenmiştir. Sorafenib tosilat'ın anodik potansiyeli ( $E_p$ ), tarama hızı arttıkça daha pozitif potansiyellere doğru kaymıştır. Aşağıda tarama hızı ile pik potansiyeli arasındaki bağıntı verilmiştir.

$$E_p (V) = 0.049 \log v + 0.750 \quad (r = 0.993) \quad 0,1 \text{ M fosfat tamponu (pH 7.0)}$$

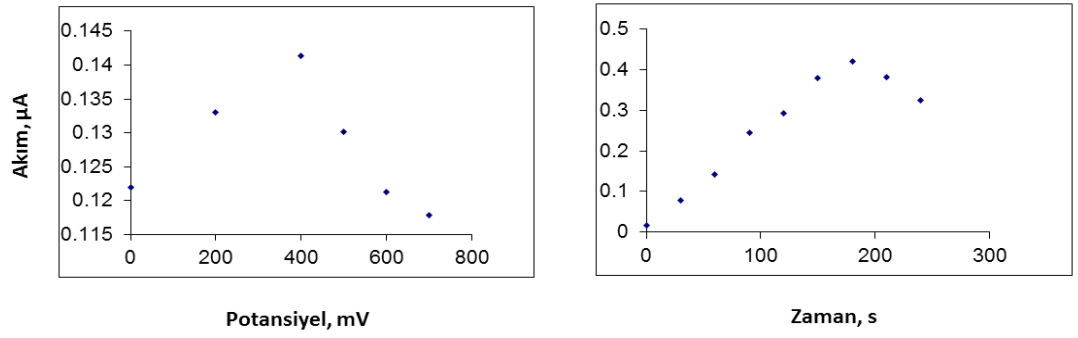
Bu bağıntı kullanılarak sorafenib tosilat'ın anodik reaksiyonunda gerçekleşen elektron sayısı 2,4 olarak bulunmuştur. Bu sayı da 2'ye oldukça yakın olduğundan reaksiyondaki elektron sayısı 2 olarak kabul edilmiştir.

#### **3.2.4. Sorafenib Tosilat Etken Maddesi Cevabına Adsorptif Sıyırma Diferansiyel Puls Voltametrisi Yönteminin Optimizasyonunun Etkisi**

##### **Biriktirme potansiyeli ve süresinin etkisi**

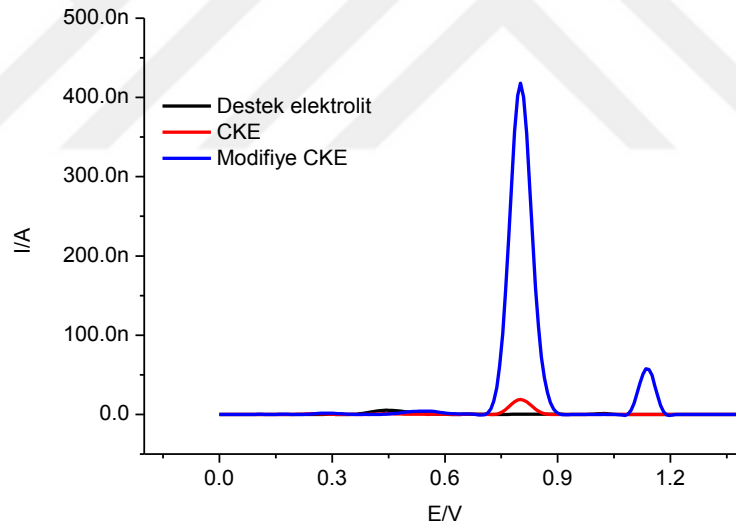
Sorafenib tosilat'ın elektrot yüzeyindeki reaksiyonu adsorpsiyon kontrollü olduğundan dolayı analizlerde adsorptif sıyırma diferansiyel puls voltametrisi yöntemi kullanılmıştır. Biriktirme potansiyeli ve süresinin optimize edilmesi gerekmiştir.

$5 \times 10^{-6}$  M sorafenib tosilat çözeltisinde anodik pik akımına biriktirme potansiyelinin ve süresinin etkisi incelenmiştir. Şekil 3.24'de görüldüğü üzere maksimum anodik pik akımı 400 mV 180 s' de elde edilmiştir. Daha sonraki deneylere bu parametreler ile devam edilmiştir.



**Şekil 3.24.**  $5.00 \times 10^{-6}$  M sorafenib tosilat varlığında 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0) Kitosan/ÇDKNT-COOH/CKE ile optimize edilen  $E_{acc}$  ( $t_{acc}$ : 180 s) (a) ve  $t_{acc}$  ( $E_{acc}$ : 400 mV)

Şekil 3.25'de gösterildiği gibi biriktirme potansiyeli ve süresinin optimizasyonu ile modifiye elektrodun modifiye edilmemiş CK elektroda göre cevabı yaklaşık 22 kat artırılmıştır.



**Şekil 3.25.**  $5 \times 10^{-6}$  M sorafenib tosilat'ın 0.1M fosfat tamponunda (pH:7,0; %50 metanol) CKE ve Kitosan/ÇDKNT-COOH/CKE ile alınan AdSDP voltamogramları

### 3.2.5. Sorafenib Tosilat Etken Maddesinin Adsorptif Sıyırma Diferansiyel Puls Voltametrisi Yöntemi ile Analizi

Optimum parametreler belirlendikten sonra sorafenib tosilat maddesinin anodik pik akımının değişen derişimiyle doğru orantılı olduğu saptanmıştır (Şekil 3.26).

TS ve TAS değerleri kalibrasyon verilerinden yola çıkarak hesaplanmıştır. Aşağıda verilen formüller kullanılmıştır.

$$TS = \frac{(3 \times s_b)}{m} \quad TAS = \frac{(10 \times s_b)}{m}$$

Burada  $s_b$ , en düşük derişimdeki etken madde voltamogramlarından elde edilen akım değerlerinin standart sapmasını,  $m$  ise kalibrasyon doğrusunun eğimini göstermektedir (Ozkan, 2012; Karadas ve ark., 2012).

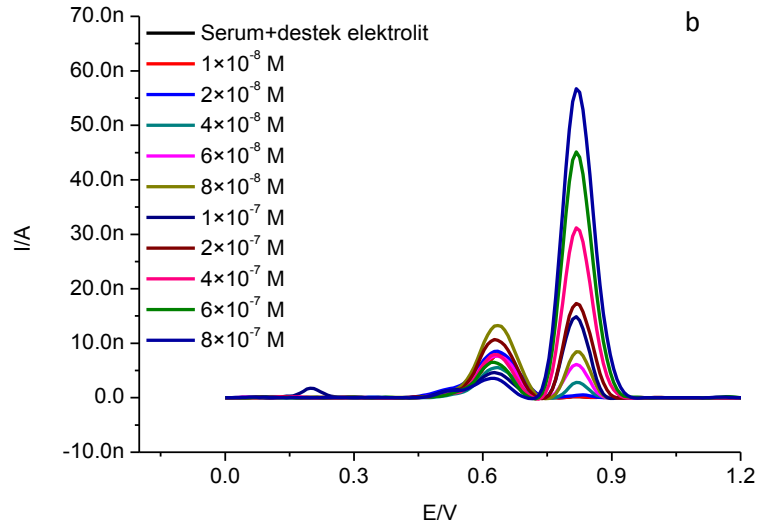
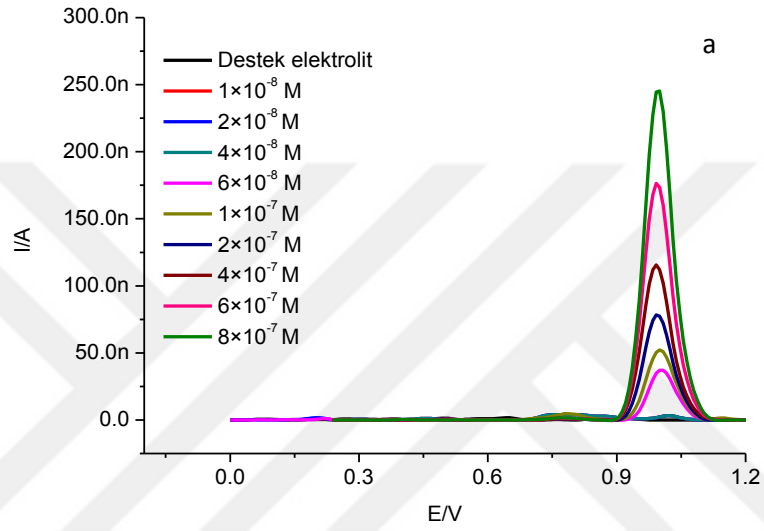
0,1 M fosfat tamponunda (pH 7.0) iki farklı kalibrasyon doğrusal aralığı bulunmuştur. Kalibrasyon hem standart madde ile hem de serum ortamında yapılmıştır. Kalibrasyonun 1. doğrusal aralığı  $1.00 \times 10^{-8}$  M -  $8.00 \times 10^{-8}$  M ve 2. doğrusal aralığı  $1 \times 10^{-7}$  -  $8 \times 10^{-7}$  M olarak bulunmuştur. İki farklı ortamdaki doğrulara ait pik akımı derişim ilişkileri aşağıda verilmiştir. Çizelge 3.4'de kalibrasyon eğrileriyle ilgili validasyon parametreleri verilmiştir.

$I_p (\mu A) = 517 C (mM) - 0.006$  ( $r=0.994$ ) (0,1 M fosfat tamponu; pH 7,0; 1. doğru)

$I_p (\mu A) = 277 C (mM) + 0.018$  ( $r=0.997$ ) (0,1 M fosfat tamponu; pH 7,0; 2. doğru)

$I_p (\mu A) = 126 C (mM) - 0.002$  ( $r=0.992$ ) (Serum örneğinde; 1.doğru)

$I_p (\mu A) = 62 C (mM) + 0.007$  ( $r=0.997$ ) (Serum örneğinde; 2. doğru)



**Şekil 3.26.** a) Standart madde ve b) Serum örneğindeki artan derişimlerdeki sorafenib tosilat etken maddesinin 0,1 M fosfat tamponunda AdSDP voltamogramları

**Çizelge 3.4.** Sorafenib tosilat etken maddesinin AdSDPV yöntemi kullanılarak 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0) Kitosan/ÇDKNT-COOH/CKE ile elde edilen kalibrasyon doğrusuna ait regresyon analizi sonuçları ve validasyon parametreleri

| Parametreler                                   | Kitosan/ÇDKNT-COOH/CKE                |                                       |                                       |                                       |
|------------------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
|                                                | AdSDPV                                |                                       |                                       |                                       |
|                                                | Standart                              |                                       | Serum                                 |                                       |
| Doğrusal aralık (M)                            | $1 \times 10^{-8} - 8 \times 10^{-8}$ | $1 \times 10^{-7} - 1 \times 10^{-6}$ | $1 \times 10^{-8} - 8 \times 10^{-8}$ | $1 \times 10^{-7} - 8 \times 10^{-7}$ |
| Eğim ( $\mu A.M^{-1}$ )                        | 517000                                | 276748                                | 126187                                | 62450                                 |
| Kesişim ( $\mu A$ )                            | 0,0062                                | 0,0179                                | 0,0016                                | 0,007                                 |
| Korelasyon katsayısı                           | 0,994                                 | 0,997                                 | 0,992                                 | 0,997                                 |
| Eğimin standart hatası ( $\times 10^3$ )       | 34,2                                  | 11,6                                  | 9,40                                  | 2,90                                  |
| Kesişimin standart hatası ( $\times 10^{-3}$ ) | 1,68                                  | 7,06                                  | 0,462                                 | 1,43                                  |
| TS (M)                                         | $4,4 \times 10^{-10}$                 |                                       | $9,6 \times 10^{-10}$                 |                                       |
| TAS (M)                                        | $1,5 \times 10^{-9}$                  |                                       | $3,2 \times 10^{-9}$                  |                                       |
| Ölçülen potansiyel Ep (mV)                     | 817                                   | 817                                   | 770                                   | 754                                   |
| Gün içi pik potansiyeli (Ep) (BSS %)*          | 0,5                                   |                                       | 0,4                                   |                                       |

---

**Çizelge 3.4'ün devamı**

|                                           |      |      |
|-------------------------------------------|------|------|
| Günlerarası pik potansiyeli (Ep) (BSS %)* | 0,6  | 0,5  |
| Gün içi pik akımı (Ip) (BSS %)*           | 1,25 | 2,55 |
| Günler arası pik akımı (Ip) (BSS %)*      | 2,1  | 2,6  |

\* 5 değerden hesaplanmıştır.

### 3.2.6. Sorafenib Tosilat Etken Maddesinin Adsorptif Sıyırma Diferansiyel Puls Voltametrisi Yöntemiyle İnsan Serum Çalışmaları

Geliştirilen yöntemin uygulanabilirliği insan serumunda yapılmıştır. Serum örneğindeki analiz Çizelge 3.5’de verilmiştir. Sonuçlara bakıldığında insan serumundaki sorafenib tosilat maddesinin geri kazanımı oldukça yüksek bulunmuştur. Bu da yöntemimizin doğruluğunu ve kesinliğini göstermektedir.

**Çizelge 3.5.** AdSDPV yöntemi kullanılarak 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0) Kitosan/ÇDKNT-COOH/CKE ile sorafenib tosilat etken maddesi içeren insan serumundan elde edilen geri kazanım sonuçları

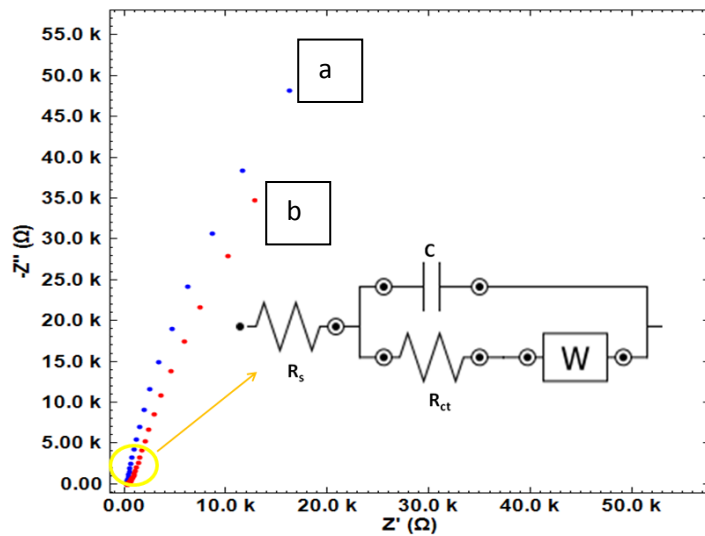
| Analit | Matriks | Eklenen (µM) | Bulunan (µM) | Geri kazanım % | BSS (%) | Bağıl hata (%) |
|--------|---------|--------------|--------------|----------------|---------|----------------|
| SOR    | Serum   | 0,400        | 0,390        | 97,45          | 0,03    | -0,03          |

### 3.2.7. Girişim Maddelerinin Sorafenib Tosilat Etken Maddesi Cevabına Etkisi

Geliştirilen yöntem ve sensör ile olası girişim yapabilecek türlerin sorafenib tosilatın cevabını nasıl etkileyebileceği de araştırılmıştır.  $1 \times 10^{-6}$  M sorafenib tosilat ile farklı oranlarda  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ , ürik asit ve dopamin kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara bakıldığında, iyon ve ürik asitin sorafenib cevabını 100 kat derişim fazlalığında bile etkilemediği gözlemlenmiştir. Dopamin ise sorafenib tosilat ile derişim oranı 1:1 ve 1:10 olduğunda etkilemeyip, 1:100 olduğunda etkilemiştir.

### 3.2.8. Modifiye Camsı Karbon Elektrodun Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi ile Karakterizasyonu

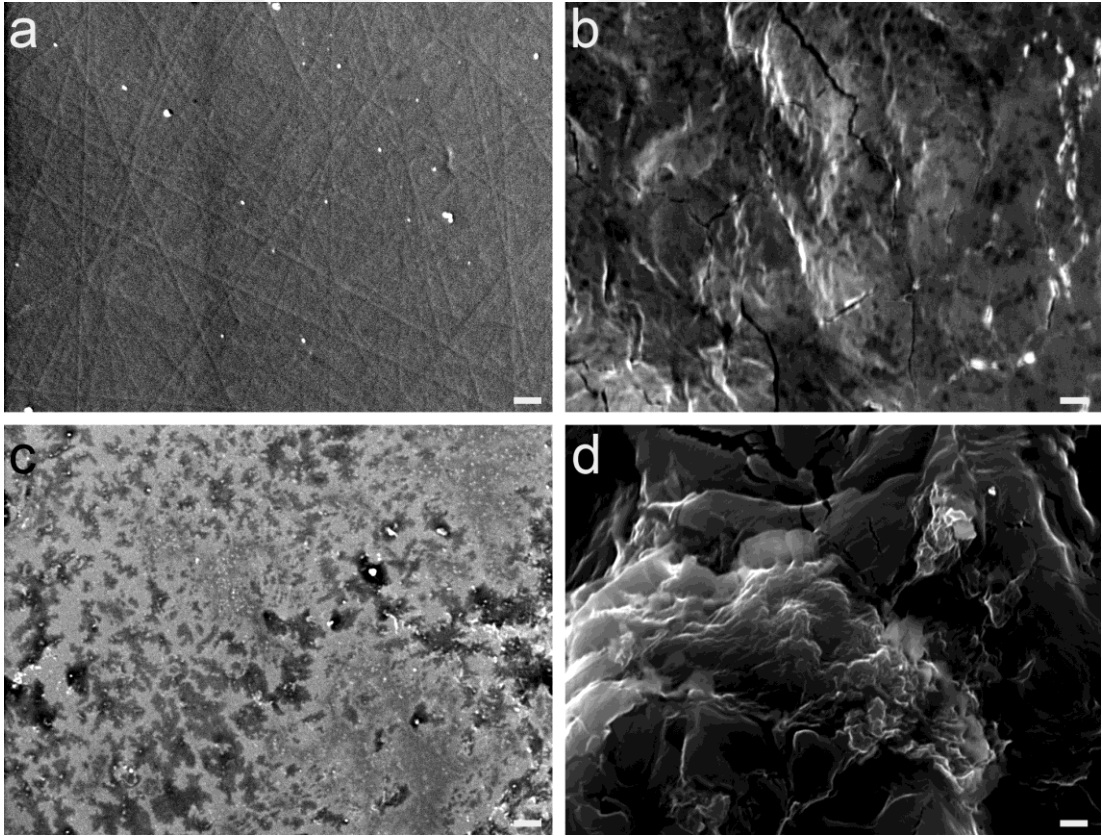
CKE ve Kitosan/ÇDKNT-COOH/CKE yüzey morfolojileri EIS ölçümleriyle karakterize edilmiştir. Deneyler, 5 mM potasyum ferrosiyanyür/5 mM potasyum ferrisiyanür redoks çiftinin 0,1 M KCl (1:1) çözeltisinde hazırlanarak, 100 kHz ile 0,1 Hz frekans aralığında yapılmıştır. Elektrolit çözeltinin direnci  $R_s$ , çift tabaka kapasitansı  $C_{dl}$ , electron transfer resistansı  $R_{ct}$  ve Warburg impedansı  $Z_w$  ile gösterilmiştir.  $Z_w$ , elektrolit ortamındaki analitin, elektrot ile çözelti arasındaki ara yüzeye difüzyonunu göstermektedir. Şekil 3.24'e baktığımızda Nyquist diyagramında CKE ve Kitosan/ÇDKNT-COOH/CKE birbirinden farklı davranışlar göstermişlerdir (Şekil 3.27). CKE için yük transfer direnci 105 k $\Omega$ , Kitosan/ÇDKNT-COOH/CKE için ise bu değer azalarak 56 k $\Omega$  olarak bulunmuştur. Aşağıdaki şekilde randles eşdeğer devreyi göstermektedir. Yük transfer direncinin düşmesi, elektrot-çözelti arayüzünde elektron transferinin düştüğünü göstermektedir. Geliştirilen modifikasyon ile daha yüksek iletkenlik sağlanmış ve elektron transferi kolaylaşmıştır. Aynı zamanda daha fazla yüzey alanı elde edilmiştir.



Şekil 3.27. EIS yöntemi kullanılarak a) CKE ve b) Kitosan/ÇDKNT-COOH/CKE ile elde edilen Nyquist diyagramları

### 3.2.9. Modifiye Camsı Karbon Elektrodun Taramalı Elektron Mikroskopi ile Karakterizasyonu

CKE, Kitosan/CKE, ÇDKNT-COOH/CKE, Kitosan/ÇDKNT-COOH/CKE yüzey morfolojileri taramalı elektron mikroskopi ile 1 µm bar ölçeğinde incelenmiştir. Şekil 3.28’de verilen görüntülere bakıldığında elektrot yüzeylerinin birbirinden farklı olduğu gözükmemektedir. ÇDKNT-COOH’ün elektrot yüzeyini yoğun bir şekilde kaplamış ve kitosan da nanotüp ile içiçe girerek bir kompozit oluşturmuştur.



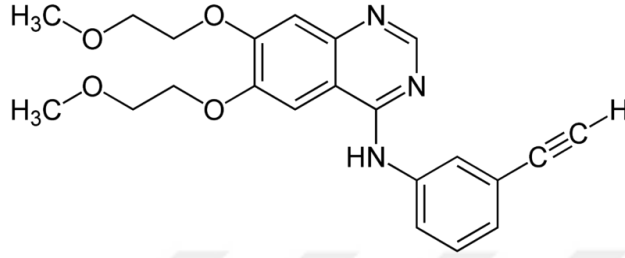
**Şekil 3.28.** a) CKE; b) Kitosan/CKE; c) ÇDKNT-COOH/CKE; d) Kitosan/ÇDKNT-COOH/CKE ile alınan taramalı elektron mikroskopi görüntüleri.

### 3.2.10. Elektrot Kararlılığının Araştırılması

Kitosan/ÇDKNT-COOH/CK elektrodunun kararlılığı,  $4 \times 10^{-7}$  M sorafenib tosilat'ın 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0) 10 gün boyunca çözeltiler taze hazırlanıp, ölçümler alınarak araştırılmıştır. Deney sonrasında elektrot oda koşullarında muhafaza edilmiştir. 10 gün boyunca 7 ayrı ölçüm alınarak bunların bağıl standart sapması % 2,2 olarak bulunmuştur. Bu da elektrodun sorafenib tosilat analizinde kararlı olduğunu göstermiştir.

### 3.3. Erlotinib Hidroklorür Etken Maddesine Ait Bulgular

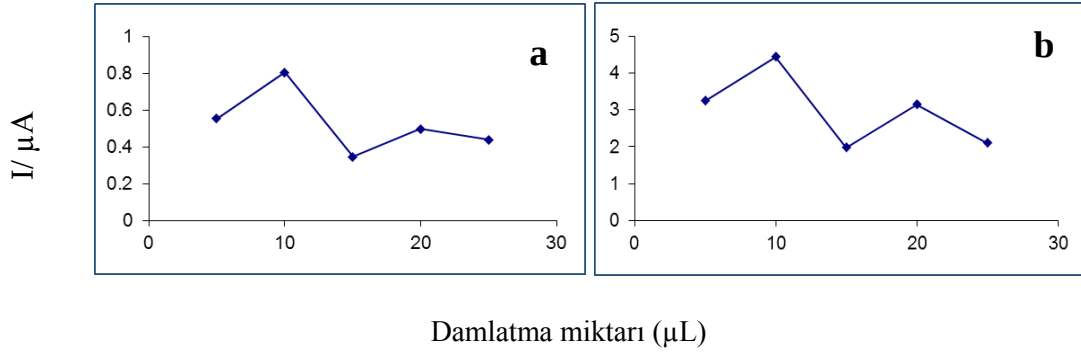
Erlotinib Hidroklorür etken maddesine ait bulgular aşağıda verilmiştir.



Şekil 3.29. Erlotinib Hidroklorür etken maddesinin kimyasal yapısı

#### 3.3.1. Erlotinib Hidroklorür Etken Maddesi Cevabının Farklı Elektrotlarda Karşılaştırılması

2 mL 0,01 M  $\beta$ -siklodekstrin distile su içerisinde hazırlanarak CKE yüzeyine farklı hacimlerde damlatılmıştır. 5–25  $\mu$ L damlatma miktarları arasındaki  $\beta$ -siklodekstrinin CKE yüzeyinde oluşturduğu filmlerin cevapları  $1 \times 10^{-5}$  M ERT'in 0,1 M fosfat tamponunda DPV ve KDV yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır (Şekil 3.30).



**Şekil 3.30.**  $\beta$ -siklodekstrinin CKE yüzeyine 5-25  $\mu$ L hacimlerde damlatma miktarları ile bu elektrotlar kullanılarak 0,1M fosfat tamponunda  $1 \times 10^{-5}$  M ERT'in a) DPV b) KDV yöntemleriyle elde edilen akım değerleri

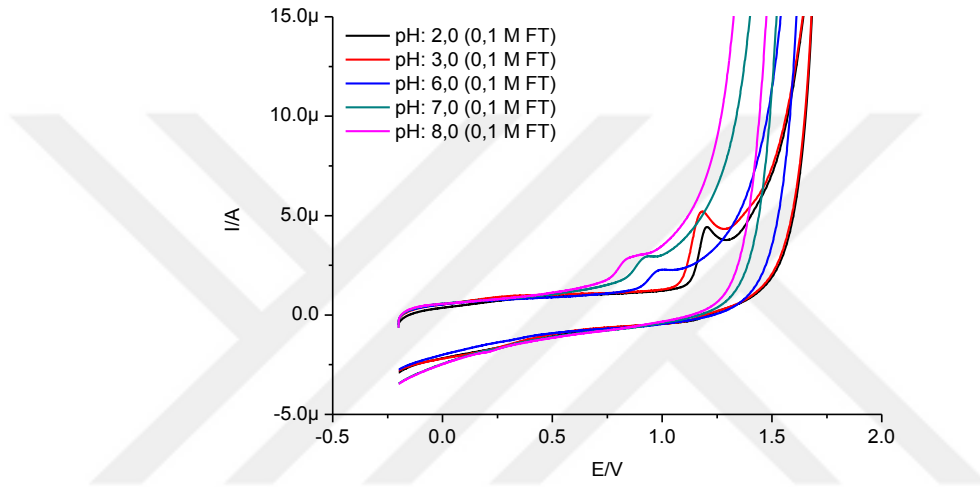
Her iki voltametrik yöntemle de 10  $\mu$ L hacimlerde damlatma miktarı optimum bulunmuştur. Bundan sonra modifikasyon işleminde bu hacim baz alınmıştır.

### 3.3.2. Erlotinib Hidroklorür Etken Maddesinin Elektrokimyasal Davranışının Voltametrik Yöntemler ile İncelenmesi

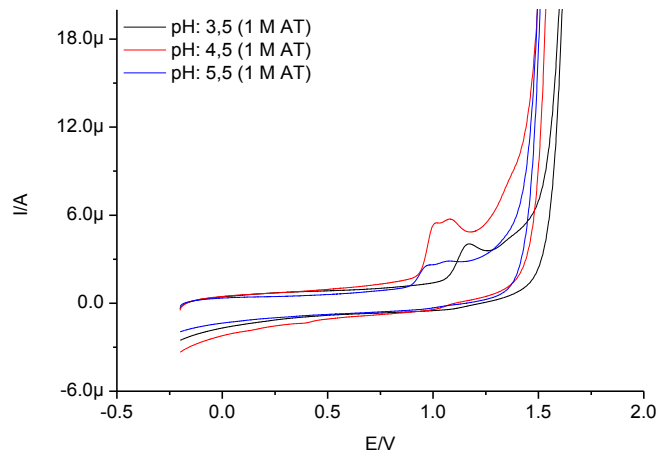
Erlotinib hidroklorür etken maddesinin redoks davranışı DV, DPV, SWV yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır. Aşağıdaki bölümlerde ayrıntılı bir şekilde anlatılmıştır.

### 3.3.2.1. Erlotinib Hidroklorür Etken Maddesinin Dönüşümlü Voltametri Yöntemiyle Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi

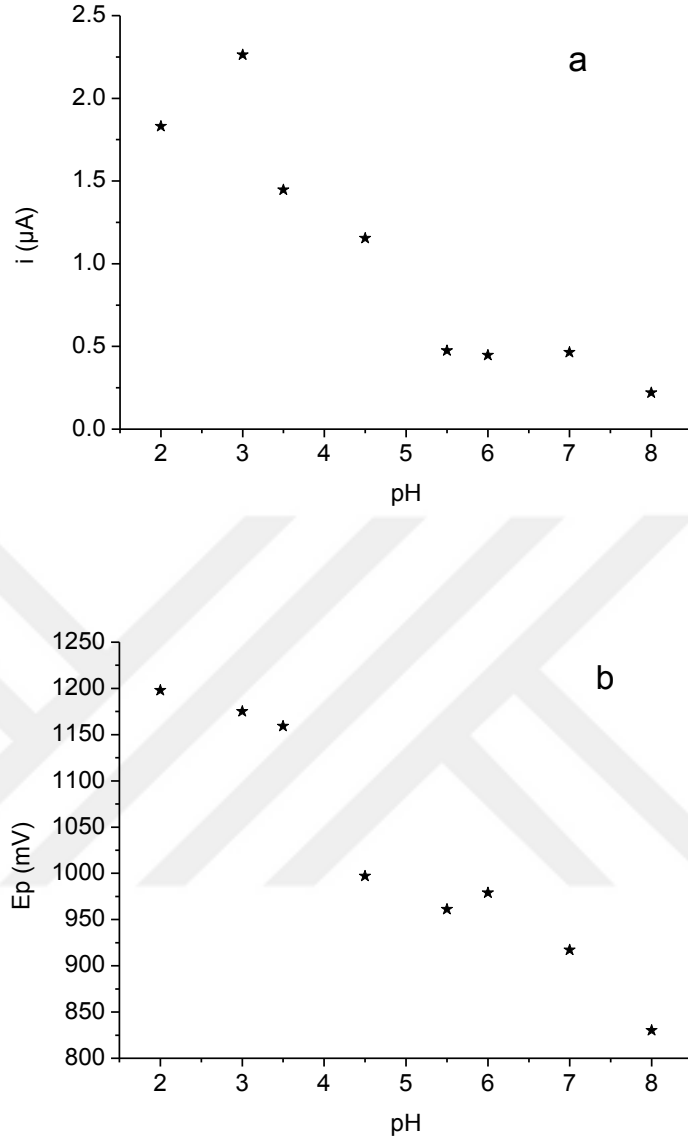
Destek elektroliti ve pH değeri, erlotinib hidroklorür'ün anodik cevabı üzerinde etkili olmaktadır. 0,1 M fosfat (2,0; 3,0; 6,0; 7,0; 8,0) ve 1,0 M asetat (3,7; 4,7; 5,7) tamponlarında DV yöntemiyle bu etki araştırılmıştır (Şekil 3.31 ve 3.32).



**Şekil 3.31.**  $5 \times 10^{-5}$  M erlotinib hidroklorür etken maddesinin farklı pH değerlerine sahip 0,1 M fosfat (FT) ortamındaki dönüşümlü voltamogramları; Tarama hızı,  $100 \text{ mV s}^{-1}$



**Şekil 3.32.**  $5 \times 10^{-5}$  M erlotinib hidroklorür etken maddesinin farklı pH değerlerine sahip 1 M asetat (AT) ortamındaki dönüşümlü voltamogramları; Tarama hızı,  $100 \text{ mV s}^{-1}$ .



**Şekil 3.33.** 5×10<sup>-5</sup> M erlotinib hidroklorür'ün anodik pik potansiyelinin ve akımının pH değişimine karşı grafiği (0,1 M fosfat pH 2,0; 3,0; 6,0; 7,0; 8,0 ve 1 M asetat tamponu pH 3,5; 4,5; 5,5)

DV yöntemiyle farklı pH ortamlarında voltamogramlar alınmıştır. Elde edilen sonuçlara göre pH 3,0 fosfat tamponunda anodik pik akımı maksimum bulunmuştur (Şekil 3.33). Erlotinib hidroklorür'ün tersinmez pik potansiyelinin değişen pH ile ilişkisi;

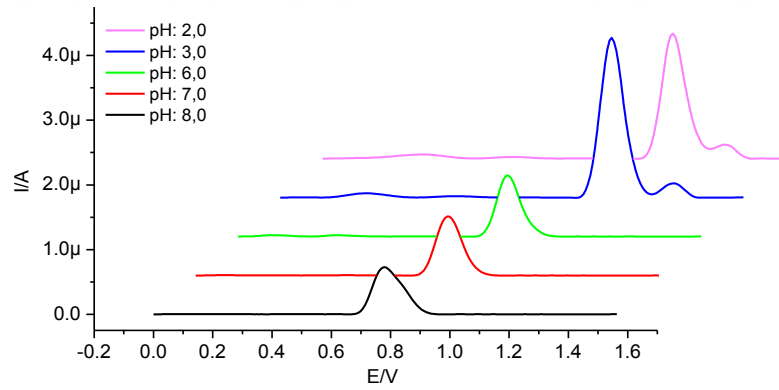
$$E_p = 1340 - 63,4 \text{ pH}; \quad r = 0,989 \quad (\text{pH } 2,0 - 8,0; \text{ DV})$$

bağıntısı ile elde edilmiştir.

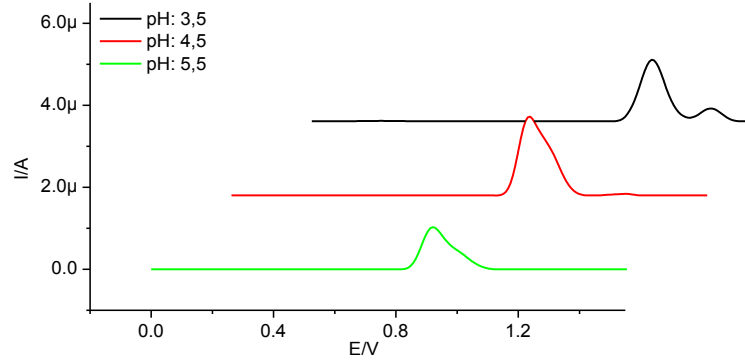
Eğimin 59 mV/pH' ya yakın olması, yükseltgenme reaksiyonunun eşit proton ve elektron ile gerçekleştiğini göstermektedir.

### 3.3.2.2. Erlotinib Hidroklorür Etken Maddesinin Diferansiyel Puls Voltametri Yöntemiyle Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi

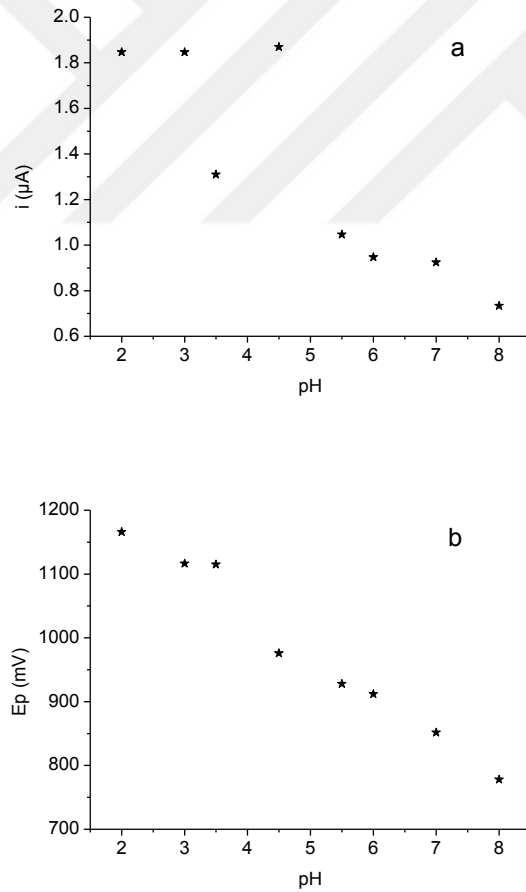
Destek elektroliti ve pH değeri, erlotinib hidroklorür'ün anodik cevabı üzerinde etkili olmaktadır. 0,1 M fosfat (2,0; 3,0; 6,0; 7,0; 8,0) ve 1,0 M asetat (3,7; 4,7; 5,7) tamponlarında DPV yöntemiyle bu etki araştırılmıştır (Şekil 3.34 ve 3.35).



**Şekil 3.34.**  $5 \times 10^{-5}$  M erlotinib hidroklorür etken maddesinin farklı pH değerlerine sahip 0,1 M fosfat (FT) ortamındaki DP voltamogramları



**Şekil 3.35.**  $5 \times 10^{-5}$  M erlotinib hidroklorür etken maddesinin farklı pH değerlerine sahip 1 M asetat (AT) ortamındaki DP voltamogramları



**Şekil 3.36.**  $5 \times 10^{-5}$  M erlotinib hidroklorür etken maddesinin DPV yöntemiyle elde edilen anodik pik potansiyelinin ve akımının pH değişimine karşı grafiği

DPV yöntemiyle farklı pH ortamlarında voltamogramlar alınmıştır. Elde edilen sonuçlara göre pH 3,0 fosfat tamponunda anodik pik akımı maksimum bulunmuştur (Şekil 3.36). Erlotinib hidroklorür'ün tersinmez pik potansiyelinin değişen pH ile ilişkisi;

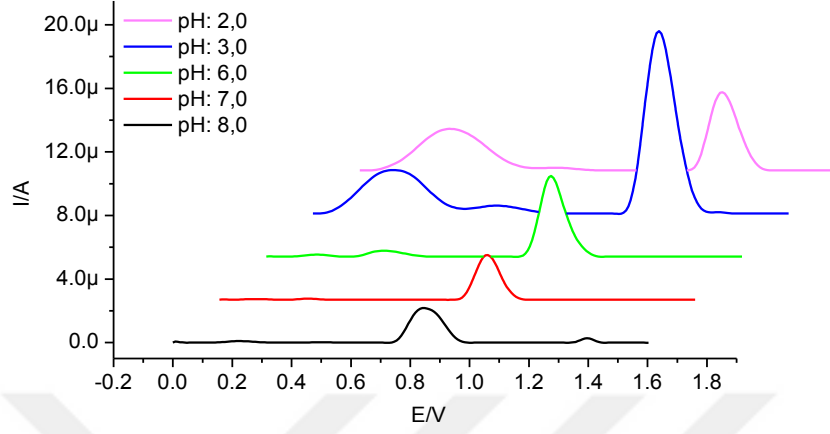
$$E_p = 1311 - 66,9 \text{ pH}; r=0.997 \text{ (pH 2,0-8,0; DPV)}$$

bağıntısı ile elde edilmiştir.

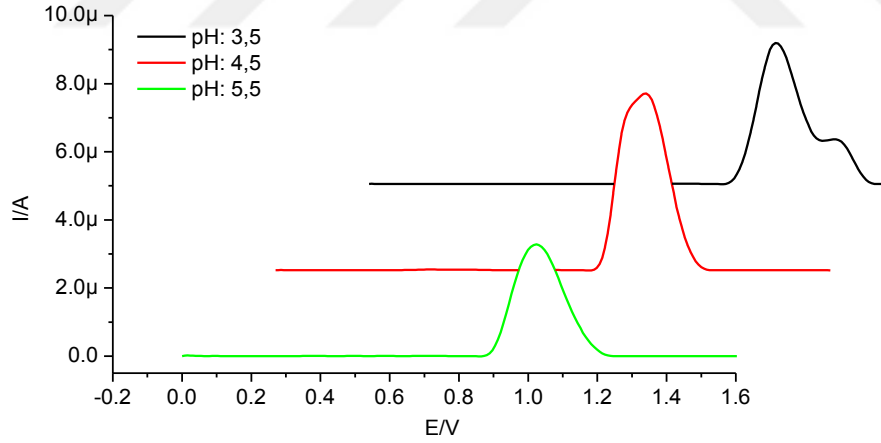
Eğimin 59 mV/pH' ya yakın olması, yükseltgenme reaksiyonunun eşit proton ve elektron ile gerçekleştiğini göstermektedir.

### **3.3.2.3. Erlotinib Hidroklorür Etken Maddesinin Kare Dalga Voltametri Yöntemiyle Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi**

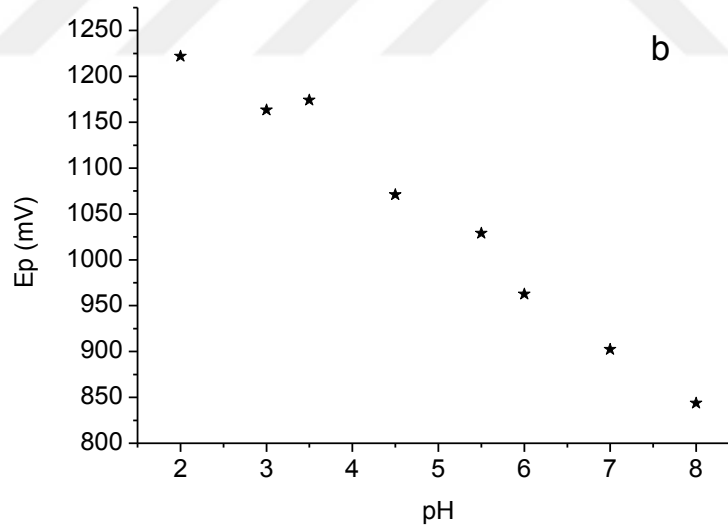
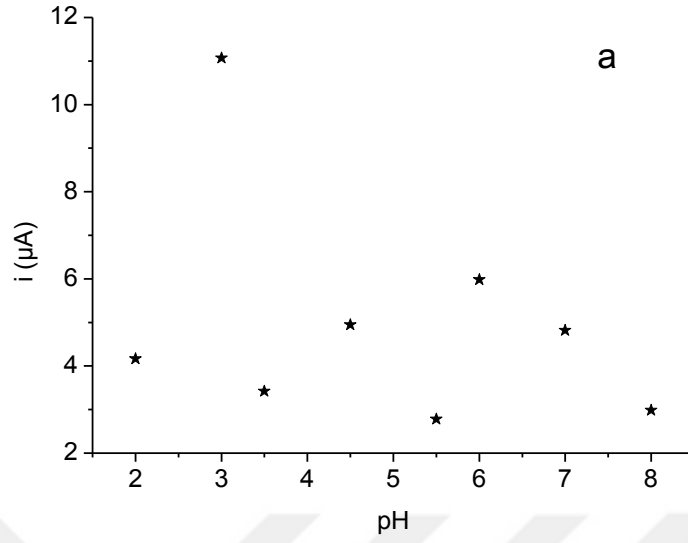
Destek elektroliti ve pH değeri, erlotinib hidroklorür'ün anodik cevabı üzerinde etkili olmaktadır. 0,1M fosfat (2,0; 3,0; 6,0; 7,0; 8,0) ve 1,0 M asetat (3,7; 4,7; 5,7) tamponlarında KDV yöntemiyle bu etki araştırılmıştır (Şekil 3.37 ve 3.38).



**Şekil 3.37.**  $5 \times 10^{-5}$  M erlotinib hidroklorür etken maddesinin farklı pH değerlerine sahip 0,1 M fosfat (FT) ortamındaki KD voltamogramları



**Şekil 3.38.**  $5 \times 10^{-5}$  M erlotinib hidroklorür etken maddesinin farklı pH değerlerine sahip 1 M asetat (AT) ortamındaki KD voltamogramları



**Şekil 3.39.**  $5 \times 10^{-5}$  M erlotinib hidroklorür etken maddesinin KDV yöntemiyle elde edilen anodik pik potansiyelinin ve akımının pH değişimine karşı grafiği

KDV yöntemiyle farklı pH ortamlarında voltamogramlar alınmıştır. Elde edilen sonuçlara göre pH 3,0 fosfat tamponunda anodik pik akımı maksimum

bulunmuştur (Şekil 3.39). Erlotinib hidroklorür'ün tersinmez pik potansiyelinin değişen pH ile ilişkisi;

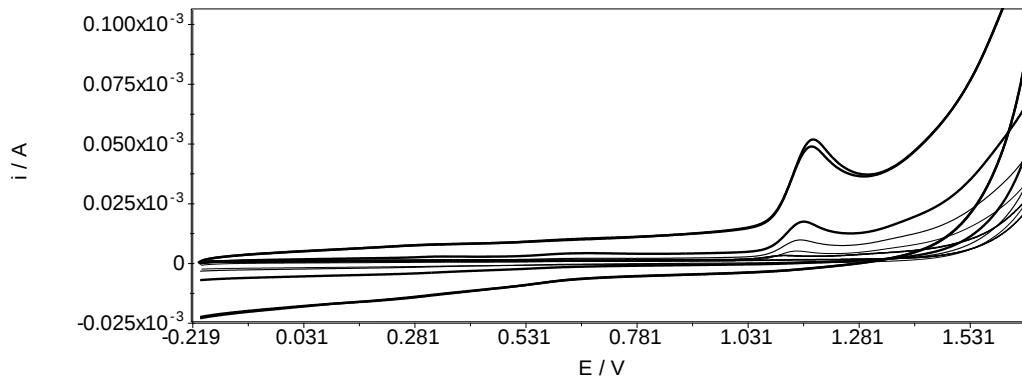
$$E_p = 1371 - 65,7 \text{ pH}; r=0.992 \text{ (pH 2,0-8,0; DPV)}$$

bağıntısı ile elde edilmiştir.

Eğimin 59 mV/pH' ya yakın olması, yükseltgenme reaksiyonunun eşit proton ve elektron ile gerçekleştiğini göstermektedir.

### 3.3.3. Erlotinib Hidroklorür Etken Maddesinin Dönüşümlü Voltametri Yöntemiyle Hız Taraması Çalışmasının İncelenmesi

0,1 M fosfat tamponunda (pH 3,0) erlotinib hidroklorür 'ün pik potansiyelinin ve akımın tarama hızından nasıl etkilendiği dönüşümlü voltametri yöntemi kullanılarak araştırılmıştır (Şekil 3.40). Ayrıca bu çalışmalar ile etken maddenin elektrot yüzeyinde difüzyon veya adsorpsiyon kontrollü olup olmadığı aydınlatılmıştır. Artan tarama hızı ile  $5 \times 10^{-5}$  M erlotinib hidroklorür çözeltisinin pik potansiyelinin de arttığı gözlenmiştir. Pik akımının tarama hızı ile ilişkisi doğrusal olarak bulunmuştur.



**Şekil 3.40.** 5-500 mVs<sup>-1</sup> aralığında artan tarama hızları ile alınan  $5 \times 10^{-5}$  M erlotinib hidroklorür'e ait dönüşümlü voltamogramlar.

Pik akımı ile tarama hızı (5-500 mVs<sup>-1</sup>) arasındaki ilişki incelendiğinde doğrusal bir davranış göstermiştir. Bu da erlotinib hidroklorür'ün elektrot yüzeyindeki reaksiyonunun adsorpsiyon kontrollü olarak gerçekleştiğini göstermiştir (Hammam, 2002).

$$I_p (\mu A) = 18,84v - 29,62 \quad (r = 0.988) \quad 0,1 \text{ M fosfat tamponu (pH 3.0)}$$

Logaritmik pik akımı ile tarama hızı (5-500 mVs<sup>-1</sup>) arasındaki ilişki incelendiğinde yine doğrusal bir davranış görülmüş ve eğimin 1'e yakın olması da elektrot yüzeyinde adsorpsiyon kontrollü bir reaksiyonun gerçekleştiğini göstermiştir.

$$\log I_p (\mu A) = 0,744 \log v - 0,6031 \quad (r = 0.997) \quad 0,1 \text{ M fosfat tamponu (pH 3.0)}$$

Adsorpsiyon kontrollü bir reaksiyon çıktığı için adsorptif voltametri uygulanmış ve erlotinib hidroklorür'ün pik akımının arttığı gözlenmiştir. Erlotinib hidroklorür'ün anodik potansiyeli ( $E_p$ ), tarama hızı arttıkça daha pozitif potansiyellere doğru kaymıştır. Aşağıda tarama hızı ile pik potansiyeli arasındaki bağıntı Laviron bağıntısına göre verilmiştir.

$$E_p = E^{o'} + (2.303RT/\alpha nF) \log (RTk^0/\alpha nF) + (2.303RT/\alpha nF) \log v \quad (\text{Zhang ve Wang, 2000})$$

$$E_p (V) = 0.049 \log v + 0.750 \quad (r = 0.993) \quad 0,1 \text{ M fosfat tamponu (pH 3.0)}$$

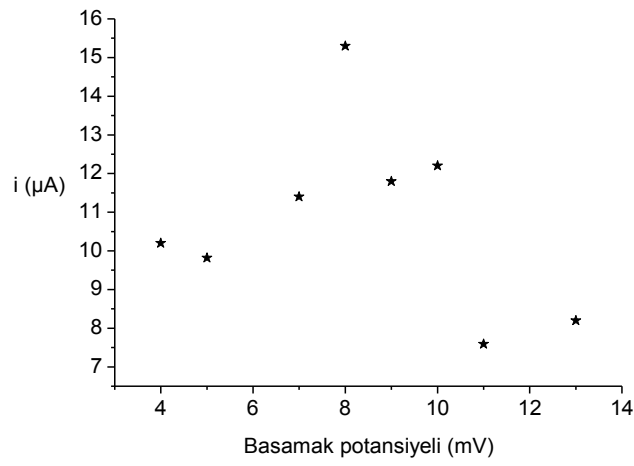
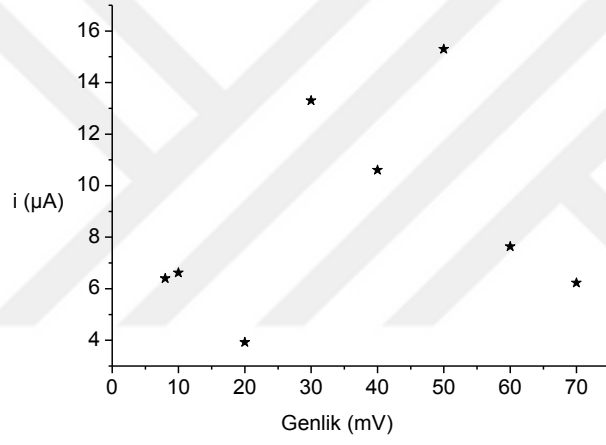
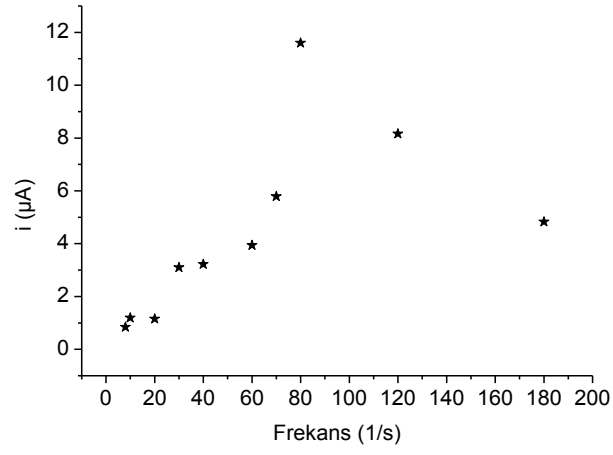
Bu bağıntı kullanılarak erlotinib hidroklorür'ün anodik reaksiyonunda gerçekleşen elektron sayısı 2,41 olarak bulunmuştur. Bu sayı da 2'ye yakın olduğundan reaksiyondaki elektron sayısı 2 olarak kabul edilmiştir.

$$E_p - E_{p/2} = 48/\alpha n \text{ (Greef ve ark., 1990)}$$

Yukarıdaki bağıntı kullanılarak tekrar elektron sayısı hesaplanmış ve 2,18 olarak bulunmuştur böylece Laviron bağıntısı ile elde edilen sonuç ile uyumludur.

#### **3.3.4. Erlotinib Hidroklorür Etken Maddesi Cevabına Kare Dalga Voltametrisi Yöntem Optimizasyonunun Etkisi**

KDV yöntemi ile daha duyarlı cevaplar elde edildiği için bu yöntem ile çalışmalara devam edilmiştir. 0,1 M fosfat tamponunda (pH 3,0) erlotinib hidroklorür'ün pik potansiyelinin ve akımının KDV yöntemi parametrelerinden nasıl etkilendiği araştırılmıştır. Frekans, genlik ve basamak potansiyeli parametrelerinin optimizasyon sonuçları aşağıda Şekil 3.41'de verilmiştir.



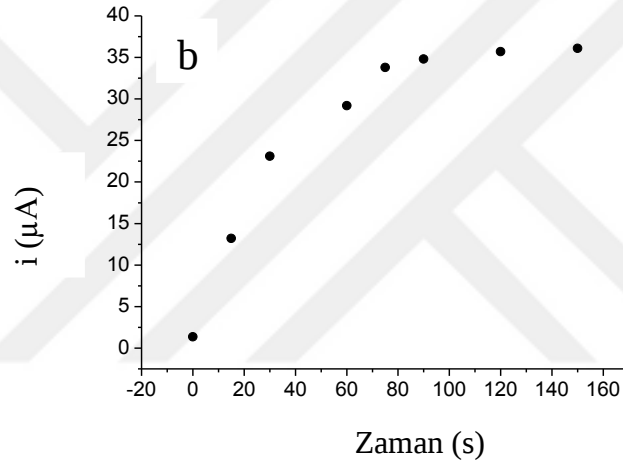
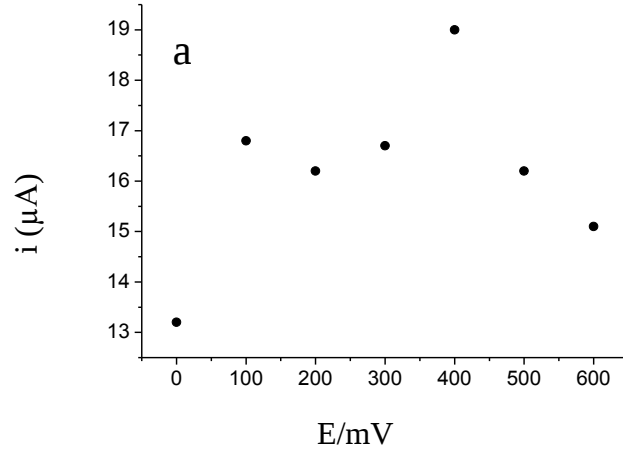
**Şekil 3.41.** KDV yöntemiyle elde edilen frekans, genlik, basamak potansiyeli optimizasyon sonuçları.

KDV yönteminin optimizasyonunda frekans 80 Hz, genlik 50 mV, basamak potansiyeli 8 mV olarak elde edilmiştir. Daha sonraki deneylerde bu parametreler kullanılmıştır.

### **3.3.5. Erlotinib Hidroklorür Etken Maddesinin Adsorptif Sıyırma Kare Dalga Voltametrisi Yöntemi ile Analizi**

#### **Biriktirme potansiyeli ve süresinin etkisi**

Hız taraması çalışmasına göre erlotinib hidroklorür'ün elektrot yüzeyindeki reaksiyonu adsorpsiyon ile gerçekleşmektedir. Bundan dolayı adsorptif sıyırma voltametrisi yönteminin kullanılması gerekmektedir. Bu yöntemde optimizasyonu yapılan KDV'nin potansiyel ve zaman parametrelerinin de  $5 \times 10^{-6}$  M ERT pik potansiyeli ve akımı üzerine etkisi 0,1 M fosfat tamponunda (pH 3,0) incelenmiştir (Şekil 3.42).

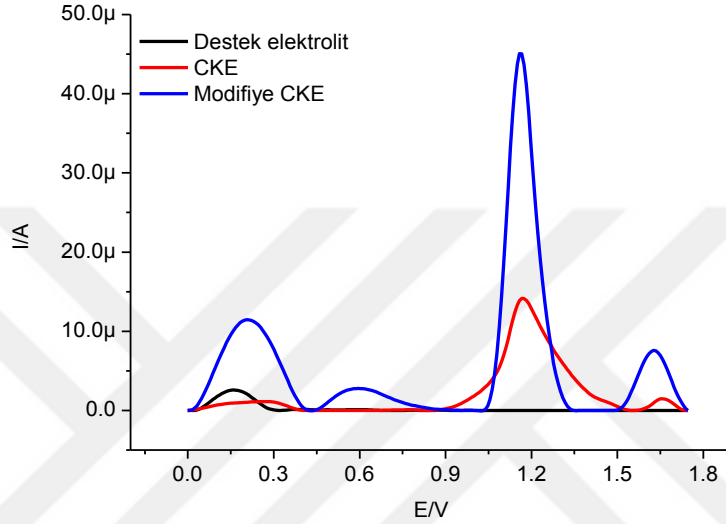


**Şekil 3.42.**  $5.00 \times 10^{-6}$  M erlotinib hidroklorür varlığında 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0)  $\beta$ -siklodekstrin/CKE ile optimize edilen  $E_{acc}$  ( $t_{acc}$ : 75 s) (a) ve  $t_{acc}$  ( $E_{acc}$ : 100 mV)

Optimizasyon sonuçlarına göre 400 mV ve 75 s pik akımının maksimum olduğu değerlerdir.

Yöntem optimizasyonu yapıldıktan sonra kalibrasyon çalışmalarına geçilmiştir.  $1 \times 10^{-8}$  M -  $8 \times 10^{-6}$  M derişim aralığında ERT'in 0,1M fosfat tamponunda (pH 3,0) artan derişimleri ile anodik cevapları alınmıştır.

Geliştirilen yöntem ve sensör aracılığıyla modifiye edilmemiş elektrot ile modifiye edilmiş elektrot karşılaştırılmıştır (Şekil 3.43).  $\beta$ -siklodekstrin/CKE ve CKE ile elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında,  $\beta$ -siklodekstrin ERT cevabını yaklaşık 3,2 kat artırmış, pik şeklini iyileştirerek elektrokatalitik etki (8 mV daha negatif potansiyele kayma) ile elektrot yüzeyindeki reaksiyonu kolaylaştırmıştır.



**Şekil 3.43.** 0,1 M fosfat tamponunda erlotinib hidroklorür yokluğunda CKE;  $8 \times 10^{-6}$  M erlotinib hidroklorür varlığında CKE ve  $\beta$ -siklodekstrin/CKE ile elde edilen AdSKD voltamogramları.

Optimum parametreler belirlendikten sonra erlotinib hidroklorür maddesinin anodik pik akımının değişen derişimiyle doğru orantılı olduğu saptanmıştır (Şekil 3.44).

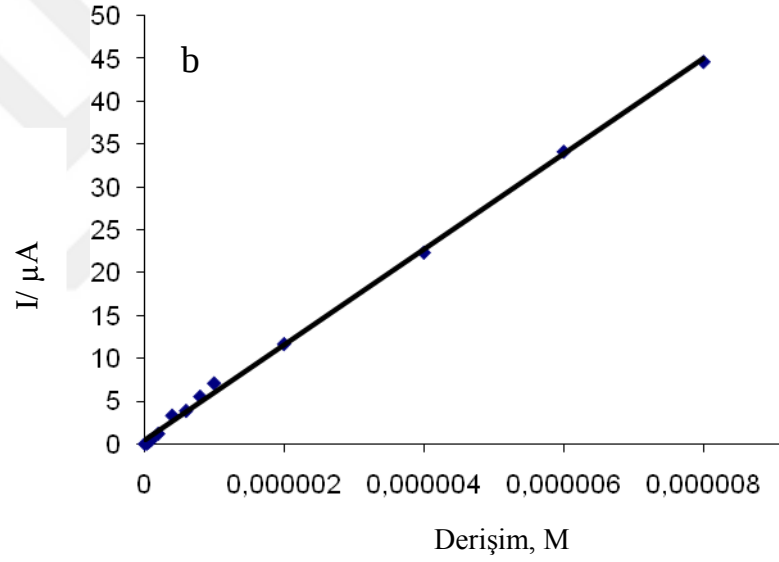
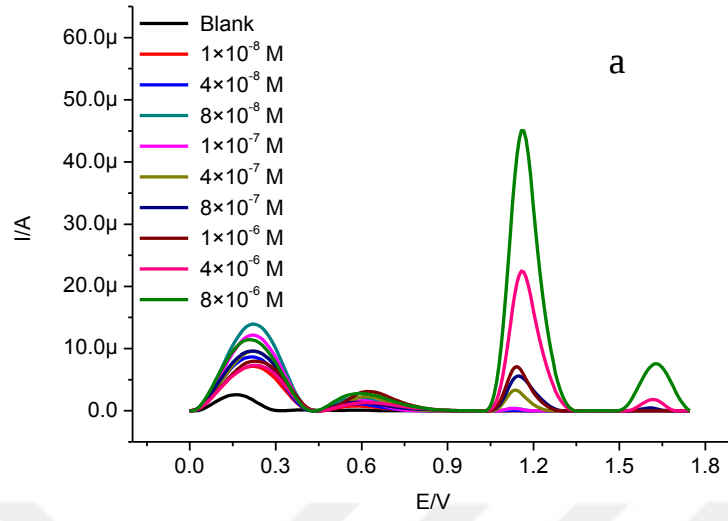
TS ve TAS değerleri kalibrasyon verilerinden yola çıkarak hesaplanmıştır. Aşağıda verilen formüller kullanılmıştır.

$$TS = \frac{(3 \times s_b)}{m} \quad \quad TAS = \frac{(10 \times s_b)}{m}$$

Burada  $s_b$ , en düşük konsantrasyondaki etken madde voltamogramlarından elde edilen akım değerlerinin standart sapmasını,  $m$  ise kalibrasyon doğrusunun eğimini göstermektedir (Ozkan, 2012; Karadas ve ark., 2012).

0,1 M fosfat tamponunda (pH 3,0) doğrusal bir kalibrasyon aralığı bulunmuştur. Kalibrasyonun doğrusal aralığı  $1 \times 10^{-8}$  M -  $8 \times 10^{-6}$  M olarak bulunmuştur. Kalibrasyon doğrusundan elde edilen pik akımı-derişim ilişkisi aşağıda verilmiştir. Çizelge 3.4'de kalibrasyon eğrileriyle ilgili validasyon parametreleri verilmiştir.

$$I_p (\mu A) = 5.59 \times 10^6 C (M) + 0.372 \quad (r=0.999) \quad (0,1 \text{ M fosfat tamponu; pH 3,0})$$



**Şekil 3.44.** a) Erlotinib hidroklorür'ün artan derişimiyle 0,1 M fosfat tamponunda elde edilen AdSKD voltamogramları ve b) kalibrasyon eğrileri

**Çizelge 3.6.** Erlotinib hidroklorür etken maddesinin 0,1 M fosfat tamponunda (pH 3,0) elde edilen kalibrasyon eğrisine ait regresyon analizi sonuçları ve validasyon parametreleri

| Parametreler                          | $\beta$ -siklodekstrin/CKE                  |
|---------------------------------------|---------------------------------------------|
| Ölçülen potansiyel (V)                | 1,158                                       |
| Doğrusal aralık (M)                   | $1,00 \times 10^{-8} - 8,00 \times 10^{-6}$ |
| Eğim ( $\mu A M^{-1}$ )               | $5,59 \times 10^6$                          |
| Kesişim ( $\mu A$ )                   | 0,372                                       |
| Korelasyon katsayısı                  | 0.9993                                      |
| Eğimin standart hatası                | $6,24 \times 10^4$                          |
| Kesişimin standart hatası             | 0,184                                       |
| TS (M)                                | $1,07 \times 10^{-9}$                       |
| TAS (M)                               | $3,58 \times 10^{-9}$                       |
| Gün içi pik akımı (RSD %)*            | 1,97                                        |
| Gün içi pik potansiyeli (RSD %)*      | 0,078                                       |
| Günler arası pik akımı (RSD %)*       | 2,72                                        |
| Günler arası pik potansiyeli (RSD %)* | 0,095                                       |

\*5 değerden hesaplanmıştır.

### 3.3.6. Erlotinib Hidroklorür Etken Maddesinin Adsorptif Sıyırma Kare Dalga Voltametrisi Yöntemiyle Tablet ve Geri Kazanım Çalışmaları

Erlotinib hidroklorür etken maddesi için geliştirilen yöntemin doğruluğunu ve kesinliğini kontrol etmek için tablet ve geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Ayrıca tablet içerisinde bulunan katkı maddelerinin girişim etkisi yapıp yapmadığı da bu çalışmalar ile araştırılmıştır. Geri kazanım çalışmalarında bilinen miktarda etken

madde çözelti ortamına eklenmiştir. Sonuçlar doğrultusunda, tabletteki katkı maddelerinin sonuçları etkilemediği görülmüştür. Bu da geliştirilen yöntemin kesin ve doğru olduğunu ortaya koymuştur (Çizelge 3.7).

**Çizelge 3.7.** 0,1 M fosfat tamponunda (pH 3,0) erlotinib hidroklorür içeren Tarceva® tablet çözeltisinden elde edilen analiz bulgularının sonuçları

| $\beta$ -siklodekstrin/CKE |        |
|----------------------------|--------|
| Etiket miktarı (mg)        | 25,00  |
| Bulunan miktar * (mg)      | 25,04  |
| BSS %                      | 0.664  |
| BH %                       | -0,160 |
| Eklenen (mg)               | 25,00  |
| Bulunan <sup>a</sup> (mg)  | 25,10  |
| Geri kazanım %             | 100,38 |
| Geri kazanımın % BSS       | 0,904  |
| BH%                        | -0,40  |

\* 5 değerden hesaplanmıştır.

### 3.3.7. Girişim Maddelerinin Erlotinib Hidroklorür Etkin Maddesi Cevabına Etkisi

Bazı iyon ve biyolojik moleküllerin etkisini erlotinib hidroklorür ile birlikte inceledik. Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, dopamin, askorbik asit, glikoz ve ürik asit'in farklı derişimlerde çalışmaları yapılmış ve aşağıdaki çizelgede tolerans limitleri erlotinib hidroklorür'ün derişimi ile orantılı olarak verilmiştir. Erlotinib hidroklorür derişimi 4×10<sup>-6</sup> M olarak sabit tutulmuş, iyon ve moleküllerin derişimleri değiştirilerek AdSKDV yöntemiyle

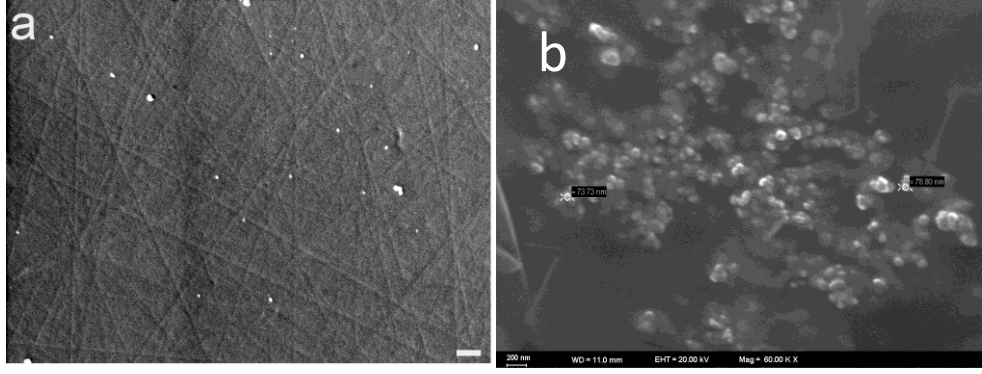
0,1 M fosfat tamponunda (pH 3,0) voltamogramlar alınmıştır. Tolerans limitinin yaklaşık bağıl hata olarak  $\pm 10\%$  olması tayinlerde kabul edilebilmektedir (Lin ve ark., 2008). Çizelge 3.3'de görüldüğü gibi  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  iyonları ile dopamin, askorbik asit, glikoz molekülleri çok fazla oranlarda bile erlotinib hidroklorür'ün cevabını çok etkilemediği görülmüştür. Ürik asit derişiminin 10 kattan daha fazla olması durumunda etken madde cevabı ile girişim yaptığı tespit edilmiştir.

**Çizelge 3.8.** Girişim maddelerinin  $4 \times 10^{-6}$  M erlotinib hidroklorür cevabı üzerindeki tolerans miktarları

|               | Tolerans limiti<br>(Girişim maddesi:ERT) | $\pm\%$ Bağıl Hata |
|---------------|------------------------------------------|--------------------|
| $\text{Na}^+$ | 1000:1                                   | 5,28               |
| $\text{Cl}^-$ | 1000:1                                   | 4,04               |
| Dopamin       | 1000:1                                   | 0,63               |
| Askorbik asit | 1000:1                                   | 6,96               |
| Glikoz        | 100:1                                    | 3,16               |
| Ürik asit     | 10:1                                     | 4,75               |

### 3.3.8. Modifiye Camsı Karbon Elektrodun Taramalı Elektron Mikroskopi ile Karakterizasyonu

CKE ve  $\beta$ -siklodekstrin/CKE yüzey morfolojileri taramalı elektron mikroskopi ile  $1 \mu\text{m}$  bar ölçeğinde incelenmiştir. Şekil 3.45'de verilen görüntülere bakıldığında elektrot yüzeylerinin birbirinden farklı olduğu gözükmemektedir.  $\beta$ -siklodekstrin nanopartiküllerinin elektrot yüzeyini yoğun bir şekilde kaplamış olduğu görülmüştür.



**Şekil 3.45.** a) CKE; b)  $\beta$ -siklodekstrin/CKE ile alınan taramalı elektron mikroskobu görüntüleri.

### 3.3.9. Elektrot Kararlılığının Araştırılması

$\beta$ -siklodekstrin/CK elektrodunun kararlılığı,  $4 \times 10^{-8}$  M erlotinib hidroklorür'ün 0,1 M fosfat tamponunda (pH 3,0) 1 hafta boyunca çözeltiler taze hazırlanıp, ölçümler alınarak araştırılmıştır. Deney sonrasında elektrot oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir. 1 hafta boyunca 7 ayrı ölçüm alınarak bunların bağıl standart sapması % 2,2 olarak bulunmuştur. Bu da elektrodun erlotinib hidroklorür analizinde kararlı olduğunu göstermiştir.

#### 4. TARTIŞMA

Tez çalışması kapsamında kanser hastalığının tedavisinde kullanılan pemetrekset disodyum, sorafenib tosilat ve erlotinib hidroklorür ilaç etken maddelerinin elektrokimyasal davranışları aydınlatılmaya çalışılmıştır. Duyarlı, kolay, hızlı ve güvenilir analizleri için yeni sensörler ve voltametrik yöntemler geliştirilmeye çalışılmıştır.

Pemetrekset disodyum etken maddesinin voltametrik çalışmaları için duyarlı bir sensör geliştirilmeye çalışılmıştır. Bunun için de pemetrekset disodyumun anodik pik akımı ve potansiyeli üzerinde hazırlanan nanotüp süspansiyonların etkisi incelenmiştir. ÇDKNT-COOH, ÇDKNT ve TDKNT-COOH ile kıyaslandığında daha yüksek akım değerlerini vermiştir. ÇDKNT-COOH süspansiyonunun damlatma hacmi optimizasyonu çalışması yapılmıştır. Bu süspansiyonun optimizasyonundan sonra pirol monomeri elektrokimyasal olarak elektrot yüzeyinde polimerleştirilmiş ve aşırı yükseltgenerek elektrot yüzeyinde gözenekli bir yapı oluşturmuştur. Aşırı yükseltgenmiş PPr/ÇDKNT-COOH/CKE sensörü ile pemetrekset disodyumun DV, DPV, KDV yöntemleriyle davranışları incelenmiştir. Yükseltgenme reaksiyonundaki proton ve elektron sayılarını bulmak için farklı pH değerlerine sahip 0,1 M fosfat (pH: 2,0; 3,0; 6,0; 7,0; 8,0) ve 1 M asetat (pH: 3,5; 4,5; 5,5) tamponlarında çalışılmıştır. Sonuçların tekrarlanabilirliği ve duyarlılığı açısından 0,1 M fosfat tamponu (pH 7,0) ile çalışılmaya karar verilmiştir.

Ep-pH eğrilerine göre pH 2,0-8,0 arasında doğrusallık elde edilmiştir. Eğim ise -46,4 olarak bulunmuştur. Bu da eşit sayıda proton elektron ile yükseltgenme reaksiyonunun gerçekleştiğini göstermiştir.

Pemetrekset disodyumun anodik cevabı üzerine değişen tarama hızının etkisi 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0) araştırılmıştır. DV yöntemi kullanılarak 5-500 mV s<sup>-1</sup> tarama hızı aralığında anaodik pik akımları ve potansiyelleri incelenmiştir. Tarama hızının ve anodik pik akımının logaritmik değerleri arasındaki ilişki bulunmuş, eğimin 1'e yakın olduğu saptanmıştır. Elektrot yüzeyindeki yükseltgenme reaksiyonunun adsorpsiyon kontrollü olduğu gözlemlenmiştir.

Pemetrekset disodyum'un aşırı yükseltgenmiş PPr/ÇDKNT-COOH/CKE ile tayini için DPV ve KDV yöntemleri denenmiştir. DPV yöntemi daha yüksek anodik cevaplar vermiştir. Hız taraması sonucu elektrot yüzeyindeki yükseltgenme reaksiyonunun adsorpsiyon kontrollü çıkması nedeniyle AdSDPV yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemin optimizasyonu biriktirme potansiyeli (100 mV) ve süresi (180 s) ile yapılmıştır.

Pemetrekset disodyum, AdSDPV yöntemi ile analiz edilmiştir. Bu yöntem ile kalibrasyon aralığı  $1.00 \times 10^{-8}$  M -  $1.00 \times 10^{-7}$  M ( $r = 0.9995$ ) olarak bulunmuştur. TS,  $3,28 \times 10^{-9}$  M ve TAS,  $9,94 \times 10^{-9}$  M olarak hesaplanmıştır.

Pemetrekset disodyum ile yapılan analizin literatürde (Çizelge 1.3) yapılmış çalışmalardan genelde daha duyarlı olduğu saptanmıştır. Roland ve arkadaşları (2010) MALDI-QqQ-MS/MS kullanarak daha duyarlı analiz yapmışlar ancak kullanılan cihazın ekonomik değeri ve deney öncesi katı faz ekstraksiyonu gibi ön işlemlere gerek duyulması, bizim çalışmayı daha kolay, kullanılabilir ve ekonomik kılmıştır.

Pemetrekset disodyum içeren PEMTREX<sup>®</sup> enjeksiyonluk preparat, geliştirdiğimiz yöntemin doğru ve kesin olduğunu test etmek amaçlı kullanılmıştır. Enjeksiyon çözeltisi içinde yardımcı maddelerin pemetrekset disodyum pik akımını

ve potansiyelini etkileyip etkilemediği geri kazanım çalışmaları ile araştırılmıştır. Geliştirilen yöntemin validasyon parametreleri de incelenmiştir.

Pemetrekset disodyum tayini için geliştirilen nanosensörün kararlılığı araştırılmıştır. +4 C’de bir hafta boyunca kullanılabilir olduğu saptanmıştır.

Girişim çalışmasıyla, pemetrekset disodyum etken maddesinin insan vücudunda bulunan bazı molekül ve iyonlarla nasıl etkileneceği, geliştirilen yöntem ve sensörü etkileyip etkilemeyeceği de araştırılmıştır.

Sorafenib tosilat etken maddesinin voltametrik çalışmaları için duyarlı bir sensör geliştirilmeye çalışılmıştır. Sorafenib tosilat'ın metanol içerisindeki çözünürlüğü %10-20-30-40-50-60 olmak üzere altı farklı oranda çalışılmıştır. Sorafenib tosilat anodik cevabının tekrarlanabilir ve pik akımının maksimum olduğu oran %50 olarak belirlenmiştir. Sorafenib tosilat anodik pik akımı ve potansiyeli üzerinde hazırlanan kitosan ve nanotüp süspansiyonların etkisi incelenmiştir. Süspansiyonun kitosan içeriği değiştirilerek elektrot modifikasyonları yapılmıştır ve %0,1 kitosan miktarı en duyarlı anodik sorafenib cevabını vermiştir. %0,1 kitosan içeren ÇDKNT-COOH süspansiyonu 1 M asetat tamponunda hazırlanmıştır. %0,1 Kitosan/ÇDKNT-COOH süspansiyonunun elektrot yüzeyine damlatma hacmi optimizasyonu çalışması yapılmıştır. 2,5 µL damlatma hacmi optimum bulunmuştur. Sorafenib tosilat'ın DV, DPV, KDV yöntemleriyle davranışları incelenmiştir. Yükseltgenme reaksiyonundaki proton ve elektron sayılarını bulmak için farklı pH değerlerine sahip 0,1 M fosfat (pH: 2,0; 3,0; 6,0; 7,0; 8,0) ve 1 M asetat (pH: 3,5; 4,5; 5,5) tamponlarında çalışılmıştır. Sonuçların tekrarlanabilirliği ve duyarlılığı açısından 0,1 M fosfat tamponu (pH 7,0) ile çalışılmaya karar verilmiştir.

Ep-pH eğrilerine göre pH 2,0-8,0 arasında doğrusallık elde edilmiştir. Eğim ise -33,5 olarak bulunmuştur. Bu da eşit sayıda proton elektron ile yükseltgenme reaksiyonunun gerçekleştiğini göstermiştir.

Sorafenib tosilat'ın anodik cevabı üzerine değişen tarama hızının etkisi 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0) araştırılmıştır. DV yöntemi kullanılarak 5-500 mV s<sup>-1</sup> tarama hızı aralığında anaodik pik akımları ve potansiyelleri incelenmiştir. Tarama hızı ve anodik pik akımı arasındaki ilişkide , eğimin 1'e yakın olduğu saptanmıştır. Elektrot yüzeyindeki yükseltgenme reaksiyonunun adsorpsiyon kontrollü olduğu gözlemlenmiştir.

Sorafenib tosilat'ın %0,1 Kitosan/ÇDKNT-COOH/CKE ile tayini için DPV ve KDV yöntemleri denenmiştir. DPV yöntemi daha yüksek anodik cevaplar vermiştir. KDV yönteminde baseline oldukça gürültülü gelmiştir. Bu da sorafenib tosilat'ın pik akımının okunmasında problem yaratmıştır. Hız taraması sonucu elektrot yüzeyindeki yükseltgenme reaksiyonunun adsorpsiyon kontrollü çıkması nedeniyle AdSDPV yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemin optimizasyonu biriktirme potansiyeli (400 mV) ve süresi (180 s) ile yapılmıştır.

Sorafenib tosilat, AdSDPV yöntemi ile analiz edilmiştir. Kalibrasyonun 1. doğrusal aralığı  $1.00 \times 10^{-8}$  M -  $8.00 \times 10^{-8}$  M ve 2. doğrusal aralığı  $1 \times 10^{-7}$  -  $8 \times 10^{-7}$  M olarak bulunmuştur. TS,  $4,4 \times 10^{-10}$  M ve TAS,  $1,5 \times 10^{-9}$  M olarak hesaplanmıştır. Serumda yapılan kalibrasyon eğrilerinden elde edilen 1. doğrusal aralık  $1 \times 10^{-8}$  -  $8 \times 10^{-8}$ , 2. doğrusal aralık ise  $1 \times 10^{-7}$  -  $8 \times 10^{-7}$  olarak elde edilmiştir. TS,  $9,6 \times 10^{-10}$  M ve TAS,  $3,2 \times 10^{-9}$  M olarak hesaplanmıştır.

Sorafenib tosilat ile yapılan analizin literatürde (Çizelge 1.4) yapılmış çalışmalardan genelde daha duyarlı olduğu saptanmıştır. Lokesh ve arkadaşları (2008) LC-MS/MS kullanarak daha duyarlı analiz yapmışlar ancak kullanılan cihazın

ekonomik değeri ve deney öncesi katı faz ekstraksiyonu gibi ön işlemlere gerek duyulması, bizim çalışmayı daha kolay, kullanılabilir ve ekonomik kılmıştır.

Sorafenib tosilat içeren insan serumu, geliştirdiğimiz yöntemin doğru ve kesin olduğunu test etmek amaçlı kullanılmıştır. Serum içerisinde bulunan biyolojik molekül ve iyonların sorafenib tosilat anodik pik akımı üzerine etkisi geri kazanım çalışmalarıyla araştırılmıştır. Geliştirilen yöntemin validasyon parametreleri de incelenmiştir.

Sorafenib tosilat tayini için geliştirilen nanosensörlerin yüzey karakterizasyonları EIS ve taramalı elektron mikroskobu ile yapılmıştır. EIS yöntemiyle modifiye elektrodun yük transfer direnci daha düşük bulunmuştur. Bu da modifiye elektrodun iletkenliğinin ve yüzey alanının arttığını göstermiştir. Taramalı elektron mikroskobu ile alınan görüntülerde elektrot yüzeylerinin farklı olduğu ve CKE yüzeyinde modifikasyonun olduğu gözlenmiştir.

Sorafenib tosilat tayini için geliştirilen nanosensörün kararlılığı araştırılmıştır. Oda koşullarında on gün boyunca kullanılabilir olduğu saptanmıştır.

Girişim çalışmasıyla, Sorafenib tosilat etken maddesinin insan vücudunda bulunan bazı molekül ve iyonlarla nasıl etkileneceği, geliştirilen yöntem ve sensörü etkileyip etkilemeyeceği de araştırılmıştır.

Erlotinib hidroklorür etken maddesinin voltametrik çalışmaları için duyarlı bir nanosensör geliştirilmeye çalışılmıştır. Bunun için de erlotinib hidroklorür anodik pik akımı ve potansiyeli üzerinde hazırlanan  $\beta$ -siklodekstrin çözeltisinin etkisi incelenmiştir. Modifiye edilmemiş CKE ile kıyaslandığında daha yüksek akım değerlerini vermiştir.  $\beta$ -siklodekstrin çözeltisinin damlatma hacmi optimizasyonu çalışması yapılmıştır. Damlatma miktarı optimizasyonundan sonra  $\beta$ -siklodekstrin /CKE sensörü ile erlotinib hidroklorür'ün DV, DPV, KDV yöntemleriyle davranışları incelenmiştir. Yükseltgenme reaksiyonundaki proton ve elektron sayılarını bulmak

için farklı pH değerlerine sahip 0,1 M fosfat (pH: 2,0; 3,0; 6,0; 7,0; 8,0) ve 1 M asetat (pH: 3,5; 4,5; 5,5) tamponlarında çalışılmıştır. Sonuçların tekrarlanabilirliği ve duyarlılığı açısından 0,1 M fosfat tamponu (pH 3,0) ile çalışılmaya karar verilmiştir.

Ep-pH eğrilerine göre pH 2,0-8,0 arasında doğrusallık elde edilmiştir. Eğim ise yaklaşık -63,4 olarak bulunmuştur. Bu da eşit sayıda proton elektron ile yükseltgenme reaksiyonunun gerçekleştiğini göstermiştir.

Erlotinib hidroklorür anodik cevabı üzerine değişen tarama hızının etkisi 0,1 M fosfat tamponunda (pH 3,0) araştırılmıştır. DV yöntemi kullanılarak 5-500 mV s<sup>-1</sup> tarama hızı aralığında anaodik pik akımları ve potansiyelleri incelenmiştir. Tarama hızının ve anodik pik akımının logaritmik değerleri arasındaki ilişki bulunmuş, eğimin 1'e yakın olduğu saptanmıştır. Elektrot yüzeyindeki yükseltgenme reaksiyonunun adsorpsiyon kontrollü olduğu gözlemlenmiştir.

Erlotinib hidroklorür'ün β-siklodekstrin/CKE ile tayini için DPV ve KDV yöntemleri denenmiştir. KDV yöntemi daha yüksek anodik cevaplar vermiştir. Hız taraması sonucu elektrot yüzeyindeki yükseltgenme reaksiyonunun adsorpsiyon kontrollü çıkması nedeniyle AdSKDV yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemin optimizasyonu biriktirme potansiyeli (400 mV) ve süresi (75 s) ile yapılmıştır.

Erlotinib hidroklorür, AdSKDV yöntemi ile analiz edilmiştir. Bu yöntem ile kalibrasyon aralığı  $1.00 \times 10^{-8}$  M -  $8.00 \times 10^{-6}$  M ( $r = 0.9993$ ) olarak bulunmuştur. TS,  $1,07 \times 10^{-9}$  M ve TAS,  $3,58 \times 10^{-9}$  M olarak hesaplanmıştır.

Erlotinib hidroklorür ile yapılan analizin literatürde (Çizelge 1.5) yapılmış çalışmalardan daha duyarlı olduğu saptanmıştır.

Erlotinib hidroklorür içeren TARCEVA® tablet, geliştirdiğimiz yöntemin doğru ve kesin olduğunu test etmek amaçlı kullanılmıştır. Tablet çözeltisi içinde yardımcı maddelerin erlotinib hidroklorür pik akımını ve potansiyelini etkileyip etkilemediği geri kazanım çalışmaları ile araştırılmıştır. Geliştirilen yöntemin validasyon parametreleri de incelenmiştir.

Erlotinib hidroklorür tayini için geliştirilen nanosensörün yüzey karakterizasyonu taramalı elektron mikroskobu ile yapılmıştır. Taramalı elektron mikroskobu ile alınan görüntülerde elektrot yüzeylerinin farklı olduğu ve CKE yüzeyinde modifikasyonun olduğu gözlenmiştir.

Erlotinib hidroklorür tayini için geliştirilen nanosensörün kararlılığı araştırılmıştır. Oda koşullarında bir hafta boyunca kullanılabilir olduğu saptanmıştır.

Girişim çalışmasıyla, erlotinib hidroklorür etken maddesinin insan vücudunda bulunan bazı molekül ve iyonlarla nasıl etkileneceği, geliştirilen yöntem ve sensörü etkileyip etkilemeyeceği de araştırılmıştır.

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında pemetrekset disodyum, sorafenib tosilat ve erlotinib hidroklorür ilaç etken maddelerinin elektrokimyasal davranışları ilk kez incelenmiş ve elektrokimyasal yükseltgenme mekanizmalarındaki elektron ve proton sayıları hakkında öneriler verilmiştir. Ayrıca söz konusu ilaç etken maddeleri için voltametrik tayin yöntemleri geliştirilmiş ve analitik uygulamaları yapılmıştır. Bu çalışmalar kapsamında elde edilen veriler, uluslararası dergilerde (SCI) iki adet yayına dönüştürülmüştür. Bir tanesi ise gönderim aşamındadır. Tez çalışmasının önemli sonuçları ve konu ile ilgili bazı öneriler şu şekilde sıralanabilir:

Pemetrekset disodyum'un aşırı yükseltgenmiş PPr/ÇDKNT-COOH/CKE yüzeyinde elektrokimyasal aktifliğe sahip olduğu, tersinmez ve  $2e^-/2H^+$  ile adsorpsiyon kontrollü bir mekanizma ile yükseltgendiği saptanmıştır.

Her madde için elektrokimyasal analiz yöntemleri geliştirilmiştir. Bu yöntemlerin parametreleri optimize edilerek en duyarlı sonuçlara ulaşılmıştır. Geliştirilen yöntemin validasyonu yapılmıştır.

Her madde için geliştirilen yöntem ve sensörler ile analitik uygulamalar yapılmıştır.

Yapılan çalışmalar ışığında;

Geliştirilen ilaçların kalite kontrolünde, klinik uygulamalarda doğrudan voltametrik yöntemlerin kullanılabileceği, numune içeriğinde eser miktarda bulunan maddelerin analizinde sıyırma yöntemlerinin kullanılabileceği gösterilmiştir.

Tez kapsamında çalışılan antineoplastik ilaç etken maddelerinin insan bünyesindeki hastalığın tedavisinde elektroaktif olarak elektron alış/verişine katıldığı belirlenirse, bu ilaçların vücuttaki etki mekanizmalarının aydınlatılmasında, olası yan etkilerinin belirlenip engellenmesinde ve tedavi etkinliğinin artırılmasında elektrokimyasal redoks özelliği ve mekanizmalarının önemli yer alacağı açıktır. Bundan dolayı kanser hastalığının tedavisinde kullanılan ve tez kapsamında çalışılan ilaç etken maddelerinin mekanizmalarının aydınlatılmasının oldukça önemli olabileceği düşünülmektedir.

Kullanılan elektrokimyasal yöntemlerin, yeni ilaç sentezinde ve tedavi yöntemlerine yönelik çalışmalarda, kullanılan diğer yöntemlere alternatif bir yöntem olarak kullanılması düşünülebilir.

Geliştirilen voltametrik yöntemler ile analizleri yapılabilecek pemetrekset disodyum, sorafenib tosilat ve erlotinib hidroklorür için klinik ortamda yerinde analize imkan verebileceği düşünülmektedir.

Geliştirilen elektrokimyasal yöntemlerle gerçekleştirilen analizler oldukça maliyetsiz, tekli ve çoklu analize imkan vermesi ve çok az kimyasal maddenin harcanması literatürde kullanılan kromatografik yöntemlere üstünlük sağlamıştır ve bu nedenle bir alternatif yöntem olarak kullanılabilir.

Elektrokimyasal yöntemler ile çok düşük miktarlarda tayinler mümkündür. Bu yöntemlerin üstünlükleri düşünüldüğünde eğer kromatografik yöntemler ile birleştirilirse yani LC-EC kombine yöntemi kullanılırsa hem düşük miktarda tayinler yapılabilir hem de potansiyelleri çakışan maddelerin kromatografik olarak ayrılması sağlanabilir.

## ÖZET

### **Antineoplastik İlaç Etken Maddelerinin Modifiye Katı Elektrotlar ile Elektroanalitik İncelenmesi ve Nanosensör Tasarımı**

Kanser hastalığı tedavisinde kullanılan pemetrekset disodyum, sorafenib tosilat ve erlotinib hidroklorür etken maddeleri ile elektrokimyasal çalışmalar yapılmıştır. Bu maddelerin redoks özellikleri farklı tampon çözeltilerinde DV, DPV, KDV ve sıyırma teknikleri ile incelenmiştir. Çalışılan üç madde ile de DV yöntemi kullanılarak elektrot yüzeyindeki reaksiyonun difüzyon ya da adsorpsiyon kontrollü gerçekleştiği ve bu reaksiyondaki transfer olan elektron sayıları aydınlatılmıştır. Kullanılan nano malzemeler, etken maddelerin tekrarlanabilir, duyarlı ve hızlı bir şekilde analiz edilmesini sağlamıştır.

Etken maddeler için geliştirilen sensörlerin yüzey karakterizasyonları elektrokimyasal impedans spektroskopisi ve taramalı elektron mikroskobu ile yapılmıştır.

Her madde analizi için en duyarlı voltametrik yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemdeki parametreler optimize edilerek analit cevapları artırılmıştır. Geliştirilen yöntem ışığında etken maddenin derişimi ile pik akımı arasındaki ilişki kullanılarak kalibrasyon eğrileri elde edilmiştir. Kalibrasyon verilerinden TS, TAS ve diğer validasyon parametreleri aydınlatılmıştır.

Her etken madde analizinde geliştirilen yöntemin doğruluğu ve kesinliği için farmasötik dozaj şekillerine veya serum örneklerine uygulama yapılmış ve geri kazanım çalışmalarıyla kontrol edilmiştir.

**Anahtar sözcükler:** Antineoplastik, erlotinib, pemetrekset, sorafenib, voltametri.

## SUMMARY

### **Electroanalytical Investigation of Antineoplastic Drug Molecules with Modified Solid Electrodes and Design of Nanosensors**

Electrochemical studies are performed for pemetrexed disodium, sorafenib tosylate and erlotinib hydrochloride compounds, which are used for the pretreatment of the cancer disease. Redox behaviors of these compounds are investigated in different buffer solutions with CV, DPV, SWV and stripping methods. Diffusion or adsorption controlled process on the electrode surface and number of transferred electron are investigated by CV method with three compounds. Repeatable, sensitive and fast analysis are made with used nanomaterials.

The surface characterization of sensors is performed with electrochemical impedance spectroscopy and scanning electron microscopy.

The most sensitive voltammetric methods are developed for the three compounds. The responses are increased with optimized parameters of methods. Calibration curves are obtained by relation of concentration and peak current of compounds. LOD, LOQ and other validation parameters are found from calibration data's.

The recovery studies and applications of developed methods are performed on pharmaceutical dosage forms and serum samples to test the accuracy and precision.

**Keywords:** Antineoplastic, erlotinib, pemetrexet, sorafenib, voltammetry.

## KAYNAKLAR

- ADAMS RN (1969). (Ed.) Electrochemistry at solid electrodes, Marcel Dekker, New York.
- ALIVISATOS AP. (1996). "Semiconductor clusters, nanocrystals, and quantum dots," *Science*, **271**: 933-937.
- ANDRIAMANANAA I, GANAA I, DURETZB B, HULIN A (2013). Simultaneous analysis of anticancer agents bortezomib, imatinib, nilotinib, dasatinib, erlotinib, lapatinib, sorafenib, sunitinib and vandetanib in human plasma using LC/MS/MS. *J Chrom B*, **926**: 83– 91.
- ANDRIEUX CP, SAVÉANT JM (1980). Electron-transfer through redox polymer films, *J Electroanal Chem*, **111**: 377-381.
- AOAC (1993). Peer Verified methods Program, Manual on policies and procedures, Arlington, VA.
- ARRIGAN DWM, LOWENS MJ (1998). Studies of the application of overoxidised polypyrrole films in anodic stripping voltammetry, *Anal Commun*, **35**: 61-62.
- ATKINSON K, ROTH S, HIRSCHER M, GRUNWALD W (2001). "Carbon Nanostructures: An efficient Hydrogen Storage Medium for Fuel Cells", *Fuel Cells Bulletin*, **4**: 9-12.
- BAGOTSKY VS (2006). (Ed.), Fundamentals of Electrochemistry, 2nd ed., Wiley Interscience, New Jersey.
- BANU T, BALARAM VM, MUSHRAFF AKM, SHARMA JVC, TEJA BB, SWAROOP KV, HABIBUDDIN M (2010). Validated reverse phase HPLC method for the determination of pemetrexed disodium in pharmaceutical dosage forms. *Ori J Chem*, **26**: 1325-1332.
- BARD AJ VE FEULKNER LR (1980). Electrochemical methods Fundamentals and Applications, Wiley, New York.
- BARD AJ, FAULKNER LR (2001). Electrochemical Methods, Fundamentals and Application, 2nd edition, John Wiley and Sons inc. New York, USA.
- BAREK J, PECKOVA K, VYSKOCIL V (2008). Adsorptive stripping voltammetry of environmental carcinogens. *Cur Anal Chem*, **4**: 242–249.
- BARKER GC ve JENKINS, IL (1952). Square Wave Polarography, *Analyst*, **77**: 685.
- BLANCHET B, BILLEMONT B, CRAMARDA J, BENICHOUA AS, CHHUND S, HARCOUET L, ROPERT S, DAUPHINA A, GOLDWASSER F, TOD M (2009). Validation of an HPLC-UV method for sorafenib determination in human plasma

and application to cancer patients in routine clinical practice. *J Pharm Biomed Anal*, **49**: 1109–1114.

BOBIN-DUBIGEON, C, HEURGUE-BERLOT, A, BOUCHE, O, AMIAND, M-B, GUELLEC, CL, BARD, J-M (2011). A new rapid and sensitive LC-MS assay for the determination of sorafenib in plasma: Application to a patient undergoing hemodialysis. *Ther Drug Monit*, **33**: 705-710.

BOBIN-DUBIGEON C, AMIANDA MB, HERRENKNECHT C, BARD JM (2009). Development and validation of an improved liquid chromatography–mass spectrometry method for the determination of pemetrexed in human plasma. *J Chrom B*, **877**: 2451–2456.

BOND, AM (1980). Modern polarographic methods in analytical chemistry, Marcel Dekker Inc., New York.

BOUCHET S, CHAUZIT E, DUCINT D, CASTAING N, CANAL-RAFFIN M, MOORE N, TITIER K, MOLIMARD M (2011). Simultaneous determination of nine tyrosine kinase inhibitors by 96-well solid-phase extraction and ultra performance LC/MS-MS. *Clin Chim Acta*, **412**: 1060–1067.

BRETT CMA, OLIVEIRA-BRETT AM (1993). (Eds.), Electrochemistry: principles, methods and applications, Oxford University Press, New York.

BUFFAT PH VE BURREL J-P (1976). "Size effect on the melting temperature of gold particles", *Phys Rev A*, **13**: 2287 - 2298.

CAI J, LIU F, DENG J, ZHANG Q, LIN G (2014). Development of a Selective and Sensitive LC-MS Assay for Determination of Sorafenib in Rat Plasma and its Application to a Pharmacokinetic Study. *Lat Am J Pharm*, **33**: 640-644.

CHAKRAVARTHY, VK, SANKAR, DG (2011). Development and validation of rp-hplc method for estimation of erlotinib in bulk and its pharmaceutical formulation. *Rasayan J Chem*, **4**: 393-399.

CHAND S (2000). Review Carbon fibers for composites. *J Mater Sci*, **35**: 1303–1313.

CHEN P, WU X, LIN J, TAN KL (1999). High H<sub>2</sub> uptake by alkali-doped carbon nanotubes under ambient pressure and moderate temperatures. *Science*, **258**: 91-93.

COX JA, GADD SE, DAS BK (1988). Modification of Glassy Carbon with a Stable Film Containing Iridium Oxide and Palladium. *J Electroanal Chem*, **256**: 199 –205.

ÇELİKKAN H (2007). Doktora Tezi

DARKRIM FL, MALBRUNOT P, TARTAGLIA GP (2002). "Review of Hydrogen Storage by Adsorption in Carbon Nanotubes", *Int J Hydrogen Energy*, **27**: 193-202.

- EL-SAHARTY (2003). Simultaneous high- performance liquid chromatographic assay of furosemide and propranolol HCl and its application in a pharmacokinetic study, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **33**: 699-709.
- ERTAS OS, TEZEL H (2004). A validated cold vapor-AAS method for determining mercury in human red blood cells. *J Pharm Biomed Anal*, **36**: 893-897.
- ERTAS SÖĞÜT Ö (1997). Evaluation of the analytical validation parameters of Atomic Absorption Spectrometry, Ph. D. Thesis Ege University, Graduate School of Health Sciences, Analytical Chemistry Advisor: Prof. Dr. Aycil Kayali.
- EVANS JF, KUWANA T (1977). Radiofrequency Oxygen Plasma Treatment of Pyrolytic Graphite Electro Surface. *Anal Chem*, **49**: 1632 – 1635.
- FAGAN DT, HU IF, KUWANA T (1985). Vacuum Heat Treatment for Activation of Glassy Carbon Electrode. *Anal Chem*, **57**: 2759 – 2763.
- FAHLMAN BD. (2007) Materials Chemistry; Springer: Mount Pleasant, MI, **1**: 282-283.
- GARDNER JA, COLEMAN S, FARROW SG (1993). Why worry about your analytical methods? *Analytical Proceedings*, **30**:183-185.
- GAZDAG M, VE MIHALYFI K (1991). “Selection of HPLC methods in pharmaceutical analysis -III method validation”, *J.Chromatogr.* 464, 265-278.
- GHICO ME, BRETT CMA (2009). Poly(brilliant cresyl blue) modified glassy carbon electrodes: Electrosynthesis, characterization and application in biosensors. *J Electroanal Chem*, **629**: 35–42.
- GONZALO-LUMBRERAS R, IZQUIERDO-HORNILLOS R (2003). “Optimization and validation of conventional and micellar LC methods for the analysis of methyltestosterone in sugar-coated pills” *J Pharm Biomed Anal*, **31**: 201-208.
- GREEF R, PEAT R, PETER LM, PLETCHER D, ROBINSON J (1990). Instrumental methods in electrochemistry, Ellis Harwood, England.
- GREEN, JM (1996). “A practical guide to analytical method validation”, *Anal Chem News Features*, 305A/309A.
- HAMMAM E (2002). Determination of nitrofurantoin drug in pharmaceutical formulation and biological fluids by square-wave cathodic adsorptive stripping voltammetry. *J Pharm Biomed Anal*, **30**: 651-659.
- HASHEMI F, TAMADDON AM, YOUSEFI G, FARVADI F (2014). Development and validation of a rapid and simple HPLC-UV method for the analysis of soafenib in the presence of polyamidoamine (PAMAM) dendrimers. *J Liq Chromat and Rel Tech*, **37**: 1427–1437.
- HEINZ XWJ, KAHLE K, HELLE-BEYERSDORF A, SCHIRMER D, LENKER U, KELLER D, LANGMANN P, KLINKER H (2011). High-performance liquid

chromatographic method for the determination of sorafenib in human serum and peritoneal. *Cancer Chemother Pharmacol*, **68**: 239–245.

HERSHENHART E, MC CREEY RL, KNIGHT RD (1984). In Situ Cleaning and Activation of Solid Electrode Surface by Pulsed Laser Light. *Anal Chem*, **56**: 2256 – 2257.

HIRSCHER M, BECHER M, HALUSKA M, QUINTEL A, SKAKALOVA V, CHOI YM (2002). "Hydrogen Storage in Carbon Nanotubes", *J Alloys and Compounds*, 654-658.

HOKANSON GC (1994). A life cycle approach to the validation of analytical methods during pharmaceutical product development, part I: The initial validation process, *Pharm Tech*, Sept., Syf: 118-130.

HONEYWELL R, YARZADAHA K, GIOVANNETTI E, LOSEKOOT N, SMIT EF, WALRAVENA M, LIND JSW, TIBALDI C, VERHEUL HM, PETERS GJ (2010). Simple and selective method for the determination of various tyrosine kinase inhibitors used in the clinical setting by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J Chrom B*, **878**: 1059–1068.

HOU Y, WEI L-M, ZHANG D-T, ZHANG J, YANG D-W (2015). Determination of Erlotinib in Rat Plasma by HPLC and Application to a Pharmacokinetic Study. *Lat Am J Pharm*, **34**: 980-984.

<https://www.emaze.com/@AFRILFQC/KOL%C4%B0N%27%C4%B0N%C3%96NEM%C4%B0-VE/>

[http://www.putechcomposites.com/Haber/Biyosensorlerin-Hazirlanmasinda Poliuretan-Membranlar.html](http://www.putechcomposites.com/Haber/Biyosensorlerin-Hazirlanmasinda-Poliuretan-Membranlar.html)

<http://www.nanoturkiye.net/>

<http://www.resimoloji.com/2010/08 /karbon-nanotupleri-carbon-nanotubes/>

<https://www.slideshare.net/ mehmetkemalyozgat/nanotp>

<https://en.wikipedia.org/wiki/Graphene>

HU IF, KARWEIK DH, KUWAT, T (1985). Activation Ad Deactivation of Glassy Carbon Electrodes. *J Electroanal Chem*, **188**: 59–72.

HUBER L (1989). Applications of diode-array detection in HPLC, Waldbronn, Germany, Agilent Technologies.

HUBER L (1993). Good laboratory practice for HPLC, CE and UV Visible Spectroscopy, Hewlett Packard.

- HUBER L (1996). Validation of computerized analytical systems, Part 3: Installation and operational qualification; LC-GC. *Magazine*, **14**: 806-812.
- HUBER L VE GEORGE S (1993). Diode-array detection in high-performance liquid chromatography, New York, Marcel Dekker.
- ICH-Q2A (1994). International Conference on Harmonization (ICH) of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Text on *validation of analytical procedures*, Geneva.
- ICH-Q2A (1995). International Conference on Harmonization (ICH) of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use, *Validation of analytical procedures*, , Geneva.
- ICH-Q2B (1996). International Conference on Harmonization (ICH) of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use, *Validation of analytical procedures: Methodology*, Geneva.
- ISHAQ BM, THIRUVENGADA RAJAN VS, ANGALA PARAMESWARI S, AMRUTH N, MADHU M, MADHUSUDANA CHETTY C (2011). Analytical Method Development and Validation of Erlotinib by High Performance Liquid Chromatography. *Res J Pharm Tech*, **4**: 1787-1790.
- ISHIDA T, NAITO T, KAWAKAMI J (2015). Simultaneous determination of erlotinib and its isomeric major metabolites in human plasma using isocratic liquid chromatography– tandem mass spectrometry and its clinical application. *Biomed Chromatogr*, **29**: 643–646.
- ISO/IEC 17025 (1999). “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories”.
- JAIN L, GARDNER ER, VENITZ J, DAHUT W, FIGG WD (2008). Development of a rapid and sensitive LC–MS/MS assay for the determination of sorafenib in human plasma. *J Pharm Biomed Anal*, **46**: 362–367.
- JIANG K, LI Q, FAN S (2002). Nanotechnology: spinning continuous carbon nanotube yarns. *Nature*, **419**: 801.
- JINGYA Z, SHOUHONG G, Feng Z, BO J, QIN Z, FEI C, JINGXIAN L, WANSHENG C (2012). Liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for simultaneous determination of seven commonly used anticancer drugs in human plasma. *J Chrom B*, **906**: 1–8.
- JOSÉ MCF, ROSARIO P, ALFREDO SM (2006). The use of luminescent quantum dots for optical sensing. *Trends in Anal Chem*, **3**: 217-218.
- KALAICHELVI R, JAYACHANDRAN E (2013). Quantitative Estimation of Sorafenib Tosylate Its Pure Form and in Its Tablet Formulation by RP-HPLC Method. *J Chem*, DOI: 10.1155/2013/539264.

- KARADAS N, SANLI S, GUMUSTAS M, OZKAN SA (2012). Voltammetric and RP-LC assay for determination of benidipine HCl, *J Pharm Biomed Anal*, **66**: 116-125.
- KISSINGER PT, HEINEMAN WR (1996). (Eds.) Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry, 2nd ed., Marcel Dekker, NewYork.
- KISSINGER PT, HEINEMAN WR (1996). (Eds.) Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry, 2nd ed., Marcel Dekker, NewYork.
- KNIGHT A, GAUNT J, DAVIDSON T, CHECHIK V, WINDSOR S (2004). Evaluation of the suitability of quantum dots as fluorescence standards. NPL Report DQL-AS 007.
- KORYTA J, DVORAK J, KAVAN L (1993). (Eds.), Principles of Electrochemistry, 2nd ed., John Wiley&Sons, New York.
- KUBIK, S (2002). High-Performance Fibers from Spider Silk. *Angew. Chem. Int. Edn* **41**: 2721–2723.
- LANG JR, BOLTON S (1991). A comprehensive method validation strategy for bioanalytical applications in the pharmaceutical industry- 1. Experimental considerations. *J Pharm Biomed Anal*, **9**: 357- 361.
- LANKHEET, NAG., HILLEBRAND, MJX, ROSING, H, SCHELLENS, JHM, BEIJNEN, JH ,HUITEMA, ADR (2013). Method development and validation for the quantification of dasatinib, erlotinib, gefitinib, imatinib, lapatinib, nilotinib, sorafenib and sunitinib in human plasma by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Biomed Chrom*, **27**: 466-476.
- LAVIRON E (1980). A multilayer model for the study of space distributed electrodes, *J Electroanal Chem*, **112**: 1-9.
- LEI J, JU H (2010). Nanotubes in biosensing. *WIREs Nanomed and Nanobio*, **2**: 496-509.
- LESUER DR, SYN CK, WHITTENBERGER JD, SHERBY OD (1999). Microstructure-property relations in As-extruded ultrahigh-carbon steels. *Metallurg. Mater. Trans. A*, **30**: 1559–1568.
- LI L, ZHAOC M, NAVIDB F, PRATZC K, SMITHC BD, RUDEKC MA., BAKER SD (2010). Quantitation of sorafenib and its active metabolite sorafenib N-oxide in human plasma by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J Chrom B*, **878**: 3033–3038.
- LI Y, QIAN R (2000). Electrochemical overoxidation of conducting polypyrrole nitrate film in aqueous solutions, *Electrochim Acta*, **45**: 1727-1731.
- LIN H, LI G, WU K (2008). Electrochemical determination of sudan I using montmorillonite calcium modified carbon paste electrode. *Food Chemistry*, **107**: 531–536.

- LIN, C, CHEN, M, ZHANG, X, ZHANG, Q, CAI, J (2013). Development and validation of an LC-MS method for determination of erlotinib in rat plasma and applied in pharmacokinetic study. *Lat Am J Pharm*, **32**: 1298-1303.
- MAIO QUINTINO MS, YAMASHITA M, ANGNES L (2006). Voltammetric studies and determination of levodopa and carbidopa in pharmaceutical products. *Electroanalysis*, **18**: 655–661.
- MAMEDOV AA, KOTOV NA, PRATO M, GULDI DM, WICKSTED JP, HIRSCH A (2002). Molecular design of strong single-wall carbon nanotube/polyelectrolyte multilayer composites. *Nature Mater*, **1**: 190–194.
- MANDAL B, BALABATHULA P, MITTAL N, WOOD GC, BHATTACHARJEE H (2012). Development and Validation of a Spectrofluorimetric Method for the Determination of Erlotinib in Spiked Human Plasma. *J Fluoresc*, **22**: 1425–1429.
- MEESTERS RJW, CORNELISSEN R, VAN KLAVEREN RJ, JONGE RDE, BOER ED, LINDEMANS J, LUIDER TM (2010). A new ultrafast and high-throughput mass spectrometric approach for the therapeutic drug monitoring of the multi-targeted anti-folate pemetrexed in plasma from lung cancer patients. *Anal Bioanal Chem*, **398**: 2943–2948.
- MEYYAPAN M (2005). (Eds.), Carbon Nanotubes: Science and Applications, CRC Press, London.
- MURPHY CJ VE COFFER JL. (2002). “Quantum dots: A primer,” *Appl. Spectrosc.*, **56**: 16A-27A.
- MURRAY RW (1984). Molecular design of electrode surfaces, Marcel Dekker, *Electroanal Chem*, **13**: 192-368, New York.
- NIELKA PVE, HANS G, HENK-JAN G (2009). Clinical pharmacokinetics of tyrosine kinase inhibitors, *Cancer Treatment Reviews*, **35**: 692–706
- NIKOLAEV P, BRONIKOWSKI MJ, KELLEY BRADLEY R, ROHMUND F, COLBERT DT, SMITH KA, SMALLEY RE (1999). Gas-phase catalytic growth of single-walled carbon nanotubes from carbon monoxide. *Chem Phys Lett*, **313**: 91–97.
- ODEA JJ, OSTERYOUNG J, OSTERYOUNG RA (1981). Theory of Square Wave Voltammetry for Kinetic System.
- OZKAN SA (2012). *Electroanalytical Methods in Pharmaceutical Analysis and Their Validation* (first ed.), HNB Pub., USA, ISBN: 978-0-9664286-7-4.
- OZKAN SA, OZKAN Y, SENTURK Z (1998). Electrochemical Reduction of Metronidazole at Activated Glassy Carbon Electrode and Its Determination in Pharmaceutical Dosage Forms. *J Pharm Biomed Anal*, **17**: 3299 – 3305.

- PEERCE PJ, BARD AJ (1980). Polymer films on electrodes: Digital simulation model for cyclic voltammetry of electroactive polymer film and electrochemistry of poly(vinylferrocene) on platinum, *J Electroanal Chem*, **114**: 89-115.
- POULIN P, VIGOLO B, LAUNOIS P (2002). Films and fibers of oriented single wall nanotubes. *Carbon*, **40**: 1741–1749.
- RAKESH G, BALAKUMAR K, ANJANEYULU C, KARPAKAVALLI V, LAKSHMI NM, RANJITH KB, KUMAR D (2012). Development and validation of RP-HPLC method for related substance of pemetrexed disodium. *Int J Pharm Sci Rev Res*, **15**: 133–137.
- RAMARAO NT, VIDYADHARA S, BASAVESWARA RMV, SASIDHAR RLC, YADAV RS (2015). Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Method Development and Validation for the Determination of Erlotinib in Human Plasma and its Application in Pharmacokinetic Study. *J Anal Chem*, **70**: 1488–1494.
- RAMULU K, RAO BM, MADHAVAN P, LALITHA DEVI M, SRINIVASU MK, CHANDRASEKHAR KB. A (2007). Validated Chiral LC Method for the Determination of Enantiomeric Purity of Pemetrexed Disodium on an AmyloseBased Chiral Stationary Phase. *Chromatographia*, **65**: 249-252.
- RAO, SV, RAMU, G, BABU, AB, NEEHARIKA, T, RAMBABU, CR (2011). Determination of sorafenib in bulk and tablet formulation by a new validated reverse phase high performance liquid chromatography. *J Chem*, **4**: 477-480.
- REDDY GNK, RAJENDRA PRASAD VVS, MAHARANA PK (2012). Development and validation of a stability indicating uplc method for determination of erlotinib in pharmaceutical formulations. *Der Pharma Chem*, **4**: 2288-2297.
- RENGER B, JEHLE H, FISCHER M, FUNK M (1995). Validation of analytical procedures in pharmaceutical analytical chemistry: HPTLC assay of theophylline in an effervescent tablet, *J Planar Chrom*, **8**: 269-278.
- RESPAUDA R, TOURNAMILLEB J-F, CROIXA C, LABORIEA H, ELFAKIRC C, VIAUD-MASSUARDA M-C (2011). Development of an ion-pairing reversed-phase liquid chromatography method using a double detection analysis (UV and evaporative light scattering detection) to monitor the stability of Alimta®-pemetrexed preparations: Identification and quantification of l-glutamic acid as a potential degradation product. *JPBA*, **54**: 411–416.
- RODRÍGUEZ J, CASTAÑEDA G, MUÑOZ L, NAVARRO D, VILLA JC (2014). Simultaneous determination of erlotinib and metabolites in human urine using capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, **35**: 1489–1495.
- RODRIGUEZ LC, CAMPANA AM, LINARES CJ, CEBA MR (1993). Estimation of performance characteristics of an analytical method using the data set of the calibration experiment. *Analytical Letters*, **26**: 1243-1258.
- RUSLING JF (1984). Variations in Electron-Transfer Rate at Polished Glassy Carbon Electrodes Exposed to Air. *Anal Chem*, **56**: 575 – 578.

- S' LJUKIC' B, MALAKHOVA NA, BRAININA KZ. BANKS CE, COMPTON RG (2006). Screen Printed Electrodes and Screen Printed Modified Electrodes Benefit from Insonation. *Electroanalysis*, **18**: 928 – 930.
- SCHOLZ F (2010). (Editor). *Electroanalytical Methods*. Greifswald, Germany, ISBN: 978-3-642-02914-1.
- SENTURK Z, OZKAN SA, OZKAN N (1998). Electroanalytical Study of Nifedipine Using Activated Glassy Carbon Electrode. *JPBA*, **16**: 801 – 807.
- SHEARER CM, CHRISTENSON K, MUJHERJI A, PAPARIELLO CJ (1972). Peak Voltammetry at Glassy Carbon Electrode of Acetaminophen Dosage Forms. *J Pharm Sci*, **61**: 1627
- SHIMADA M, OKAWA H, MAEJIMA T, YANAGI T, HISAMICHI K, MATSUURA M, AKASAKA K, TSUCHIYA M, KONDO Y, SHIMOSEGAWA T, MORI M, MAEKAWA M, SUZUKI H, MANO N (2014). A quantitative HPLC-UV method for determination of serum sorafenib and sorafenib N-oxide and its application in hepatocarcinoma patients. *Tohoku J Exp Med*, **233**: 103-112.
- SKOOG DA, HOLLER FJ, NIEMAN TA (1998). *Principles of instrumental analysis* (fifth ed.) syf: 565, USA.
- SKOOG DA, HOLLER FJ, NIEMAN TA (1998). *Principles of instrumental analysis* (fifth ed.) syf: 588, USA.
- SMYTH MR, VOS JG (1992). (Eds.) *Analytical Voltammetry*, Vol XXVII, Elsevier, Amsterdam.
- SMYTH MR, VOS JG (1992). (Eds.) *Analytical Voltammetry*, Vol XXVII, Elsevier, Amsterdam.
- SOLOMEN ZE (1987). *Phys Chem*, **24**: 55.
- SÖĞÜT ERTAŞ Ö, KAYALI A (2005). Analitik yöntem geçerliliğine genel bir bakış. *Ankara Ecz. Fak. Derg.* **34**: 41 – 57.
- STUTTS KJ, KOVACH PM, KUHR WG, WHITMAN RM (1983). Enhanced Electrochemical Reversibility at Heat Treated Glassy Carbon Electrodes. *Anal Chem*, **55**: 1632 – 1634.
- TAYLOR RJ, HUMPPFA, AA (1973). Electrochemical Studies on Glassy Carbon Electrodes. *Electroanal Chem and Interfacial Electrochem*, **42**: 347 – 354.
- THORNTON DC, CORBY KT, SPENDEL VA, JORDAN J, ROBBAT A, RUTSTORM DJ, EROS M, RITZLER G (1985). Pretreatment and Validation Procedure for Glassy Carbon Voltammetric Indicator Electrodes. *Anal Chem*, **57**: 150–155.

- TJADEN UR, LANKELMA J, POPPE H, MUUSZE RG (1976). Anodic Coulometric Detection with a Glassy Carbon Electrode in Combination with Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography. *J.Chromatogr*, **125**: 275 – 286.
- TRASATTI S (1980). (Ed.) *Electrodes of Conductive Metallic Oxides, Part A*, Elsevier, Amsterdam.
- TURAL H, GÖKÇEL Hİ, ERTAŞ FN (2003). Enstrümental Analiz 1 Elektroanalitik Yöntemler Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, İzmir, 132 –144.
- US EPA (1995). Guidance for methods development and methods validation for the Resource Conservation and Recovery Act (RCRA) Program, Washington.
- US FDA (2000). Analytical procedures and Method Validation: Chemistry, manufacturing, and controls” Federal Notices, **5**: 776-777.
- USP (1995). Validation of compendial methods, *United States Pharmacopeia XXIII*, National Formulary, XVIII, Rockville, MD, The United States Pharmacopeial Convention, Inc, 1710–1612.
- VANESA E-O, JUAN JP-R, BELÉN V (2014). Development and Validation of an HPLC-UV Method for Sorafenib Quantification in Human Plasma and Application to Patients With Cancer in Routine Clinical Practice. *Ther Drug Monit*, **36**: 317–325.
- VIGOLO B (2000). Macroscopic fibers and ribbons of oriented carbon nanotubes. *Science*, **290**: 1331–1334.
- VIGOLO B, POULIN P, LUCAS M, LUANOIS P, BERNIER P (2002). Improved structure and properties of single-wall carbon nanotube spun fibers. *Appl. Phys. Lett.* **81**: 1210–1212.
- VIM (1993). International of Basic and General Terms in Metrology, ISO.
- VOLLRATH F (2001). KNIGHT DP. Liquid crystalline spinning of spider silk. *Nature*, **410**: 541–548.
- WALTERS DA, ERICSON LM, CASAVANT MJ, LIU J, COLBERT DT, SMITH KA, SMALLEY RE (1999). *Appl Phys Lett*, **74**: 3803–3805.
- WANG J (2006). (Ed.) *Analytical Electrochemistry*, 3rd ed., Wiley-VCH, New York.
- WANG J, HUTCHINS LD (1985). Activation of Glassy Carbon Electrodes by Alternating Current Electrochemical Treatment. *Anal Chim Acta*, **167**: 325 – 334.
- WANG J, ZHOU Y, WANG C, CHEN J (2015). Simultaneous Determination of Lapatinib, Cabozantinib, Imatinib, Dasatinib, Sorafenib, Crizotinib, Erlotinib and SAHA in Rat Plasma by UPLC-MS/MS. *Lat Am J Pharm*, **34**: 1576-84.
- WEGSCHEIDER C (1996 ). Validation of analytical methods, in. Accreditation and quality assurance in analytical chemistry. Springer Verlag, Berlin.

- WELLER H. (1993). "Colloidal Semiconductor Q-Particles: Chemistry in the Transition Region Between Solid State and Molecules," *Angew Chem Int Ed Engl*, **32**: 41-53.
- WIGHTMAN RM, DEAKIN MR, KOVACH PM, KUHR WG, STUTTS KJ (1984). Methods to Improve Electrochemical Reversibility at Carbon Electrodes. *J Electrochem Soc*, **131**: 1578 – 1583.
- YANG L-H, LOU D, GE N-Y, PAN Y, CHEN R-J, YE J-F (2016). Determination of sorafenib in rat plasma using HPLC and application to a pharmacokinetic study. *Lat Am J Pharm*, **35**: 201-205.
- YILDIZ A, GENÇ Ö (1993). Enstrümantal Analiz, , Hacettepe Üniversitesi Basım evi, syf: 341
- YILMAZ N, BİRYOL I (1998). Anodic Voltammetry of Cefotaxime. *JPBA*, **17**: 349 – 355.
- YU M-F, FILES BS, AREPALLI S, RUOFF RS (2000). Tensile loading of ropes of single wall carbon nanotubes and their mechanical properties. *Phys Rev Lett*, **84**: 5552–5555.
- YUAN YJ, ADELOJU SB, WALLACE GG (1999). In-situ electrochemical studies on the redox properties of polypyrrole in aqueous solutions, *Euro Poly J*, **35**: 1761-1772.
- ZHANG Z, WANG E (2000). *Electroanalytical Principles and Methods*, Science Press, Beijing.
- ZHANG H, SHI L-M, CHEN W-Q, SHANG F-M, MO C-H, WANG X-M (2015). Validated LC-MS/MS Method for the Determination of Erlotinib in Rat Plasma. *Lat Am J Pharm*, **34**: 1293-1307.
- ZHU HW, XU CL, WU DH, WEI BQ, VAJTAI R, AJAYAN PM (2002). Direct synthesis of long single-walled carbon nanotube strands. *Science*, **296**: 884–886.
- ZOSKI CG (2007). (Editor) *Handbook of Electrochemistry*. Amsterdam, The Netherlands.

## ÖZGEÇMİŞ

### I- Bireysel Bilgiler

**Adı:** Nurgül

**Soyadı:** Karadaş Bakırhan

**Doğum yeri ve tarihi:** Malatya, 06.01.1983

**Uyruğu:** TC

**Medeni durumu:** Evli

**İletişim adresi ve telefonu:** Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi,  
Analitik Kimya Anabilim Dalı, 06100, Tandoğan-Ankara  
0312 203 3181

### II- Eğitimi

| Derece    | Öğrenim Birimi                          | Öğrenim Alanı  | Yıl       |
|-----------|-----------------------------------------|----------------|-----------|
| Y. Lisans | Hacettepe Üniversitesi                  | Analitik Kimya | 2007-2010 |
| Lisans    | Hacettepe Üniversitesi                  | Kimya (İng)    | 2002-2007 |
| Lise      | Abidinpaşa Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi | -              | 1997-2001 |

**Yabancı dili:** İngilizce

### III- Mesleki Deneyimi

| Ünvan               | Kurum                         | Birim                       | Yıl               |
|---------------------|-------------------------------|-----------------------------|-------------------|
| Stajyer Kimyager    | Çevre ve Şehircilik Bakanlığı | Çevre Referans Laboratuvarı | 2006 (45 iş günü) |
| Araştırma Görevlisi | Hitit Üniversitesi            | Fen-Edebiyat Fakültesi      | 2009-2011         |
| Araştırma Görevlisi | Ankara Üniversitesi           | Eczacılık Fakültesi         | 2011-             |

#### IV- Bilimsel İlgi Alanları

##### Kitap bölüm yazarlığı

- 1) Nurgul K. Bakirhan, Bengi Uslu, Sibel A. Ozkan (2016). Nanostructure for Antimicrobial Therapy-SENSITIVE AND SELECTIVE ASSAY OF ANTIMICROBIALS ON NANOSTRUCTURED MATERIALS BY ELECTROCHEMICAL TECHNIQUES. Elsevier, The Boulevard, Langford Lane, Kidlington, Oxford OX5 1GB, UK, Baskıda.
- 2) Nurgul K. Bakirhan, Bengi Uslu, Sibel A. Ozkan (2016). THE ASSAY OF PESTICIDE IN FOODS USING ELECTROCHEMICAL SENSORS" FOOD CONTROL AND BIOSECURITY Elsevier, The Boulevard, Langford Lane, Kidlington, Oxford OX5 1GB, UK, Baskıda.

##### SCI ve SCI Expanded indekslerde yer alan dergilerde yapılan yayınlar

- 1) Sanli, S., N. Sanli, M.Gumustas, N.Karadas, S.A. Özkan ve H.Y. Aboul Enein, Simultaneous estimation of ceftazidime and ceftizoxime in pharmaceutical formulations by HPLC method. *Chromatographia*, **74**: 549-558 (2011)
- 2) Karadas, N, S. Sanli, M. Gumustas ve S.A.Ozkan, Voltammetric and RP-LC assay for determination of benidipine HCl. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **66**: 116-125 (2012)
- 3) Gumustas, M., N. Karadas, ve S.A. Ozkan, Validated electroanalytical and RP-LC assay of ertapenem in its pharmaceutical dosage form. *Revue Roumaine de Chimie*, **58**: 679-690 (2013)
- 4) Agin, F., N. Karadas, B. Uslu ve S.A. Ozkan, Electroanalytical characterization of levodropropizine and its voltammetric determination in pharmaceuticals. *Current Pharmaceutical Analysis*, **9**: 299-309 (2013)

- 5) Karadas, N., B. Bozal-Palabiyik, B. Uslu ve S.A. Ozkan, Functionalized carbon nanotubes-with silver nanoparticles to fabricate a sensor for the determination of zolmitriptan in its dosage forms and biological samples. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **186**: 486-494 (2013).
- 6) Karadas, N., S. Sanli, B. Akmese, B. Dogan-Topal, A. Can ve S.A. Ozkan, Analytical application of polymethylene blue-multiwalled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode on anticancer drug irinotecan and determination of its ionization constant value. *Talanta*, **115**: 911-919 (2013).
- 7) Ağin, F., N. Karadaş, B. Uslu ve S.A. Özkan, Voltammetric and RP-LC assay on antidepressant drug mirtazapine: A validated method from pharmaceutical dosage forms. *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, **32**: 41-55 (2013).
- 8) Nurgul Karadas, Ahmet Akbas, Inhibition effect of berberine on the corrosion of copper in acidic medium. *Revue Roumaine de Chimie*, **58**: 639-645 (2013).
- 9) Karadas N, Ozkan SA, Electrochemical preparation of sodium dodecylsulfate doped over-oxidized polypyrrole/multi-walled carbon nanotube composite on glassy carbon electrode and its application on sensitive and selective determination of anticancer drug: pemetrexed. *Talanta*, **119**: 248-54 (2014).
- 10) Brycht, M., S. Skrzypek, N. Karadas-Bakirhan, S. Smarzewska, B. Bozal-Palabiyik, S. A. Ozkan ve B. Uslu, Voltammetric behavior and determination of antidepressant drug paroxetine at carbon based electrodes. *Ionics*, **21**: 2345-2354 (2015).
- 11) Nurgul Karadas-Bakirhan, Stphanie Patris, Sibel A. Ozkan, Alp Can, JeanMichel Kauffmann, Determination of the anticancer drug sorafenib in serum by adsorptive stripping differential pulse voltammetry using a chitosan/multiwall carbon nanotube modified glassy carbon electrode. *Electroanalysis*, **27**: 1 – 9 (2015).
- 12) Nurgul Karadas-Bakirhan, Ahmad Sarakbi, Marie Vandeput, Sibel A. Ozkan, and Jean-Michel Kauffmann, Liquid Chromatography with Amperometric Detection at a Silver Based Detector for the Determination of

Thiocompounds: Application to the Assay of Thiopurine Antimetabolites in Urine. *Analytical Chemistry*, **87**: 6730–6735 (2015)

- 13) Karadas, N, Gumustas, M., Uslu, B., Ozkan, S.A., Simultaneous Determination of Amlodipine Besylate and Rosuvastatin Calcium in Binary Mixtures by Voltammetric and Chromatographic Techniques. *Ionics*, **22**: 277-288 (2016).
- 14) N. Karadas-Bakirhan, A. Asan, N. Colak, S. Sanli (2016). The inhibition of steel corrosion in acidic solutions by a new schiff base. *J. Chil. Chem. Soc.*, **61**, N° 3

#### **Uluslararası veya ulusal kongrelere ait bildiri kitaplarında yer alan sözlü sunumlar**

- 1) Karadaş N., Cinkıllı K., Yağan A., Özçiçek Pekmez N. “Electrochemical copolymerization of aniline and bithiophene in aqueous solution and corrosion performance of coatings on stainless steel electrodes in HCl medium” 8<sup>th</sup> International Electrochemistry Meeting, Antalya, Türkiye, 2009.
- 2) Nurgul Karadas, Mehmet Gümüştas, Sibel A. Özkan, Determination of Benidipine from Its Pharmaceutical Dosage Forms by RP-LC Method, Diyarbakır, Türkiye, 2011.
- 3) Nurgul Karadas, Stephanie Patris, Sibel A Ozkan, Jean-Michel Kauffmann, Determination of the anticancer drug sorafenib using a chitosan/multiwall carbon nanotube modified glassy carbon electrode (2<sup>nd</sup> International Conference on Analytical Chemistry: Analytical Chemistry for a Better Life. RO-ICAC 2014, Targoviste, Romanya, 2014.

#### **Uluslararası veya ulusal kongrelere ait bildiri kitaplarında yer alan posterler**

- 1) Karadaş N., Cinkıllı K., Yağan A., Özçiçek Pekmez N., “Corrosion performance of poly(bithiophene) coatings synthesised in aqueous solution on

stainless steel in NaCl solution” XI. International Corrosion Symposium, İzmir, Türkiye, 2008.

- 2) Cinkıllı K., Karadaş N., Yağan A., Özçiçek Pekmez N., “Inhibition of corrosion by poly(bithiophene) bilayers with poly(aniline) coatings of stainless steel in HCl solution” XI. International Corrosion Symposium, İzmir, Türkiye, 2008.
- 3) Cinkıllı K., Karadaş N., Yağan A., Özçiçek Pekmez N., “Sulu ortamda bityofenin paslanmaz çelik üzerine elektropolimerleştirilmesi ve karakterizasyonu” XXII. Ulusal Kimya Kongresi, Kıbrıs, 2008.
- 4) Karadaş N., Cinkıllı K., Yağan A., Özçiçek Pekmez N. “Electrochemical copolymerization of aniline and bithiophene in aqueous solution and corrosion performance of coatings on stainless steel electrodes in HCl medium” 8<sup>th</sup> International Electrochemistry Meeting, Antalya, Türkiye, 2009.
- 5) Cinkıllı K., Karadaş N., Yağan A., Özçiçek Pekmez N., “ Electrosynthesis, characterization and corrosion behaviours of poly(bithiophene) bilayers with poly(aniline) coatings on stainless steel electrodes in NaCl solution” 8<sup>th</sup> International Electrochemistry Meeting, Antalya, Türkiye, 2009.
- 6) Karadaş N., Özçiçek Pekmez N. "Synthesis of Aniline-Bithiophene Copolymer on Stainless Steel in acetonitrile-water mixture and its corrosion behavior in HCl solution" 8<sup>th</sup> International Electrochemistry Meeting, Antalya, Türkiye, 2009.
- 7) Nurgül Karadaş, Nuran Özçiçek Pekmez, Naki Çolak , Aykut Yılmaz. ‘Electrochemical Copolymerization of N-Methylaniline and Bithiophene in Aqueous solution and Anticorrosive Properties of Coatings on Stainless Steel Electrodes in NaCl Medium’, AACD 2010, Yunanistan, 2010.
- 8) Determination of pKa Values Some Basic Drugs (Salmeterol Xinafote, Fluticasone Propionate and Thioridazine) By Liquid Chromatography, Bediha Yalçın, Senem Şanlı, Nurgül Karadaş, Nurullah Şanlı, Adem Asan. International International Symposium on Drug Research and Development From Chemistry to Medicine, Antalya, Türkiye, 2011.

- 9) Nurgul Karadas, Kadir Erol, Ahmet Akbaş, Yasin Yılmaz , Özge Dağlı, 'Investigation of Inhibition Effect of Berberine on The Corrosion of Copper in Acidic Medium' 25. Ulusal Kimya Kongresi, Erzurum, Türkiye, 2011.
- 10) Nurgul Karadas, Mehmet Gümüştas, Sibel A. Özkan, Benidipin'in Farmasötik Dozaj Formlarından Ters Faz YPSK Yöntemiyle Miktar Tayini. Diyarbakır, Türkiye, 2011.
- 11) Nurgul Karadas, Mehmet Gümüştas, Sibel A. Ozkan, Electrochemical Oxidation of Benidipine at Glassy Carbon Electrode and its Direct Determination in Pharmaceutical Dosage Forms, İzmir, Türkiye, 2011.
- 12) Tuğçe Göver, Nurgul Karadas, Kadir Erol, Oguz Oktay, Kanber Fırat, Yavuz Ak, Ahmet Akbas. 'Paslanmaz çelik ve bakır yüzeylerinin çeşitli korozyon ortamlarında berberin inhibitörü ile korozyondan korunması' III. Physical Chemistry Days, Balıkesir, Türkiye, 2012.
- 13) Nurgül Karadaş, Fatma Ağın, Bengi Uslu, Sibel A. Özkan, Levodropropizin'in farmasötik dozaj formlarından ters faz YPSK-UV yöntemiyle analizi, VI. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, Hatay, Türkiye, 2012.
- 15) Fatma Ağın, Nurgül Karadaş, Bengi Uslu, Sibel A. Özkan. Different analytical applications on mirtazapine. ISOPS 10, Ankara, Türkiye, 2012.
- 16) Nurgül karadaş, Fatma Ağın, Bengi Uslu, Sibel A. Özkan. Development and validation of RP-LC method for the determination of levodropropizine. ISOPS 10, Ankara, Türkiye, 2012.
- 17) Bengi Uslu, Fatma Ağın, Nurgül Karadaş, Sibel A. Özkan. Voltammetric behavior of mirtazapine at carbon based electrodes: a study of its determination from pharmaceutical dosage forms. 14th International Conference on Electroanalysis (ESEAC 2012), Portoroz, Slovenya, 2012.
- 18) Nurgül Karadaş, Fatma Ağın, Bengi Uslu, Sibel A. Özkan. Voltammetric oxidation of levodropropizine and application to its determination in

pharmaceutical dosage forms. 14th International Conference on Electroanalysis (ESEAC 2012), Portoroz, Slovenia, 2012.

- 19) Nurgül Karadaş, Fatma Ağın, Bengi Uslu, Sibel A. Özkan, Levodropropizin'in farmasötik dozaj formlarından ters daz YPSK-UV yöntemiyle analizi, VI. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, Hatay, Türkiye, 2012.
- 20) Nurgul Karadas, Sibel A. Ozkan. 'Electrochemical determination of pemetrexed in pharmaceutical dosage forms' Uluslararası Katılımlı Elektrokimya Çalıştayı, Muğla, Türkiye, 2013.
- 21) Nurgul Karadas, Sibel A. Ozkan. 'Electrochemical oxidation of anticancer drug pemetrexed at different electrodes and its determination in pharmaceutical dosage forms' XVII. European Conference on Analytical Chemistry, Varşova, Polonya, 2013.
- 22) Nurgul Karadas, Burcin Bozal Palabiyik, Bengi Uslu, Sibel A. Ozkan, COOH-functionalized carbon nanotubes with silver nanoparticles to fabricate a sensor for the determination of zolmitriptan, XVII Euroanalysis, 25-29 August 2013, Varşova, Polonya, 2013.
- 23) Ağın, F., N. Karadaş, B. Uslu ve S. A. Özkan "Development and validation of RP-LC method for the determination of mirtazapine" 6th Black Sea Basin Conference on Analytical Chemistry (6BBCAC), Trabzon, Türkiye, 2013.
- 24) Karadaş, N., F. Ağın, B. Uslu ve S. A. Özkan, "RP-LC assay for the determination of mirtazapine and its degradation products" 20th International Symposium on Electro-and Liquid Phase-Separation Techniques, Abstract PS2-14, Puerto de la Cruz, Tenerife, İspanya, 2013.
- 25) Brycht, M., S. Skrzypek, N. Karadas, S. Smarzewska, B. Bozal-Palabiyik, S. A. Ozkan ve B. Uslu, Voltammetric behavior and determination of antidepressant drug paroxetine at carbon based electrodes. 7. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, Kahramanmaraş, Türkiye, 2014.

- 26) Nurgul Karadas-Bakirhan, Ahmad Sarakbi, Marie Vandeput, Sibel A Ozkan, Jean-Michel Kauffmann, A New Electrochemical Detection of Thiopurine Antimetabolites by Liquid Chromatography Using Self-Assembled Monolayer Modified Silver Electrode. Liege, Belçika, 2014.
- 27) Nurgul Karadas-Bakirhan, Stephanie Patris, Sibel A Ozkan, Jean-Michel Kauffmann, Investigation of an Anticancer Drug; Sorafenib Redox Behavior at Different Electrodes and Electrochemical Impedance Behavior of the Developed Sensor, 11<sup>th</sup> International Symposium On Pharmaceutical Sciences (Isops-11), Ankara, Türkiye, 2015.
- 28) Nurgul Karadas-Bakirhan, Ahmad Sarakbi, Marie Vandeput, Sibel A Ozkan, Jean-Michel Kauffmann, 6-Thioguanine And Its Metabolites Determination By Liquid Chromatography With Pulsed Electrochemical Detection At Silver Electrode In Urine, Bordeaux, Fransa, 2015.
- 29) Nurgül Karadaş Bakırhan, Hayati Çelik, Bengi Uslu, Sibel A. Özkan, Dienogest Etken Maddesinin Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi ve Modifiye Elektrodun Elektrokimyasal İmpedans Yöntemiyle Karakterizasyonu, Çanakkale, Türkiye, 2015.
- 30) Fatma Kartal, Nurgül Karadaş Bakırhan, Sibel A. Özkan, A new sensitive electrochemical method for simultaneous determination of amlodipine and telmisartan drug, 3rd International Congress On Biosensors, Ankara, Türkiye, 2016.

## **V- Bilimsel Etkinlikleri**

### **Aldığı burslar**

Tübitak Bursu 2214-International doctoral research fellowship programme (Belçika, 2014)

## Projeler

- 1) Electropolymerization of Aniline-Thiophene copolymers and composites on stainless steel, Its characterizations and corrosion performances,105T307 TUBITAK Projesi, 2006-2008.
- 2) Investigation of anticancer drug irinotecan by Reversed-Phase Liquid Chromatography and Electroanalytical methods, Uşak Üniversitesi Araştırma Fonu, 2012-2014.
- 3) 'Antineoplastik ilaç etken maddelerinin modifiye katı elektrotlar ile elektroanalitik incelenmesi ve nanosensör tasarım eşitli İlaçların Tirosinaz İnhibisyonundaki Rollerini İncelemek Amaçlı Elektrokimyasal Nanobiyosensor Tasarımı', 12L3336002, Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu.
- 4) Paroksetin'in elektrokimyasal incelenmesi, A.Ü. BAP Hızlandırılmış Destek Projesi, 15H0237002, 2014-2015.
- 5) Modifiye Edilmiş Karbon Esaslı başlıklı Hızlandırılmış DestekElektrotlar ile Bazı İlaçların Elektrokimyasal Analizleri, A.Ü. BAP Hızlandırılmış Destek Projesi, 16H0237007, 2016.