

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

**PARKİNSON HASTALIĞI TEDAVİSİNDE KULLANILAN İLAÇLARDAN
ENTAKAPON VE TOLKAPONUN ELEKTROKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ VE VOLTAMETRİK TAYİNLERİ İÇİN YÖNTEM
GELİŞTİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

Musa KIRAN

Danışman: Prof. Dr. Yavuz YARDIM

VAN-2024

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

**PARKİNSON HASTALIĞI TEDAVİSİNDE KULLANILAN İLAÇLARDAN
ENTAKAPON VE TOLKAPONUN ELEKTROKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ VE VOLTAMETRİK TAYİNLERİ İÇİN YÖNTEM
GELİŞTİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

Musa KIRAN

Tez Savunma Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Necla ÇALIŞKAN KILIÇ (Başkan)

Prof. Dr. Yavuz YARDIM (Danışman)

Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT (Üye)

Doç. Dr. Ertuğrul KESKİN (Üye)

Doç. Dr. Oruç YUNUSOĞLU (Üye)

Bu doktora tezi YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından FDK-2021-9544 No'lu proje olarak desteklenmiştir.

VAN-2024

KABUL VE ONAY SAYFASI

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Yavuz YARDIM danışmanlığında, Musa KIRAN tarafından sunulan “Parkinson hastalığı tedavisinde kullanılan ilaçlardan entakapon ve tolkaponun elektrokimyasal özelliklerinin incelenmesi ve voltametrik tayinleri için yöntem geliştirilmesi” başlıklı bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 28/05/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile başarılı bulunmuş ve doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Necla ÇALIŞKAN KILIÇ

İmza:

Üye: Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT

İmza:

Üye: Prof. Dr. Yavuz YARDIM

İmza:

Üye: Doç. Dr. Ertuğrul KESKİN

İmza:

Üye: Doç. Dr. Oruç YUNUSOĞLU

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../.../2024 tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Harun AKKUŞ
Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Musa KIRAN



ÖZET

PARKİNSON HASTALIĞI TEDAVİSİNDE KULLANILAN İLAÇLARDAN ENTAKAPON VE TOLKAPONUN ELEKTROKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ VE VOLTAMETRİK TAYİNLERİ İÇİN YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ

KIRAN, Musa

Doktora Tezi, Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Yavuz YARDIM

Mayıs 2024, 81 sayfa

Parkinson hastalığı kronik, yavaş ilerleyici ve sinir hücrelerinin kaybı ile seyreden önemli bir beyin hastalığıdır. Entakapon (ENT) ve tolkapon (TOL) sentetik yapıli ilaçlar olup parkinson hastalığının tedavisinde kullanılmaktadır. Bu araştırma, döngüsel voltametri ve kare dalga (SW) voltametri teknikleri kullanılarak elektrokimyasal katodik ön işleme tabi tutulan bor katkıli elmas elektrot yüzeyinde ENT ve TOL'ün elektroanalitik analizini içermektedir. Çalışmada, tarama hızı, pH, SW parametreleri ve diğer faktörler dahil olmak üzere çeşitli deneysel değişkenlerin pik akımı ve potansiyeli üzerinde etkinliği araştırıldı. SW voltametri tekniği, H₂SO₄ çözeltisinde ENT'yi belirlemek için kullanıldı ve 1.0'den 40.0 µg mL⁻¹'e (3.3 x 10⁻⁶-1.3 x 10⁻⁴ M, Ag/AgCl'ye karşı) doğrusal bir aralık elde edildi, gözlenebilme sınırı 0.25 µg mL⁻¹ (8.2 x 10⁻⁷ M) olarak bulundu. TOL için, aynı teknik kullanılarak 0.1 M fosfat tampon çözeltisinde (pH 2.5), +0.66 V'de (Ag/AgCl'ye karşı) doğrusal aralık 1.0-50.0 µg mL⁻¹ (3.7 x 10⁻⁶ - 1.8 x 10⁻⁴ M) ve gözlenebilme sınırı 0.29 µg mL⁻¹ (1.1 x 10⁻⁶ M) elde edildi. Bu metodoloji, ENT ve TOL'nun farmasötik preparatlarda kantitatif olarak belirlemede etkili olmuştur.

Anahtar kelimeler: Bor katkıli elmas elektrot, Entakapon, Farmasötik formülasyon, Parkinson hastalığı, Tolkapon, Voltametik tayin

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE ELECTROCHEMICAL PROPERTIES OF ENTACAPONE AND TOLCAPONE DRUGS USED IN THE TREATMENT OF PARKINSON DISEASE AND DEVELOPMENT OF A METHOD FOR VOLTAMMETRIC DETERMINATIONS

KIRAN, Musa

Ph.D. Thesis, Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Yavuz YARDIM

May 2024, 81 pages

Parkinson's disease is a chronic, slow progressive and important brain disease that follows with the loss of nerve cells. Entacapone (ENT) and tolcapone (TOL) are synthetic drugs and are used in the treatment of Parkinson's disease. This research involves the electroanalytical analysis of ENT and TOL on the surface of a boron-doped diamond electrode that has been subjected to electrochemical cathodic pretreatment using cyclic voltammetry and square-wave (SW) voltammetry techniques. The study explored how peak current and potential are influenced by several experimental variables, including scan rate, pH, SW parameters, and other factors. The SW voltammetric technique was applied to determine ENT in a H₂SO₄ solution, achieving a linear dynamic range from 1.0 to 40.0 µg mL⁻¹ (3.3×10^{-6} - 1.3×10^{-4} M, vs. Ag/AgCl), with a detection limit of 0.25 µg mL⁻¹ (8.2×10^{-7} M). For TOL, using the same technique in a 0.1 M phosphate buffer solution (pH 2.5), a positive linear response was observed at +0.66 V (vs. Ag/AgCl), with a range from 1.0 to 50.0 µg mL⁻¹ (3.7×10^{-6} - 1.8×10^{-4} M) and a detection limit of 0.29 µg mL⁻¹ (1.1×10^{-6} M). This methodology has proven effective for quantifying ENT and TOL in pharmaceutical preparations.

Keywords: Boron doped diamond electrode, Entacapone, Parkinson's disease, Pharmaceutical formulation, Tolcapone, Voltammetric determination



TEŞEKKÜR

“Parkinson hastalığı tedavisinde kullanılan ilaçlardan entakapon ve tolkaponun elektrokimyasal özelliklerinin incelenmesi ve voltametrik tayinleri için yöntem geliştirilmesi” konulu doktora tezimin hazırlanması ve çalıőmalarım sırasında, bana bilgi ve tecrübesiyle yol gösteren, her konuda destek ve yardımlarını esirgemeyen, değerli tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Yavuz YARDIM’a bütün samimiyetimle teşekkürlerimi sunarım.

Doktora tezimin hazırlanması ve bütün eğitim hayatım süresince, bana her konuda destek olan aileme; annem Yıldız KIRAN’a, ağabeylerim; Malik KIRAN’a ve İsa KIRAN’a, ebedi sevgi, saygı ve őükranlarımı sunarım.

Doktora tez çalıőmamı, çalıőmalarım uğruna zaman zaman eksikliğimi hissettirdiğim canım eőim ve oğluma ithaf ediyorum.

2024

Musa KIRAN



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Elektrokimya	3
2.1.1 Elektrokimyasal Hücreler	4
2.1.2 Bor Katkılı Elmas Elektrot	12
2.1.3 Klasik Polarografi.....	15
2.2 Voltametri.....	17
2.2.1 Voltametrik Teknikler	19
2.2.2 Voltametrik Yöntemlerin Sınıflandırılması.....	20
2.2.2.1 Dönüşümlü (döngülü) Voltametri (CV).....	20
2.2.2.2 Diferansiyel Puls Voltametrisi	21
2.2.2.3 Kare Dalga Voltametrisi.....	21
2.2.2.4 Sıyırma Voltametrisi	23
2.2.2.2.1 Anodik Sıyırma Voltametri	23
2.2.2.2.2 Katodik Sıyırma Voltametri.....	24
2.2.2.2.3 Adsorptif Sıyırma Voltametrisi	24
2.2.2.2.4 Potansiyometrik Sıyırma Voltametri	25
2.2.2.2.5 Sabit Potansiyel Kulometrisi (Bulk elektroliz, BE).....	25
2.2.3 Elektroanalitik Yöntemler	26
2.2.4 İlaçlarda Elektroanalitiksel Tayin Yöntemleri	27
2.3 Parkinson Hastalığı ve Hastalığın Tedavisi.....	29
2.3.1 Parkinson Hastalığı.....	29
2.3.2 Hastalığın Tedavisi	32
2.3.3 Entakapon	33
2.3.4 Tolkapon.....	34
2.3.5 Literatür özeti	35

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	37
3.1 Kimyasal Maddeler ve Çözücüler	37
3.2 Destek Çözeltilerinin Hazırlanması.....	37
3.3 Numunelerin Hazırlanması.....	38
3.4 Araç ve Gereçler.....	38
3.4.1 Entakapon Analizi	39
3.4.2 Tolkapon Analizi	39
3.5 Yöntem	40
3.5.1 Voltametrik Analiz	40
3.5.2 SEM Analizleri	40
4. BULGULAR	43
4.1 Entakaponun Dönüşümlü Voltametri Çalışmaları.....	43
4.1.1 BDD Elektrotun Ön İşlem Prosedürünün Entakapon Sinyalleri Üzerine Etkisi.....	45
4.1.2 Destek Elektrotu ve pH'nin Etkisi.....	46
4.1.3 SWV Parametrelerinin Etkisi	48
4.1.4 Entakapon İçin Analitik Parametreler	48
4.1.5 Seçicilik Çalışması	50
4.1.6 Önerilen Yöntemin Uygulanabilirliği.....	51
4.2 Tolkapon'un Dönüşümlü Voltametri Çalışmaları	53
4.2.1 BDD Elektrotun Ön İşlem Prosedürünün Tolkapon Sinyalleri Üzerine Etkisi.....	54
4.2.2 SEM Analizi Sonuçları.....	56
4.2.3 Destek Elektrotu ve pH'nin Etkisi.....	58
4.2.4 SWV Parametrelerinin Etkisi	61
4.2.5 Tolkapon için Analitik Parametreler	61
4.2.6 Seçicilik Çalışması	63
4.2.7 Önerilen Yöntemin Uygulanabilirliği.....	66
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	69
KAYNAKLAR.....	73
ÖZ GEÇMİŞ.....	83

ÇİZELGELER LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 4.1 BDD elektrot yüzeyinde SWV yöntemi kullanılarak entakapon yükseltgenme sinyali için elde edilen analitik parametreler.....	49
Çizelge 4.2 ENT miktarının belirlenmesinde önerilen yöntemin çeşitli elektrot malzemeleriyle karşılaştırılması	50
Çizelge 4.3 ENT'nun yükseltgenme sinyali üzerine girişim yapabilecek maddelerin etkisi.....	51
Çizelge 4.4 Entakapon standart çözeltileri eklenmiş farmasötik form örneklerinin geri kazanım değerlerinin belirlenmesiyle geliştirilen prosedürün performansı	52
Çizelge 4.5 CPT-BDD elektrot yüzeyinde SWV yöntemi kullanılarak TOL yükseltgenme sinyali için elde edilen analitik parametreler.....	62
Çizelge 4.6 TOL tayininde geliştirilen yöntemin literatürdeki diğer yöntemlerle kıyaslanması	63
Çizelge 4.7 TOL'nun yükseltgenme sinyali üzerine girişim yapabilecek maddelerin etkisi.....	64
Çizelge 4.8 Tolkapon standart çözeltileri eklenmiş farmasötik form örneklerinin geri kazanım değerlerinin belirlenmesiyle geliştirilen prosedürün performansı	67

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1 İki elektrotlu hücrenin şematik gösterimi.....	5
Şekil 2.2 Voltametrik ölçümler için kullanılan üç elektrot bulunan elektrokimyasal hücre	6
Şekil 2.3 Ag/AgCl referans elektrodu ve gerçekleşen tepkimesi (Skoog vd., 1998)	7
Şekil 2.4 Voltametri için kullanılan üç elektrotlu potansiyostatik sistem diyagramı	8
Şekil 2.5 Voltametri alanında kullanılan çalışma elektrotları	10
Şekil 2.6 Elmas ve grafitin örgü yapısı.....	14
Şekil 2.7 Bor katkılı elmas (BDD) elektrot	14
Şekil 2.8 Damlayan cıva elektrotunun klasik tasarımı	17
Şekil 2.9 Voltametri için kullanılan uyarma sinyallerinin dalga şekli.....	18
Şekil 2.10 Voltametri için kullanılan yaygın teknikler.....	20
Şekil 2.11 Diferansiyel puls voltametri ve kare dalga voltametri için dalga formları (Franklin vd., 2016)	22
Şekil 2.12 Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması.....	27
Şekil 2.13 Parkinson hastalarının tipik görünümü	31
Şekil 2.14 Entakapon'un kimyasal yapısı	34
Şekil 2.15 Tolkapon'nun kimyasal yapısı	34
Şekil 4.1 150 µg mL ⁻¹ entakaponun 100 mV s ⁻¹ de üç tekrarlı dönüşümlü voltamogramları (A) ve çeşitli tarama hızlarında (10, 25, 50, 75 ve 100 mV s ⁻¹) dönüşümlü voltamogramları (B). Elektrot; BDD, çözelti; 0.1 M H ₂ SO ₄ . A: Kesikli çizgiler zemin akımını göstermektedir, B: $v^{1/2}$ 'ye karşı i_p 'nin doğrusal denklem grafiği.....	44
Şekil 4.2 Farklı elektrokimyasal ön işlemler uygulanmış BDD elektrotu yüzeyinde 0.1 M H ₂ SO ₄ içerisinde 20.0 µg mL ⁻¹ entakaponun SW voltamogramları. SWV parametreleri; $\Delta E_s = 10$ mV; $\Delta E_{sw} = 40$ mV; $f = 50$ Hz	46
Şekil 4.3 CPT-BDD elektrot yüzeyinde 20 µg mL ⁻¹ entakaponun BR tamponunda (pH 2.0 – 5.0) (A) ve çeşitli destek elektrolitlerinde (B) SW voltamogramları. Diğer koşullar şekil 4.2'de gösterilmiştir	47
Şekil 4.4 Entakapon yüksetgenmesinin olası mekanizması	48

Şekil 4.5 CPT-BDD elektrot yüzeyinde 0.1 M H ₂ SO ₄ çözeltisinde entakapon konsantrasyonları (1-8) 1.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 20.0, 30.0 ve 40.0 µg mL ⁻¹ olan SW voltamogramları. İçe yerleştirilmiş grafik, kalibrasyon eğrisini göstermektedir. SWV parametreleri: ΔE _s = 12 mV; ΔE _{sw} = 60 mV; f = 150 Hz.....	49
Şekil 4.6 CPT-BDD elektrot yüzeyinde 0.1 M H ₂ SO ₄ çözeltisinde ilaç numunesinin (kesikli çizgi) ve farklı derişimlerdeki (1-5) standart entakapon çözeltilerinin (1.0, 2.5, 5.0, 7.5 ve 10.0 µg mL ⁻¹) eklemesinden sonraki SW voltamogramları. İçe yerleştirilmiş grafik, standart ilave yöntemi kullanılarak yapılan analizin sonucunu göstermektedir. Diğer koşullar Şekil 4.5'teki gibidir.....	52
Şekil 4.7 150 µg mL ⁻¹ tolkaponun 100 mV s ⁻¹ de üç tekrarlı dönüşümlü voltamogramları (A) ve çeşitli tarama hızlarında (10, 25, 50, 100, 200 ve 300 mV s ⁻¹) dönüşümlü voltamogramları (B). Elektrot; BDD, çözelti; 0.1 mol L ⁻¹ PBS (pH 2.5). A: Kesikli çizgiler zemin akımını göstermektedir, B: v ^{1/2} 'ye karşı i _p 'nin doğrusal denklem grafiği.....	54
Şekil 4.8 Farklı elektrokimyasal ön işlemler uygulanmış BDD elektrotu yüzeyinde 0.1 mol L ⁻¹ PBS (pH 2.5) içerisinde 50.0 µg mL ⁻¹ tolkaponun SW voltamogramları. SWV parametreleri; ΔE _s = 10 mV; ΔE _{sw} = 40 mV; f = 50 Hz.....	55
Şekil 4.9 BDD elektrotu (A-B) için farklı ölçekte (10 µm ve 0.2 µm) SEM görüntüleri, SEM-EDX spektrumu ve BDD elektrotunun elementel bileşimi (C) gösterimi	57
Şekil 4.10 CPT-BDD elektrot yüzeyinde 50 µg mL ⁻¹ tolkaponun BR tamponunda (pH 2.0 – 7.0) (A) ve çeşitli destek elektrolitlerinde (B) SW voltamogramları. Diğer koşullar şekil 4.8'de gösterilmiştir	59
Şekil 4.11 Tolkapon oksidasyonunun olası mekanizması.....	60
Şekil 4.12 CPT-BDD elektrot yüzeyinde pH 2.5'te 0.1 M PBS'de 20 µg mL ⁻¹ TOL'nun DP (a) ve SW (b) voltamogramları. DPV parametreleri: amplitude, 50 mV; step potential, 8 mV ve modülasyon süresi 0.05 s. Diğer koşullar şekil 4.8'de gösterilmiştir	60

- Şekil 4.13 CPT-BDD elektrot yüzeyinde 0.1 M PBS (pH 2.5) çözeltisinde tolkapon derişimleri (1-9) 1.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 20.0, 30.0, 40.0 ve 50.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ olan SW voltamogramları. İçe yerleştirilmiş grafik, kalibrasyon eğrisini göstermektedir. SWV parametreleri: $\Delta E_s = 12 \text{ mV}$; $\Delta E_{sw} = 60 \text{ mV}$; $f = 100 \text{ Hz}$ 62
- Şekil 4.14 5.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ TOL varlığında (A) eşit konsantrasyon, 5 ve 10 kat fazla AA, (B) eşit konsantrasyon, 5 ve 10 kat fazla DOP ve (C) eşit konsantrasyonu 5 ve 10 kat fazla UA karışımının SW voltamogramları. Diğer koşullar Şekil 4.13'teki gibidir..... 65
- Şekil 4.15 CPT-BDD elektrot yüzeyinde 0.1 M PBS (pH 2.5) çözeltisinde ilaç numunesinin (kesikli çizgi) ve farklı derişimlerdeki (1-5) standart tolkapon çözeltilerinin (1.0, 2.5, 5.0, 10 ve 20.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$) eklemesinden sonraki SW voltamogramları. İçe yerleştirilmiş grafik, standart ilave yöntemi kullanılarak yapılan analizin sonucunu göstermektedir. Diğer koşullar Şekil 4.13'teki gibidir..... 66



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu tez çalışmasında kullanılmış olan bazı simgeler ve kısaltmalar, aşağıda açıklamaları ile birlikte sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
cm	Santimetre
°C	Santigrat
<i>E_p</i>	Sinyal potansiyeli
<i>f</i>	Frekans
Hz	Hertz
I	Elektrik akımı
L	Litre
<i>I_p</i>	Pik akımı
log	Logaritma
µA	Mikroamper
µg/mL⁻¹	Mikrogram/mililitre
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre
m	Eğim
M	Molarite
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mV	Milivolt
mV/s⁻¹	Milivolt/saniye
n	Deney sayısı
pH	Bir çözeltinin asitlik ya da bazlık derecesini tanımlayan ölçü birimi
pKa	Asitlik sabiti değeri
ppm	Milyonda bir
Pt	Platin

Simgeler

Açıklama

R	Direnç
<i>r</i>	Korelasyon katsayısı
s	Saniye
<i>s</i>	Standart sapma
V	Volt
<i>v</i>	Gerilim tarama hızı
$v^{1/2}$	Tarama hızı karekökü
ΔE_{sw}	Sinyal genliği
ΔE_s	Gerilim adımı

Kısaltmalar

Açıklama

AA	Askorbik Asit
ABS	Asetat Tampon Çözeltilisi
AD	Alzheimer Hastalığı
AdSV	Adsorptif Sıyırma Voltametrisi
ASV	Anodik Sıyırma Voltametrisi
AgCl	Gümüş Klorür
AC	Alternatif Akım
Al₂O₃	Alüminyum Oksit, Alümina
API	Aktif Farmasötik Bileşenler
APT	Anodik Ön İşleme
ASV	Anodik Sıyırma Voltametrisi
BDDE	Bor Katkılı Elmas Elektrot
BE (Bulk elektroliz)	Sabit Potansiyelli Elektroliz
BR Tamponu	Britton-Robinson tamponu
BSS	Bağlı Standart Sapma
CH₃COOH	Asetik Asit
COMT	Kateşol-O-Metil Transferaz
CPT	Katodik Ön İşlem
CSV	Katodik Sıyırma Voltametrisi

Kısaltmalar

Açıklama

CV	Dönüşümlü (Döngülü) Voltametri
DAD	Diyot Dizinli Dedektör
DC	Ana Doğru Akım
DOP	Dopamin
DME	Damlayan Cıva Elektrotu
DPV	Diferansiyel Puls Voltametrisi
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EAA	Eğri Altında Kalan Alan
ENT	Entakapon
Ep	Gerilim Eğrisi
FDA	İlaç ve Gıda Dairesi
GC	Camımsı Karbon
Hg/Hg₂Cl₂	Kalomel
HCl	Hidroklorik Asit
H₂SO₄	Sülfirik Asit
HNO₃	Nitrik Asit
HClO₄	Perklorik Asit
H₃BO₃	Borik Asit
H₃PO₄	Fosforik Asit
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HSA	İnsan Serum Albümini
IUPAC	Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
KCl	Potasyum Klorür
KDV	Kare Dalga Voltametrisi
L-Dopa	Levodopa
LOD	Gözlenebilme Sınırı
LOQ	Tayin Alt Sınırı
LSV	Doğrusal Taramalı Voltametri
LRE	Doğrusal Regresyon Denklemi
LWR	Doğrusal Çalışma Aralığı

Kısaltmalar**Açıklama**

logV	Tarama Hızı Logaritması
OH grupları	Hidroksil Grupları
PBS Tamponu	Fosfat Tampon Çözeltisi
PH	Parkinson Hastalığı
RE	Referans Elektrot
REM	Hızlı Göz Hareketleri
RSD	Gün İçi ve Günler Arası Tekrarlanabilirlik
RP-HPLC	Ters Faz Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SV	Sıyırma Voltametrisi
SWV	Kare Dalga Voltametrisi
SW-AdSV	Kare Dalga Adsorptif Sıyırma Voltametri
TOL	Tolkapon
TWV	Üçgensel Dalga Voltametrisi
UA	Ürik Asit
UCHL1	Ubiquitin Karboksi Terminal Hidrolaz L1
UPLC	Ultra Performanslı Sıvı Kromatografisi
WE	Çalışma Elektrotu
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

Kimyanın en önemli bilim dallarından olan analitik kimya, bilimin değişmesinde ve gelişmesinde önemli bir yere sahiptir. Tıp, eczacılık, çevre bilimleri, fen bilimleri gibi alanların çoğalan talepleri ve ihtiyaçları bu gelişmeleri araştırmak için yapılan çalışmaları güç bir duruma sokarken diğer taraftan elektrik ve elektronik teknolojisindeki yenilikler, teknolojik çalışmalar ve bu alanda yapılan yenilikler oluşan ihtiyaçları ve bu ihtiyaç doğrultusunda oluşan talepleri karşılamak için yeni alternatifler oluşturmuştur. Analitik kimya; ilaçlar, organik ve inorganik maddelerle birlikte doğada görünen farklı alanlarda kalitatif (nicel) ve kantitatif (nitel) ölçüm analizlerini kromatografik, spektrofotometrik ve elektrokimyasal yünden değerlendirerek, bu elde edilen sonuçlara göre hem canlıların yaşam kalitesini ve şartlarını arttırmaya yönelik gelişmelere açık, hem de ekonomik gelişmelere ve yeniliklere de cevap verebilen bir bilim dalıdır. Teknolojinin gelişmesiyle birlikte nanoteknoloji alanındaki gelişmeler ile spektroskopik tekniklerin hızla değişmesi sonucu iyi hassasiyet ve görüntüleme derecesi ile birlikte bu alanda yapılan çalışmalara hız kazandırmıştır. Kimyasal örneklerin çok küçük derişimlerde bile daha yüksek duyarlılıkla, daha düşük maliyetlerle ve basit bir ölçüm sağlanmıştır (Skoog vd., 2001).

Elektrokimyasal yöntemler, çözeltinin derişimi ile potansiyel kullanılarak, akım (gerilim), direnç (veya iletkenlik), kapasitans veya elektrik miktarı gibi değişken parametreler kullanılarak maddenin nicelik ve nitelik özellikleri hakkında bize geniş ölçüde bilgi verir. Analitik kimya açısından, elektriksel ölçümler; su kirliliği analizleri, gıda ve bileşenlerinde mikrobiyolojik analizler, çevrenin takip edilmesi, sanayi alanında kalite kontrolün sağlanması, eczacılık alanındaki gelişmeler, toprak analizleri ve biyomedikal alanındaki analizler olmak üzere geniş bir yelpazede çalışma alanına sahiptir. Bu alanda yapılan elektrokimyasal analizlerde yöntem olarak hassas ve güvenilir olmak son derece önemlidir. Analitik olarak geniş derişim aralığında çalışma olanağına izin vermesi hızlı olması, kolay olması (çok uzmanlık gerektirmemesi sayesinde anlaşılabilir olması), maliyet olarak düşük bütçelerle yapıyor olması da önemli bir etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Elektrokimyasal yöntemlerden olan ve voltametrik teknikle yapılan ilaç analizleri, klinik düzeyindeki analizler ve eser miktarlarda ilaç ve madde analizlerinin yapılmasının yanı sıra proseslerin ve deney sürecinin kısa sürede hazırlanması ve tamamlanması gibi üstünlükleri ile çok önemli bir avantaja sahiptir.

Eczacılık açısından farmakolojik öneme sahip olan bileşiklerin yükseltgenme ve indirgenme mekanizmalarının çalışılması ve bilim dünyasına kazandırılması son derece önemlidir. Bu tür karmaşık mekanizmaların aydınlatılması, literatüre kazandırılması ile ilgili deneysel çalışmalar sayesinde ilaçların, moleküllerin ve karmaşık olan biyolojik sistemler ile etkileşmesinin kolay ve anlaşılabilir olmasına olanak sunarlar.

Entakapon (ENT) ve tolkapon (TOL) parkinson hastalığının tedavisinde önemli bir yere sahip olan sentetik yapılu ilaçlardır. Elektroanalitik yöntemler, düşük bütçeye sahip olmaları, aletsel olarak kolay olmaları, hızlı bir şekilde maddelerin tayinine olanak sağlamaları ve küçük derişimlerdeki örneklere bile uygulanabilir olmaları açısından ilaç etken ve yardımcı maddelerinin analizlerinde kullanılan diğer yöntemlere iyi birer alternatif, seçenek oluşturmaktadırlar. Yalın, sade ve modifiye elektrotlar yardımıyla ilaç analiz işlemlerinde, çevre ve gıda analizleri işlemlerinin yapılması gibi geniş bir uygulama alanına sahiptirler. Spektroskopik yöntemler, kromatografik yöntemler ve hibrit yöntemler ilaç etken ve yardımcı maddelerinin analiz ve yapı taşlarının aydınlatılması işlemlerinde kullanılan başlıca yöntemlerdir. Ancak bu yöntemleri elektrokimyasal yöntemler ile karşılaştırırsak biraz daha pahalı olan, zaman ve emek gerektiren yöntemlerdir.

Bu bilgiler doğrultusunda, parkinson hastalığının tedavisinde önemli bir yere sahip olan ENT ve TOL ilaç etkin maddelerinin bor katkılı elmas elektrot (BDDE) yüzeyinde ilk kez elektrokimyasal analizlerine imkân tanıyacak seçici ve duyarlı bir voltametrik yöntemin tez kapsamında kullanılması önemlidir. Literatür araştırması, bu bileşiklerin BDDE yüzeyinde detaylı redoks davranışları ve voltametrik analizleri üzerine herhangi bir çalışma yapılmadığını ortaya koymaktadır. Bu çalışma, ENT ve TOL ilaç etken maddelerinin standart çözeltilerinde ve piyasada bulunan ilgili ilaç preparatı örneklerinde voltametrik tayinini ve BDD elektrot yüzeyinde elektrokimyasal özelliklerinin incelenmesini içermektedir. Tarafımızca geliştirilecek yöntemin pratik, seçici ve duyarlı bir şekilde literatürde yer bulması, ileride farklı elektrot malzemeleri ile yapılacak voltametrik yöntemlere ise tamamlayıcı yol göstereceği düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Elektrokimya

Elektrokimya, maddelerin elektrik enerjisi ile etkileşerek kimyasal dönüşümler geçirmesi, fiziksel değişiklikler yaşaması ve kimyasal enerjinin elektrik enerjisine dönüşümünü inceleyen bilim dalıdır. 1793 yılında Alessandro Volta, iki farklı metal arasına nemli bir kâğıt yerleştirerek elektrik enerjisi üretmeyi başarmıştır. Bu çalışmayı kullanarak suyun elektrolizini gerçekleştirmiş ve kimya tarihinde önemli bir deney olan, hidrojen ve oksijen atomlarının negatif ve pozitif elektrik yükleri ile ilişkisini ve bu yüklerin atomlar arası bağların kaynağını oluşturduğunu göstermiştir. 1812'de Berzelius, metallerin pozitif, ametallerin ise negatif yükler taşıdığını öne sürerek bu yüklü taneciklere "iyon" adını vermiştir. Aynı dönemde, elektrik enerjisinin kimyasal enerjiye dönüşümünü inceleyen Davey'in asistanı Faraday, bir maddenin içinden geçen belirli miktardaki elektrik akımının, o maddenin bileşenlerinde belirli miktarda aşınmaya neden olduğunu keşfetmiştir. Bu ortaya çıkan sonuç ile birlikte ilk defa elektrik sayaçlarının üretim işlemine olanak sağlamıştır. Bu sonuçlar ile birlikte günümüzdeki elektrokimyanın temellerini ortaya atılmıştır. Ancak, tarihte yapılan büyük elektrokimyasal çalışmalara rağmen, elektrokimya hala çözelti içinde meydana gelen tepkimeleri tam anlamıyla açıklayamamaktadır. İyon çözücülerini, iyon çapları ve iyon-iyon etkileşimleri gibi kimyasal olaylar bilim dünyasında tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu nedenle, elektrokimyanın gelişimi zaman içinde yavaşlamış olsa da diğer kimyasal alanlardaki gelişmelere ve değişimlere genel olarak ışık tutmaya devam etmiştir (Göver, 2011).

Elektrokimya, maddenin yapısında gerçekleşen elektriksel etkilerin ile kimyasal etkilerin ve tepkimelerin birbiriyle bağlantılı olduğu kimyanın bir alt dalıdır. Bu alandaki faaliyetlerin çoğunluğu, kimyasal tepkimelerle elektrik enerjisinin üretilmesinden maddeden elektrik akımının geçmesinden ve maddede oluşan kimyasal yapıdaki değişikliklerin incelenmesiyle ilgilidir (Bard ve Faulkner, 2001). Oluşan bu elektrik enerjisinin kimyasal dönüşümleri gerçekleştirebilmesi amacıyla ve tam tersi olacak şekilde gerçekleşen kimyasal dönüşümlerin elektrik enerjisi üretebilmesi için indirgenme ve yükseltgenme tepkimelerinin oluşmasına bağlıdır. Elektrot yüzeyinde meydana gelen elektrokimyasal işlemler elektrokimyasal hücre adını verdiğimiz bir düzenek içerisinde

yürütülür. Bu tepkimeler meydana geldiği zaman ise elektrokimyasal hücrede elektron geçişleri ile elektron aktarımları meydana gelir (Skoog vd., 1998).

Elektroanalitik kimya adını analitik kimyada analiti içeren bir elektrokimyasal hücredeki potansiyeli ve/veya akımı ölçerek inceleyen bir yöntemden alır (Skoog ve Bruce, 1981). Elektroanalitik yöntemlerin birçok sınıflandırma yöntemi olsa da bunların en önemli kabul edilen yöneme göre, ara yüzeyde gerçekleşen yöntemler ve analiz ortamının tümünde gerçekleşen yöntemler olmak üzere iki farklı başlık altında toplanması bilim dünyasında kabul edilen sınıflandırmadır. Elektroanalitik yöntemlerin büyük bir kısmında meydana gelen bir akım gözlenir ve bu yöntemlerden oluşan akım iki farklı isimde nitelendirilir. Bu meydana gelen akım ya potansiyel kontrollü akım ya da akım kontrollüdür. Akım ve gerilimin sürekli kontrol edildiği bu süreçlerde farklı değişkenler büyük genlikli veya küçük genlikli olmak üzere uygulanır. Büyük genlikli olan süreçler küçük genlikli olanlara nazaran daha yaygın olarak kullanılmaktadır (Öztekin, 2008).

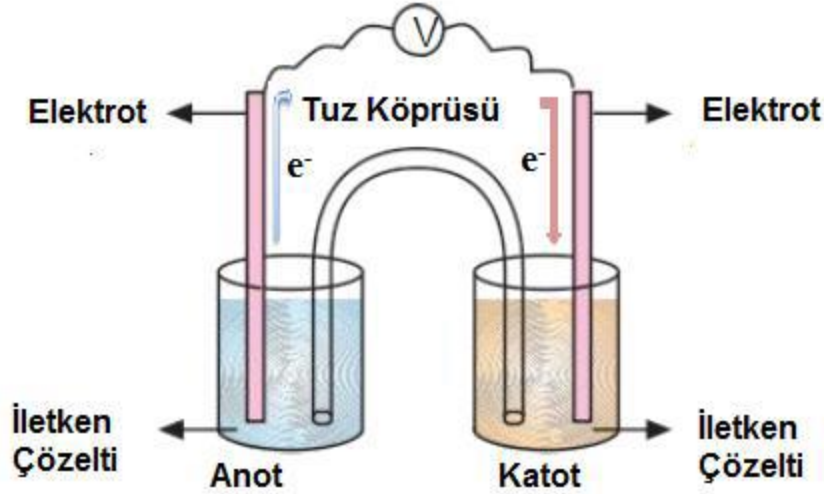
2.1.1 Elektrokimyasal Hücreler

Temel bir yaklaşımla elektrokimyasal bir hücre, iki elektrotun uygun bir elektrolit çözeltisine daldırılması ile oluşturulan sistemdir. Elektrotlar iletken olup genelde metalik temellidir. Elektrik akımının elde edilebilmesi için, bu elektrotların dışarıdan bir iletken tel ile birbirine bağlanması ve farklı elektrolit çözeltilerinin (meydana gelen iyonların birinden diğerine doğru hareketinin sağlanmasıyla) birbiriyle bağlantılı halde bulunması (tuz köprüsü yardımıyla) ve farklı yapıdaki bu iki elektrotta da elektron aktarım tepkimesinin oluşması ve elektron iletilmesinin gerçekleşmesi gerekir (Skoog vd., 1998).

Elektrokimyasal olarak yükseltgenme ve indirgenme tepkimeleri, madde ile tepkimeye girmeyen inert yapıda bulunan bir kap içerisinde indirgen yapıdaki madde ile yükseltgen yapıdaki maddenin birbiriyle doğrudan temas ettiği inert yapıdaki bu kapta veya tepkimeye giren bu farklı yapıdaki maddelerin birbiriyle temas etmediği elektrokimyasal hücre içerisinde gerçekleştirilir. Yükseltgenmenin gerçekleştiği elektrot tipine anot elektrotu, indirgenmenin gerçekleştiği elektrot tipine ise katot elektrotu adı verilmektedir. Elektrokimyasal hücreler, hücre çeşidine göre sınıflandırıldığı zaman galvanik hücre ve elektrolitik hücre olmak üzere ikiye ayrılır. Galvanik hücrelerde meydana gelen olay, hücre elektrik enerjisini kendisi depolar. Tepkime kendiliğinden yürür dışardan herhangi bir enerji vermeye gerek yoktur. Elektrolitik hücrelerde meydana

gelen olay ise adından anlaşılacağı üzere hücrelerde elektrik enerjisi harcanır. Tepkimenin gerçekleşmesi kendiliğinden yürümez ve dışarıdan verilmesi gereken bir enerjiye ihtiyaç duyulur.

Elektrokimyasal hücrelerin sınıflandırılması, iki elektrotlu hücreler veya üç elektrotlu hücreler olmak üzere iki farklı başlık altında sınıflandırabilirler. İki elektrotun bulunduğu hücrelerde bir karşılaştırma elektrotu ve birde çalışma elektrotu vardır. Tuz köprüsü düzeneği yardımıyla iki farklı elektrokimyasal yarı hücrenin birbiriyle karışması önlenirken, iyonların hücreler arası geçmesine olanak sağlamaktadır.

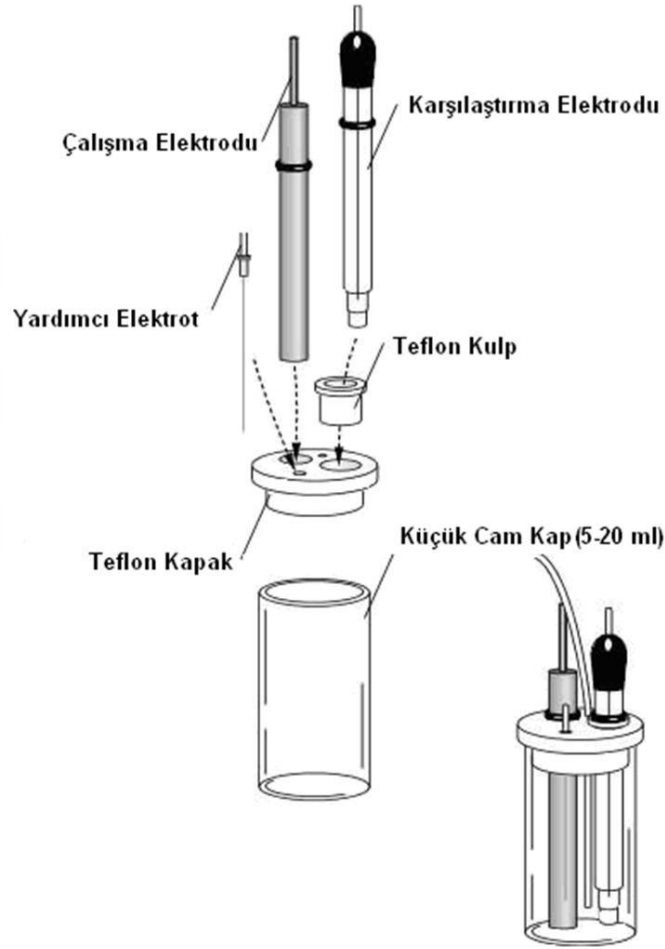


Şekil 2.1 İki elektrotlu hücrenin şematik gösterimi

Bir elektrokimyasal yarı hücreye elektrik enerjisi verildiği zaman karşılaştırma (referans) elektrotu üzerinden geçmekte olan gerilim ile akım arasında anlamlı sayılabilecek bir tutarsızlık meydana gelir. Bu tutarsızlığın önlenebilmesi için inert bir maddeden meydana gelmiş olan ve iyi bir iletken olan yardımcı elektrot kullanılır. Yapılan bu işlem sayesinde çalışma elektrotu ile karşılaştırma elektrotu arasında oluşan ve istenilen bu gerilim farkı çalışma yapılan analit ile ilgili bilgi elde etmemize yardımcı olur (Robert, 1962)

Elektrokimyasal hücre materyali, bir kapak ile kapatılmış üçlü elektrot girişleri bulunan genellikle küçük hacimli (5-20 mL) cam bir kaptan oluşmaktadır. İnert bir gaz

aktarım borusu (çözünmüş oksijeni uzaklaştırmak için) ve seçime bağlı bir karıştırıcı sistemi içerir. İnert gaz olarak sıklıkla azot gazı kullanılır. Elektroanalitik kimyada (özellikle voltametri) kullanılan düzeneğin (üç elektrotlu sistem) örneklerinden biri Şekil 2.2’de ve potansiyostatik sistem diyagramı (üç elektrotlu) Şekil 2.2’de gösterilmiştir.

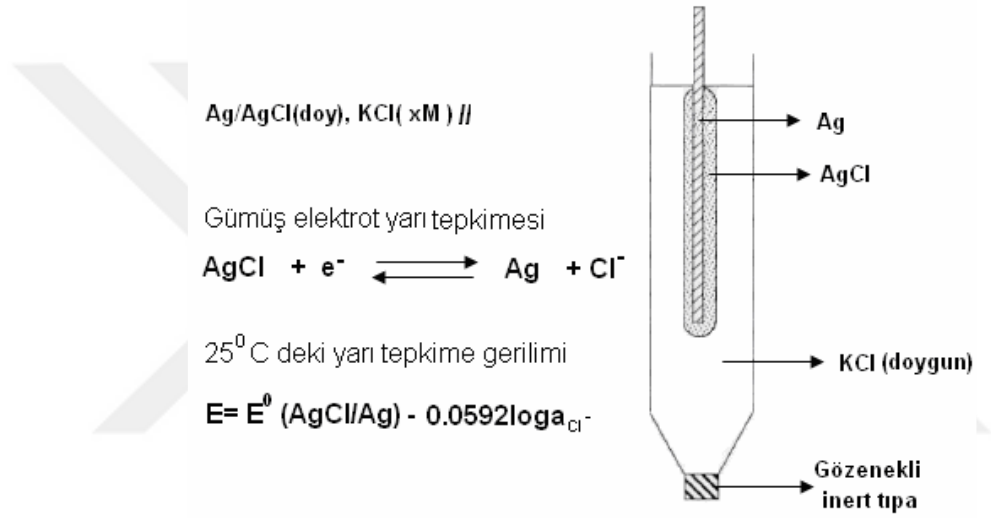


Şekil 2.2 Voltametrik ölçümler için kullanılan üç elektrot bulunan elektrokimyasal hücre

Referans elektrotları, elektrokimyasal çalışma sırasında ve analiz sürecinde gerilimi sabit olan, gerilimi dış ortamlardan etkilenmeyen elektrotlardır. Analiz edilecek maddelere karşı referans elektrotlar duyarsızdır. Tersinir bir yapıda olması istenen ideal bir referans elektrot Nerst eşitliğine her zaman uyar, yani potansiyeli zamana bağlı olarak değişmez. Gerilimi sabit olmalı ve kolay hazırlanabilmelidir. Referans elektrotlar sıcaklık değişiminden etkilenmemelidir. En çok kullanılan referans elektrotlara örnek olarak

doygun civa (I) klorür yani kalomel (Hg/Hg₂Cl₂) referans elektrotu ile Ag/AgCl referans elektrotlarıdır.

Ag/AgCl referans elektrotundaki gümüş tel, gümüş klorür yardımı ile tamamen kaplanır ve bu kaplanan bu elektrot belirli bir derişimde bulunan AgCl çözeltisi içerisinde daldırılıp çıkartılarak elde edilir ve saklanma koşulları yine bu çözelti içerisinde gerçekleşir. Şekil 2.3'te Ag/AgCl referans elektrotu gösterilmiştir. Bu referans elektrotun muhafaza edilme şekli ise 3 M KCl çözeltisine daldırılır ve bu çözelti içerisinde muhafaza edilir.

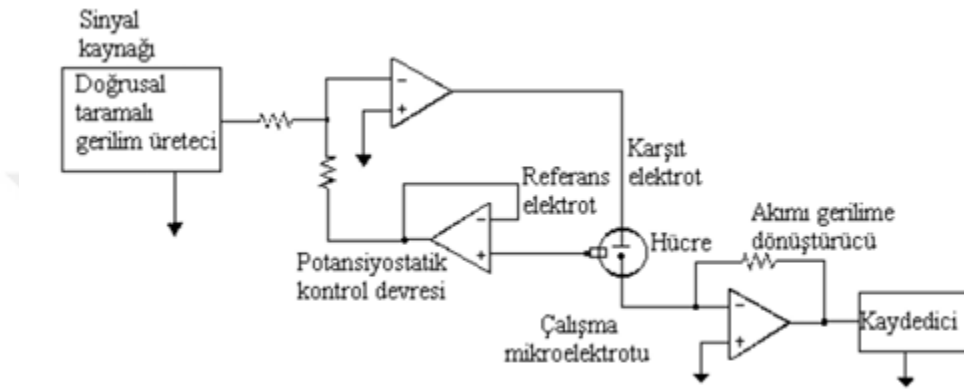


Şekil 2.3 Ag/AgCl referans elektrotu ve gerçekleşen tepkimesi (Skoog vd., 1998)

Yardımcı elektrot, bu elektrot karşıt elektrot olarak ta tanımlanır. Genellikle inert materyalden oluşan platin tel örnek gösterilebilir veya tungsten gibi soy metallere yapılır. Elektrokimyasal yarı hücre içerisinde sinyal kaynağından alınan elektrik enerjisinin çözülden geçtikten sonra çalışma elektrotuna aktarılması işlemi sağlar. Bu işlemler sırasında yardımcı elektrot olarak herhangi bir elektrot türü kullanılmazsa eğer elektrokimyasal yarı hücreye yüksek gerilimin uygulanması sırasında çalışma elektrotu polarlanır ve bu durum deney sonucuna doğrudan olarak etki eder fakat elektrokimyasal yarı hücre içerisinde yardımcı elektrot kullanıldığı sırada çalışma elektrotunda gerçekleşen herhangi bir polarlanma meydana gelmez (Wang, 2006).

Yarı hücre içerisindeki elektrotların yerleşimi büyük bir öneme sahiptir. Çalışma elektrotu ile karşılaştırma elektrotu birbirine oldukça yakın olmak şartıyla, çalışma

elektrotu karşılaştırma elektrotu ve yardımcı elektrot arasına yerleştirilir. Bu şekilde üçlü elektrot mekanizmasının kullanılmasının sebebi ise, potansiyostatın çalışma elektrotuna aşırı bir gerilim yüklemesi halinde sistemi otomatik olacak şekilde doğru gerilime getirebilmesi amacıyla. Bu işlem, referans elektrotu ve çalışma elektrotu arasındaki gerilimin sürekli olarak ölçülmesi işlemiyle ve ayarlı gerilim kullanılarak karşılaştırma yapılır. Bu tezde yardımcı elektrot olarak platin tel kullanılmıştır.



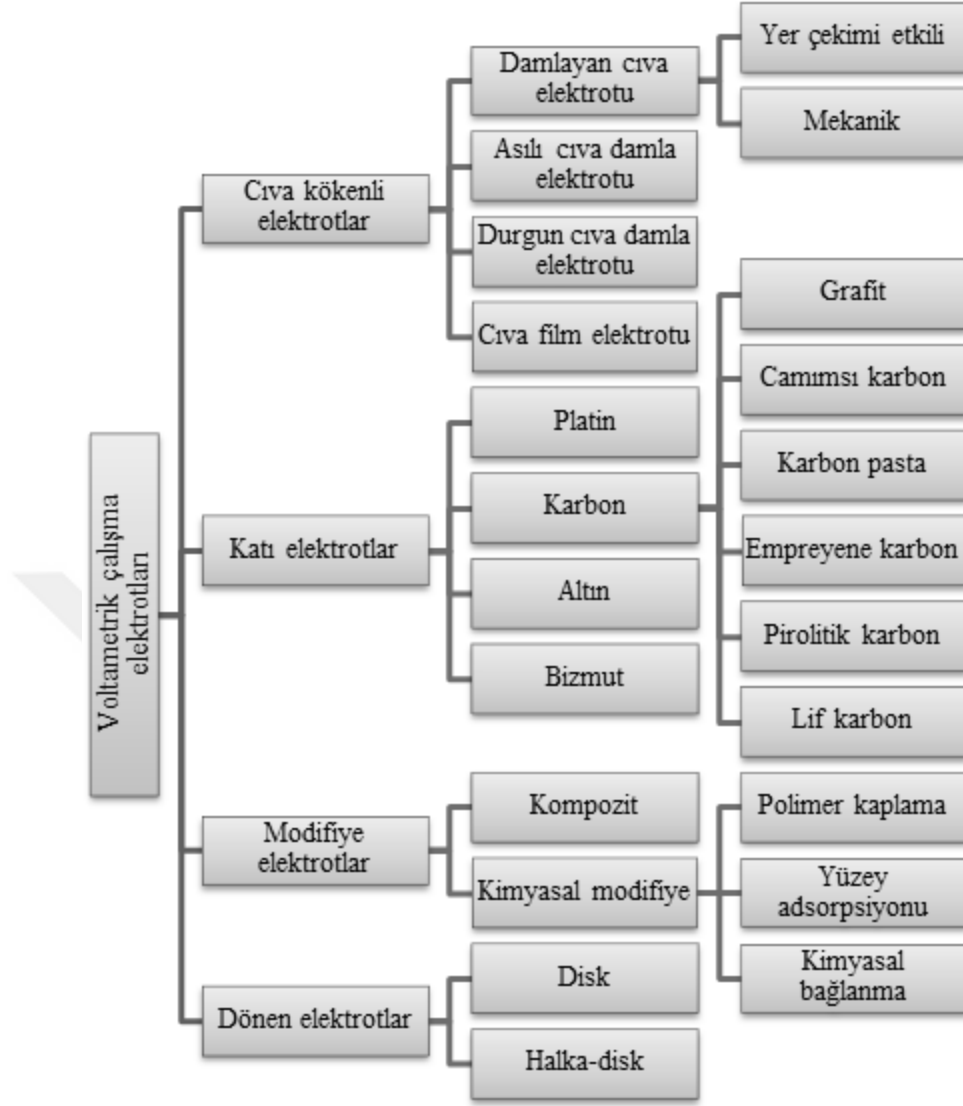
Şekil 2.4 Voltametri için kullanılan üç elektrotlu potansiyostatik sistem diyagramı

Çalışma elektrotu, birinci elektrot olarak bilinen bu (indikatör) elektrot, analitin yükseltgenme veya indirgenme reaksiyonlarının gerçekleştiği elektrot türüdür. Uygulanan potansiyele göre katot veya anot olarak görev yapabilir. Bu tepkimeler yarı hücre içerisinde gerçekleşirken çalışma elektrotuyla ara yüzey arasında meydana gelir. Polarizasyon işlemi sırasında, bu etkiyi artırmak amacıyla çalışma elektrotlarının yüzey alanları bilinçli olarak küçük tutulmalıdır. Bu nedenle gerçekleştirilen bu reaksiyonlarda elektrot seçimi oldukça önemlidir. Çalışma elektrotunun meydana getirdiği yanıtın tekrarlanabilir olması ve aynı zamanda gerçekleşen sinyal oranının da yüksek olması önemli bir etkidir. Diğer taraftan elektrot yüzeyinin aktif olması elektrot seçiminde önemli bir parametredir. Elektrot yüzeyinin aktif olması daha duyarlı ve daha doğru bir ölçümün yapılması işlemi sağlar. Ayrıca analit içerisinde gerçekleşen redoks davranışının karakteri, oluşan artık akımın ölçülebilmesi için gerekli olan gerilim aralığının referans olarak dışında olması, istenilen gerilim aralığının büyüklüğü, elektrotun mekanik özellikleri, elektriksel yapıdaki iletkenlik, ucuz ve kolay elde edilebilirlik ve toksin özellikler gibi faktörler de çalışma elektrotu seçimini etkileyen

önemli faktörlerdir. Elektroanaliz işlemlerinde çalışma elektrotu olarak birçok materyal kullanılır. Bunlardan en çok kullanılan materyaller; cıva, karbon, altın veya inert yapıdaki platin gibi soy metallerdir (Wang, 2006). Altın, platin ve karbon elektrotlar geniş anodik tarama bölgelerinde çalışmak için yaygın olarak kullanılmaktadır.

Çalışma elektrotlarındaki bu çeşitlilik ve gerçekleştirilen modifikasyon işlemlerine maruz kalmaları elektrotlar için geniş bir kullanım alanı oluşturmaktadır. Elektrotların yükseltgenme ve indirgenmede reaksiyonlarındaki önemi her geçen gün daha da artmaktadır. Bunun için elektrotlar her geçen gün geliştirilmeye ve değiştirilmeye çalışılmaktadır. Elektrot çeşitliliğinin bu denli artmış olması analizin daha doğru ve daha hassas sonuçlanmasını sağladığı gibi gerçekleşen reaksiyonların daha kısa bir sürede sonuç vermesine katkı sağlar. Bu alanda kullanılan çok çeşitli çalışma elektrotları vardır, çalışma elektrotu olarak kimyasal alanlarda kullanılan katı elektrotlar aşağıda şekil 2.5'te özetlenmiştir (Wang, 2006).

Bor katkılı elmas elektrot (BDDE) bu tez çalışmasında çalışma elektrotu olarak kullanılmıştır.



Şekil 2.5 Voltametri alanında kullanılan çalışma elektrotları

Cıva elektrotlar, voltametri alanında oldukça fazla kullanılır. Cıvanın, elektrot için kullanılacak negatif gerilim yük sınırının yüksek olması nedeniyle cıva damlası ile yeni bir metalik yüzeyin oluşturulması oldukça kolaydır ve reaksiyona giren birçok metalin cıva yüzeyinde gerçekleşen amalgam oluşturması nedeniyle de tersinir olarak indirgenme işlemlerinin olması gibi nedenler ile sıklıkla bu elektrot türü kullanılmaktadır. Dezavantaj olarak cıva kolay yoldan oksitlenebilir, elektrotların kolaylıkla yükseltgenmesinden dolayı anot elektrotu olarak kullanılması ve cıvanın doğada zehirli bir metal olması gibi sayılan bu nedenler cıva elektrotunun elektrokimyasal çalışmalarda kullanımını sınırlar (Skoog vd., 2001; Wang, 2006).

Katı Elektrotlar, bu elektrotların anodik gerilim aralığında cıva elektrotlarının sınırlı ve verimsiz kullanımı nedeniyle, yükseltgenebilen maddelerin elektrokimyasal olarak araştırılmasında geniş bir anodik gerilim aralığı sunar. Bu özelliklerinden dolayı katı çalışma elektrotları olarak sıklıkla tercih edilirler. Elektrokimyasal çalışmalarda, çalışma elektrotu olarak birçok farklı malzemeden yararlanılır. En çok kullanılanlara örnek olarak, altın, platin ve karbon elektrotlarıdır. Bazı durumlarda ise bakır, gümüş veya nikelde çalışma elektrotu olarak kullanılabilir. Yüksek iletkenlik özelliklerinden dolayı bu elektrotlar sıklıkla tercih edilmektedir. Fakat maliyetlerinin yüksek olması nedeniyle kullanım alanları biraz sınırlıdır.

Karbon elektrotlar diğer katı elektrotlara göre maliyetlerinin ucuz olması ve modifiye işlemlerinin kolay yapılabilmesi gibi avantajları ile oldukça tercih edilen elektrot türleridir. Diğer elektrotlara göre daha çok kullanılan bu elektrotlara bir örnek olarak camımsı (camsı) karbon (GC) elektrot verilebilir. Elektrot yüzeyinin modifikasyonu yapılmamış ise analiz işleminden sonra elektrot yüzeyi kolaylıkla temizlenebilir ve tekrarlanabilirlik açısından bu özelliği oldukça önemlidir (Wang, 2006).

Modifiye elektrotlar, altın, platin veya karbon gibi birçok elektrot yüzeyini kaplayarak, farklı elektrokimyasal özelliklere sahip daha seçici, daha kararlı ve daha duyarlı elektrot çeşitleri elde etme yöntemine modifikasyon işlemi ve bu modifikasyon işlemi sonrasında elde edilen elektrot çeşitlerine ise modifiye elektrot adı verilmektedir. Modifiye elektrot yüzeylerinde biriktirme işlemi, elektrot yüzeyine uygun kimyasal ajanların (bileşik ve/veya atom, iyon) ya kendiliğinden doğal yöntemlerle ya da dışarıdan bir etki yardımıyla biriktirilmesiyle gerçekleştirilir. Modifiye elektrotlar, analitik çalışmalarda önemli bir yere sahiptir. Bu elektrot türleri elektrokimyasal çalışmalarda seçiciliği, duyarlılığı ve kararlılığı arttırmaktadır. Elektrokimyasal yöntem olarak modifiye elektrotların kullanım alanları başlıca elektrosentez olayları, elektroanaliz yöntemleri, elektrokataliz ve enerji dönüşümü amacıyla yakıt hücrelerinde, kontrollü ilaç salınımı mekanizmalarında ve korozyondan korunma gibi çeşitli alanlarda yaygın bir şekilde kullanım alanına sahiptirler (Wang, 2006).

Mikro elektrotlar, yapısal olarak elektrot çapının 25 µm'den daha küçük yapıda olan elektrot çeşitlerine mikro elektrot adı verilir. Analitik kimyada çok küçük yapıdaki bu elektrotlara olan ilgi her geçen gün artmaktadır. Özellikle çok küçük hacimli

numunelerin analizi ile mikroskopik alanların incelenmesi ve değerlendirilmesi süreçlerinde kullanılan etkili bir çalışma elektrotudur (Wang, 2006).

2.1.2 Bor Katkılı Elmas Elektrot

Elmas; mekaniksel olarak yüksek oranda sert bir madde olması, yük taşıma akışkanlığı ve ısı iletken olması gibi birçok farklı özelliklere sahip olması nedeniyle iyi bilinen bir materyaldir. İlk elektroanaliz çalışmalarında, dope edilmemiş fakat mükemmel kristal yapıya sahip elmas film benzeri elektrotlar kullanılıyordu. İleriki yıllarda yapılan elektrokimyasal çalışmalarda ise bor katkı elmas elektrotlar kimyasal olarak dayanıklı olmaları sayesinde elektrokimyasal çalışmalar için vazgeçilmez bir elektrot haline gelmiştir. Bu elektrotlar, günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır ve gelecekteki elektrokimyasal çalışmalar için umut vaat etmektedir. Bu elektrotlar yüksek anodik gerilimlerin verildiği ortamlarda, asidik olarak çok kuvvetli ortamlarda kullanılabilir olmaları açısından klasik karbon elektrotlara ve metal elektrotlara göre üstünlük sergilemektedir. Borun elmas yüzeyine doping edilmesi ile elektrokimyasal çalışmalarda kullanılan bu elektrot türü, daha iyi elektriksel iletkenlik kazanmıştır. Bor katkı elmas (BDD) elektrotlar; çalışma gerilim aralığında daha kararlı, düşük artık akım üretir, korozyona karşı iyi direnç, yüksek akım yoğunluğu ve ısısal iletkenlik sunar, ayrıca elektroaktif analitlere karşı etkin aktivite sergiler (Fortin vd., 2005).

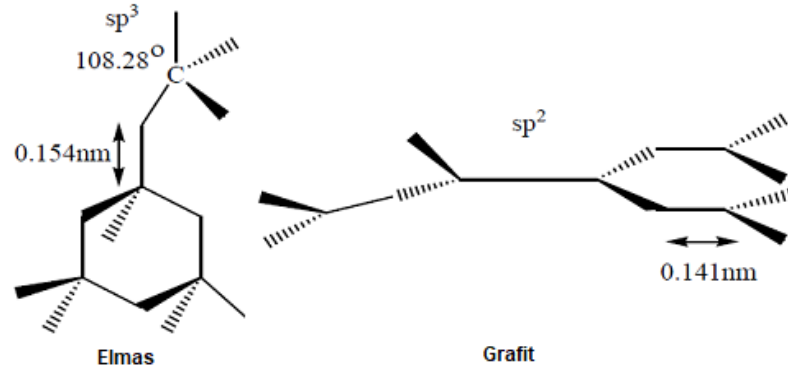
Elmasın optik özelliğinin bulunması, atomik yoğunluğu, kimyasal reaksiyonlara karşı olan ilgisiz olması, sert bir yapıda olması, elektriksel özellikleri ve ısı iletkenliği bakımından yüksek bir yapıya sahip olması ile bu tür elektrotlar içerisinde çok önemli bir konumda yer almasını sağlamaktadır. BDD elektrotlar, düşük gürültü seviyeleri, geniş elektrokimyasal gerilim aralığı ve elektrokimyasal uygulamalarda gösterdikleri yüksek dayanıklılık ve sağlamlık gibi özellikleriyle diğer elektrot türlerinden ayrılır (Uslu ve Ozkan, 2007a; 2007b). Özellikle, elmas yüzeyine borun katkılanması ile oluşturulan ince film tabakası, son yıllarda elektroanaliz, elektrosentez, elektrokimyasal biyoteknoloji ve enerji teknolojileri gibi alanlarda teknolojik gelişmelerle birlikte giderek daha fazla kullanılmaya başlanmıştır (Pleskov, 2002; Alfaro vd., 2006; Kraft, 2007).

BDD elektrotlar 20. yüzyılın sonlarında 21. yüzyılın başlarında keşfedilerek bilim dünyasına kazandırılan mükemmel yapıda olan modern elektrotlardır. Geniş gerilim aralığına sahip olması, çok düşük akımlarda bile çalışabilmesi, çok asidik ve çok bazik

ortamlarda çalışılabilmesi, yüzey kirlenmelerine karşı ve korozyona dayanıklı olması gibi özellikler BDD elektrotları voltametrik analiz işlemleri için sıklıkla kullanılan çalışma elektrotları haline getirmiştir (Sochr vd., 2014; Tyszcuk-Rotko vd., 2014; Tyszcuk-Rotko ve Sadok, 2016). Başlangıçta, BDD elektrotlar laboratuvar ortamında borun elmas yüzeyine doping edilerek üretilirken, günümüz teknolojisi sayesinde polikristalin bor katkılı elmas elektrotlar ticari olarak piyasada bulunabilmektedir. Bu elektrot türleri, geniş bir gerilim aralığında ve elektrokimyasal olarak zorlu koşullarda (örneğin, kuvvetli asidik ortamlarda) kullanılabilme yetenekleri sayesinde, diğer metal elektrotlara ve geleneksel karbon elektrot çeşitlerine kıyasla daha üstün bir performans sergiler. Ayrıca, sulu ve susuz ortamlarda kullanılabilirlikleri, gözlenebilirlik sınırı, hassasiyet ve dayanıklılık gibi özellikler açısından da avantaj sağlarlar (Gandini vd., 1999; Rao ve Fujishima, 2000; Codognoto vd., 2002; Lawrence vd., 2006; Altun vd., 2009; Santos vd., 2010; Trouillon ve O'Hare, 2010; Yardim vd., 2010; Yardim ve Erez, 2011; Levent vd., 2014a). İlgili literatürde elektroanaliz çalışmaları incelendiğinde, modifiye edilmemiş, ön işlem aşamasından geçirilmiş, polimer modifiyeli, metal modifiyeli, nanokristalin yapıda olan birçok BDD elektrot sisteminin yer aldığı 260'den fazla yayın mevcuttur (Toghill ve Compton, 2010).

Elmas elektrotların diğer karbon elektrotlarına göre, sertlik, optik özellikleri, yanıt zamanı, verilen yanıtın kesinliği ve kararlılığı, sağlamlık, belirtme sınırı gibi avantajları bulunmaktadır (Siangproh vd., 2003; Zhang ve Oyama, 2004). BDD elektrodun, yüksek maliyetli olması, elektrokatalitik aktivitesi ve elmasın oldukça düşük seçiciliği bu elektrot türünün dezavantajları arasında sayılabilir. Son zamanlarda ise BDD elektrotları, ilaç analiz işlemlerinde (Uslu vd., 2008; Yardim vd., 2010; Levent, 2012; Levent vd., 2014; Şentürk ve Yardım, 2014; Oliveira vd., 2018; Švorc vd., 2018), çevre analizlerinde (Gong vd., 2018; X. Wang vd., 2018), su arıtım işlemlerinde (Buftia vd., 2018; Duarte vd., 2018) ve organik sentez işlemlerinde (Kirste vd., 2012; Riehl vd., 2017) yaygın bir şekilde tercih edilmektedir.

Aşağıda Şekil 2.6'da gösterilen elmasın kristal örgü yapısı ve grafitin kristal örgü yapısı gösterilmiştir. Elmasta her karbon atomuna komşu 4 karbon atomu vardır ve karbon atomları arasında sp^3 hibritleşmesi bulunur. Grafitte ise her karbon atomuna komşu 3 karbon atomu vardır ve karbon atomları arasında sp^2 hibritleşmesi bulunur.



Şekil 2.6 Elmas ve grafitin örgü yapısı

BDD çalışma elektrotlarının yüzeyi, ince bir katı film tabakası şeklinde veya uygun bir substrat üzerine kaplanmış olarak, silikon, tungsten, niyobyum gibi materyaller içerebilir (Kırsacık, 2010). Şekil 2.7’de BDD elektrotu gösterilmiştir.



Şekil 2.7 Bor katkılı elmas (BDD) elektrot

Tıpkı diğer katı elektrot çeşitlerinde olduğu gibi, bütün elektrokimyasal çalışmalarda BDD elektrodunun temizliği son derece önemlidir. BDD elektrotunun yüzey kirliliği yaptığımız deney sonuçlarına önemli şekilde etki eder, oluşan pik sinyalinin şiddetinin artmasına ya da azalmasına neden olur, beklediğimiz oluşması gereken yerde sinyalde kaymalar meydana gelebilir. Bunun için elektrot yüzeyi muhakkak çok iyi bir şekilde temizleme işlemine tabi tutulmalıdır. Bu temizlik işlemi; BDD elektrot yüzeyinin

bir miktar alümina (Al_2O_3) tozu üzerine bırakılması ve ardından bu tozun üzerine su ilave edilmesiyle gerçekleştirilir. Kirli olan elektrot yüzeyi, oluşan bu bulamaca batırılarak sonsuz işaret ve dairesel hareketlerle temizlenir. Yüzey kirliliğinden arındırılan elektrotlar, yapılan deneyin çalışma koşullarına göre değişkenlik gösterir ve belirli potansiyelerde farklı çözelti türlerinde aktivasyon sürecine tabi tutulabilir. BDD elektrotların aktive edilmesi ve temizleme yöntemleri literatürde farklı çözeltilerde anodik yönde olabileceği gibi (Antonio vd., 2006; Girard vd., 2007; Guo-Hua vd., 2007; Levent, 2012; Levent vd., 2014b; Şentürk ve Yardım, 2014) ve katodik yönde (Suffredini vd., 2004; Levent, 2017) gerilimler uygulanarak gerçekleştirilmiştir.

2.1.3 Klasik Polarografi

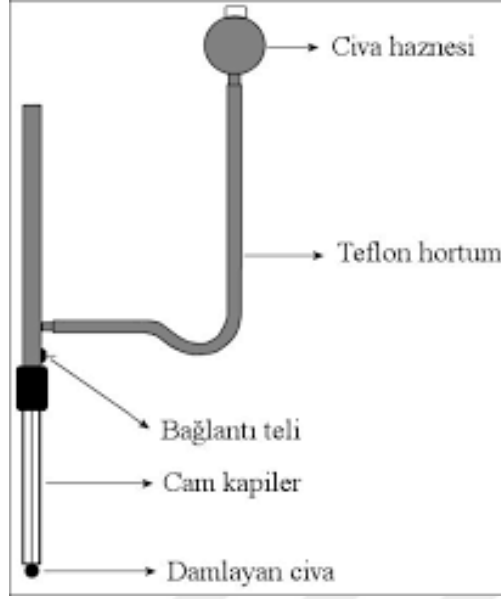
Polarografi, ilk olarak 1922'de Heyrovsky tarafından geliştirilmiştir. Bu polarografik yöntem, polarize olabilen damlayan cıva elektrotlu (DME) elektroliz olarak tanımlanmış ve sadece elektrot işlemlerinin araştırılmasında değil, aynı zamanda özellikle analitik teknik olarak da hızla kabul görmüştür. Heyrovsky ve Shikata, 1925'te akım-gerilim eğrilerini otomatik olarak kaydeden bir cihaz olan polarografiyi geliştirmişlerdir. Polarografinin teorik temeli, 1934'te Ilkovic tarafından (difüzyon akımının değeri) ve 1935'te Heyrovsky ve Ilkovic tarafından (akım-potansiyel eğrisinin şekli, yani polarogram olarak adlandırılır) atılmıştır. Polarografi, konvektif difüzyon koşulları altında polarize edilmiş çalışan elektrotun potansiyostatik kontrolünü kullanır. Elektrot sisteminin akım tepkisi, zaman değişim hızı dE/dt 'ye göre ihmal edilebilir olan polarizasyon gerilimi E 'ye bağlı olarak ölçülür. Bu, ölçülebilir akımın (i) polarizasyon geriliminin zaman değişim hızından bağımsız olduğu anlamına gelir.

Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC), polarografiyi, yüzeyleri periyodik veya sürekli olarak yenilenen sıvı elektrotların (örneğin, düşen ve akan cıva elektrotları) kullanımıyla sınırlar. Polarografiden türetilen yöntemler, analitik duyarlılığı artırır veya elektrot işleminin mekanizmasıyla ilgili yeni bilgiler sağlar. Puls polarografi teknikleri, süreksiz polarizasyon gerilimi uygular ve belirli zaman aralıklarında akım tepkisini ölçer. Alternatif akım (AC) polarografi teknikleri ise, ana doğru akım (DC) polarizasyon potansiyeli üzerine çeşitli frekanslarda küçük bir pertürbasyon potansiyeli uygulayarak doğru akım polarografisinden türetilir (Cerdá, 2004).

Polarografi terimi, bir elektrotun polarizasyonunun grafiksel olarak akım-potansiyel eğrileri olarak kaydedildiğini belirtmek içindir. Bu bağlamda, akım akışı depolarizasyon anlamına gelir ve akımsız akış polarizasyon anlamına gelir, yani potansiyel, küçük bir akım tepkisi olmadan veya sadece küçük bir akım tepkisi ile artar. Bir süredir voltametri ve polarografi terimleri eşanlamlı olarak kullanılmıştır; bununla birlikte, polarografi yalnızca "düşen/damlayan cıva elektrotlu voltametri" için kullanılmaktadır (Heyrovský, 2011).

Çeşitli voltametri biçimleri, gösterge elektroduna uygulanan değişen potansiyelin türüne göre farklılık gösterir. Bu voltametrik teknik, gösterge elektrotunun cıvadan veya nadiren başka bir sıvı metalden yapıldığı voltametridir. Klasik polarografide, cıva bir kılcal borudan düşer. Cıva damlasının yüzeyi, analit ile elektrokimyasal reaksiyonun bölgesidir. Gösterge elektrotunun doğru akım (DC) potansiyelinin zamanla değişme şekli bir potansiyel (veya voltaj) rampasıdır. En yaygın durumda, potansiyel zamanla doğrusal olarak değişir ve analitik yöntem doğrusal süpürme voltametri (linear sweep voltammetry-LSV) olarak bilinir (Barek ve Zima, 2003).

Damla elektrotun en büyük dezavantajlarından biri cıva elementinin yükseltgenmesidir; bu özellik dolayısıyla elektrotun anot olarak kullanılması sınırlanır. Ayrıca +0.4V 'dan daha büyük bir gerilim uygulandığında cıva (I) iyonu oluşabilir ve bu anda oluşan akım, çözeltide bulunan diğer yükseltgenebilme potansiyeline sahip polarografik dalgaları engeller. Bu sebepten ötürü, cıva damla elektrot, yalnızca indirgenebilen ya da kolay bir şekilde yükseltgenebilen maddelerin analiz yöntemi olarak tercih edilebilir (Paleček vd., 2018). Damlayan cıva elektrotunun şematik görünümü aşağıdaki Şekil 2.8 üzerinde gösterilmiştir.



Şekil 2.8 Damlayan cıva elektrotunun klasik tasarımı

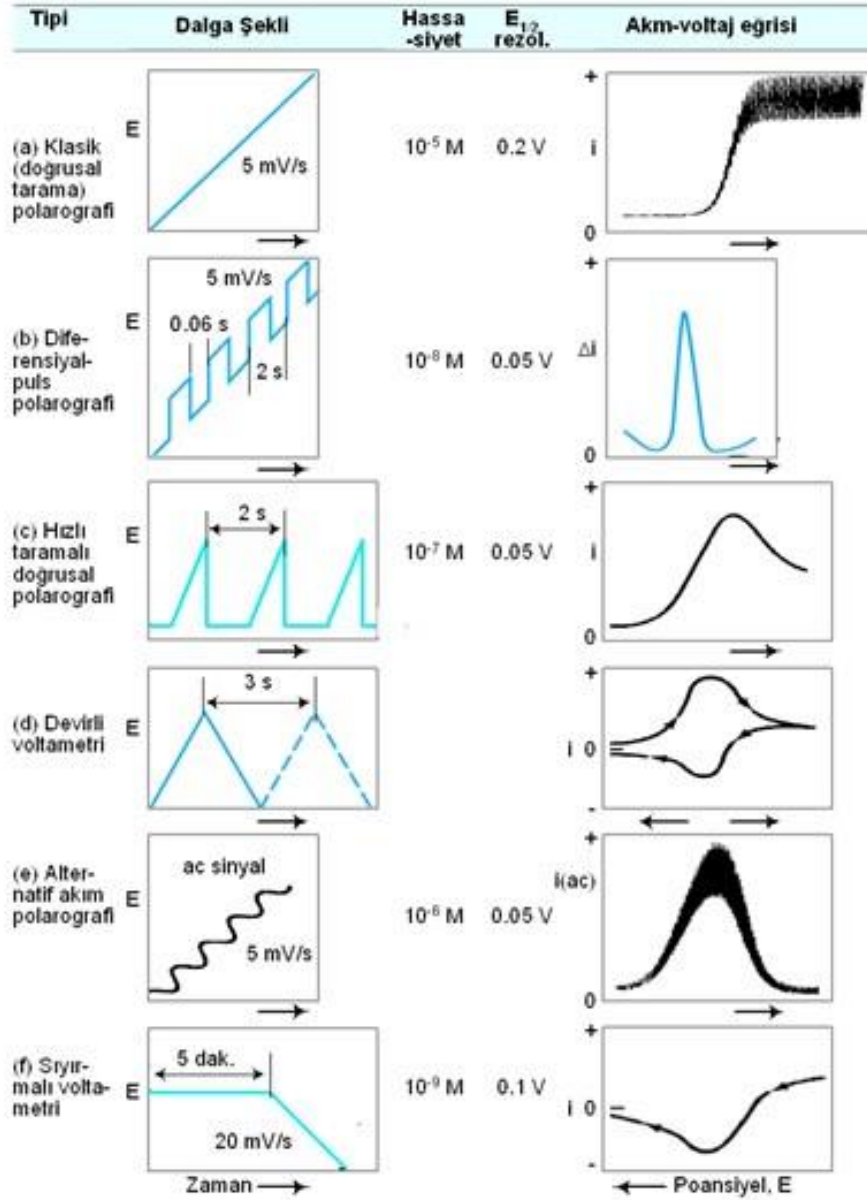
2.2 Voltametri

Voltametri, 1920'lerin başında polarografiden geliştirilmiş olup Çek kimyacı Jaroslav Heyrovsky tarafından bilim dünyasına kazandırılmıştır. Heyrovsky'nin bu buluşu, 1959 yılında Nobel Kimya Ödülü'nü almasını sağlamıştır (Karabilgin, 2012). Voltametri çeşitli ortamlarda gerçekleşen indirgenme ve yükseltgenme olaylarının, yüzeylerdeki adsorpsiyonu kapsayan, duyarlı ve güvenilir yöntem verilen isimdir. Bu yöntemin diğer yöntemlere göre baskın yanı, az miktardaki elementlerin, organik ve inorganik bileşiklerin bulunması ve çalışılmasına olanak sağlamasıdır. Birçok türe karşı seçiciliğinin olması voltametriyi önemli kılmaktadır (Barek ve Zima, 2003).

Yüksek basınçlı veya performanslı sıvı kromatografi (HPLC) ile entegre olacak şekilde kullanılabilen voltametri, çoğu zaman çeşitli sayıda içeriği bilinmeyen karışımların analizleri için sıklıkla tercih edilen güçlü bir analiz yöntemi olarak kullanılmaktadır.

Voltametrik yöntemlerin analizi yapıldığı sırada bazılarında potansiyel sabit tutulur, bazılarında ise ortama dışardan madde ilave yapılarak ortamdaki madde derişimine bağlı olarak meydana gelen akım miktarı incelenir. Bu yöntemde, çalışma elektrotunun gerilimi zamana göre değiştirilerek elektrotta oluşan akım miktarı ölçülür.

Çalışma elektrotuna, zamanın bağılı olarak bir potansiyel uygulanmasıyla oluşan çeşitli şekillerde oluşan potansiyel-zaman fonksiyonları uyarma sinyali olarak adlandırılır. Voltametri de sıklıkla kullanılan uyarma sinyallerine göre dalga görüntüsü Şekil 2.9'da verilmiştir.



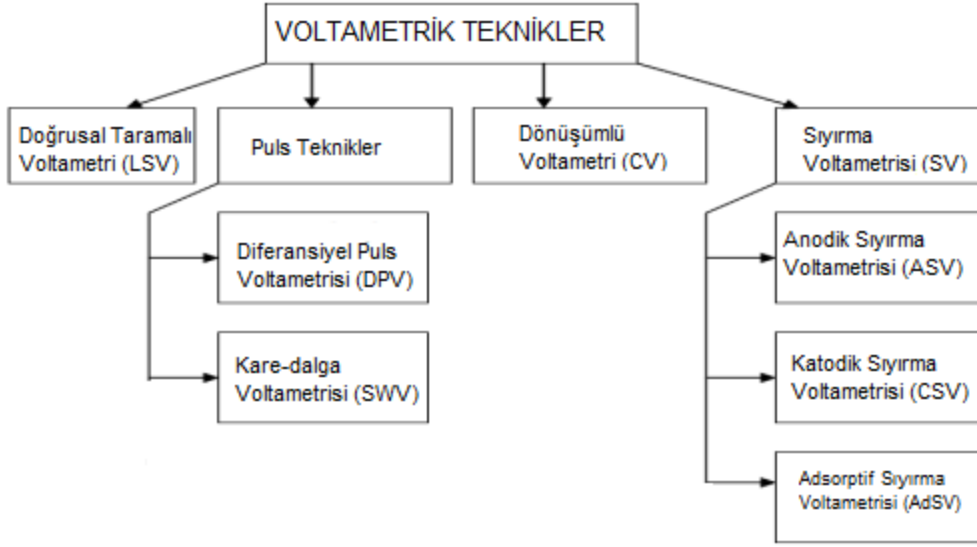
Şekil 2.9 Voltametri de kullanılan uyarma sinyallerinin dalga şekli

2.2.1 Voltametrik Teknikler

İyonların aktarım özelliklerinin ölçülmesine dayanan elektroanalitik teknikler sıklıkla kullanılmasına rağmen, elektroanaliz terimi genellikle voltametrik analiz tekniklerine işaret eder çünkü voltametrik teknikler diğer tüm elektroanalitik tekniklerden sayıca daha fazladır (Fritz Scholz, 2015).

Voltametri, çok çeşitli moleküler ve iyonik malzemelerin hem nitel (kalitatif) hem de nicel (kantitatif) analizi için kullanılabilir. Bu yöntemde, bir dizi iki veya üç elektrot analit çözeltisine daldırılır ve çalışma elektrotu referans elektrota göre düzenli olarak değişen bir potansiyel uygulanır. Analit, çalışma elektrotunda elektrokimyasal olarak reaksiyona girer. Referans elektrot, daldırıldığı çözeltilerden bağımsız olarak potansiyeli sabit olacak şekilde yapılmıştır. Genellikle akımın çoğunu taşımak amacıyla çözeltilere üçüncü bir elektrot (yardımcı veya karşı elektrot) yerleştirilir. Potansiyel, çalışma (indikatör veya gösterge) elektrotu ile karşılaştırma (referans) elektrot arasında olacak şekilde kontrol edilir, ancak oluşan akım, yardımcı elektrot ile çalışma elektrotu arasında akar (Kawagoe vd., 1993; Compton ve Banks, 2018).

Tezin bu bölümünde, çalışmaya konu teşkil eden voltametrik teknikler hakkında kısa bilgiler verilecektir. Voltametri kullanılarak yaygın tekniklerin genel olarak gösterilmesi şekil 2.10'da gösterilmiştir (Fogg vd., 1999; Bard ve Zoski, 2000; Barek vd., 2001; Uslu ve Özkan, 2011; Özkan vd., 2015).



Şekil 2.10 Voltametricte kullanılan yaygın teknikler

2.2.2 Voltametric Yöntemlerin Sınıflandırılması

1. Dönüşümlü (döngülü) voltametri (CV)

- Tersinir sistemler
- Tersinmez ve yarı-tersinir sistemler
- Adsorpsiyon dönüşümlü voltametri

2. Diferansiyel puls voltametrisi (DPV)

3. Kare dalga voltametrisi (SWV)

4. Sıyırma voltametrisi

- Anodik sıyırma voltametrisi (ASV)
- Katodik sıyırma voltametrisi (CSV)
- Adsorptif sıyırma voltametrisi (AdSV)

5. Sabit potansiyel kulometrisi (Bulk elektroliz, BE) (Duran, 2009).

2.2.2.1 Dönüşümlü (döngülü) Voltametri (CV)

Elektrokimyasal yöntemler içinde en yaygın kullanılan yöntemlerden biri dönüşümlü voltametri tekniğidir. Sulu ve susuz olmak üzere farklı ortamlarda yapılan elektrokimyasal çalışmalarda dönüşümlü voltametri en çok tercih edilen yöntemlerden

biridir. Kararsız bir ürün ya da ara ürün içeren elektrot tepkimelerinin incelenmesinde ve değerlendirilmesinde sıklıkla tercih edilmektedir (Izutsu, 2009). Bu yöntemde gerilim, zamanla doğrusal olarak değiştirilirken bu değişime tarama hızı adı verilir. Bu akım-gerilim grafiğinden elde edilen eğrilere ise dönüşümlü voltamogram denir.

Üçgensel dalga voltametri (Triangular wave voltammetry-TWV), potansiyelin bir elektrokimyasal reaksiyonun meydana geldiği potansiyeli geçen bir değere doğrusal olarak tarandığı ve ardından hemen orijinal potansiyeline geri tarandığı bir yöntemdir. Üçgen dalga voltamogramında genellikle ileri taramada bir akımın sinyal noktası ve ileri taramada gözlenenin tersi reaksiyonu (yükseltgenme veya indirgenme) temsil eden ters taramada ikinci bir ters sinyal noktası bulunur (Moazz vd., 2021). Döngüsel voltametri, art arda tamamlanmış birden fazla ileri ve geri tarama çevrimine sahip olması dışında TWV ile aynıdır (Pu vd., 2021).

2.2.2.2 Diferansiyel Puls Voltametri

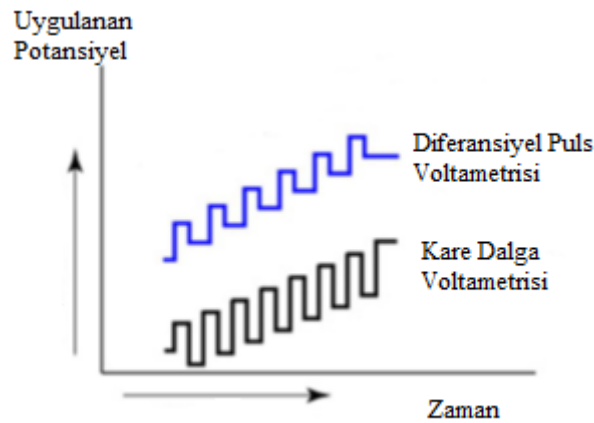
Diferansiyel puls voltametri yöntemi, indirgenen ve/veya yükseltgenen inorganik ve organik maddelerin farklı kimyasal ortamlardaki hazırlanan çözeltilerinden elde edilen akım eğrilerinin karakteristik yapıdaki özelliklerini inceleyip değerlendiren bir analiz yöntemidir. Oluşan akım, pulsun uygulanmasından hemen önce ve uygulamadan sonra oluşan pulsun sonunda ölçülür. İki akım arasındaki fark, LSV rampa potansiyelinin bir fonksiyonu olarak çizilir. Puls voltametri, periyodik aralıklarla uygulanan, düzenli olarak artan bir puls yüksekliğini kullanır. Puls ve diferansiyel puls polarografisinde gözlemlenen pulslar, özellikle cıva damlası elektrottan düşmeden hemen önce uygulanır. Tipik bir sistemde bu pulslar yaklaşık olarak 50-60 milisaniye uygulanır ve akım, her pulsun son 17 milisaniyesi sırasında ölçülür. Voltamogram, puls potansiyelinin bir fonksiyonu olarak ölçülen akımın bir grafiğidir. Diğer birçok voltametri varyasyonu da mevcuttur, ancak yaygın olarak kullanılmazlar (Wang, 2006).

2.2.2.3 Kare Dalga Voltametri

Kare dalga voltametri yöntemi (SWV, KDV) deneysel çalışmalarda son derece hızlı ve duyarlı olan, geniş genlikli bir voltametri yöntemidir. Basamaklı şekilde oluşan

sinyallerin üst üste gelmesiyle oluşan simetrik bir kare dalganın birleştirilmesi yöntemiyle meydana gelen bir dalga şekline benzer. Bir kare dalga döngüsünün oluşabilmesi için, ileri yönde ve ters yönde oluşan sinyallerin her birinin sonunda akım iki kez örneklenerek meydana gelir. Oluşan voltamogram, iyi bir hassasiyet ve duyarlılık göstererek etkin bir ayırma yaparak sonuçlanır. Tayin alt sınırı yaklaşık olarak 10^{-7} – 10^{-8} mol/L⁻¹ arasına kadar olarak tanımaktadır. Kare dalga voltametrisinin diğer tekniklere kıyasla en üstün özelliği hızıdır. Analiz süresi oldukça azdır ve tüm polarogram veya voltamogram bu sayede birkaç saniye içinde kaydedilmiş olur (Öztekin, 2008).

Kare dalga voltametri, bir diğer voltametrik yöntem olan diferansiyel puls tekniğinden daha sık kullanılan elektroanalitiksel tayin yöntemidir. Bu sistemde uygulanmış olan potansiyel, şekil açısından diferansiyel pulstakilere benziyor olsa da bu metot puls tekniğinden farklıdır. Sadece zaman içerisindeki değişimi büyük aralıklı kare dalga şeklindedir. Potansiyel periyodun ilk yarısına gelindiği zaman pozitif bir değer gösterirken, diğer yarısına gelindiği zaman ise negatif bir değer gösterir. Buradaki ölçümler alınırken, oluşan akım her kare-dalga pulsu uygulamasının öncesinde ve pulsun hemen bitmesinden sonra ölçülür. Temel olarak kare dalganın katodik ve anodik kısımlarındaki iki noktaya ait oluşan akım değerleri belirlenir. Bu iki akım arasındaki uygulanan gerilimin farkı, grafiğe geçirildiği zaman kare dalga voltamogramı elde edilmektedir (Stock, 1991) (Scholz vd., 2010). Kare-dalga ve diferansiyel puls voltametri arasındaki farkı gösteren grafik Şekil 2.11 üzerinde gösterilmiştir.



Şekil 2.11 Diferansiyel puls voltametri ve kare dalga voltametri için dalga formları (Franklin vd., 2016)

2.2.2.4 Sıyırma Voltametrisi

Elektrokimyasal sıyırma, bir elektrot yüzeyinden (veya çözünmüş metaller içeren sıvı cıva elektrotlarında olduğu gibi elektrot gövdesinden) iyonların veya atomların, bileşiklerin yükseltgeyici veya indirgeyici olarak çıkarılması anlamına gelmektedir (Jaya ve Rao, 1982; Henze ve Neeb, 1986; Wang, 1988; Dewald, 1996). Ancak, bu kuralların istisnaları vardır. Elektroanalitik sıyırma yöntemleri iki basamaktan oluşur: ilk olarak, çözünmüş bir analitin çalışan elektrot üzerinde veya içinde birikmesi ve ikinci olarak, birikmiş maddenin bir potansiyometrik, voltametrik veya kulometrik bir teknikle sıyırılması (Jagner ve Graneli, 1976; Henze ve Neeb, 1986; Wang, 1988; Dewald, 1996 Macdonald, 2012).

Sıyırma voltametrisindeki koşul, iki bağımsız doğrusal ilişkinin bulunması gerekliliğidir: birincisi, birikmiş maddenin aktivitesi ile numunedeki analitin konsantrasyonu arasında ve ikincisi, maksimum sıyırma akımı ile birikmiş madde aktivitesi arasında olmalıdır. Bu nedenle, maksimum yanıt ile analit konsantrasyonu arasında kümülatif bir doğrusal ilişki mevcuttur. Ancak, analit birikimi için elektrot kapasitesi sınırlıdır ve doğrusallık koşulu yalnızca elektrot doygunluğunun çok altında karşılanır. Bu nedenle sıyırma voltametrisi genellikle iz analizinde kullanılır. Saptama sınırı, biriken maddenin aktivitesi ile analitin toplu konsantrasyonu arasındaki orantı faktörüne bağlıdır. Bu faktör, kimyasal birikim durumunda sabit olsa da elektrokimyasal birikim için elektrot gerilimine bağlıdır. Maksimum sıyırma akımı ile analit konsantrasyonu arasındaki orantı faktörü nadiren tam olarak bilinir ve genellikle göz ardı edilir. Analiz için doğrusal ilişkiyi ampirik olarak kurmak yeterlidir ve bu ilişkinin eğimi bir örneğe göre değişebilir (Lovrić, 2010).

2.2.2.2.1 Anodik Sıyırma Voltametri

Anodik sıyırma voltametrisi (ASV), sıyırma analizlerinin içinde en yaygın olarak kullanılan voltametri tekniğidir. ASV'nin son derece düşük saptama limiti, çoklu eleman ve türleştirme yetenekleri, yüksek doğruluk, yerinde ve çevrim içi ölçümlere uygunluğu ile birleştiğinde, uygun maliyeti, iz metal analizi ve çeşitli bileşiklerin analizi için en güçlü tekniklerden biri haline getirmektedir (Daniele, 2004).

Anodik sıyırma voltametrisi tekniğinde gerilim taraması anodik yönde biriktirme yapılırken, katodik sıyırma voltametrisi tekniğinde ise biriktirme anodik yönde yapılırken, sıyırma ise katodik yönde yapılmaktadır. Sıyırma adımlarında, elektrot gerilimi anodik yöne doğru ilerlerken elektrotta birikmiş olan madde gerilimi, yükseltgenme potansiyeline ulaştığı zamanda gerçekleşen bir akım oluşturmaktadır. Yükseltgenme veya sıyırma akım potansiyeli elektrotta meydana gelen potansiyelin fonksiyonu olarak değerlendirilmektedir. Sıyırma akımı, analizi yapılan maddenin çözültideki ve elektrottaki konsantrasyonu ile doğru orantılı olmaktadır (Copeland ve Skogerboe, 1974).

2.2.2.2.2 Katodik Sıyırma Voltametri

Katodik sıyırma voltametrisi (CSV), klinik, endüstriyel ve karmaşık çevresel numunelerde eser ve ultra eser analizlerin derişimlerinin tayini için yaygın olarak kullanılan elektrokimyasal teknikler grubudur. Ön zenginleştirme adımından kaynaklanan çok iyi duyarlılık ve çok seyreltik numunelerde analitlerin belirlenmesine olanak tanır. CSV 'deki elektrokimyasal zenginleştirme işlemi, bir metalin uygun bir yüzey aktif kompleksinin adsorpsiyonundan veya çözünmeyen bir tuzun (geleneksel CSV) anodik çökeltmesinden (yüzeysel CSV) oluşabilir. Ön zenginleştirme çok az veya hiç ilave reaktif gerektirmez, böylelikle numune kontaminasyonu riskini en aza indirmektedir. Zenginleştirme adımı, analizi numune matrisinden izole ederek yöntemin kararlılığını ve seçiciliğini de geliştirmektedir. Sıyırma adımı sırasında doğrusal tarama, kare dalga, diferansiyel puls, alternatif veya merdiven akım işlemleri de kapsamak üzere çeşitli voltametrik dalga biçimleri kullanılabilir (Achterberg vd., 2018).

2.2.2.2.3 Adsorptif Sıyırma Voltametrisi

Elektroanalitik yöntemler içerisinde en duyarlı sonuçların elde edildiği sıyırma yöntemleridir. Adsorptif sıyırma voltametrisi (AdSV) tekniği, geniş aralıkta bulunan organik bileşiklerin ve inorganik türlerin düşük derişimlerde analizlerinin yapılmasına olanak sağlayan bir yöntemdir. Bu yöntemle yapılacak analizde, analizlenecek madde indirgenme veya yükseltgenme amacıyla seyreltik bir çözültiden alınarak elektrot yüzeyinde biriktirilerek elektrokimyasal ön derişirme işlemi uygulanır. Adsorptif

sıyırma voltametrisi, elektroda negatif (katodik) veya pozitif (anodik) yönde gerilim taraması uygulayarak, elektrot yüzeyinde yoğunlaşmış olan maddeyi elektrottan sıyırarak çözeltiye tekrar geri kazandırılmayı hedefler. Yöntemin ismi bu basamaktan gelir. Bu aşamada elde edilen akım madde miktarının tayinini bulmayı sağlar (Yılmazgüç, 2008; Keskin, 2009).

2.2.2.2.4 Potansiyometrik Sıyırma Voltametri

Adsorptif sıyırma analizi, birçok elementin potansiyelini izlemeye yönelik sıyırma yöntemlerinin kapsamını önemli ölçüde genişletir. Bu tekniğin biriktirme kısmı Adsorptif Sıyırma Voltametrisi tekniği ile benzerlik göstermektedir. Sıyırma tekniğiyle analizi yapılacak metaller, elektrokimyasal indirgeme yoluyla civa yardımıyla amalgam oluşturacak şekilde elektrot üzerinde biriktirilir. Sıyırma basamağına geçildiğinde, hücre potansiyostattan ayrılarak potansiyometreye bağlanır. Hücreye belirli bir yükseltgen sabit bir hızla eklenir. Yüzeyde bulunan maddeler, yükseltgenme potansiyellerine göre belirli potansiyellere indirgenerek maddelerin sırasıyla yüzeyden sıyırılmasını sağlar. Yüzeydeki maddelerin sırasıyla yükseltilmesi sırasında, potansiyel değişimleri adım adım gerçekleşir. Oluşan bu potansiyel değişikliklerine baktığımızda, her adımın gerçekleşme süresi, o potansiyeldeki yükseltgenen metal miktarıyla doğru orantılıdır (Wang, 2006).

2.2.2.2.5 Sabit Potansiyel Kulometrisi (Bulk elektroliz, BE)

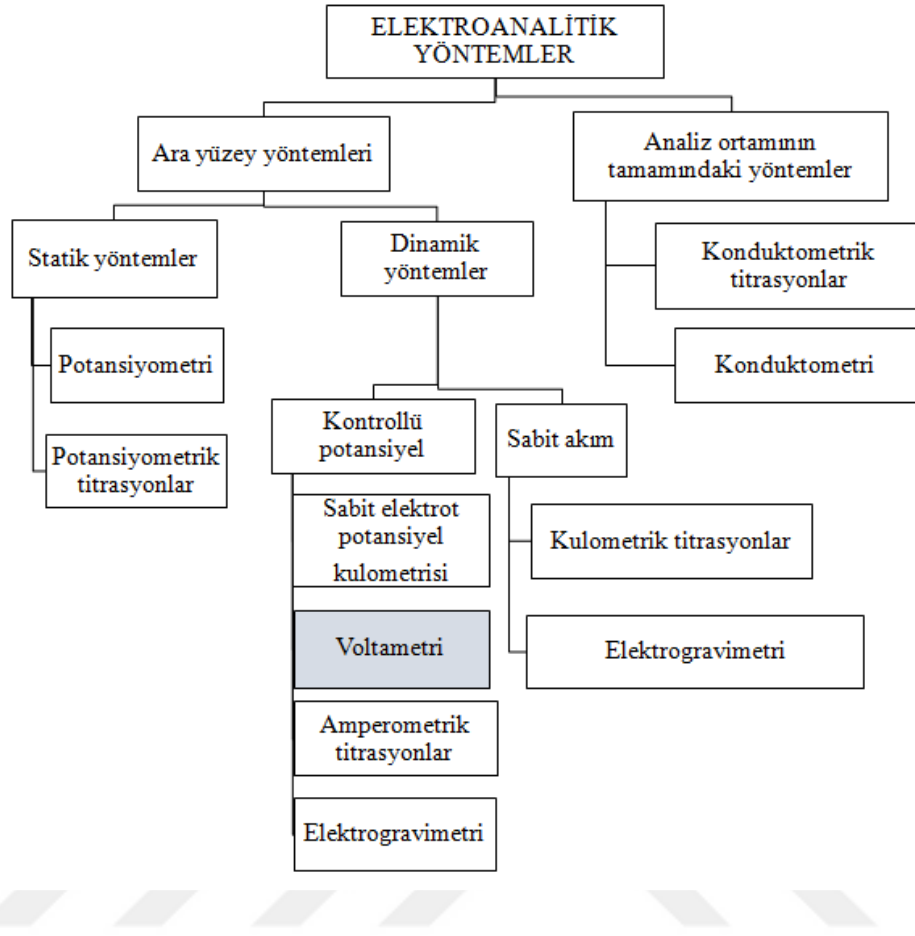
Çalışma elektrotunda bulunan potansiyelin veya akımının sabit tutulduğu çözeltideki yükseltgenmiş olarak bulunan türün, elektrot yüzeyinde tamamen indirgenerek dönüştürüldüğü ve elektroliz süresi boyunca, başlangıç türünün derişiminin zamana göre azalıp sifıra yaklaştığı elektroliz türüdür (Izutsu, 2009). Diğer yöntemlere göre kullanılan elektrotların aksine çalışılan elektrodun yüzey alanı oldukça büyük olan bir yöntemdir. Bulk elektroliz işlemi süre olarak bir saat veya daha fazla olacak şekilde sürebilir ve bu süre bittiğinde, elektroaktif türün konsantrasyonunun başlangıç konsantrasyonunun %1'ine ulaştığında elektroliz işleminin tamamlandığı kabul edilir. Bulk elektroliz işleminde, yüzey alanın büyüklüğü çözelti hacmine oranına göre oldukça büyük olduğu, akım olarak yüksek akım ve uzun zaman skalasıyla karakterize edilen (Bard ve Faulkner, 2001) ve deney sonucunda elektrot reaksiyonunda aktarılan elektron

sayısının hesaplanmasıyla devreden geçen toplam yük miktarının bulunması için kullanılan yöntemdir.

2.2.3 Elektroanalitik Yöntemler

Elektroanalitik yöntemler iki ana başlık altında incelenir. Bunlar analiz ortamının tamamında gerçekleşen yöntemler ve ara yüzey yöntemleridir. Ara yüzey yöntemleri, adından da anlaşılacağı üzere elektrot yüzeyleri ve bu yüzeye hemen yanında bitişik bir şekilde bulunan ince bir çözelti tabakası arasındaki o ara yüzeyde olan olayları inceleyen yöntemlerdir. Analiz ortamının tamamındaki yöntemler ise çözelti içerisindeki tamamen gerçekleşen olayları üzerinde durulur. Ara yüzey yöntemleri, elektrokimyasal yarı hücrelerde akımın varlığına veya yokluğuna göre “dinamik” ve “statik” olmak üzere sınıflandırılabilir. Statik yöntemlerin hız ve seçicilik özellikleri elektroanalitik kimyada önemli bir yer tutsa da dinamik ara yüzey yöntemleri (akımın çok daha önem taşıdığı) daha işlevsel alanına sahiptir. Elektroanalitik yöntemlerin yaygın olarak kullanılan şematik gösterimi Şekil 2.12’de verilmiştir.

Elektroanalitik yöntemlerin tayin alt sınırının düşük olmasıyla, ucuz ve seçiciliğinin iyi olması, az miktarda örnek kullanımı ve çalışılan doğrusallık aralığının geniş olması gibi nedenlerle diğer yöntemlere iyi bir alternatiftir. Yöntemdeki bu üstünlükler geniş kullanım alanına hizmet etmektedir. Bu özellikleri sayesinde son zamanlarda bolca kalitatif (nicel) ve kantitatif (nitel) analizlerde kullanılmıştır (Duran, 2009).



Şekil 2.12 Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması

2.2.4 İlaçlarda Elektroanalitiksel Tayin Yöntemleri

İlaç analiz yöntemleri olarak, ilaçların toksik etki yapabilecek derişim seviyesi esas alınarak yapılan klinik çalışmalarda, biyolojik ortamlarda ve sıvılarda tedavi edici ilaç dozunun belirlenmesinde bu elektroanalitik tayin yöntemleri kullanılır. Pek çok farklı yapıdaki maddenin çeşitli numunelerinin analizinde yaygın olarak kromatografik ve spektrofotometrik yöntemlerden yararlanır. Teknolojideki son gelişmelerle birlikte, elektroanalitik tayinleri diğer yöntemlere göre daha seçici, hassas, hızlı ve kolay hale getirmekte ve çoğu farmasötik ve kimyasal analiz alanına uygulanabilir hale getirmektedir. Sonuç olarak, günümüzde elektrokimyasal yöntemler, farmasötikler için yeterli derecede kesinlik, doğruluk, seçicilik, duyarlılık ve tekrarlanabilirlik ile eser analizini mümkün kılmaktadır. İlaçların elektroanalitik tayini, farmakokinetik özelliklerini (adsorpsiyon, dağılım, metabolizma ve eliminasyon) anlamak için

kullanılabilir. Ek olarak, biyolojik numunelerdeki API'lerin (aktif farmasötik bileşenler) belirlenmesi, yeni ilaç geliştirme, biyodeşdeğerlik, toksikoloji ve ilaç izleme çalışmaları için faydalıdır (Kang ve Lee, 2009).

Farmasötik çalışmalarda en çok kullanılan elektroanalitiksel tayin yöntemleri; potansiyometrik yöntem, amperometrik yöntem, kondüktometrik yöntem, kulometrik yöntem ve voltametrik yöntemler olarak kabul edilmektedir (Bard ve Faulkner, 2001).

Potansiyometri, elektroanalitik kimya yöntemlerinden en eski olanlarından biridir. Genellikle çözeltideki bir çözünenin konsantrasyonunu bulmak için kullanılır. Potansiyometrik ölçümlerde, iki elektrot arasındaki potansiyel, yüksek empedanslı bir potansiyel ölçer kullanımı vasıtasıyla ölçülür. Yüksek empedanslı bu potansiyel ölçerin kullanımı, akım akışının ihmal edilebilir olmasını sağladığı için önemlidir. Net akım olmadığından ve net elektrokimyasal reaksiyon olmadığından sistem dengededir. En temel seviyesinde, bir potansiyometre, bir tuz köprüsü ile bağlanan iki çözeltiye yerleştirilmiş iki elektrottan oluşur. Gösterge elektrotunun elektrot potansiyeli normalde çözeltideki analiz edilen aktivitesinin logaritması ile doğru orantılıdır. İyon seçici elektrotlar kullanılarak doğrudan potansiyometrik tayinler esas olarak yirminci yüzyılın ikinci yarısında geliştirilmiştir (Scholz vd., 2010).

Amperometrik testler sırasında, gösterge elektrotunun potansiyeli, kontrollü potansiyel elektrogravimetri ve kulometri sırasında olduğu gibi voltametrik dalganın platosundaki bir değere ayarlanır. İndikatör elektrot ile çözeltideki ikinci elektrot arasında akan akım ölçülür ve analitin konsantrasyonu ile ilişkilendirilir. Amperometri yaygın olarak iki şekilde kullanılır; bunların her ikisi de bir elektroaktif ürün konsantrasyonu ile sabit potansiyeldeki akımın lineer değişiminden yararlanır. Bir dizi standart çözeltinin konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak çalışan bir akım eğrisi hazırlanır ve analitin konsantrasyonu grafik üzerinden belirlenir. Bazen bir amperometrik titrasyonda son noktayı bulmak için amperometri kullanılır. Amperometrik titrasyon eğrisi, titrant hacminin bir fonksiyonu olarak akıma ait bir grafiktir. Eğrinin şekli, hangi kimyasal türlerin (titrant, analit veya reaksiyon ürünü) elektroaktif olduğuna bağlı olarak değişir. Her durumda eğri, bitiş noktasında kesişim için tahmin edilen bitiş noktasından önceki ve sonraki doğrusal bölgelerden oluşur (Amine, 2019).

Kondüktometrik yöntem ise analitin bir elektrik akımını iletme kabiliyetinin izlendiği yöntemdir. Ohm yasasından ($E = IR$) elektrik akımının (I) dirençle (R) ters

orantılı olduğu durumundan yola çıkarak ve potansiyel farkının hesaplanabilmesiyle, direncin tersi iletkenlik olarak bulunur ($G = 1/R$). Bu bilgiler doğrultusunda, bir çözeltilin iletkenliği arttıkça, elektrik akımını iletme yeteneği artar. Sıvı çözeltilerde akım, çözünmüş iyonlar tarafından elektrotlar arasında iletilir (Safonova ve Kolker, 1992; Lubert ve Kalcher, 2010). Bir çözeltilin iletkenliği, çözeltideki iyonların sayısına ve türlerine bağlıdır. Kondüktometrik ölçümler iyonların varlığını gerektirdiğinden, kondüktometri ayrışmamış moleküllerin analizi için kullanışlı değildir. Ölçülen iletkenlik, çözeltideki tüm iyonların toplam iletkenliğidir. Tüm iyonlar bir çözeltilin iletkenliğine katkıda bulunduğundan, yöntem niteliksel analiz için özellikle yararlı değildir yani yöntem seçici değildir (Safonova ve Kolker, 1992).

Kulometrik yöntemde ise, sabit akım veya sabit potansiyel kullanır. Bununla birlikte, analitin tamamen reaksiyona girmesini sağlamak için gereken toplam elektrik miktarının elektrokimyasal reaksiyon ürünü ölçülür. Bir kulometrik tahlil gerçekleştirmek için reaksiyon ürününün elektrot üzerinde birikmesi gerekli değildir; bununla birlikte elektrottan akan akımın nihai olarak tek bir elektrokimyasal reaksiyon için kullanılması gereklidir. Bu gereksinim, bir kulometrik titrasyon gerçekleştirmek için akımı kullanarak sabit akım kulometrisinde karşılanabilir. Bir kulometrik titrasyonda akım, analit ile kimyasal olarak reaksiyona giren bir titrant üretir. Titrantın öncülünü fazla tutarak, kimyasal reaktanı oluşturmak için akımın tamamının kullanılmasını sağlamak mümkündür. Elektrokimyasal olarak oluşturulmuş titrant, analit ile tamamen reaksiyona girdiğinden, nicel bir analiz yapmak mümkündür. Sabit potansiyel kulometri, çalışma elektrotunun potansiyeli, yalnızca tek bir elektrokimyasal reaksiyonun meydana gelebileceği bir değerde kontrol edildiğinden, ortamdaki diğer etkenlere tabi değildir (Kies, 1962; Allen J. Bard, 1968).

2.3 Parkinson Hastalığı ve Hastalığın Tedavisi

2.3.1 Parkinson Hastalığı

Parkinson hastalığı literatürde ilk kez İngiliz hekim James Parkinson tarafından 1817 yılında “titrek felç” olarak tarif edilmiş ve bu sebeple tıp ve bilim dünyasında bu hastalığın adı onun adı ile lanse edilmiştir (Hälbic ve Koller, 2007). Parkinson hastalığı (PH) yaygın bir nörodejeneratif bir hastalık çeşididir ve Alzheimer hastalığından (AD)

sonra en sık karşılaşılan ikinci hastalıktır. Hastalığın belirtileri 40 ile 70 yaşları arasında genellikle görülmeye başlar ve sıklıkla da 60'lı yaşlarda özellikle kendini belli eder ve dünya nüfusunun yaklaşık olarak %0.3'ünü etkiler, 65 yaş üstü nüfusun ise de yaklaşık %1'ini etkileyen bir hastalık türüdür. Erkek hastalarda bu hastalığın görülme sıklığı kadın hastalara oranla bir miktar daha fazladır. Hastalığın oluşma nedeni tam olarak bilinmemektedir (Samii vd., 2004). Çevresel faktörler veya genetik faktörler gibi etkenler sonucu beynin substantia nigra pars compacta (corpus striatum) kısmında hücre hasarı meydana gelmesi sonucu dopamin üretimi ya çok azalır ya da tamamen durur. Genetik faktörler olarak bu hastalığa neden olan, çekinik genlerden olan α -synuclein, ubiquitin karboksi terminal hidrolaz L1 (UCHL1) ve ubiquitin protein ligase gibi genler ve baskın otozomal genler bu hastalığa neden olarak gösterilmektedir (Shastri, 2001). Çevresel faktörler olarak ise organik solventler, cıva, kurşun, kadmiyum gibi ağır metaller ve pestisitler gösterilmektedir (Goldman, 2014; Chin-Chan vd., 2015). Beyin hücrelerindeki mitokondriyel bozukluk, oksitleyici stres gibi sebeplere bağlı olarak beyinde protein birikimi Lewi cisimciğinin oluşmasına neden olur. Bu birikim, fibröz yapılu proteinlerin stoplazmik birikimi olarak da isimlendirilir. Dopamin üretiminden sorumlu hücrelerin ve bölgelerin yıkımına bu protein birikiminin neden olduğu düşünülmektedir. Parkinson hastalığından ölen insanlarda yapılan otopsi işlemleri ve çalışmaları bu düşünceyi destekler niteliktedir. PH'nin semptomları non-motor semptomlar ve motor semptomlar olmak üzere ikiye ayrılır. Hareket merkezinde bulunan hücreleri etkileyen beceriler olarak ifade edilen motor semptomlar, donuk yüz (maske yüz), dinlenme halinde titreme, bedenin bir tarafında asimetric olarak baş ve kollarda titreme, uzuvlarda meydana gelen katılık hissi, yavaş yavaş hareket etme durumu (bradikinezi) ve yürüme bozukluğu (gait disturbance) olarak gösterilebilir. Non-motor semptomlara örnek ise depresyon, huzursuzluk, REM uyku bozuklukları, mesane kontrolü bozukluklar ile gastrointestinal sistem bozukluklar sayılmaktadır. Yaşanılan hayat kalitesi üzerine hem motor hemde non-motor semptomların çok ciddi olumsuz etkileri vardır (Olanow, 2004; Munhoz vd., 2015).

Parkinson hastalığında belirtiler, yavaş yavaş başlar ve zaman geçtikçe ağırlaşır. Parkinson hastalığının sınıflandırılma işlemi evrelerine göre aşağıdaki gibidir;

1. Evre: Bu evrede görülen belirti ve bulgular tek taraflı ve hafif derecede olan bulgulardır. Bedensel özürlülük haline yol açmaz. Bir ekstremitede sıklıkla titreme

görülür. Hastanın duruş ve yürüyüşteki bozuklukları ile mimik bozuklukları ancak hastanın yakın çevresi fark edebilir.

2. Evre: Bu evrede belirtiler hem hasta hem de hasta yakınları tarafında görülür. Özürlülük hâli çok az bulunur. Hastanın duruşu ve yürüyüşü etkilenmiştir.

3. Evre: Bu evrede hastanın gövde hareketlerinde belirgin bir yavaşlama hissedilir, denge bozuklukları ve düşmeler görülebilir. Orta derecede hissedilen yaygın işlevsel bozukluklar gözlenir.

4. Evre: Bu aşamada, belirtiler oldukça yoğundur. Hasta, zorlukla da olsa yürüyebilir durumdadır. Hareketlerde yavaşlama ve kaslarda katılık mevcuttur. Titreme durumu diğer evrelerden daha az olabilir. Bu evredeki hastalar, herhangi bir yardım olmadan tek başlarına yaşayamazlar.

5. Evre: Bu evrede hasta, tekerlekli sandalyeye veya yatağa bağımlı olarak ve sürekli bakıma ihtiyaç duyar (Çakmur, 2011).



Şekil 2.13 Parkinson hastalarının tipik görünümü

Parkinson hastalığında mevcut terapötik yaklaşımlar, "dopamin replasman tedavisi" yoluyla dopamin (DOP) kaybını eski haline getirerek semptomları geçici olarak

hafifletmeyi amaçlamaktadır, hastaların yaşam kalitesini arttırmak ve hastalığın daha yavaş ilerlemesini sağlamak için, dopamin üreten hücrelerde meydana gelen hasar kaybı ile gelişen dopaminerjik sinir sinyalindeki azalma dışarıdan verilen ilaç ile dengelenir. Hastalığın tedavisinde vücutta azalan dopaminin dengelenmesi için dopaminin ön maddesi olan levodopa (L-Dopa) oral yolla hastaya verilir. Levodopa tek başına alındığında beyne ulaşmadan, büyük orandaki bir miktarı yıkıma uğrayarak, hastada baş dönmesi bulantı gibi etkenler oluşturarak ve tedavi sağlanamayacaktır. Bu sebeple, levodopanin kanda yıkılmadan beyne daha çok ulaşmasını sağlamak için yardımcı etken maddeler kullanılır. Bu ilaçlar dopamin metabolizmasını yavaşlatan diğer ilaçlar olarak başlıca; karbidopa, entakapon, gibi ilaç etken maddelerdir. Günümüzde bu hastalığın tedavisinde kullanılan ilaçlarda bu yardımcı maddelerden biri ya da birkaçı bulunmaktadır (Yiğit ve Arıcıoğlu, 2015; Pekcan Ertokuş ve Özer, 2020).

2.3.2 Hastalığın Tedavisi

Tedavi olarak ilk zamanlarda antikolinergik ilaçlar kullanılmış olmalarına rağmen bu grupta bulunan ve bir bitki ekstraktı olan belladonna ve atropin gibi ilaçlar bu hastalıkta etkili sonuçlar vermemiştir. Daha sonradan üretilen sentetik yapıdaki antikolinergik ilaçlar sayesinde titreme ve hareket kısıtlılığı gibi semptomların giderilmesinde önemli seviyede ilerleme kaydedilmiştir. Bu hastalığın tedavinde dönüm noktası ise 1960'lı yıllarda levodopanin bilim dünyasında kullanılmaya başlanmasıdır ve çeşitli klinik çalışmalarla bu tedavinin etkin olduğu hakkında araştırılmaya devam edilmesidir. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından levodopanin 1970 yılında tedavi için kullanılmasına izin verilmesinden bugünlere gelinceye kadar, en iyi tolere edilebilen ve en etkili ve ilaç olan levodopa halen önemini sürdürmektedir (Shastri, 2001; Olanow, 2004; Hälbig ve Koller, 2007).

Parkinson hastalığı tanısı yeni konmuş hastalarda eğer hastalık ilk evrelerinde fark edilirse, birinci tedavi seçeneği olarak levodopa tedavisi düşünülmez. Önce dopamin agonisti tedavide kullanılır. Dopamin agonisti ilaçlar levodopanin aksine beyinde dopamine dönüşmezler. Beyindeki sinir hücrelerinde bulunan reseptörleri uyararak dopaminin yaptığı göreve benzer görevleri yerine getirmeye çalışırlar (Anonim., 2023). Bu ilaçlara örnek gösterecek olursak; apomorfin, donepezil, ropinirol, pramipeksol, bromokriptin, kabergolin ve pergolid gibi ilaçlar sayılabilir. Bu agonist ilaçlar levodopa

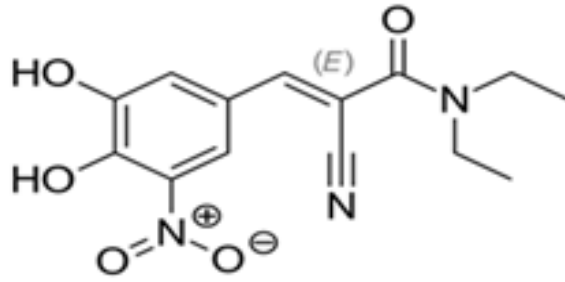
ile kombine olacak şekilde kullanılabilirler. Tedavi için levodopa kullanımına gerekenden geç gidilmesi hedeflenir. Bunun sebepleri arasında uzun süreli levodopa ilaç tedavisi alan hastalarda “on”-“off” dönemi denilen parkinson hastalığının semptomlarının görüldüğü ve görülmediği dönemlerin oluşması ve motor beceri durum dalgalanmalarının gözlenmesidir (Olanow, 2004; Goole ve Amighi, 2009). Ancak dopamin agonisti ilaçlarda gözlenen yan etkiler; kusma, bulantı, somnolans (uykuya eğilim), ortostatik hipotansiyon, psikolojik bozukluklar, uykuda istem dışı hareket etme ve kişinin kendini yorgun hissetmesi gibi non-motor yan etkiler sıralanabilmektedir (Smith vd., 2011).

2.3.3 Entakapon

Entakapon (ENT), nitro-kateşol yapısına sahip, moleküler ağırlığı 305,3 g/mol olan ve kateşol-O-metil transferaz (COMT) inhibitörü olan bir ajandır. COMT, S-adenosil-L-metiyoninden kateşol yapıları içeren substratlara fenolik grupların transferini hızlandırır. Fizyolojik substratları arasında DOPA ve kateşolaminler (dopamin, epinefrin ve norepinefrin) ve bunların hidroksillenmiş metabolitleri bulunur. Levodopanin karbidopa tarafından dekarboksilasyonu engellendiğinde, COMT enzimi levodopayı 3-metoksi-4-hidroksi-L-fenilalanine (3-OMD) metabolize eder. Günlük alınması gereken dozu ise 2000 mg'dır.

Yeşilimsi sarı veya sarı renkte olarak piyasada bulunan bir tozdur. Kimyasal adı (2E)-2-siyano-3-(3,4-dihidroksi-5-nitrofenil)-N, N-dietilprop-2-enamid veya (E)- α -siyano-N, N-dietil-3,4-dihidroksi-5-nitrosinamid olan bu ilacın kapalı formülü $C_{14}H_{15}N_3O_5$ 'tir. Asetonda zor çözünür, suda hemen hemen hiç çözünmezken, susuz etanolde az miktarda çözünür. Elementel analiz değerleri C: % 55,08, H: % 4,95, N: % 13,76, O: % 26,20'dir. Polimorfizm özelliği gösterir ve asitlik sabiti değeri pKa: 4.5 olarak bulunmuştur (Bonifati ve Meco, 1999; Purnachand vd., 2016)

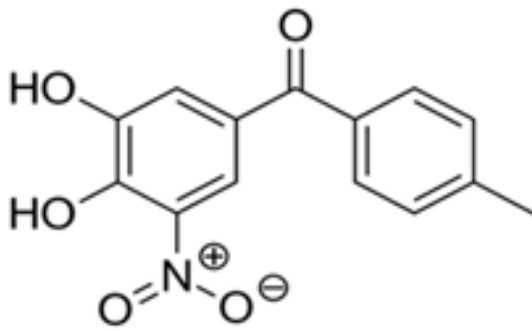
ENT'nun yarılanma ömrü ortalama 0.8 saat ile 1 saat arasındadır. Klinik değer olarak gösterilen 0.3 saat ile 4.5 saat değerleri de mevcuttur. ENT vücuttan atılmadan önce neredeyse tamamen metabolize olarak vücuttan atılır. Metabolize olmayan kısım yaklaşık olarak % 0.2 dir. Sis-izomeri, izomerizasyon süreci sonucunda oluşan tek aktif metabolittir. Entakapon (ENT) ve bulunan metabolitleri, glukuronid konjugeleri halinde idrar yoluyla vücuttan atılır.



Şekil 2.14 Entakapon'un kimyasal yapısı

2.3.4 Tolkapon

Tolkapon (TOL) moleküler ağırlığı 273.241 g/mol olup sentetik yapılı ilaçtır (Şekil 2.15). Parkinson hastalığının tedavisinde kullanılmak üzere piyasaya sunulmuştur (Pinheiro vd., 2019). Etki mekanizması, COMT enzimini geri dönüşümlü olarak inhibe etmektedir. TOL periferde COMT enzimini inhibe ederek levodopa'nın periferde parçalanmasını azaltarak, hem beyne geçen dopamin düzeyini artırmakta hem de levodopa'nın periferik yan etkilerini azaltmaktadır. Mono amino oksidaz inhibitörleri ile birlikte kullanılmamalıdır. Gebelik kategorisi C'dir (Mccane vd., 2014; Cacabelos, 2017). TOL'nun maksimum plazma ilaç konsantrasyonuna ≤ 3 saate ulaşmakta, proteine bağlanma oranı yaklaşık % 99.9, eğri altında kalan alan (EAA) 3-6 ng x hr/mL ve yarılanma ömrü yaklaşık 2-3 saattir. Feçesle atılımının % 60, üriner sistemle yaklaşık % 38 olduğu deneysel olarak saptanmıştır (Benabou ve Waters, 2003; Grünig vd., 2017).



Şekil 2.15 Tolkapon'nun kimyasal yapısı

2.3.5 Literatür özeti

ENT'nun ilgili literatürde elektrokimyasal olarak yapılan çalışmaları mevcuttur. Bu çalışmalardan iki tanesi cıva elektrotlar üzerinde indirgenme yönünde yapılmıştır (Abasq vd., 2008; Jain vd., 2010). Bilgilerimize göre yapılan diğer çalışmalar yükseltgenme yönünde yapılmış olup 2021 yılında Naghian ve arkadaşları perde baskılı elektrodu (SPE) sülfür kalay oksit nanopartiküllerle (S@SnO₂NP) modifiye ederek ENT'nun ilaç preparatlarına ve insan idrarında tayinine yönelik voltametrik yöntem geliştirmişlerdir. Geliştirilen yöntemde ENT'nun sinyali 0.46 V'da gözlemlenmiş ve optimize edilen şartlar altında 100 nM ile 75 µM aralığında doğrusallık elde edilmiştir. Geliştirilen modifiye elektrodun gözlenebilme sınırı 0.010 µM ve duyarlılığı 2.27 µA µM⁻¹ cm⁻² olarak bulunmuştur(Naghian vd., 2021). Gümüştaş ve arkadaşları, ilaç preparatlarındaki ENT tayini için basit ve hızlı bir ters faz yüksek performanslı sıvı kromatografisi (RP-HPLC) ve ultra performanslı sıvı kromatografisi (UPLC) yöntemi geliştirmiştir. ENT'nun RP-HPLC yöntemi ile ilgili preparatında tayini için RP-18 kolonu, izokratik elüsyon ve hareketli faz olarak asetonitril: su (43:57, v/v) karışımı (% 0.1 fosforik asit içeren) kullanmışlardır. HPLC kromatogramları, bir diyot dizinli dedektör (DAD) kullanılarak 225 nm'de yapılmıştır. İlgili literatürde, entakapon için çalışma aralığını 0.5-100 µg/mL olarak belirlenmiştir (Gumustas vd., 2014).

TOL'nun yeterli sayıda farmakolojik çalışması olmasına rağmen, analitiksel tayinine yönelik çalışmalar sınırlı sayıda olup (araştırmalarımızda beş adet literatür çalışmasına rastladık), bu konuda yapılan iki kromatografik çalışma ve matematiksel modelleme ile yapılan bir elektroanalitik çalışma hakkında bilgi sunulmuştur. Heizmann ve arkadaşları, serum ve idrar örneklerinde TOL ve metabolitlerini tayin etmek için RP-HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. TOL'nun RP-HPLC yöntemi ile biyolojik matristlerde tayini için ODS kolonu, izokratik elüsyon ve hareketli faz olarak 0.05 M sodyum dihidrojen fosfat (pH 2.1) ve metanol (45:55 v/v) karışımı kullanmışlardır. HPLC kromatogramları, bir UV dedektör kullanılarak 270 nm'de yapılmıştır. İlgili literatürde TOL için çalışma aralığını serumda 0.05-2.5 µg/mL, idrarda 0.2-100 µg/mL olarak belirlenmiştir (Heizmann vd., 1999). Sun ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada sıçan plazma örneklerinde TOL ve metabolitlerinin aynı anda belirlenmesi için basit, duyarlı ve güvenilir bir sıvı kromatografisi-kütle spektroskopisi (LC-MS) yöntemini geliştirmişlerdir (Sun vd., 2009). Mohammadi ve arkadaşları altın elektrot ve diferansiyel

puls tekniği kullanarak parkinson hastalığında kullanılan levodopa, karbidopa, metildopa, benzerazid, TOL ve ENT'nu matematiksel modelleme yaparak idrar örneklerinde fosfat tamponu (pH 2.5) ortamında tayin etmişlerdir. TOL için doğrusal aralığı 0.1-4 µM aralığında bulmuş ve ortaya koydukları matematiksel modellemeyi tartışmışlardır (Mohammadi, Rashidi, vd., 2018). Literatürde TOL'nun elektrokimyasal tayini araştırmalarında Mohammadi ve arkadaşları tarafından insan serum albümini (HSA) tayini için tasmar (TOL'nun ilaç preparat formu) ile etkileşiminden yola çıkarak HSA'nın tayinin yapıldığına rastlanılmıştır, ilgili çalışmada HSA tayini yapılmış TOL sadece etkileşimde kullanılmıştır (Mohammadi vd., 2018). Silva ve arkadaşları TOL'nun camı karbon elektrot yüzeyinde elektrokimyasal özelliklerini CV ve DPV teknikleri ile fizyolojik pH de incelenmiş ve bileşimin yaklaşık 337 mV da bir yükseltgenme sinyali ve -671 mV da bir indirgenme sinyali olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca ilgili molekülün yükseltgenmesinde pH değerlerinin etkili olduğu belirtilmiştir. İlgili çalışma bu yönüyle TOL'nun elektrokimyasal davranışına bir ışık tutmakta fakat çalışma voltametrik tayinlere yönelik olmayıp farmakolojik bir çalışmadır (Silva vd., 2016).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Tez çalışmamız Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı laboratuvarında yapılmıştır.

3.1 Kimyasal Maddeler ve Çözücüler

Tez kapsamında kullanılan tüm kimyasalların analitik saflığı yüksek olup genelde AbaChemScene (USA) markalı ürünlerin satış yetkilisi firmalarından sağlanmıştır. Deneysel çalışmalar oda sıcaklığında (25 ± 0.5 °C) yapıldı.

ENT standart referansı (Saflık: %99.92) ve TOL standart referansı (Saflık: %99.91) ChemScene LLC (ABD) firmasından tedarik edilmiştir Tüm çalışmalarda iki kez distillenmiş yüksek saflıkta olan deiyonize su, H_2SO_4 (0.1 M), HNO_3 (0.1 M) dahil analitik dereceli reaktiflerin hazırlanmasında kullanıldı. $HClO_4$ (0.1 M), asetat tampon çözeltisi (ABS, 0.1 M, pH 4.7), fosfat tampon çözeltisi (PBS, 0.1 M, pH 2.5) ve Britton-Robinson tamponu (BR, 0.04 M, pH 2.0-8.0). ENT'nin stok solüsyonu (1.0 mg mL^{-1}) etanol içerisinde çözüldü, TOL'un stok solüsyonu (1.0 mg mL^{-1}) etanol içerisinde çözüldü ve elde edilen bu solüsyonlar seçilen elektrolitler içerisinde seyreltildi. Hazırlanan standartlar kullanılmadığı zamanlarda bozulmayı önlemek için $+4^\circ\text{C}$ 'de buzdolabında saklanmıştır.

3.2 Destek Çözeltilerinin Hazırlanması

Deneysel destek elektrolit çözeltisi olarak 0.5 M H_2SO_4 , 0.1 M $HClO_4$, Britton-Robinson tamponu (BR, 0.04 M), Asetat tamponu (0.1 M) ve fosfat tamponu (0.1 M) çözeltileri kullanıldı. BR tamponu için 0.04 M Borik asit (H_3BO_3), 0.04 M asetik asit (CH_3COOH) ve 0.04 M fosforik asit (H_3PO_4) 1000 mL'lik balon joje de 800 mL saf su ile karıştırılarak çözeltinin pH'si 5 M NaOH/HCl çözeltisi ile istenen pH değerine ayarlandıktan sonra saf su ile tamamlandı. Asetat tamponu için 0.1 M CH_3COOH 1000 mL çözeltisine 5 M NaOH/HCl ilave edilerek istenen pH değerine ayarlandı. Fosfat tamponu için ise 0.1 M $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ karışımına 5 M HCl/NaOH ilave edilerek pH istenilen değere ayarlandı. 0.5 M H_2SO_4 ve 0.5 M $HClO_4$ çözeltileri saf suda hazırlandı. Hazırlanan bu destek çözeltileri pyrex® cam şişelerde ve $+4$ derece buzdolabında saklanmıştır.

3.3 Numunelerin Hazırlanması

ENT numunesi, 200 mg ENT içeren bir tablet olan (Comtan®, Novartis Pharma Co.) isimli ilaç piyasadaki eczanelerden alınmıştır. Tabletler havan ve havan eli kullanılarak iyice ezilerek toz haline getirildi. Elde edilen tozdan 50.0 mg ENT'ye eşit miktarda uygun miktarda 50 mL'lik kalibre edilmiş şişeye eklendi ve hacmi dolduracak şekilde etanol ilave edildi. Karışım, karışımın tüm bileşenleri çözünene kadar yaklaşık 15 dakika boyunca sürekli olarak karıştırıldı. Mikropipet kullanılarak 25 µL çözelti voltametik hücreye (0.1 M H₂SO₄ içerir) aktarıldı ve numuneye 1.0, 2.5, 5.0, 7.5 ve 10 µg mL⁻¹ ENT eklendikten sonra analiz edildi. Numunede ki miktar, standart ekleme yöntemi kullanılarak tespit edildi.

TOL numunesi, 100 mg TOL içeren bir tablet olan (Tasmar®, Meda Pharma Co.) isimli ilaç piyasadaki eczanelerden temin edildi. Tabletler havan ve havan eli kullanılarak toz haline getirildi. Elde edilen tozdan 25.0 mg TOL'ye eşit miktarda uygun miktarda 25 mL'lik kalibre edilmiş bir şişeye ilave edildi ve hacmi dolduracak şekilde etanol ilave edildi. Karışım, karışımın tüm bileşenleri çözünene kadar yaklaşık 15 dakika boyunca sürekli olarak karıştırıldı. Bir mikropipet kullanılarak, 50 µL çözelti voltametik hücreye (pH 2.5'te 0.1 mol L⁻¹ PBS içerir) aktarıldı ve numuneye 1.0, 2.5, 5.0, 10 ve 20 µg mL⁻¹ TOL eklendikten sonra analiz edildi. Numunedeki TOL miktarı standart ekleme yöntemi kullanılarak tespit edildi.

3.4 Araç ve Gereçler

Dönüşümlü ve kare dalga voltametik teknikleri çalışmaları, elektrokimyasal analiz cihazı µAUTOLAB TYPE III (GPES 4.9 yazılımı ile birlikte) ile yapıldı. Kare dalga voltametik deneyler sonucu elde edilen voltamogramlarda aletin yazılım programında yer alan zemin düzeltmesi [baseline correction, Savitzky and Golay filter (level 2), peak width of 0.01 V] yapılmıştır. Çalışma elektrodu olarak bor katkılı elmas (BDD) elektrot (1000 ppm bor içeriğine sahip, 3 mm çapında, Windsor Scientific Ltd., Birleşik Krallık) kullanıldı. Karşılaştırma elektrotu olarak Ag/AgCl elektrodu (3 M NaCl, model) içerir. RE-1, BAS, ABD) kullanıldı ve yardımcı elektrot olarak platin tel elektrottan (MW 1032, BAS) yararlanıldı. Elektrokimyasal deney hücreleri (10 mililitrelik) pyrex® camlardan yapılmış olup üç elektrot girişli deney hücresi kapağı ile

elektrotların çözelti ile teması sağlanmıştır. Düzeneğin alt kısmında manyetik karıştırıcı olup, çözelti ortamının karıştırılması durumlarında bir magnetten yararlanılmıştır. pH ölçümlerinde WTW, inolab pH 720 cihazından yararlanıldı (Xylem, New York, USA).

3.4.1 Entakapon Analizi

Çalışma (BDD) elektrodu, voltametrik hücredeki ENT ve sinyallerinin etkisini ölçmek için elektrokimyasal katodik ön işleme tabi tutuldu. Her çalışma gününün başında tekrarlanabilir ve kararlı sonuçlar elde etmek için BDD elektrodu, 0.5 M H₂SO₄ çözeltisi içinde 180 saniye boyunca -1.8 V katodik voltaj uygulandı. Her bir ölçümden önce ise bu elektrot, 0.5 M H₂SO₄ çözeltisinde 60 saniye boyunca -1.8 V kullanılarak ön işleme tabi tutuldu. Uygulanan prosedür, elektrot yüzeyinin temiz olmasını ve ENT'nin oksidasyon parametrelerinin herhangi bir adsorpsiyonunu önlemesini sağlar.

ENT'nin seçilen destek elektrolitteki BDD elektrot yüzeyindeki elektrokimyasal davranışı ve reaksiyon mekanizması, dönüşümlü voltametri (CV) yöntemi kullanılarak araştırıldı. Daha sonra ENT çalışmasının hassasiyetini arttırmak için destek elektrolitler (çeşitli pH değerlerinde) ve SWV parametreleri dahil olmak üzere en iyi optimum koşulları araştırmak için kare dalga voltametri (SWV) tekniği uygulandı.

SWV yöntemi kullanılan ENT'nin algılanması için, ENT çözeltilerini ve 0.1 M H₂SO₄'ü içeren bir elektrokimyasal hücreye üç elektrotlu bir düzenek daldırıldı. Anodik tarama 0 ila +1.1 V voltaj aralığında kaydedildi. Tüm elektrokimyasal ölçümler üç kez yapıldı ve tablet numunelerinde ENT'nin algılanması standart ekleme tekniği kullanılarak yapıldı.

3.4.2 Tolkapon Analizi

Çalışma (BDD) elektrodu, voltametrik hücredeki TOL sinyallerinin etkisini ölçmek için elektrokimyasal katodik ön işleme tabi tutuldu. Her çalışma gününün başında BDD elektrotu, 0.5 mol L⁻¹ H₂SO₄ çözeltisi içinde 180 saniye boyunca -1.8 V'luk katodik voltaj uygulandı. Her bir ölçümden önce ise bu elektrot, 0.5 mol L⁻¹ H₂SO₄ çözeltisi içinde 60 saniye boyunca -1.8 V ile ön işleme tabi tutuldu. Uygulanan prosedür, elektrot yüzeyinin temiz olmasını ve TOL'un oksidasyon parametrelerinin herhangi bir adsorpsiyonunu önlemesini sağlar.

TOL'un seçilen destek elektrolitteki BDD elektrot yüzeyindeki elektrokimyasal davranışı ve reaksiyon mekanizması, dönüşümlü voltametri (CV) tekniği kullanılarak incelenmiştir. Daha sonra TOL çalışmasının hassasiyetini arttırmak için destek elektrolitler (çeşitli pH değerlerinde) ve SWV parametreleri dahil olmak üzere en iyi optimum koşulları araştırmak için kare dalga voltametri (SWV) tekniği uygulandı.

SWV kullanarak TOL sinyallerini tespit edebilmek için, TOL çözeltilerini pH 2.5'te 0.1 mol L⁻¹ PBS içeren bir voltametrik hücreye üç elektrotlu bir düzenek yerleştirildi. Anodik tarama, 0 ila +1.1 V potansiyel aralığında kaydedildi. Tüm elektrokimyasal ölçümler üç kez yapıldı ve tablet numunelerinde TOL'un algılanması standart ekleme tekniği kullanılarak yapıldı.

3.5 Yöntem

3.5.1 Voltametrik Analiz

Anodik bölgede tayini yapılması planlanan ENT ve TOL'nun uygun çözelti ortamında BDD elektrot üzerindeki elektrokimyasal ve adsorptif davranışları dönüşümlü voltametri (CV) tekniği ile araştırılmıştır. Duyarlı bir teknik olan kare dalga voltametri (SWV) tekniği ile destek elektrolitinin türü ve pH'sının, biriktirme gerilimi ve süresinin ve kare-dalga formu değişkenlerinin (frekans, puls amplitüd, gerilim adımı) elektrot yanıtına etkisi incelenmiş ve voltametrik tayine olanak tanıyacak en iyi deney koşulları belirlenmiştir. En iyi deney koşullarında bileşiğin tayini için çalışma aralığı, kesinlik (gün-içi ve günler-arası tekrarlanabilirlik), duyarlılık, gözlenebilme sınırı (LOD), tayin alt sınırı (LOQ), seçicilik ve ilaç preparatlarında uygulama çalışmaları yapılmıştır.

Tüm voltametrik ölçümler 3 kez tekrarlanmak koşulu ile laboratuvar sıcaklığında (25 ± 5°C) gerçekleştirilmiştir.

3.5.2 SEM Analizleri

Taramalı elektron mikroskobu, adından da anlaşılacağı üzere yüksek oranda büyütme yaparak yüksek çözünürlüklü görüntü elde etme tekniği olarak maddelerin mikro yapı analizlerinde sıklıkla kullanılan bir tekniktir. Yüksek voltajlarda hızlandırılan elektron demeti görüntüsü alınacak numune üzerine düşürülür. Yüksek hızlı elektron

demeti, numune yüzeyindeki elektronlarla etkileşerek, yüzeyden elektron kopmasına ve X- ışını oluşmasına neden olur. Dedektör tarafından algılanan bu ışın demetleri elektrik sinyaline dönüştürülerek numunenin mikro yapısal özellikleri hakkında fikir elde etmemize olanak sağlar. Ayrıca enerji dağılımlı X ışını (EDX) tekniğiyle elementel analiz yapılmasını da mümkün kılar. SEM analizleriyle düşükten yükseğe kadar çok geniş bir yelpazede büyütme kadar numunelerin, yapısal, morfolojik, ve elementel bilgilerine ulaşmak mümkündür.

Vakum ortamında da kullanılması yaygın olan SEM cihazları, düşük ve yüksek vakum koşulları altında ikincil elektron (SE), geri saçılmış elektron (BSE), VCD, STEM, ESEM veya karışık SE+BSE görüntüleri alınarak analiz çeşitliliği artmaktadır. İncelemesi yapılan numunelere X-ray elementel dağılım haritalaması (X-ray mapping) yapılarak incelenen numune üzerinde standartsız kalitatif elementel analizler (SEM-EDS) yapılabilmektedir.

Tez çalışmamıza konu olan numuneler SEM analizleri için Şekil 4.9'da verilen Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi bünyesindeki, QUANTA 450 Field Emission Gun (FEG) SEM yüksek çözünürlüklü taramalı elektron mikroskobu kullanılmıştır. SEM analizleri 10 ila 0.2 μm çözünürlükte ve 10 000x ila 50 000x büyütme gücünde görüntüler alınmıştır.

4. BULGULAR

4.1 Entakaponun Dönüşümlü Voltametri Çalışmaları

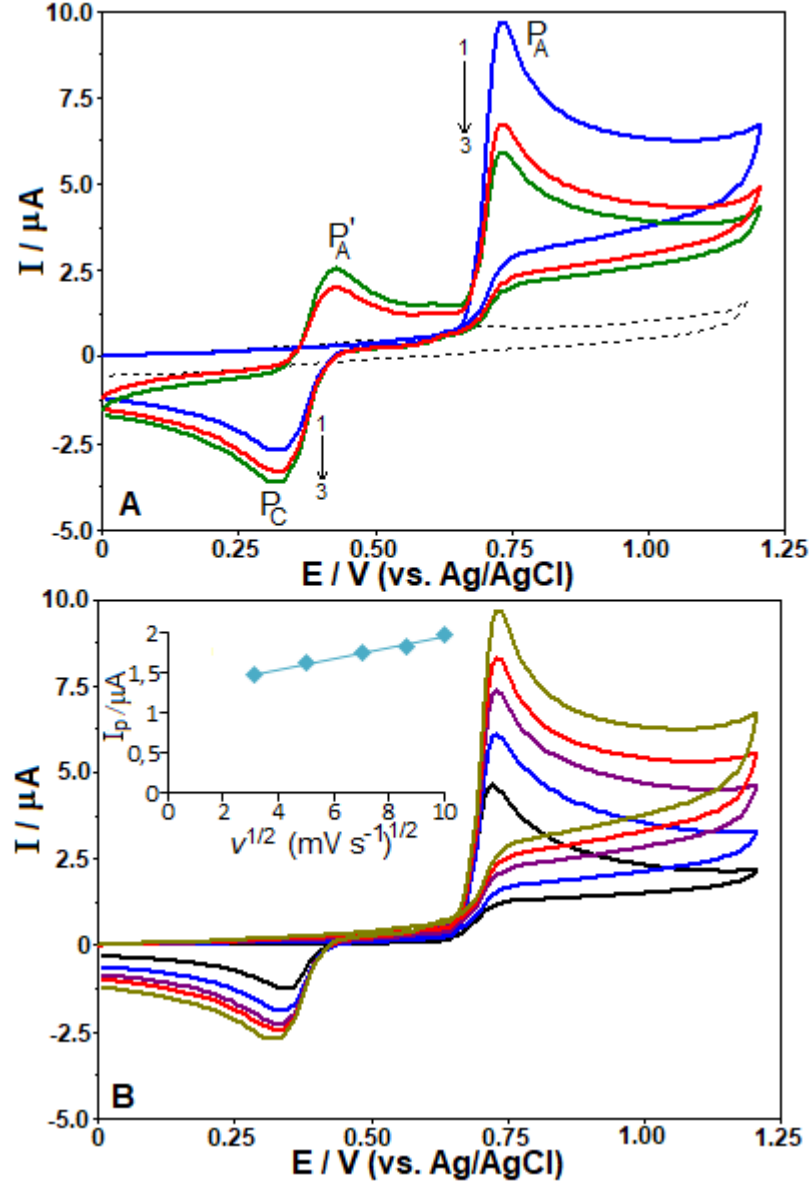
BDD elektrot yüzeyinde gerçekleşen elektrokimyasal işlemleri anlayabilmek amacıyla 0.1 M H₂SO₄ içerisinde hazırlanan elektrokimyasal hücrede 150 µg mL⁻¹ ENT'nun (0.0 V)-(+1.20 V) / (+1.20 V)-(0.0 V) gerilim tarama aralığında gerçekleşen, 100 mV s⁻¹ gerilim tarama hızına sahip üç döngülü dönüşümlü voltamogramları BDD elektrot yüzeyinde kaydedilmiştir. Şekil 4.1'de 150 µg mL⁻¹ ENT çözeltisinin BDD elektrot üzerinde dönüşümlü voltamogramı görülmektedir. ENT, +0.73 V civarında bir anodik bir sinyal (iyi tanımlanmış- sınırları belli) potansiyeli göstermiştir (Şekil 4.1A). Üçlü taramada, ikinci ve sonraki taramalar sırasında, en yüksek potansiyelden daha az, pozitif potansiyelde küçük bir anodik sinyal (P_A¹) (yaklaşık +0.40 V'de) ile birlikte +0.33 V civarında bir indirgeme sinyali (P_C) kaydedilmiştir. Tarama sayısının artmasıyla birlikte P_A sinyal yüksekliği giderek azalırken, P_C/P_A¹ oranı bir miktar artmıştır. Bu bulgular, P_A'daki yükseltgenme noktasının geri dönüşümsüz olduğunu, P_C/P_A¹'deki sinyal çiftinin ise bir redoks sürecinin göstergesi olduğunu göstermektedir. Bunun nedeni ana elektrooksidasyon basamağı sırasında yan ürünlerin oluşması olabilir. Sonuç olarak, sıralı CV'ler elde edilirken ana oksidasyon sinyalindeki (P_A) azalmanın nedeni, muhtemelen ENT ve/veya oksidasyon ürünlerinin BDD elektrot yüzeyinde birikmesi nedeniyle deaktivasyonun veya kirlenmenin yol açması olabilir.

Gerilim tarama hızının (ν) oluşan yükseltgenme sinyal gerilimleri ve akım şiddeti (i_p) üzerine olan etkisini incelemek amacıyla; 0.1 M H₂SO₄ çözeltisi içerisinde çözünerek hazırlanan 150 µg mL⁻¹ ENT çözeltisinin 10 mV s⁻¹ ile 100 mV s⁻¹ aralığında dönüşümlü voltamogramları (Şekil 4.1B) kaydedilmiştir. Gerilim tarama hızının kare kökü ile sinyal akımı arasında doğrusallık elde edilmiştir. Tarama hızının kare kökü ($\nu^{1/2}$) arttıkça ENT'nun anodik sinyalleri artmıştır. İlgili denklem aşağıda verilmiş olup bu denklemde anlaşılacağı üzere ENT BDD elektrot yüzeyinde difüzyon kontrollüdür.

$$i_{pa} (\mu A) = 0.071 \nu^{1/2} (mV s^{-1}) + 1.242, r = 0.996 (n=5).$$

Diğer taraftan, gerilim tarama hızının logaritmasına ($\log \nu$) karşı akımın logaritmasına ($\log i_p$) karşı oluşturulan denklemde ($\log i_p (\mu A) = 0.123 \log \nu (mV s^{-1}) + 0.038, r = 0.989$) incelenmiştir. Elde edilen eğim (~ 0.12), difüzyon kontrollü prosesler

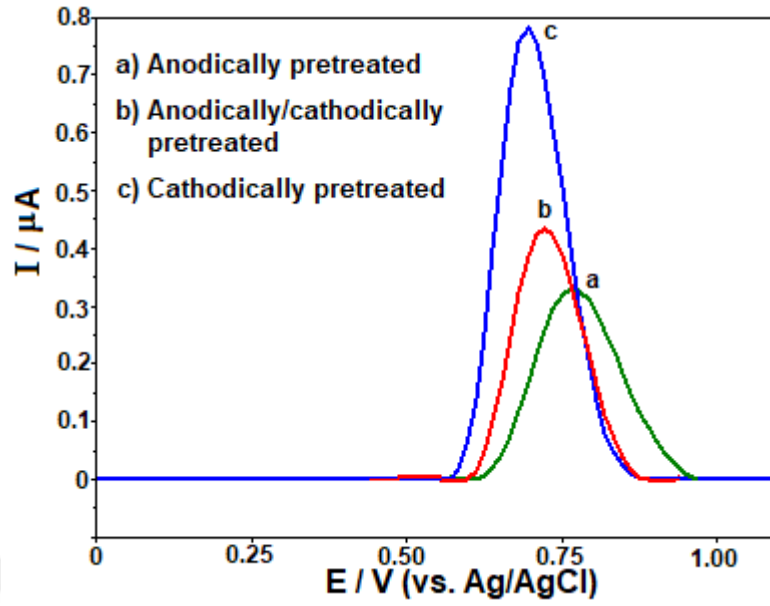
için teorik olarak beklenen 0.5 değerlerine yakındır. Bu nedenle ENT oksidasyonunun difüzyon karakterde olduğu anlaşılmaktadır.



Şekil 4.1 150 μg mL⁻¹ entakaponnun 100 mV s⁻¹ de üç tekrarlı dönüşümlü voltamogramları (A) ve çeşitli tarama hızlarında (10, 25, 50, 75 ve 100 mV s⁻¹) dönüşümlü voltamogramları (B). Elektrot; BDD, çözelti; 0.1 M H₂SO₄. A: Kesikli çizgiler zemin akımını göstermektedir, B: v^{1/2}'ye karşı i_p'nin doğrusal denklem grafiği

4.1.1 BDD Elektrotun Ön İşlem Prosedürünün Entakapon Sinyalleri Üzerine Etkisi

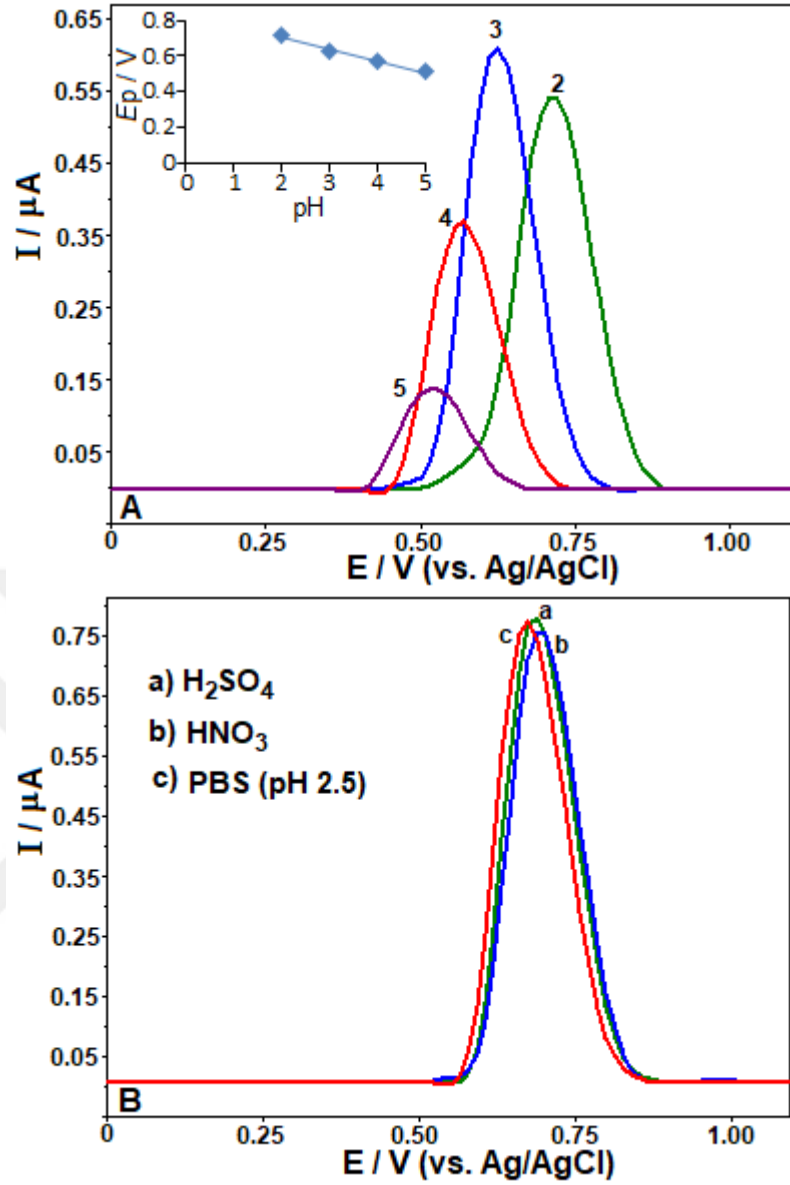
Çalışmanın sonraki aşamasında artan hassasiyeti, elektroaktif molekül tüketiminin azalması ve hızlı analiz kabiliyeti nedeniyle kare dalga voltametri (SWV) yöntemi tercih edildi. Ön denemeler, işlem görmemiş BDD elektrotunun, özellikle yüksek miktarlarda ENT'da pasifleştirme zorluklarına karşı etkisiz olduğunu ortaya çıkardı. Sonuç olarak, işlem görmemiş BDD elektrotu tekrarlanabilirlik ve hassasiyet açısından etkili olmayan sonuçlar vermiştir. Kare dalga voltametri, 0.1 M H₂SO₄'te 20 µg mL⁻¹ ENT için üç farklı ön işlem prosedürün performansını araştırmak ve BDD elektrot yüzeyinin tepkisini değerlendirmek için kullanıldı. Başlangıçta BDD elektrot yüzeyi, 0.5 M H₂SO₄ içerisinde 180 saniye boyunca +1.8 V potansiyel uygulanarak anodik ön işleme (APT) tabi tutuldu. Daha sonra katodik ön işlemin (CPT) BDD elektrot yüzeyine etkisi, 0.5 M H₂SO₄ içerisinde 180 saniye boyunca -1.8 V voltaj uygulanarak incelenmiştir. Sonunda, BDD elektrot yüzeyinde anodik ve katodik ön işlemin bir kombinasyonu gerçekleştirildi. ENT analizinde en hassas sonuçlar CPT prosedürü ile elde edildi (Şekil 4.2). CPT tekniği diğerlerine kıyasla ENT'nun BDD elektrotu üzerindeki elektron transferini hızlandırmış olabilir. Bu nedenle çalışmanın ilerleyen bölümlerinde bu prosedüre tabi tutulmuş elektrot kullanılmıştır. İlgili prosedüre tabi olan BDD elektrotu bundan sonra CPT-BDD elektrotu olarak gösterilecektir.



Şekil 4.2 Farklı elektrokimyasal ön işlemler uygulanmış BDD elektrotu yüzeyinde 0.1 M H_2SO_4 içerisinde $20.0 \mu g mL^{-1}$ entakaponnun SW voltamogramları. SWV parametreleri; $\Delta E_s = 10 mV$; $\Delta E_{sw} = 40 mV$; $f = 50 Hz$

4.1.2 Destek Elektrotu ve pH'nin Etkisi

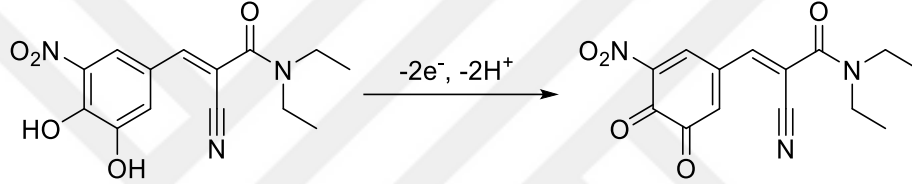
En iyi çalışma ortamını elde etmek amacıyla, BDD elektrot yüzeyindeki ENT'nun anodik sinyal cevapları üzerinde farklı destek elektrolitleri ve çeşitli pH değerlerinin etkisini araştırmak için SWV tekniği kullanıldı. SWV'lar, $20 \mu g mL^{-1}$ ENT çözeltisi için BR tamponunda (pH aralığı 2.0-6.0 arasında) kaydedildi (0 V ila +1.10 V potansiyel çalışma aralığında). İlgili voltamogramlar Şekil 4.3A'da gösterilmiştir. Şekil 4.3A'dan görüleceği üzere, pH 2.0-5.0 aralığında anodik sinyal potansiyellerinde, pH değeri arttıkça daha düşük pozitif değerlere sinyalin kaydığı gözlemlendi. Çalışma koşullarında 5.0'in üzerindeki pH değerlerinde herhangi bir sinyal tespit edilmediğinin altını çizmek gerekir. ENT'nun BDD elektrotu üzerindeki yükseltgenme potansiyeli ile pH (2.0'den 5.0'e) arasındaki korelasyonundan $E_p (V) = -0.065 pH + 0.834$ ($r = 0.993$) denklemi elde edilmiştir. Bu denklemden de anlaşılacağı üzere ENT'nun BDD elektrotunda yükseltgenmesinde protonlar etkilidir. Elde edilen sonuçlar, elektrot reaksiyonunun, 0.059 V teorik değerine yakın olan 0.065 V/pH eğimleriyle kanıtlandığı ve ENT'nun yükseltgenmesinde eşit miktarda proton ve elektrondan oluşan bir stokiometriye sahip olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.3 CPT-BDD elektrot yüzeyinde $20 \mu g mL^{-1}$ entakaponun BR tamponunda (pH 2.0 – 5.0) (A) ve çeşitli destek elektrolitlerinde (B) SW voltamogramları. Diğer koşullar şekil 4.2’de gösterilmiştir

Elde edilen sonuçlara dayanarak ve daha önce ENT'nun elektrokimyasal oksidasyonunu araştıran daha önceki bir kaynakça dikkate alınarak (Rizk vd., 2015), ENT'nin oksidasyon mekanizmasını kısaca açıklamak mümkündür. ENT, hidroksil gruplarının (OH grupları) oksidasyonuna uğrayan bir dihidroksibenzen grubundan oluşur, bu da bir fenoksi radikal oluşumuna yol açar. Bu radikal daha önceki çalışmalarda bildirildiği gibi bir kinona (Fernandes vd., 2012; Barzani vd., 2022) da oksitlenebilir.

Yukarıda sunulan bilgiler ve elde edilen sonuçlar dikkate alındığında, ENT'nun o-kinona oksidasyonu ile redoks sürecinin, iki elektron ve iki proton içeren bir reaksiyonu içerdiği hipotezi oluşturulabilir. CPT-BDD elektrotu üzerinde ENT'nun potansiyel oksidasyon mekanizması Şekil 4.4'te gösterilmiştir. Farklı elektrolitlerde SWV sinyalleri Şekil 4.3B'de sunulmaktadır. 0.1 M H₂SO₄, HNO₃ ve PBS pH 2.5 kullanılarak sırasıyla +0.694, +0.694 ve +0.680 V anodik sinyal potansiyelleri ve sırasıyla 0.78, 0.75 ve 0.77 µA anodik sinyal akımları elde edilmiştir. Şekil 4.3A ve B'den görüldüğü gibi en iyi SWV sinyali, 20 µg mL⁻¹ ENT için CPT-BDD elektrotu üzerinde H₂SO₄ çözeltisinde elde edilmiştir. Çalışmanın bundan sonraki kısmında ilgili destek elektrolitinden yararlanılmıştır.



Şekil 4.4 Entakapon yüksetgenmesinin olası mekanizması

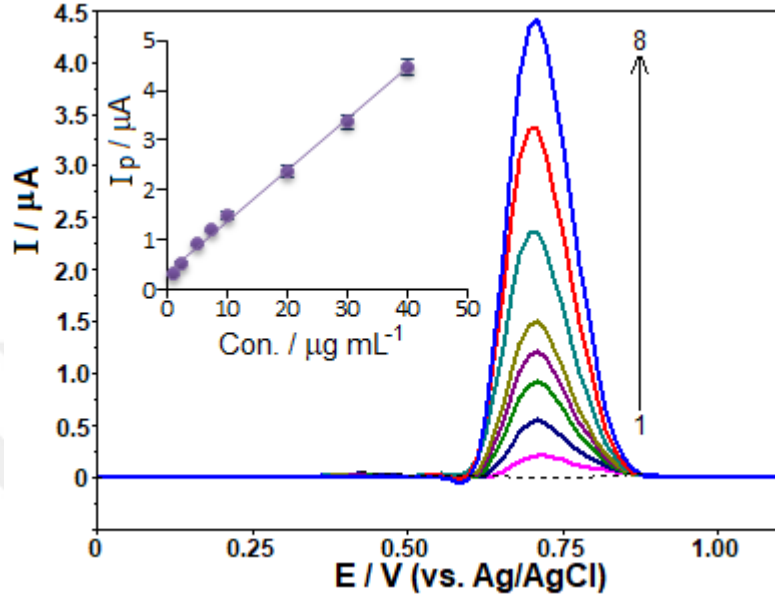
4.1.3 SWV Parametrelerinin Etkisi

Yapılan çalışmalarda amacımız hassasiyeti artırmak ve oluşan sinyal akımını optimize etmektir. Sonuç olarak, amplitude ($\Delta E_{sw} = 30-80$ mV), step potansiyeli ($\Delta E_s = 8-18$ mV) ve frekans ($f = 25-200$ Hz) gibi SWV parametrelerini optimize etmek amacıyla elde edilen koşullar altında ENT'nun yükseltgenme sinyali incelenmiştir. Optimizasyon, iki parametrenin sabit tutulacağı ve bir parametrenin sürekli değiştirileceği şekilde gerçekleştirildi. Deneyler sonunda elde edilen en iyi parametreler; $\Delta E_s = 12$ mV, $\Delta E_{sw} = 60$ mV ve $f = 150$ Hz olarak bulundu.

4.1.4 Entakapon İçin Analitik Parametreler

Deney koşullarında optimizasyon sağlandıktan sonra yöntemin performansı, farklı ENT konsantrasyonlarına göre yükseltgenme sinyal akımları ölçülerek değerlendirildi. Kaydedilen ve elde edilen sonuçlar Şekil 4.5'te gösterilmiştir ve Çizelge 4.1'de elde edilen analitik parametreler sunulmuştur. 3 s/m ve 10 s/m formülü kullanılarak LOD ve LOQ

değerleri sırasıyla $0.25 \mu\text{g mL}^{-1}$ ($8.2 \times 10^{-7} \text{ M}$) ve $0.83 \mu\text{g mL}^{-1}$ ($2.8 \times 10^{-6} \text{ M}$) olarak bulundu. Kalibrasyon aralığındaki en küçük konsantrasyon, standart sapmayı (s) elde etmek için on kez ölçüldü ve bu daha sonra analitik eğrinin eğimine (m) bölündü.



Şekil 4.5 CPT-BDD elektrot yüzeyinde 0.1 M H₂SO₄ çözeltisinde entakapon konsantrasyonları (1-8) 1.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 20.0, 30.0 ve 40.0 μg mL⁻¹ olan SW voltamogramları. İçe yerleştirilmiş grafik, kalibrasyon eğrisini göstermektedir. SWV parametreleri: $\Delta E_s = 12 \text{ mV}$; $\Delta E_{sw} = 60 \text{ mV}$; $f = 150 \text{ Hz}$

Çizelge 4.1 BDD elektrot yüzeyinde SWV yöntemi kullanılarak entakapon yükseltgenme sinyali için elde edilen analitik parametreler

Analitik parametreler	P _A
E_p	+0.73 V
LWR	1.0-40.0 μg mL ⁻¹ (3.3×10^{-6} - $1.3 \times 10^{-4} \text{ M}$)
LRE	$i_p (\mu\text{A}) = 0.102 C (\mu\text{g mL}^{-1}) + 0.360$
r	0.998
LOD	$0.25 \mu\text{g mL}^{-1}$ ($8.2 \times 10^{-7} \text{ M}$)
LOQ	$0.83 \mu\text{g mL}^{-1}$ ($2.8 \times 10^{-6} \text{ M}$)
Gün içi tekrarlanabilirlik (RSD%, $n=10$)	3.8
Günler arası tekrarlanabilirlik (RSD%, $n=3$)	5.3

E_p =sinyal potansiyeli; LWR= doğrusal çalışma aralığı; LRE= doğrusal regresyon denklemi; r = korelasyon katsayısı; LOD= gözlemlenebilirlik sınırı; LOQ= tayin alt sınırı

Geliştirilen yöntemin kesinliğini değerlendirmek için (Çizelge 4.1), elde edilen optimum koşullar altında $1.0 \mu\text{g mL}^{-1}$ ENT için gün içi tekrarlanabilirlik (on tekrar) ve

günler arası tekrarlanabilirlik (arka arkaya üç gün) araştırıldı. Elde edilen bağıl standart sapma (RSD) değerleri, CPT-BDD elektrot yüzeyinin ENT'nun tekrarlanabilir ölçümleri açısından uygun bir çalışma elektrotu olduğunu göstermektedir. ENT'nun literatürde daha önce yapılan voltametrik çalışmalarla kıyaslanmasına ait veriler Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2 ENT miktarının belirlenmesinde önerilen yöntemin çeşitli elektrot malzemeleriyle karşılaştırılması

Yöntem	Elektrot	Doğrusal Aralık (mol L ⁻¹)	LOD (mol L ⁻¹)	Referans
SWV	grCNTs/GNPs/GCE	5.0 x 10 ⁻⁷ -1.0 x 10 ⁻⁵	3.2 x 10 ⁻⁸	(Nigović, 2023)
SWV	HMDE (Tween 20)	1.6 x 10 ⁻⁴ -1.6 x 10 ⁻⁵	0.13 x 10 ⁻⁸	(Jain vd., 2010)
DPV	S@SnO ₂ NP/SPE	1.0 x 10 ⁻⁷ -7.5 x 10 ⁻⁵	1.0 x 10 ⁻⁸	(Naghian vd., 2021)
DPV	PrMoOG ₂ /GCE	9.0 x 10 ⁻⁹ -2.0 x 10 ⁻⁴	3.18 x 10 ⁻¹⁰	(Shoghi-Kalkhoran vd., 2018)
DPV	NH ₂ fMWCNT/GCE	1.0 x 10 ⁻⁹ -5.0 x 10 ⁻⁸	1.45 x 10 ⁻¹¹	(Aftab vd., 2019)
SWV	CPT-BDD	3.3 x 10 ⁻⁶ -1.3 x 10 ⁻⁴	8.2 x 10 ⁻⁷	Bu çalışma M

grCNTs/GNPs/GCE; Grafen nanoplateletler ve grafitleştirilmiş çok duyarlı karbon nanotüplerle modifiye camı karbon elektrot, HMDE; Asılı civa damlayan elektrot, S@SnO₂NP/SPE: Kükürt-kalay oksit modifiye perde baskılı elektrot; PrMoOG₂; Molibdat nanoplakaları/indirgenmiş grafen oksit nanokompozit modifiye camı karbon elektrot, NH₂fMWCNT/GCE; NH₂ ile fonksiyonlandırılmış çok duyarlı karbon nanotüplerle modifiye camı karbon elektrot

4.1.5 Seçicilik Çalışması

Elektroaktif maddelerin varlığının, biyolojik örneklerde veya farmasötik formülasyonlarda analit sinyalinin tespitine etki etme potansiyeline sahip olduğu bilinmektedir. CPT-BDD elektrotu üzerinde ENT algılama seçiciliğini belirlemek için, 1:1, 1:10 ve 1:50 konsantrasyon oranlarında (ENT: girişim yapan molekül) yaygın olarak ilaç formülasyonlarında bulunan çeşitli iyonlar ve moleküller, optimal koşullar altında 5.0 µg mL⁻¹ ENT sinyalindeki değişiklikler kaydedilirken tanımlanmıştır. ENT'nun anodik sinyalinin tolerans limitini belirlemek için, konsantrasyon ortalaması ±5% hata üretecek şekilde ayarlandı. Farklı girişim yapıcı maddelerin ENT oksidasyon sinyali üzerindeki etkisi kaydedilmiş ve Çizelge 4.3'te verilmiştir. Sonuçlar, şekerlerin (maltoz,

laktoz, glukoz, sükröz), inorganik iyonların (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , vb.) ve dolgu maddelerinin (selüloz, magnezyum stearat, nişasta ve SDS) konsantrasyonlarında 50 kat artışın, ENT'nun anodik pik akımını anlamlı bir şekilde etkilemediğini gösterdi. Elde edilen sonuçlar, geliştirilen yöntemin ENT'nun farmasötik formülasyonlarına uygulanabilir olduğunu göstermiştir.

Çizelge 4.3 ENT'nun yükseltgenme sinyali üzerine girişim yapabilecek maddelerin etkisi

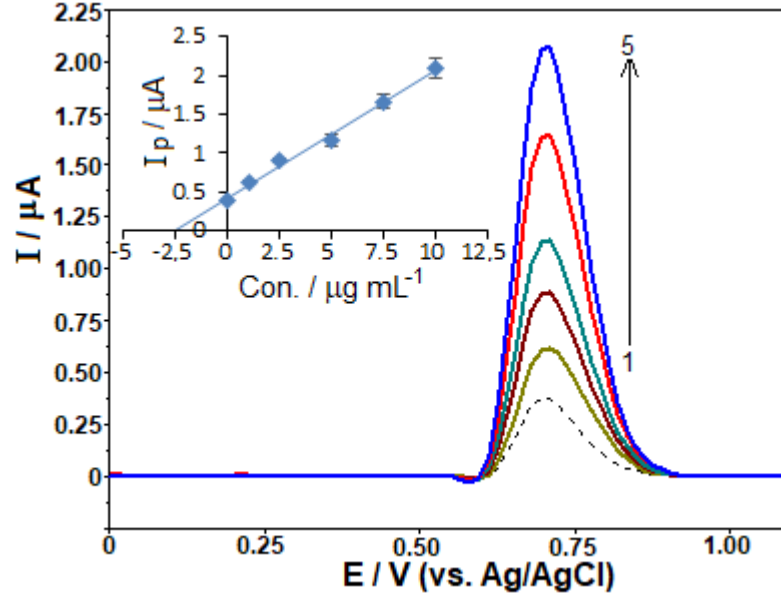
Girişim yapacak madde	Konsantrasyon oranları (ENT: İnterferans)	Akım değişimi (%)
İnorganik İyonlar	1:50	- 7 ± 0.32
Şekerler	1:50	- 7 ± 0.45
Selüloz	1:50	- 5 ± 0.28
Magnezyum stearat	1:50	- 7 ± 0.41
Nişasta	1:50	- 6 ± 0.35
Mannitol	1:50	-3 ± 0.12
Gliserin	1:50	-7 ± 0.38

İnorganik iyonlar; K^+ , Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , Ti^{4+} , NO_3^- , PO_4^{3-} , Şekerler; maltoz, laktoz, glukoz, sükröz.

4.1.6 Önerilen Yöntemin Uygulanabilirliği

Önerilen yöntem, yöntemin pratik uygulamasını değerlendirmek için farmasötik formdaki ENT (ticari olarak mevcut olan) miktarını bulmak için kullanılmıştır. İlgili bölümde ENT numunesinin nasıl hazırlandığı ve değerlendirmenin nasıl yapıldığı anlatılmıştır. Tablet numuneleri herhangi bir ekstraksiyon, filtrasyon veya buharlaştırma adımı uygulanmadan doğrudan analiz edildi. Örneğin ve örneğe eklenen standartların SWV'leri grafiksel olarak değerlendirildi ve Şekil 4.6'da gösterildi [i_p (μA) = 0.165 C ($\mu g mL^{-1}$) + 0.424 ($r = 0.997$)]. Numunenin art arda seyreltilmesi dikkate alındığında, tabletteki ENT miktarının 205.6 mg (%2.5 RSD) olduğu belirlendi; bu üretici tarafından beyan edilen 200.0 mg etiket değerine yakındır. Önerilen yöntemi doğrulamak için, uygun hacimlerdeki standart ENT çözeltisinin (nihai konsantrasyonları 1.0, 2.5 ve 5.0 $\mu g mL^{-1}$) bir voltametrik hücrede önceden incelenen bir numune çözeltisine aktarılmasıyla bir geri kazanım incelemesi gerçekleştirildi. Çizelge 4.4, üç tekrarlanan ölçümden elde

edilen ilgili RSD değerlerini göstermektedir. İyi geri kazanım değerleri, tablet formundaki numunelerde önemli bir matris etkisinin olmadığını göstermektedir.



Şekil 4.6 CPT-BDD elektrot yüzeyinde 0.1 M H₂SO₄ çözeltisinde ilaç numunesinin (kesikli çizgi) ve farklı derişimlerdeki (1-5) standart entakapon çözeltilerinin (1.0, 2.5, 5.0, 7.5 ve 10.0 μg mL⁻¹) eklemesinden sonraki SW voltamogramları. İçe yerleştirilmiş grafik, standart ilave yöntemi kullanılarak yapılan analizin sonucunu göstermektedir. Diğer koşullar Şekil 4.5'teki gibidir

Çizelge 4.4 Entakapon standart çözeltileri eklenmiş farmasötik form örneklerinin geri kazanım değerlerinin belirlenmesiyle geliştirilen prosedürün performansı

Eklenen ^a (μg mL ⁻¹)	Beklenen ^a (μg mL ⁻¹)	Bulunan ^{a, b} (μg mL ⁻¹)	Geri Kazanım (%) ± RSD (%)
0	–	2.57	0 ± 2.9
1.0	3.57	3.84	107.6 ± 2.7
2.5	5.07	4.81	94.9 ± 2.3
5.0	7.57	7.25	95.8 ± 2.0

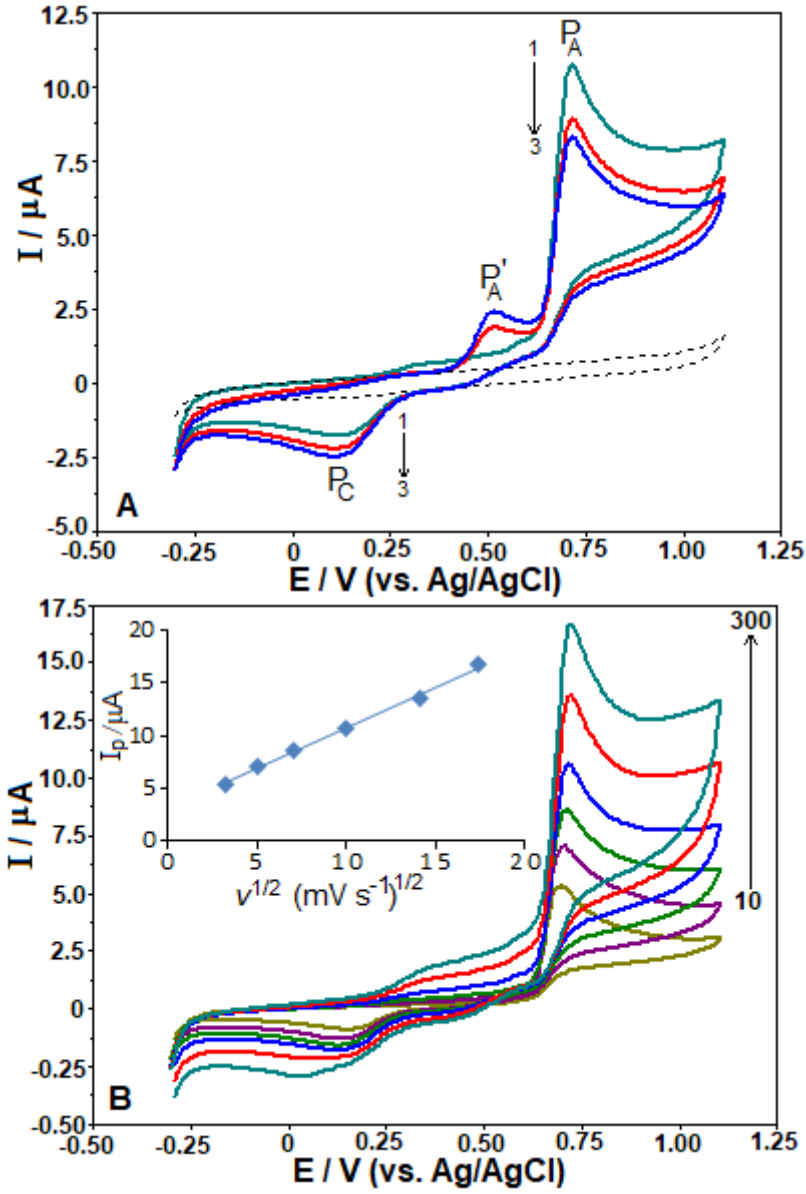
^aÇözeltideki ölçülen konsantrasyon

^bÜç tekrarlı ölçümün ortalaması

4.2 Tolkapon'un Dönüşümlü Voltametri Çalışmaları

BDD elektrotu ile dönüşümlü voltametri (CV) tekniği kullanılarak TOL'nun elektrokimyasal özellikleri değerlendirilmiştir. 100 mV s⁻¹ potansiyel tarama hızı kullanılarak 150 µg mL⁻¹ TOL için üç ardışık CV kaydedildi. Ölçümler, pH 2.5'te 0.1 mol L⁻¹ fosfat tamponu çözeltisi (PBS) içinde gerçekleştirildi. TOL, yaklaşık +0.76 V'lık bir potansiyelde (P_A) iyi tanımlanmış bir yükseltgenme sinyali göstermiştir (Şekil 4.7A). Ters taramada, ikinci ve sonraki taramalar sırasında P_A'dan daha az pozitif potansiyelde küçük bir ek anodik sinyal noktasının (P_A') (yaklaşık 0.50 V'de) eşlik ettiği +0.12 V civarında bir indirgeme sinyali (P_C) kaydedildi. Tarama sayısının artmasıyla birlikte P_A'nın sinyal yüksekliği giderek azalırken, P_C/P_A'nın oranı bir miktar artmıştır. Bu bulgular, P_A'daki yükseltgenme sinyalinin tersinmez olduğunu, P_C/P_A'deki sinyal çiftinin ise bir redoks sürecinin göstergesi olduğunu göstermektedir. Bunun nedeni ana elektrooksidasyon basamağı sırasında yan ürünlerin oluşması olabilir. Sonuç olarak, sıralı CV'ler elde edilirken ana oksidasyon sinyalindeki (P_A) azalmanın nedeni, muhtemelen TOL ve/veya oksidasyon ürünlerinin BDD elektrot yüzeyinde birikmesi nedeniyle deaktivasyonun veya kirlenmenin yol açması olabilir.

Potansiyel tarama hızının (v) TOL'nun (150 µg mL⁻¹) anodik sinyal akımı üzerindeki etkisi, pH 2.5'te 0.1 mol L⁻¹ PBS çözeltisi içinde dönüşümlü voltametri (CV) tekniği kullanılarak incelenmiştir. BDD elektrotundaki TOL oksidasyonunun kinetiğini incelemek için tarama hızı aralığı 10 ila 300 mV s⁻¹ (Şekil 4.7B) arasında ayarlandı. Tarama hızının karekökü ($v^{1/2}$) arttıkça, TOL'nun anodik sinyal akımları da arttı. TOL yükseltgenme sinyal akımları ile $v^{1/2}$ arasındaki ilişki şu denklem kullanılarak değerlendirildi: $i_{pa} (\mu A) = 0.772 v^{1/2} (mV s^{-1}) + 3.023$, korelasyon katsayısı (r) 0.9983 ($n = 6$). Ek olarak, $\log i_p$ 'nin $\log v$ 'ye karşı grafiği çizilirken şu denklem takip edilerek doğrusal bir bağımlılık gözlemlendi; $\log i_p (\mu A) = 0.326 \log v (mV s^{-1}) + 0.392$, r değeri 0.9964'tür. Elde edilen eğim (~ 0.39), difüzyon kontrollü prosesler için teorik olarak beklenen 0.5 değerlerine yakındır. Bu nedenle TOL oksidasyonunun bir difüzyon yoluyla kontrol edildiği anlaşılmıştır.

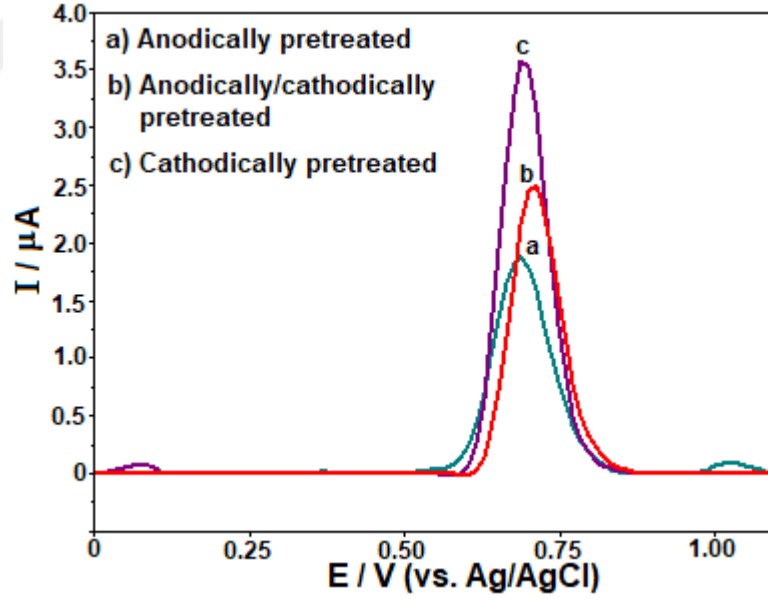


Şekil 4.7 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ tolkaponun 100 mV s^{-1} de üç tekrarlı dönüşümlü voltamogramları (A) ve çeşitli tarama hızlarında (10, 25, 50, 100, 200 ve 300 mV s^{-1}) dönüşümlü voltamogramları (B). Elektrot; BDD, çözelti; 0.1 mol L^{-1} PBS (pH 2.5). A: Kesikli çizgiler zemin akımını göstermektedir, B: $v^{1/2}$ 'ye karşı i_p 'nin doğrusal denklem grafiği

4.2.1 BDD Elektrotun Ön İşlem Prosedürünün Tolkapon Sinyalleri Üzerine Etkisi

Çalışmanın sonraki aşamasında artan hassasiyeti, elektroaktif molekül tüketiminin azalması ve hızlı analiz kabiliyeti nedeniyle kare dalga voltametri (SWV) yöntemi tercih edildi. Ön denemeler, işlem görmemiş BDD elektrotunun, özellikle

yüksek miktarlarda TOL'da pasifleştirme zorluklarına karşı etkisiz olduğunu ortaya çıkardı. Sonuç olarak, işlem görmemiş BDD elektrotu tekrarlanabilirlik ve hassasiyet açısından etkili olmayan sonuçlar vermiştir. Kare dalga voltametrisi, pH 2.5'te 0.1 mol L^{-1} PBS'de $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ TOL için üç farklı ön işlem prosedürün performansını araştırmak ve BDD elektrot yüzeyinin tepkisini değerlendirmek için kullanıldı. Başlangıçta BDD elektrot yüzeyi, $0.5 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ içerisinde 180 saniye boyunca $+1.8 \text{ V}$ potansiyel uygulanarak anodik ön işleme (APT) tabi tutuldu. Daha sonra katodik ön işlemin (CPT) BDD elektrot yüzeyine etkisi, $0.5 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ içerisinde 180 saniye boyunca -1.8 V voltaj uygulanarak incelenmiştir. Sonunda, BDD elektrot yüzeyinde anodik ve katodik ön işlemin bir kombinasyonu gerçekleştirildi. TOL analizinde en hassas sonuçlar CPT prosedürü ile elde edildi (Şekil 4.8). CPT tekniği diğerlerine kıyasla TOL'nun BDD elektrotu üzerindeki elektron transferini hızlandırmış olabilir. Bu nedenle çalışmanın ilerleyen bölümlerinde bu prosedüre tabi tutulmuş elektrot kullanılmıştır. İlgili prosedüre tabi olan BDD elektrotu CPT-BDD elektrotu olarak gösterilecektir.

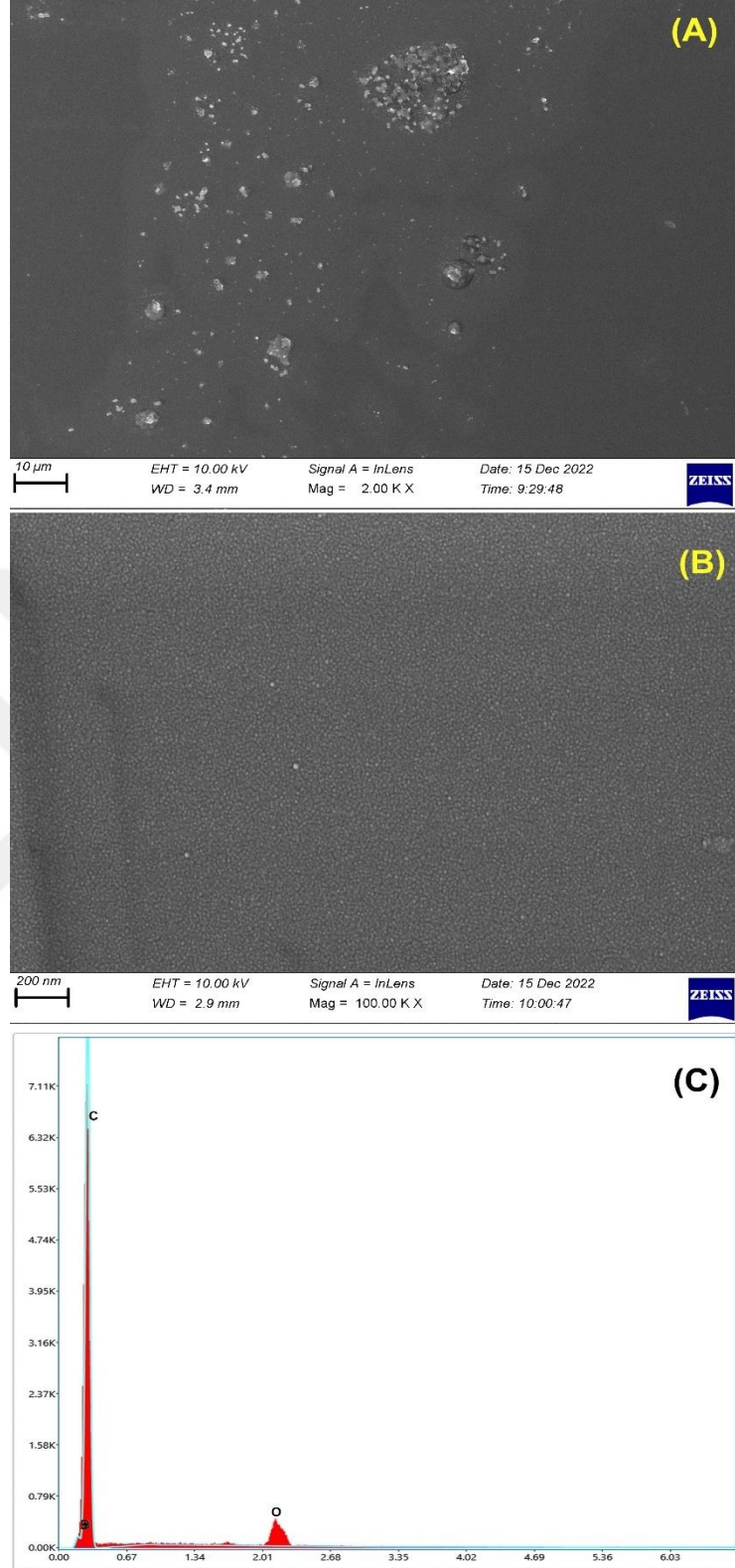


Şekil 4.8 Farklı elektrokimyasal ön işlemler uygulanmış BDD elektrotu yüzeyinde 0.1 mol L^{-1} PBS (pH 2.5) içerisinde $50.0 \mu\text{g mL}^{-1}$ tolkaponun SW voltamogramları. SWV parametreleri; $\Delta E_s = 10 \text{ mV}$; $\Delta E_{sw} = 40 \text{ mV}$; $f = 50 \text{ Hz}$

4.2.2 SEM Analizi Sonuçları

BDD elektrot yüzey morfolojisini incelemek için SEM ve SEM-EDX analizleri yapıldı. Şekil 4.9A ve B'de sunulan SEM görüntüleri, BDD elektrotunun yüzeyinin belirli çalışma koşulları altında kısmen pürüzlü olduğunu ancak genel olarak olumlu bir morfolojik yapıya sahip olduğunu göstermektedir. Ek olarak, BDD elektrotunun element bileşimi, Şekil 4.9C'de sunulan SEM-EDX spektrumunun analiz edilmesiyle doğrulandı.

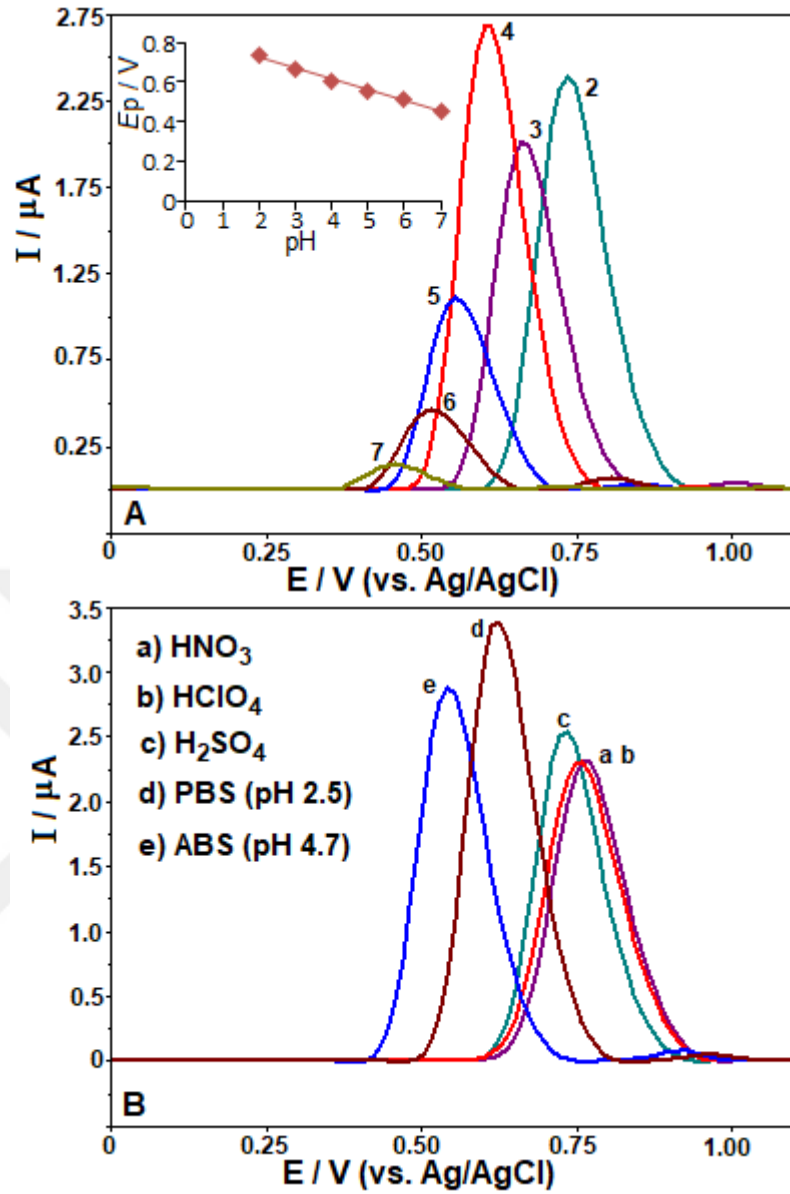




Şekil 4.9 BDD elektrotu (A-B) için farklı ölçekte (10 μm ve 0.2 μm) SEM görüntüleri, SEM-EDX spektrumu ve BDD elektrotunun elementel bileşimi (C) gösterimi

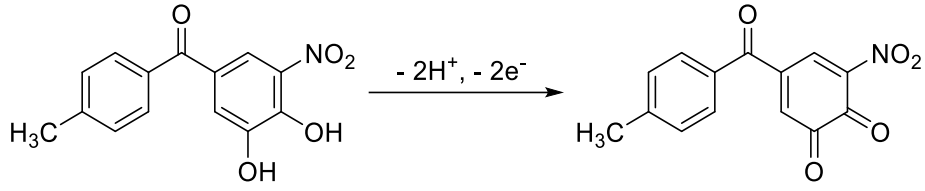
4.2.3 Destek Elektrotu ve pH'nin Etkisi

En iyi çalışma ortamını elde etmek amacıyla, BDD elektrot yüzeyindeki TOL'nun anodik sinyal cevapları üzerinde farklı destek elektrolitleri ve çeşitli pH değerlerinin etkisini araştırmak için SWV tekniği kullanıldı. SWV'lar, 50 µg mL⁻¹ TOL çözeltisi için BR tamponunda (pH aralığı 2.0-7.0 arasında) kaydedildi (0 V ila +1.10 V potansiyel çalışma aralığında) ve voltamogramlar Şekil 4.10A'da gösterilmektedir. Şekil 4.10A'dan görüleceği üzere, pH 2.0-7.0 aralığında anodik sinyal potansiyellerinde, pH değeri arttıkça daha düşük pozitif değerlere sinyalin kaydığı gözlemlendi. Çalışma koşulları altında 7.0'nin üzerindeki pH değerlerinde herhangi bir sinyal tespit edilmemiştir. TOL'nun BDD elektrotu üzerindeki yükseltgenme potansiyeli ile pH (2.0'den 7.0'e) arasındaki korelasyonundan $E_p (V) = -0.053 \text{ pH} + 0.827$ ($r = 0.9942$) denklemi elde edilmiştir. Bu denklemden de anlaşılacağı üzere TOL'nun BDD elektrotunda yükseltgenmesinde protonlar etkilidir. Elde edilen sonuçlar, elektrot reaksiyonunun, 0.059 V teorik değerine yakın olan 0.053 V/pH eğimleriyle kanıtlandığı ve TOL'nun yükseltgenmesinde eşit miktarda proton ve elektrondan oluşan bir stokiyometriye sahip olduğunu göstermektedir. Elde edilen sonuçlara dayanarak ve TOL'na benzer bir yapıya sahip olan ENT'nun elektrokimyasal oksidasyonunu araştıran daha önceki bir kaynakça dikkate alarak (Rizk vd., 2015), TOL'nun oksidasyon mekanizmasını kısaca açıklamak mümkündür. TOL, hidroksil gruplarının (OH grupları) oksidasyonuna uğrayan bir dihidroksibenzen grubundan oluşur, bu da bir fenoksiradikal oluşumuna yol açar. Bu radikal daha önceki çalışmalarda bildirildiği gibi bir kinona (Fernandes vd., 2012; Barzani vd., 2022) da oksitlenebilir. Yukarıda sunulan bilgiler ve elde edilen sonuçlar dikkate alındığında, TOL'nun o-kinona oksidasyonu ile redoks sürecinin, iki elektron ve iki proton içeren bir reaksiyonu içerdiği hipotezi oluşturulabilir. CPT-BDD elektrotu üzerinde TOL'nun potansiyel oksidasyon mekanizması Şekil 4.11'de gösterilmiştir.



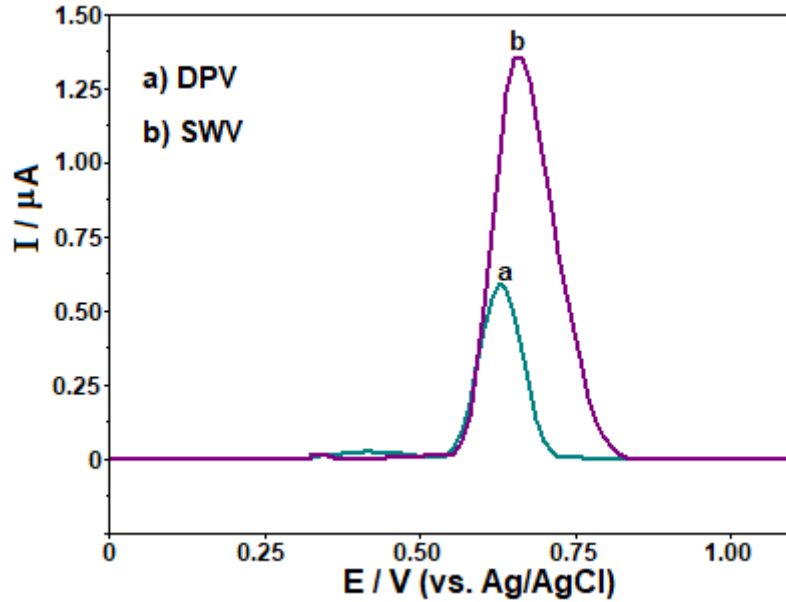
Şekil 4.10 CPT-BDD elektrot yüzeyinde $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ tolkaponun BR tamponunda (pH 2.0 – 7.0) (A) ve çeşitli destek elektrolitlerinde (B) SW voltamogramları. Diğer koşullar şekil 4.8’de gösterilmiştir

Farklı destek elektrolitlerde SWV sinyalleri Şekil 4.10B’de sunulmuştur. 0.1 mol L^{-1} H₂SO₄, HNO₃, HClO₄, PBS pH 2.5 ve ABS pH 4.7 kullanılarak yükseltgenme sinyal potansiyelleri sırasıyla +0.73, +0.76, +0.76, +0.63 ve +0.54 V ve anodik sinyal akımları sırasıyla 2.54, 2.32, 2.31, 3.39 ve 2.88 μ A olarak kaydedildi.



Şekil 4.11 Tolkapon oksidasyonunun olası mekanizması

Şekil 4.10A ve B'den gözlemlendiği gibi, en iyi SWV sinyali, $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ TOL için CPT-BDD elektrot yüzeyinde pH 2.5'te (PBS) elde edildi. Çalışmanın bundan sonraki kısmında ilgili destek elektrolitinden yararlanılmıştır. TOL'un oksidasyon sinyal akımlarını ölçmek ve en hassas tekniği belirlemek amacıyla iki puls tekniği, SWV ve diferansiyel puls voltametri (DPV) arasında bir karşılaştırma yapıldı. Bulgular, SWV'nin aynı koşullar altında DPV'ye kıyasla daha yüksek hassasiyet gösterdiğini ortaya çıkardı (Şekil 4.12). Çalışmanın sonuçları, daha önce aynı elektrot ile yapılan farklı bir molekül üzerindeki çalışma ile benzerlik göstermiştir (Özok vd., 2023). Bu nedenle SWV tekniği tercih edilmiştir.



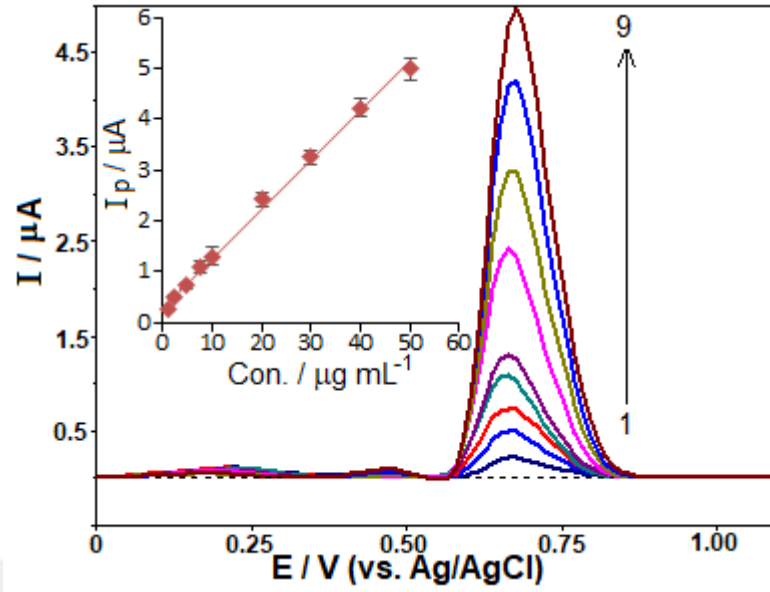
Şekil 4.12 CPT-BDD elektrot yüzeyinde pH 2.5'te 0.1 M PBS'de $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ TOL'nun DP (a) ve SW (b) voltamogramları. DPV parametreleri: amplitude, 50 mV; step potential, 8 mV ve modülasyon süresi 0.05 s. Diğer koşullar şekil 4.8'de gösterilmiştir

4.2.4 SWV Parametrelerinin Etkisi

Yapılan çalışmalarda amacımız hassasiyeti artırmak ve oluşan sinyal akımını optimize etmektir. Sonuç olarak, TOL için SWV parametrelerinin optimizasyonu yapıldı, elde edilen koşullar altında frekans ($f = 25-125$ Hz), step potansiyeli ($\Delta E_s = 8-18$ mV) ve amplitude ($\Delta E_{sw} = 30-80$ mV) ilgili aralıklarda ayarlanarak yapıldı. Optimizasyon, iki parametrenin sabit tutulacağı ve bir parametrenin sürekli değiştirileceği şekilde gerçekleştirildi. Deneyle sonunda elde edilen en iyi parametreler; $f = 100$ Hz, $\Delta E_s = 12$ mV ve $\Delta E_{sw} = 60$ mV olarak belirlenmiştir.

4.2.5 Tolkapon için Analitik Parametreler

Deney koşullarında optimizasyon sağlandıktan sonra yöntemin performansı, farklı TOL derişimlerine göre yükseltgenme sinyal akımları ölçülerek değerlendirildi. Kaydedilen ve elde edilen sonuçlar Şekil 4.13'te gösterilmiştir ve Çizelge 4.5'te elde edilen analitik parametreler sunulmuştur. 3 s/m ve 10 s/m formülü kullanılarak LOD ve LOQ değerleri sırasıyla $0.29 \mu\text{g mL}^{-1}$ (1.1×10^{-6} mol L⁻¹) ve $0.97 \mu\text{g mL}^{-1}$ (3.6×10^{-6} mol L⁻¹) olarak hesaplandı. Kalibrasyon aralığındaki en küçük konsantrasyon, standart sapmayı (s) elde etmek için on kez ölçüldü ve bu daha sonra analitik eğrinin eğimine (m) bölündü.



Şekil 4.13 CPT-BDD elektrot yüzeyinde 0.1 M PBS (pH 2.5) çözeltisinde tolkapon derişimleri (1-9) 1.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 20.0, 30.0, 40.0 ve 50.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ olan SW voltamogramları. İçe yerleştirilmiş grafik, kalibrasyon eğrisini göstermektedir. SWV parametreleri: $\Delta E_s = 12 \text{ mV}$; $\Delta E_{sw} = 60 \text{ mV}$; $f = 100 \text{ Hz}$

Çizelge 4.5 CPT-BDD elektrot yüzeyinde SWV yöntemi kullanılarak TOL yükseltgenme sinyali için elde edilen analitik parametreler

Analitik parametreler	P_A
E_p	+0.66 V
LWR	1.0 - 50.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (3.7×10^{-6} - 1.8×10^{-4} M)
LRE	$i_p (\mu\text{A}) = 0.097 C (\mu\text{g mL}^{-1}) + 0.298$
r	0.9984
LOD	0.29 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (1.1×10^{-6} M)
LOQ	0.97 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (3.6×10^{-6} M)
Gün içi tekrarlanabilirlik (RSD%, $n=10$)	5.8
Günler arası tekrarlanabilirlik (RSD%, $n=3$)	7.1

E_p =sinyal potansiyeli; LWR=doğrusal çalışma aralığı; LRE= doğrusal regresyon denklemi; r =korelasyon katsayısı; LOD=gözlenebilme sınırı; LOQ= tayin alt sınırı.

Geliştirilen yöntemin kesinliğini değerlendirmek için (Çizelge 4.5), elde edilen optimum koşullar altında 1.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ TOL için gün içi tekrarlanabilirlik (on tekrar) ve günler arası tekrarlanabilirlik (arka arkaya üç gün) araştırıldı. Elde edilen RSD değerleri, CPT-BDD elektrot yüzeyinin TOL'nun tekrarlanabilir ölçümleri açısından uygun bir çalışma elektrotu olduğunu göstermektedir.

Yapılan bazı çalışmalarla CPT-BDD elektrotu kullanılarak önerilen tekniğin diğer yöntemlerle karşılaştırılması Çizelge 4.6'da gösterilmiştir. Geliştirilen yöntem RP-HPLC (Ahmed vd., 2019) yöntemine göre daha hassas, fakat HPLC (Casanova vd., 2022) ve HPLC-MS/MS (Ribeiro vd., 2015) yöntemleriyle karşılaştırıldığında daha düşük hassasiyet göstermiştir. Tez kapsamında önerilen yöntem diğer yöntemlere kıyasla maliyet, hız ve basitlik açısından daha avantajlıdır.

Çizelge 4.6 TOL tayininde geliştirilen yöntemin literatürdeki diğer yöntemlerle kıyaslanması

Yöntem	Doğrusal Aralık ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Referans
HPLC	0.5 - 20.0	0.36	[(Casanova vd., 2022)]
RP-HPLC	5.0 - 15.0	3.79	[(Ahmed vd., 2019)]
HPLC-MS/MS	0.01 - 0.5	0.01	[(Ribeiro vd., 2015)]
SWV	1.0 - 50.0	0.97	Bu çalışma

HPLC; Yüksek performanslı sıvı kromatografisi, RP-HPLC; ters faz-HPLC, HPLC-MS/MS; Yüksek performanslı sıvı kromatografisi-kütle spektrofotometresi, SWV; Kare dalga voltametri.

4.2.6 Seçicilik Çalışması

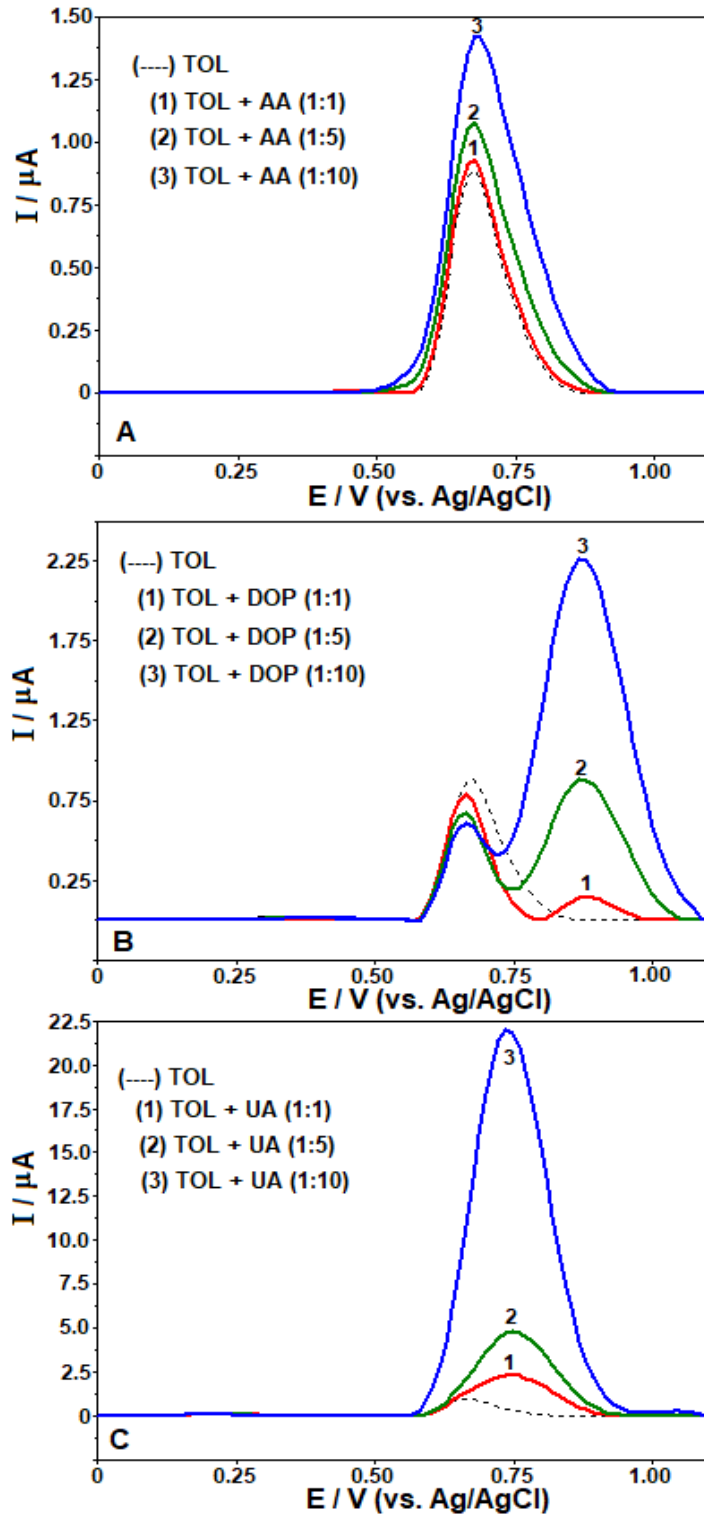
Elektroaktif maddelerin varlığının, biyolojik örneklerde veya farmasötik formülasyonlarda hedef ajan (analit) sinyalinin tespitine etki edebileceğini vurgulamak önemlidir. CPT-BDD elektrotu üzerinde TOL algılama seçiciliğini belirlemek için, 1:1, 1:10 ve 1:50 konsantrasyon oranlarında (TOL: girişim yapan ajan) yaygın olarak ilaç formülasyonlarında bulunan çeşitli iyonlar ve moleküller, optimal koşullar altında $5.0 \mu\text{g mL}^{-1}$ TOL sinyalindeki değişiklikler kaydedilirken tanımlanmıştır. TOL'nun anodik sinyalinin tolerans limitini belirlemek için, konsantrasyon ortalaması $\pm 5\%$ hata üretecek şekilde ayarlandı. Farklı girişim yapıcı maddelerin TOL yükseltgenme sinyali üzerindeki etkisi kaydedilmiş ve Çizelge 4.7'de verilmiştir. Sonuçlar, şekerlerin (maltoz, laktoz, glukoz, sükröz), inorganik iyonların (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , vb.) ve dolgu maddelerinin (mannitol, gliserin, selüloz, SDS, magnezyum stearat ve nişasta) konsantrasyonlarında 50 kat artışın, TOL'nun anodik pik akımını anlamlı bir şekilde etkilemediğini gösterdi. Elde edilen sonuçlar, geliştirilen yöntemin TOL'nun farmasötik formülasyonlarına uygulanabilir olduğunu göstermiştir.

Çizelge 4.7 TOL'nun yükseltgenme sinyali üzerine girişim yapabilecek maddelerin etkisi

Girişim yapacak madde	Konsantrasyon oranları (TOL: İnterferans)	Akım değışimi (%)
İnorganik İyonlar	1:50	-7 ± 0.3
Şekerler	1:50	-7 ± 0.5
Selüloz	1:50	-5 ± 0.3
Magnezyum stearat	1:50	-7 ± 0.4
Nişasta	1:50	-6 ± 0.4
SDS	1:50	-3 ± 0.1
Askorbik asit	1:5	+31 ± 1.4
Dopamin	1:10	-37 ± 1.7
Ürik asit	1:1	+188 ± 6.8

İnorganik iyonlar; K⁺, Na⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Fe³⁺, Ti⁴⁺, NO₃⁻, PO₄³⁻, Şekerler; maltoz, laktoz, glukoz, sükröz, SDS; Sodyum dodesil sülfat.

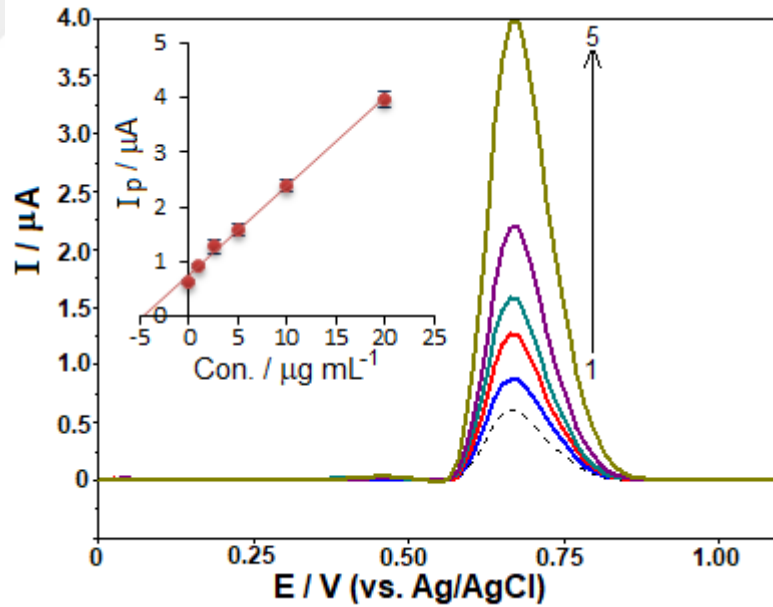
Ek olarak, biyolojik sıvılarda bulunabilen ürik asit (UA), askorbik asit (AA) ve dopaminin (DOP) varlığında geliştirilen yöntemin TOL'nun tespit edilebilme yeteneğinin değerlendirilmesi gelecekteki biyoyararlanım çalışmaları için anlamlı sonuçlara sahip olabilir. Bu bileşiklerin TOL'un anodik sinyalleri üzerindeki etkisi, UA, AA ve DOP gibi girişim yapan bileşiklerin 1:1, 1:5 ve 1:10 dahil farklı konsantrasyon oranları kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, AA ve DOP'nin aynı konsantrasyonlarda bulunmasının, TOL'un anodik sinyali üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığını ortaya koydu. Bununla birlikte, TOL'un oksidasyonundan üretilen sinyal akımlarının, 1:1 (TOL:UA) oranında UA'nın varlığından önemli ölçüde etkilendiği gözlemlendi (Şekil 4.14). Sonuç olarak, bu yöntemin klinik analiz için, özellikle de bu ajanların yüksek konsantrasyonlarında TOL'nun tayin edilmesi için sınırlamaları olabilir.



Şekil 4.14 5.0 µg mL⁻¹ TOL varlığında (A) eşit konsantrasyon, 5 ve 10 kat fazla AA, (B) eşit konsantrasyon, 5 ve 10 kat fazla DOP ve (C) eşit konsantrasyonu 5 ve 10 kat fazla UA karışımının SW voltamogramları. Diğer koşullar Şekil 4.13'teki gibidir

4.2.7 Önerilen Yöntemin Uygulanabilirliği

Geliştirilen yöntem, ticari olarak mevcut bir farmasötik formülasyondaki TOL miktarını belirlemek için uygulandı ve pratik uygulanabilirliğinin değerlendirilmesi amaçlandı. Tablet numuneleri herhangi bir ekstraksiyon, filtrasyon veya buharlaştırma adımı uygulanmadan doğrudan analiz edildi. Örneğin ve örneğe eklenen standartların SWV'leri grafiksel olarak değerlendirildi ve Şekil 4.15'te gösterildi [i_p (μA) = 0.161 C ($\mu\text{g mL}^{-1}$) + 0.756 ($r = 0.9982$)]. Numunenin art arda seyreltilmesi dikkate alındığında, tabletteki TOL miktarının 93.8 mg (%3.4 RSD) olduğu belirlendi; bu üretici tarafından beyan edilen 100.0 mg etiket değerine yakındır. Önerilen yöntemi doğrulamak için, uygun hacimlerdeki standart TOL çözeltisinin (nihai konsantrasyonları 1.0, 5.0 ve 20.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$) bir voltametrik hücrede önceden incelenen bir numune çözeltisine aktarılmasıyla bir geri kazanım incelemesi gerçekleştirildi. Çizelge 4.8, üç tekrarlanan ölçümden elde edilen ilgili RSD değerlerini göstermektedir. İyi geri kazanım değerleri, tablet formundaki numunelerde önemli bir matris etkisinin olmadığını göstermektedir.



Şekil 4.15 CPT-BDD elektrot yüzeyinde 0.1 M PBS (pH 2.5) çözeltisinde ilaç numunesinin (kesikli çizgi) ve farklı derişimlerdeki (1-5) standart tolkapon çözeltilerinin (1.0, 2.5, 5.0, 10 ve 20.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$) eklemesinden sonraki SW voltamogramları. İçe yerleştirilmiş grafik, standart ilave yöntemi kullanılarak yapılan analizin sonucunu göstermektedir. Diğer koşullar Şekil 4.13'teki gibidir

Çizelge 4.8 Tolkapon standart çözeltileri eklenmiş farmasötik form örneklerinin geri kazanım değerlerinin belirlenmesiyle geliştirilen prosedürün performansı

Eklenen^a ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Beklenen^a ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Bulunan^{a, b} ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Geri Kazanım (%) \pm RSD (%)
0	–	4.7	- \pm 3.3
1.0	5.7	5.9	103.5 \pm 3.2
5.0	9.7	10.3	106.2 \pm 2.7
20.0	24.7	25.5	103.2 \pm 2.2

^aÇözeltideki ölçülen konsantrasyon

^bÜç tekrarlı ölçümün ortalaması



5. TARTIŞMA VE SONUÇ

İlaçlar, canlı bir hücrede oluşturdukları etkiler sayesinde hastalıkların teşhis edilmesinde, farmakolojik, immunolojik veya metabolik etki göstererek fizyolojik fonksiyonların düzeltilmesi iyileştirilmesi veya var olan semptomların azaltılmasında, bu hastalıklardan korunmayı amaçlayan, canlılara farklı uygulama yöntemleri ile verilen doğal yollarla elde edilen veya sentetik, yarı sentetik yapıda olan kimyasal preparatlardır. Özellikle parkinson hastalığı gibi önemli bir yere sahip olan nörodejeneratif bir hastalığın tedavisinde kullanılan ve çalışmamızda kullandığımız sentetik yapıda olan ENT ve TOL bu amaçla tedavide kullanılmaktadır.

Bu tez kapsamında yöntem olarak voltametri yöntemi kullanıldı çünkü bu yöntemin yüksek hassasiyetli olması, kullanım kolaylığı sağlaması, aletsel olarak basit olmaları, yüksek analiz hızlı olması, küçük hacimlerdeki örneklere uygulanabilirlikleri açısından, düşük ekipman maliyetleri nedeniyle ve gerçek numunelerde uygulanabilirliği sayesinde elektrokimyasal yöntem olarak modifiye edilmemiş bir BDD elektrotunun SWV ile birlikte kullanılmasının pratikliğini göstermektedir. Voltametrik tekniklerde, analit konsantrasyonu herhangi bir ön işleme veya kimyasal ayırmaya gerek kalmadan doğrudan numune içerisinde belirlenebildiği gibi, renkli maddelerin ve saçılmış katı parçacıkların bulunduğu numunelerde de analizi imkân sağlar.

Karbon elektrotlara göre yeni sayılan ve iyi bir karbon elektrot malzemesi olan BDD elektrot etkileyici mekanik ve elektrokimyasal özellikleri sayesinde elektroanalitik amaçlar için sıklıkla kullanılan diğer elektrotlar için alternatif bir elektrot türü olarak iyi bir seçenek sunmuştur. Bununla birlikte bazı analitler için BDD elektrotunun bu özellikleri, uygun elektrokimyasal ön işlemlerin (anodik veya katodik ön işlemler) uygulanmasıyla değiştirilebilen elektrotun yüzey yapısına (oksijen veya hidrojen) oldukça bağlıdır. BDD elektrotlar ilaç ve ilaç metabolitlerinin analiz işlemlerinde, çevre ve gıda analizleri işlemlerini gerçekleştirmek amacıyla geniş bir yelpazede uygulama alanlarında kullanılmaktadır.

Yeni bir yaklaşım olarak, mevcut ticari farmasötik formülasyonlarda ENT ve TOL'un tayininde iyi geri kazanımlar değerleri ile geliştirilen yöntemin doğruluğu ortaya konmuştur. Ayrıca önerilen yöntem; atık oluşumuna, karmaşık numune ekstraksiyonuna, artan kimyasal tüketimine veya maliyetli ekipmana gerek kalmadan hemen uygulanabilir olması açısından oldukça önemlidir.

Bu tez çalışmamızda amaçlanan hedef; yapılacak bu çalışmalar için ilgili literatür çalışmaları incelendiğinde tayinleri düşünülen ENT ve TOL moleküllerinin detaylı olarak elektrokimyasal özelliklerinin incelenmediği (ENT için voltametrik çalışmalar literatürde olup BDD elektrot yüzeyinde çalışması bulunmamaktadır, TOL'nun ise elektrokimyasal değerlendirmesiyle ilgili sadece bir çalışma bulunmuştur fakat bu çalışma, TOL'nun ayrıntılı bir elektrokimyasal analizini ve voltametrik tayinini kapsamamaktadır; bunun yerine matematiksel modelleme yöntemi kullanılmıştır) ve voltametrik tayinleri için BDD elektrot yüzeyinde bir yöntemin geliştirilmediği bilgisinden yola çıkarak ilgili moleküllerin tayininde basit, hızlı ve seçici bir elektroanalitik yöntem önerilmiştir. ENT ve TOL'un elektroaktif özellikleri üzerine elde edilen sonuçlar, bu bileşiklerin tayinine olanak tanıyacak şekilde BDD elektrot yüzeyinde elektrokimyasal bir sinyalinin olduğunu göstermiştir. Tez kapsamında geliştirdiğimiz prosedürlerde elektroanalitik işlem basamakları aşağıdaki şekilde sıralanabilir.

Dönüşümlü voltametri (CV) tekniği ile ENT ve TOL moleküllerinin elektrokimyasal özellikleri incelenmiş, tarama hızı akım denklemlerinden moleküllerin elektrot yüzeyine taşınmasında difüzyon'un etkili olduğu ortaya konmuştur.

Deneysel çalışmalara başlamadan önce, BDD elektrot yüzeyinde oluşacak olası kirlilikleri temizlemek ve analit ya da yükseltgenme ürünlerinden kaynaklanan elektrot yüzeyindeki birikimleri gidermek ve tekrarlanabilirliğini sağlamak için 0.5 M H₂SO₄ çözeltisi içinde çalışma elektrodu 180 saniye boyunca -1.8 V voltaj uygulanarak katodik ön işleme (CPT) tabi tutulmuş ve elektrot CPT-BDD elektrot olarak adlandırılmıştır.

CPT-BDD elektrot yüzey morfolojisini incelemek için SEM ve SEM-EDX analizleri yapıldı. Şekil 4.9A ve B'de sunulan SEM görüntüleri, BDD elektrotunun yüzeyinin belirli çalışma koşulları altında kısmen pürüzlü olduğunu ancak genel olarak olumlu bir morfolojik yapıya sahip olduğunu göstermektedir. Buda çalışma elektrotu olarak BDD elektrotunun çalışmamız sırasında kullanma amacımızı göstermektedir.

CV voltametri tekniğine göre kıyaslandığında daha duyarlı ve daha hassas bir yöntem olan kare-dalga voltametri (SWV) yöntemi ile gerçekleştirilen optimizasyon çalışmaları (destek elektrolitinin ve pH'nin etkisi ve kare-dalga parametreleri (gerilim adımı, frekans, puls amplitüd) ile ENT ve TOL tayini için optimum deneysel koşullar elde edilmiş olup ve aletsel değişkenlere bağlı olarak çalışma aralıkları belirlenmiştir. Elde edilen deneysel koşullar optimum şartlar altında geliştirilen SWV tekniği ile ENT

ve TOL bileşiklerinin tayin alt sınırı (LOQ) ve gözlenebilme sınırı (LOD) değerleri, gün içi tekrarlanabilirlik (on tekrar) ve günler arası tekrarlanabilirlik (arka arkaya üç gün) düzeyleri tespit edilmiştir. Elde edilen RSD değerleri, CPT-BDD elektrot yüzeyinin ENT ve TOL'nun tekrarlanabilirlik açısından uygun bir çalışma elektrotu olduğunu göstermiştir.

Geliştirilen yöntemin seçicilik çalışmaları değerlendirildiğinde hem ENT hem de TOL için; çeşitli inorganik iyonların (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , PO_4^{3-} , vb.), şekerlerin (maltoz, glikoz, laktoz, sukroz), farmasötik formülasyonlarda ki bazı bileşikler (mannitol, gliserin, selüloz, magnezyum stearat ve nişasta) ile dopamin (DOP), askorbik asit (AA) ve ürik asit (UA) bileşikleriyle girişim etkisine rastlanılmamıştır ve anodik sinyal akımını anlamlı şekilde etkilemedikleri gözlenmiştir. Sonuçlar, geliştirilen yöntemin ENT ve TOL farmasötik formülasyonlarına uygulanabilir olduğunu göstermiştir. Ek olarak, DOP, AA ve UA varlığında biyolojik sıvılarda TOL'u tespit etme yeteneğinin değerlendirilmesi, gelecekteki biyoyararlanım çalışmaları için anlamlı sonuçlara sahip olabilir.

Geliştirilen yöntemin ticari farmasötiklerde herhangi bir ön işlem olmadan başarılı bir şekilde uygulanması, kullanım kolaylığını vurgulamaktadır. TOL'un voltametrik tayini üzerine çalışmaların literatürde olmaması, bu çalışmanın bulgularının, yalın veya modifiye elektrotlar üzerinde aynı veya farklı voltametrik teknikler kullanılarak ya da elektrokimyasal dedektörlü kromatografik analizlerde yapılacak çalışmalara ışık tutacağı ve değerli olabileceğini düşündürmektedir.



KAYNAKLAR

- Abasq, M. L., Courtel, P., Burgot, G. (2008). Determination of entacapone by differential pulse polarography in pharmaceutical formulation. *Analytical Letters*, 41(1), 56-65. doi:10.1080/00032710701746774
- Achterberg, E. P., Gledhill, M., Zhu, K. (2018). Voltammetry—cathodic stripping. *Electrochemistry* (Vol. 17, pp. 203-2011). Elsevier. doi:10.1016/B978-0-12-409547-2.00553-9
- Aftab, S., Ozcelikay, G., Kurbanoglu, S., Shah, A., Iftikhar, F. J., Ozkan, S. A. (2019). A novel electrochemical nanosensor based on NH₂-functionalized multi walled carbon nanotubes for the determination of catechol-orto-methyltransferase inhibitor entacapone. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 165, 73-81. doi:10.1016/J.JPBA.2018.11.050
- Ahmed, S. H., Khasim, S. M., Babu, R. S., Sahahnawaz, J. (2019). To develop new RP-HPLC method for the simultaneous estimation of quinapril and tolcapone in pharmaceutical dosage form. *Journal of Drug Development and Delivery*, 84-96.
- Alfaro, M., Antonio, M., Ferro, S., Alberto Martínez-Huitle, C., Meas Vong, Y. (2006). Boron doped diamond electrode for the wastewater treatment. *J. Braz. Chem. Soc*, 17(2), 227-236. doi:10.1590/S0103-50532006000200003
- Altun, Y., Dogan-Topal, B., Uslu, B., Ozkan, S. A. (2009). Anodic behavior of sertindole and its voltammetric determination in pharmaceuticals and human serum using glassy carbon and boron-doped diamond electrodes. *Electrochimica Acta*, 54(6), 1893-1903. doi:10.1016/J.ELECTACTA.2008.10.010
- Amine, A., Mohammadi, H. (2019). Amperometry. *Encyclopedia of analytical science* (Third Edition., Vol. 1, pp. 85-98). Elsevier: Amsterdam, Hollanda.
- Anonim. (2023). Dopamine agonists for parkinson's disease, parkinson's disease health center. Erişim tarihi: 8 Ekim 2023. Erişim adresi: <https://www.webmd.com/parkinsons-disease/understanding-parkinsons-disease-treatment>.
- Bard, Allen J. (1968). Electroanalysis and coulometric analysis. *Analytical Chemistry*, 40(5), 64-74. doi:10.1021/AC60261A036
- Bard, Allen J., Zoski, C. G. (2000). Voltammetry retrospective. *Analytical Chemistry*, 72(9). doi:10.1021/AC002791T/ASSET/AC002791T.FP.PNG_V03
- Bard, A.J., Faulkner, L. R., White, H. S. (2022). Surface technology. *Electrochemical methods fundamentals and applications*. (Third Edition., pp. 91-92). John Wiley: Oxford, İngiltere.
- Barek, J., Cvačka, J., Muck, A., Quaiserová, V., Zima, J. (2001). Electrochemical methods for monitoring of environmental carcinogens. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 369(7-8), 556-562. doi:10.1007/S002160100707/METRICS
- Barek, Jiří, Zima, J. (2003). Eighty years of polarography – History and future. *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, 15(5-6), 467-472. doi:10.1002/ELAN.200390055
- Barzani, H. A. H., Ali, H. S., Özok, H. İ., Yardım, Y. (2022). Developing an electroanalytical procedure for the determination of caffeic acid phenethyl ester at a boron-doped diamond electrode by the use of cationic surfactant media. *Diamond and Related Materials*, 124, 108934. doi:10.1016/J.DIAMOND.2022.108934

- Benabou, R., Waters, C. (2003). Hepatotoxic profile of catechol o methyltransferase inhibitors in parkinson's disease. *Expert Opinion on Drug Safety*, 2(3), 263-267. doi:10.1517/14740338.2.3.263
- Bonifati, V., Meco, G. (1999). New, selective catechol-o-methyltransferase inhibitors as therapeutic agents in parkinson's disease. *Pharmacology & Therapeutics*, 81(1), 1-36. doi:10.1016/S0163-7258(98)00032-1
- Buftia, G., Rosales, E., Pazos, M., Lazar, G., Sanromán, M. A. (2018). Electro-Fenton process for implementation of acid black liquor waste treatment. *Science of The Total Environment*, 635, 397-404. doi:10.1016/J.SCITOTENV.2018.04.139
- Cacabelos, R. (2017). Parkinson's disease: From pathogenesis to pharmacogenomics. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(3). doi:10.3390/IJMS18030551
- Casanova, Y., Negro, S., Slowing, K., García-García, L., Fernández-Carballido, A., Rahmani, M., Barcia, E. (2022). Micro-and nano-systems developed for tolcapone in parkinson's disease. *Pharmaceutics*, 14(5). doi:10.3390/PHARMACEUTICS14051080
- Chin-Chan, M., Navarro-Yepes, J., Quintanilla-Vega, B. (2015). Environmental pollutants as risk factors for neurodegenerative disorders: alzheimer and parkinson diseases. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 9(APR). doi:10.3389/FNCEL.2015.00124/FULL
- Codognoto, L., Machado, S. A. S., Avaca, L. A. (2002). Square wave voltammetry on boron-doped diamond electrodes for analytical determinations. *Diamond and Related Materials*, 11(9), 1670-1675. doi:10.1016/S0925-9635(02)00134-6
- Compton, R. G., Banks, C. E. (2018). *Understanding voltammetry*. World Sci: New Jersey London.
- Copeland, T. R., Skogerboe, R. K. (1974). Anodic stripping voltammetry. *Analytical Chemistry*, 46(14), 1257A - 1268a. doi:10.1021/AC60350A021
- Çakmur, R. (2011). Parkinson hastalığı ve medikal tedavisi. *Klinik Gelişim*, 53-60.
- Daniele, S. (2004). Voltammetry - anodic stripping. *Encyclopedia of Analytical Science*, 197-203. doi:10.1016/B0-12-369397-7/00648-8
- Dewald, H. D. (1996). Stripping analysis. *Chemical analysis* (pp. 151-186). John Wiley: Oxford, İngiltere.
- Duarte, J. L. da S., Solano, A. M. S., Arguelho, M. L. P. M., Tonholo, J., Martínez-Huitle, C. A., Zanta, C. L. de P. e. S. (2018). Evaluation of treatment of effluents contaminated with rifampicin by fenton, electrochemical and associated processes. *Journal of Water Process Engineering*, 22, 250-257. doi:10.1016/J.JWPE.2018.02.012
- Duran, T. (2009). *2-aminopiridin'in camısı karbon elektrot yüzeyinde temas açısı ölçüm tekniğiyle özelliklerinin incelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi, Konya, Türkiye.
- Fernandes, I. P. G., Oliveira, S. C. B., Ghalkhani, M., Shahrokhian, S., Oliveira-Brett, A. M. (2012). Electrochemical oxidation mechanisms of the antioxidants daidzein and 7-hydroxy-4-chromone. *Electroanalysis*, 24(3), 618-626. doi:10.1002/ELAN.201100629
- Fogg, A. G., Wang, J. (1999). Terminology and convention for electrochemical stripping analysis. *Pure and Applied Chemistry*, 71(5), 891-897.
- Franklin, R. K., Martin, S. M., Strong, T. D., Brown, R. B. (2016). Chemical and biological systems: chemical sensing systems for liquids. *Reference Module in*

- Materials Science and Materials Engineering*, 433-461. doi:10.1016/B978-0-12-803581-8.00549-X
- Gandini, D., Mahé, E., Haenni, W., Perret, A., Comninellis, C. (1999). Electrochemical behaviour of synthetic boron-doped diamond thin films anodes. *New Diamond and Frontier Carbon Technology*, 9(5), 303-316.
- Girard, H., Simon, N., Ballutaud, D., Herlem, M., Etcheberry, A. (2007). Effect of anodic and cathodic treatments on the charge transfer of boron doped diamond electrodes. *Diamond and Related Materials*, 16(2), 316-325. doi:10.1016/J.DIAMOND.2006.06.009
- Goldman, S. M. (2014). Environmental toxins and parkinson's disease. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol*, 54, 141-164. doi:10.1146/annurev-pharmtox-011613-135937
- Gong, S., Gao, C., Wang, J., Tong, J., Bian, C., Wu, K., Xia, S. (2018). Reusable boron-doped diamond electrodes for the semi-continuous detection of tetrabromobisphenol a. *IEEE Sensors Journal*, 18(13), 5219-5224. doi:10.1109/JSEN.2018.2827999
- Goole, J., Amighi, K. (2009). Levodopa delivery systems for the treatment of Parkinson's disease: An overview. *International Journal of Pharmaceutics*, 380(1-2), 1-15. doi:10.1016/J.IJPHARM.2009.07.026
- Göver T. (2011). *6-(ferrosenil) hegzantiyol'ün altın elektrot yüzeyindeki elektrokimyasal etkisinin ve özelliklerinin incelenmesi.*, Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü., Konya, Türkiye.
- Grünig, D., Felser, A., Bouitbir, J., Krähenbühl, S. (2017). The catechol-o-methyltransferase inhibitors tolcapone and entacapone uncouple and inhibit the mitochondrial respiratory chain in HepaRG cells. *Toxicology in Vitro*, 42, 337-347. doi:10.1016/J.TIV.2017.05.013
- Gumustas, M., Uslu, B., Ozkan, S. A., Aboul-Enein, H. Y. (2014). Validated stability-indicating HPLC and UPLC assay methods for the determination of entacapone in pharmaceutical dosage forms. *Chromatographia*, 77(23-24), 1721-1726. doi:10.1007/S10337-014-2758-X/METRICS
- Guo-Hua, Z., Ming-Fang, L., Ming-Li, L. (2007). Differential pulse voltammetric determination of dopamine with the coexistence of ascorbic acid on boron-doped diamond surface. *Central European Journal of Chemistry*, 5(4), 1114-1123. doi:10.2478/S11532-007-0049-1/MACHINEREADABLECITATION/RIS
- Hälbig, T. D., Koller, W. C. (2007). Levodopa. *Handbook of Clinical Neurology*, 84, 31-72. doi:10.1016/S0072-9752(07)84032-2
- Heizmann, P., Schmitt, M., Leube, J., Martin, H., Saner, A. (1999). Determination of the catechol-o-methyltransferase inhibitor tolcapone and three of its metabolites in animal and human plasma and urine by reversed-phase high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 730(2), 153-160. doi:10.1016/S0378-4347(99)00146-2
- Henze, G., Neeb, R. (1986). Polarographische und voltammetrische bestimmung anorganischer und organischer Stoffe. *Elektrochemische Analytik*, 169-269. doi:10.1007/978-3-642-70173-3_3
- Heyrovský, M. (2011). Polarography - past, present, and future. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 15(7-8), 1799-1803. doi:10.1007/S10008-010-1244-0/METRICS

- Izutsu, K. (2009). Coulometry. *Electrochemistry in nonaqueous solutions* (Second Edition.). John Wiley & Sons: Oxford, İngiltere.
- Jagner, D., Graneli, A. (1976). Potentiometric stripping analysis. *Analytica Chimica Acta*, 83(C), 19-26. doi:10.1016/S0003-2670(01)84627-4
- Jain, R., Yadav, R. K., Dwivedi, A. (2010). Square-wave adsorptive stripping voltammetric behaviour of entacapone at HMDE and its determination in the presence of surfactants. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 359(1-3), 25-30. doi:10.1016/J.COLSURFA.2010.01.047
- Jaya, S., Rao, T. P. (1982). Potentiometric stripping analysis. *Reviews in Analytical Chemistry*, 6(4), 343-358. doi:10.1515/REVAC.1982.6.4.343/MACHINEREADABLECITATION/RIS
- Kang, J. S., Lee, M. H. (2009). Overview of therapeutic drug monitoring. *Korean Journal of Internal Medicine*, 24(1), 1-10. doi:10.3904/kjim.2009.24.1.1
- Karabilgin, E. E. (2012). *Camsı karbon elektrot yüzeyinde 4-nitro-1-naftilaminin elektrokimyasal oksidasyonu ile yeni bir modifiye elektrot hazırlanması*, Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi, Konya, Türkiye.
- Kawagoe, K. T., Zimmerman, J. B., Wightman, R. M. (1993). Principles of voltammetry and microelectrode surface states. *Journal of Neuroscience Methods*, 48(3), 225-240. doi:10.1016/0165-0270(93)90094-8
- Keskin, E. (2009). *Polisiklik aromatik hidrokarbonlarda benzo[a] piren ve 7,12-dimetilbenz[a]antrasen'in kalem grafit elektrot kullanarak adsorptif sıyırma voltametri yöntemiyle redoks özelliklerinin incelenmesi ve miktar tayini*, Doktora Tezi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van, Türkiye.
- Kısacık, İ. (2010). *Benzenin bor katkılı elmas elektrot üzerinde elektrooksidasyonu*, Yüksek Lisans Tezi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, Türkiye.
- Kies, H. L. (1962). Coulometry. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 4(5), 257-286. doi:10.1016/s0022-0728(62)80068-0
- Kirste, A., Elsler, B., Schnakenburg, G., Waldvogel, S. R. (2012). Efficient anodic and direct phenol-arene C,C cross-coupling: the benign role of water or methanol. *Journal of the American Chemical Society*, 134(7), 3571-3576. doi:10.1021/JA211005G/SUPPL_FILE/JA211005G_SI_002.CIF
- Lawrence, N. S., Pagels, M., Meredith, A., Jones, T. G. J., Hall, C. E., Pickles, C. S. J., ... Jiang, L. (2006). Electroanalytical applications of boron-doped diamond microelectrode arrays. *Talanta*, 69(4), 829-834. doi:10.1016/J.TALANTA.2005.11.020
- Levent, A. (2012). Electrochemical determination of melatonin hormone using a boron-doped diamond electrode. *Diamond and Related Materials*, 21, 114-119. doi:10.1016/J.DIAMOND.2011.10.018
- Levent, A. (2017). Bor katkılı elmas elektrot ile naftalin'in voltametrik davranışı: kare dalga anodik sıyırma voltametri ile miktar tayini. *Süleyman Demirel University Journal of Natural and Applied Sciences*, 21(3), 948-955. doi:10.19113/SDUFBED.20660
- Levent, A., Yardım, Y., Şentürk, Z. (2014). Electrochemical performance of boron-doped diamond electrode in surfactant-containing media for amroxol determination. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 203, 517-526. doi:10.1016/J.SNB.2014.07.035
- Robert, H. C. (1962). Olfactory receptor mechanisms. *Biochemistry of taste and olfaction* (First Edition.). Academic Press: New Jersey:USA.

- Lovrić, M. (2010). Stripping voltammetry. *Electroanalytical Methods: Guide to Experiments and Applications*, 201-221. doi:10.1007/978-3-642-02915-8_10/COVER
- Lubert, K. H., Kalcher, K. (2010). History of electroanalytical methods. *Electroanalysis*, 22(17-18), 1937-1946. doi:10.1002/ELAN.201000087
- Macdonald, D. (2012). Experimental methods. *Transient techniques in electrochemistry* (p. 119). Plenum Press, Springer Science & Business Media.: New York, USA.
- Mccane, A. M., Czachowski, C. L., Lapish, C. C. (2014). Tolcapone suppresses ethanol intake in alcohol-preferring rats performing a novel cued access protocol. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 38(9), 2468-2478. doi:10.1111/ACER.12515
- Moaz, E. M., Fayed, A. S., Rezk, M. R., Abdel-Moety, E. M. (2021). Differential pulse voltammetric method for determination of acemetacin in pharmaceutical formulation using glassy carbon electrode. *Anal. Bioanal. Electrochem*, 13(3), 358-370.
- Mohammadi, G., Faramarzi, E., Mahmoudi, M., Ghobadi, S., Ghiasvand, A. R., Goicoechea, H. C., Jalalvand, A. R. (2018). Chemometrics-assisted investigation of interactions of tasmar with human serum albumin at a glassy carbon disk: application to electrochemical biosensing of electro-inactive serum albumin. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 156, 23-35. doi:10.1016/J.JPBA.2018.04.021
- Mohammadi, G., Rashidi, K., Mahmoudi, M., Goicoechea, H. C., Jalalvand, A. R. (2018). Exploiting second-order advantage from mathematically modeled voltammetric data for simultaneous determination of multiple antiparkinson agents in the presence of uncalibrated interference. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 88, 49-61. doi:10.1016/J.JTICE.2018.04.007
- Munhoz, R. P., Moro, A., Silveira-Moriyama, L., Teive, H. A. (2015). Non-motor signs in parkinson's disease: a review. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, 73(5), 454-462. doi:10.1590/0004-282X20150029
- Naghian, E., Shahdost-Fard, F., Najafi, M., Mohammad, & Manafi, R., Torkian, L., Rahimi-Nasrabadi, M. (2021). Voltammetric measurement of entacapone in the presence of other medicines against Parkinson's disease by a screen-printed electrode modified with sulfur-tin oxide nanoparticles. *Microchimica Acta*, 188(92). doi:10.1007/s00604-021-04733-0/Published
- Nigović, B. (2023). New approach on sensitive analysis of pimavanserin, levodopa and entacapone based on synergistic effect of graphene nanoplatelets and graphitized carbon nanotubes in functionalized polymer matrix. *Electrochimica Acta*, 439. doi:10.1016/j.electacta.2022.141700
- Olanow, C. W. (2004). The scientific basis for the current treatment of parkinson's disease. *Annual Review of Medicine*, 55, 41-60. doi:10.1146/ANNUREV.MED.55.091902.104422
- Oliveira, T. da C., Freitas, J. M., Muñoz, R. A. A., Richter, E. M. (2018). Development of a novel versatile method for determination of two antihistamines in association with naphazoline using cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. *Electroanalysis*, 30(5), 868-876. doi:10.1002/ELAN.201700658

- Özkan, S. A., Kauffmann, J. M., Zuman, P. (2015). Voltammetry, amperometry, biosensors, applications. *Electroanalysis in Biomedical and Pharmaceutical Sciences* (Second Edition., p. 350). Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Özok, H. İ., Kiran, M., Yunusoğlu, O., Yardım, Y. (2023). The first electroanalytical study of umifenovir (arbidol) used as a potential antiviral drug for the treatment of SARS-CoV-2: A voltammetric quantification on the boron-doped diamond electrode by using anionic surfactant media. *Journal of The Electrochemical Society*, 170(1), 016501. doi:10.1149/1945-7111/ACAFA7
- Öztekin, Y. (2008). *Camsı karbon elektrot yüzeyine çeşitli fenantrolin türevlerinin modifikasyonu, elektrokimyasal ve spektroskopik özelliklerinin incelenmesi.*, Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü., Konya, Türkiye.
- Paleček, E., Heyrovský, M., Dorčák, V. (2018). J. Heyrovský's oscillographic polarography. Roots of present chronopotentiometric analysis of biomacromolecules. *Electroanalysis*, 30(7), 1259-1270. doi:10.1002/ELAN.201800109
- Pekcan-Ertokuş, G., Özer, T. (2020). Parkinson hastalığının tedavisinde kullanılan levodopa ve benserazid etken maddelerinin kemometrik tayini. *Erzincan University Journal of Science and Technology*, 13(2), 669-676. doi:10.18185/ERZIFBED.690778
- Pinheiro, S. D., Serrão, M. P., Silva, T., Borges, F., Soares-da-Silva, P. (2019). Pharmacodynamic evaluation of novel catechol-o-methyltransferase inhibitors. *European Journal of Pharmacology*, 847, 53-60. doi:10.1016/J.EJP.2019.01.027
- Pu, X., Zhao, D., Fu, C., Chen, Z., Cao, S., Wang, C., Cao, Y. (2021). Understanding and calibration of charge storage mechanism in cyclic voltammetry curves. *Angewandte Chemie International Edition*, 60(39), 21310-21318. doi:10.1002/ANIE.202104167
- Purnachand, D., Veerareddy, A., Ramadevi, B., Kameswarrao, C. V. S. L., Madhusudhanreddy, B. (2016). Development and validation of a RP-HPLC method for determination of related substances and degradants in entacapone. *Journal of Chromatographic Science*, 54(8), 1310-1323. doi:10.1093/CHROMSCI/BMW083
- Rao, T. N., Fujishima, A. (2000). Recent advances in electrochemistry of diamond. *Diamond and Related Materials*, 9(3-6), 384-389. doi:10.1016/S0925-9635(99)00234-4
- Ribeiro, R., Gasparetto, J., Bioanalysis, R. de O. V.-, 2015, undefined. (2015). Simultaneous determination of levodopa, carbidopa, entacapone, tolcapone, 3-o-methyldopa and dopamine in human plasma by an HPLC-MS/MS method. *Bioanalysis*, 7(2), 207-220. doi:10.4155/bio.14.230
- Riehl, B., Dyballa, K. M., Franke, R., Waldvogel, S. R. (2017). Electro-organic synthesis as a sustainable alternative for dehydrogenative cross-coupling of phenols and naphthols. *Synthesis*, 49(02), 252-259. doi:10.1055/S-0036-1588610
- Rizk, M., Attia, A. K., Elshahed, M. S., Farag, A. S. (2015). Validated voltammetric method for the determination of antiparkinsonism drug entacapone in bulk, pharmaceutical formulation and human plasma. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 743, 112-119. doi:10.1016/J.JELECHEM.2015.02.022

- Safonova, L. P., Kolker, A. M. (1992). Conductometry of electrolyte solutions. *Russian Chemical Reviews*, 61(9), 959-973. doi:10.1070/RC1992V061N09ABEH001009/XML
- Samii, A., Nutt, J. G., Ransom, B. R. (2004). Parkinson's disease. *The Lancet*, 363(9423), 1783-1793. doi:10.1016/S0140-6736(04)16305-8
- Santos, K. D., Braga, O. C., Vieira, I. C., Spinelli, A. (2010). Electroanalytical determination of estriol hormone using a boron-doped diamond electrode. *Talanta*, 80(5), 1999-2006. doi:10.1016/J.TALANTA.2009.10.058
- Scholz, Fritz. (2015). Voltammetric techniques of analysis: the essentials. *ChemTexts*, 1(4), 1-24. doi:10.1007/S40828-015-0016-Y/TABLES/1
- Scholz, F., Bond, A., Compton, R., Fiedler, D., Inzelt, G., Kahlert, H., ... Retter, U. (2010). Potentiometry. *Electroanalytical methods* (Second Edition., pp. 237-255). Springer: Greifswald, Germany. doi:org/10.1007/978-3-642-02915-8
- Shastri, B. S. (2001). Parkinson disease: etiology, pathogenesis and future of gene therapy. *Neuroscience Research*, 41(1), 5-12. doi:10.1016/S0168-0102(01)00254-1
- Shoghi-Kalkhoran, M., Faridbod, F., Norouzi, P., Ganjali, M. R. (2018). Praseodymium molybdate nanoplates/reduced graphene oxide nanocomposite based electrode for simultaneous electrochemical determination of entacapone, levodopa and carbidopa. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 29(1), 20-31. doi:10.1007/s10854-017-7882-6
- Siangproh, W., Wangfuengkanagul, N., Chailapakul, O. (2003). Electrochemical oxidation of tiopronin at diamond film electrodes and its determination by amperometric flow injection analysis. *Analytica Chimica Acta*, 499(1-2), 183-189. doi:10.1016/J.ACA.2003.07.001
- Silva, T., Mohamed, T., Shakeri, A., Rao, P. P. N., Martínez-Gonzalez, L., Pérez, D. I., ... Borges, F. (2016). Development of blood-brain barrier permeable nitrocatechol-based catechol o-methyltransferase inhibitors with reduced potential for hepatotoxicity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 59(16), 7584-7597. doi:10.1021/ACS.JMEDCHEM.6B00666
- Skoog, Douglas A., Holler, F. J., Nieman, T. A. (2001). *Principios de Análisis Instrumental- Quinta Edición. Principios de Análisis Instrumental*.
- Skoog, D.A, Bruce, D. (1981). Principles of instrumental analysis. *Journal of Chemical Education*, 314.
- Skoog, D.A., Holler, F. J., Stanley, R. C. (1998). Solutions for principles of instrumental analysis. *The Department of Chemistry and Environmental Science* , 74.
- Smith, Y., Wichmann, T., Factor, S. A., Delong, M. R. (2011). Parkinson's disease therapeutics: New developments and challenges since the introduction of levodopa. *Neuropsychopharmacology*. doi:10.1038/npp.2011.212
- Sochr, J., Švorc, L., Rievaj, M., Bustin, D. (2014). Electrochemical determination of adrenaline in human urine using a boron-doped diamond film electrode. *Diamond and Related Materials*, 43, 5-11. doi:10.1016/J.DIAMOND.2014.01.005
- Stock, J. T. (1991). The pathway to the laws of electrolysis. *Bulletin for the History of Chemistry*, 11, 65-66.
- Suffredini, H. B., Pedrosa, V. A., Codognoto, L., Machado, S. A. S., Rocha-Filho, R. C., Avaca, L. A. (2004). Enhanced electrochemical response of boron-doped diamond electrodes brought on by a cathodic surface pre-treatment. *Electrochimica Acta*, 49(22-23), 4021-4026. doi:10.1016/J.ELECTACTA.2004.01.082

- Sun, J., Von Tungeln, L. S., Hines, W., Beger, R. D. (2009). Identification of metabolite profiles of the catechol-o-methyl transferase inhibitor tolcapone in rat urine using LC/MS-based metabonomics analysis. *Journal of Chromatography B*, 877(24), 2557-2565. doi:10.1016/J.JCHROMB.2009.06.033
- Švorc, L., Strežová, I., Kianičková, K., Stanković, D. M., Otrisal, P., Samphao, A. (2018). An advanced approach for electrochemical sensing of ibuprofen in pharmaceuticals and human urine samples using a bare boron-doped diamond electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 822, 144-152. doi:10.1016/J.JELECHEM.2018.05.026
- Şentürk, Z., Yardim, Y. (2014). Electrochemical behavior of folic acid at a boron-doped diamond electrode: Its adsorptive stripping voltammetric determination in tablets. *Turk J Pharm*, 11(1), 87-100.
- Toghill, K. E., Compton, R. G. (2010). Metal nanoparticle modified boron doped diamond electrodes for use in electroanalysis. *Electroanalysis*, 22(17-18), 1947-1956. doi:10.1002/ELAN.201000072
- Trouillon, R., O'Hare, D. (2010). Comparison of glassy carbon and boron doped diamond electrodes: Resistance to biofouling. *Electrochimica Acta*, 55(22), 6586-6595. doi:10.1016/J.ELECTACTA.2010.06.016
- Tyszczyk-Rotko, K., Bęczkowska, I., Nosal-Wiercińska, A. (2014). Simple, selective and sensitive voltammetric method for the determination of herbicide (paraquat) using a bare boron-doped diamond electrode. *Diamond and Related Materials*, 50, 86-90. doi:10.1016/J.DIAMOND.2014.09.011
- Tyszczyk-Rotko, K., Sadok, I. (2016). The new application of boron doped diamond electrode modified with nafion and lead films for simultaneous voltammetric determination of dopamine and paracetamol. *Electroanalysis*, 28(9), 2178-2187. doi:10.1002/ELAN.201600099
- Uslu, B., Özkan, S. A. (2011). Electroanalytical methods for the determination of pharmaceuticals: A review of recent trends and developments. *Analytical Letters*, 44(16), 2644-2702. doi:10.1080/00032719.2011.553010
- Uslu, B., Topal, B. D., Ozkan, S. A. (2008). Electroanalytical investigation and determination of pefloxacin in pharmaceuticals and serum at boron-doped diamond and glassy carbon electrodes. *Talanta*, 74(5), 1191-1200. doi:10.1016/J.TALANTA.2007.08.023
- Wang, J. (2006). Analytical electrochemistry a bare boron-doped diamond electrode, advanced approach for electrochemical sensing of ibuprofen in pharmaceuticals. *Diam. Relat. Mater.*, 50, 86-90.
- Wang, J. (2006). *Analytical Electrochemistry: Methodology and Applications of Dynamic Techniques*. John Wiley&Sons 250 p: New Jersey, USA.
- Wang, Joseph. (1988). Stripping Analysis. *Electroanalytical techniques in clinical chemistry and laboratory medicine* (Second Edition., pp. 44-54). John Wiley-VCH: New Mexico.
- Wang, X., Xiang, P., Zhang, Y., Wan, Y., Lian, H. (2018). The inhibition of microcystis aeruginos by electrochemical oxidation using boron-doped diamond electrode. *Environmental Science and Pollution Research* 25:21, 25(21), 20631-20639. doi:10.1007/S11356-018-1977-3
- Yardim, Y., Keskin, E., Levent, A., Özsoz, M., Şentürk, Z. (2010). Voltammetric studies on the potent carcinogen, 7,12-dimethylbenz[a]anthracene: Adsorptive stripping voltammetric determination in bulk aqueous forms and human urine samples and

- detection of DNA interaction on pencil graphite electrode. *Talanta*, 80(3), 1347-1355. doi:10.1016/J.TALANTA.2009.09.035
- Yardıml, Y., Erez, M. E. (2011). Electrochemical behavior and electroanalytical determination of indole-3-acetic acid phytohormone on a boron-doped diamond electrode. *Electroanalysis*, 23(3), 667-673. doi:10.1002/ELAN.201000551
- Yılmazgüç, B. (2008). *Telmisartan'ın elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi ve voltametrik yöntemle tayini*, Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi, Ankara, Türkiye.
- Yigit, G., Arıcıoğlu F. (2015). Günümüz ve gelecekte parkinson hastalığı için farmakolojik tedavi yaklaşımları. *Clinical and Experimental Health Sciences*, 5(4), 265-273. doi:10.5455/MUSBED.20150827011840
- Zhang, J., Oyama, M. (2004). Electroanalysis of myoglobin and hemoglobin with a boron-doped diamond electrode. *Microchemical Journal*, 78(2), 217-222. doi:10.1016/J.MICROC.2004.06.004





ÖZ GEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Musa KIRAN

Eğitim Bilgileri

Lisans

Üniversite : Ankara Üniversitesi

Fakülte : Eczacılık Fakültesi

Mezuniyet Yılı : 2013

Yüksek Lisans

Üniversite : Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi

Enstitü : Sağlık Bilimleri

Anabilim Dalı : Tıbbi Farmakoloji

Mezuniyet Yılı : 2017

Akademik Yayınlar

- Barzani, H. A. H., Saadi Ali, H., Şahin, C., Kiran, M., Yardim, Y. (2022). A new approach for the voltammetric sensing of the phytoestrogen genistein at a non-modified boron-doped diamond electrode. *Electroanalysis*, 34(8), 1280-1288. doi:10.1002/ELAN.202100608
- Hussen, S. U., Özbakış-Dengiz, G., Bas, Y., Kiran, M. (2020). Effect of single and repeated administration of amitriptyline on experimental gastric ulcer. *Ethiopian Pharmaceutical Journal*, 36(1), 41-48. doi:10.4314/epj.v36i1.5
- Kiran, M. (2017). *Lesitinin deneysel mide ülseri üzerine etkisi*, Yüksek Lisans Tezi. Bülent Ecevit Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Zonguldak, Türkiye.
- Kiran, M., Yardim, Y. (2024). Voltammetric measurement of catechol-O-methyltransferase inhibitor tolcapone in the pharmaceutical form on the boron-doped diamond electrode. *Turkish Journal of Chemistry*, 48(1), 184-194. doi:10.55730/1300-0527.3650
- Özok, H. İ., Kiran, M., Yunusoğlu, O., Yardım, Y. (2023). The first electroanalytical study of umifenovir (arbidol) used as a potential antiviral drug for the treatment of SARS-CoV-2: A voltammetric quantification on the boron-doped diamond electrode by using anionic surfactant media. *Journal of The Electrochemical Society*, 170(1), 016501. doi:10.1149/1945-7111/ACAFA7

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU

Tarih 07/06/2024

Tez Başlığı: Parkinson hastalığı tedavisinde kullanılan ilaçlardan entakapon ve tolkaponun elektrokimyasal özelliklerinin incelenmesi ve voltametrik tayinleri için yöntem geliştirilmesi

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışmamın, kapak sayfası, giriş, ana bölümler ve sonuç bölümlerinden oluşan toplam 66 (altmış altı) sayfalık kısmına ilişkin, 07/06/2024 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre tezimin benzerlik oranı % 17 (on yedi) dir.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Tarih ve İmza

Adı Soyadı: Musa KIRAN

Öğrenci No: 18910002102

Anabilim Dalı: Kimya

Programı: Analitik Kimya

Statüsü: () Yüksek lisans

(x) Doktora

DANIŞMAN
UYGUNDUR
Prof. Dr. Yavuz YARDIM

ENSTİTÜ ONAYI
UYGUNDUR