



TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**BAZI ANTİDİYABETİK İLAÇ ETKEN  
MADDELERİNİN TAYİNİ İÇİN  $MoS_2$  TEMELLİ  
ELEKTROKİMYASAL SENSÖRLERİN  
GELİŞTİRİLMESİ**

**Ali Kemal ATEŞ**

**ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Nevin ERK**

**ANKARA  
2021**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI ANTİDİYABETİK İLAÇ ETKEN  
MADDELERİNİN TAYİNİ İÇİN MoS<sub>2</sub> TEMELLİ  
ELEKTROKİMYASAL SENSÖRLERİN  
GELİŞTİRİLMESİ**

**Ali Kemal ATEŞ**

**ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Nevin ERK**

**Bu çalışma, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü  
tarafından 19L0237004 proje numarası ile desteklenmiştir**

**ANKARA  
2021**

# İÇİNDEKİLER

Etik beyan	ii
Kabul ve onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vii
Simgeler ve kısaltmalar	viii
Şekiller	x
Çizelgeler	xiii
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. Diyabet	1
1.1.1. Diyabet nedir?	1
1.1.2. Diyabet tedavisi	2
1.1.3. Diyabet tedavisinde kullanılan ilaçlar	2
1.1.4. Tez kapsamında analit olarak belirlenen ilaç etken maddeleri	3
1.1.4.1. Dapagliflozin	3
1.1.4.1.1. Kimyasal özellikler	4
1.1.4.1.2. Farmakolojik özellikler	4
1.1.4.1.3. Farmakokinetik özellikler	5
1.1.4.1.4. Toksik etkiler	5
1.1.4.2. Linagliptin	6
1.1.4.2.1. Kimyasal özellikler	6
1.1.4.2.2. Farmakolojik özellikler	7
1.1.4.2.3. Farmakokinetik özellikler	7
1.1.4.2.4. Toksik etkiler	8
1.2. Elektrokimya	8
1.2.1. Elektrokimyasal hücreler	8
1.2.1.1. Elektrokimyasal hücrelerde kullanılan elektrotlar	9
1.2.1.1.1. Çalışma elektrotları	9
1.2.1.1.2. Karşılaştırma elektrotları	10
1.2.1.1.3. Yardımcı elektrotlar	10
1.2.1.1.4. Modifiye elektrotlar	10
1.2.1.2. Elektrolit çözelti	11
1.2.2. Elektrokimyasal yöntemler	11
1.2.2.1. Voltametri	11
1.2.2.2. Voltametik yöntemler	12
1.2.2.2.1. Dönüşümlü voltametri	13
1.2.2.2.2. Puls Voltametri	14
1.2.2.2.2.1. Diferansiyel puls voltametri	14
1.2.2.2.2.2. Kare dalga voltametri	14
1.2.2.2.3. Sıyırma voltametri	15
1.3. Elektrokimyasal sensörler	15
1.3.1. Karbon temelli nano-malzemeler	16
1.3.2. Metal nanopartiküller	17
1.3.3. Molibden disülfür	18

1.3.3.1.	MoS <sub>2</sub> 'ün elektrokimyasal özellikleri	19
1.3.3.2.	MoS <sub>2</sub> kullanılarak üretilmiş elektrokimyasal sensörler	19
1.3.4.	Sistein	20
1.3.4.1.	Sisteinin elektrokimyasal özellikleri	21
1.3.4.2.	Sistein kullanılarak üretilmiş elektrokimyasal sensörler	22
1.4.	Etken maddeler için mevcut analiz yöntemleri	23
1.4.1.	Dapagliflozin için mevcut analiz yöntemleri	23
1.4.1.1.	Spektroskopik yöntemler	23
1.4.1.2.	Kromatografik yöntemler	24
1.4.2.	Linagliptin için mevcut analiz yöntemleri	25
1.4.2.1.	Spektroskopik yöntemler	25
1.4.2.2.	Kromatografik yöntemler	26
1.4.2.3.	Elektrokimyasal yöntemler	27
<b>2.</b>	<b>GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>29</b>
2.1.	Tez çalışmasında kullanılan kimyasal maddeler	29
2.2.	Tez çalışmasında kullanılan cihazlar	30
2.3.	Tez çalışmasında kullanılan elektrokimyasal sistem ve bileşenleri	31
2.4.	Tez çalışmasında kullanılan çözeltilerin hazırlanması	31
2.4.1.	Dapagliflozin standart çözeltilerin hazırlanması	31
2.4.2.	Linagliptin standart çözeltilerin hazırlanması	32
2.4.3.	Elektrolit çözeltisinin hazırlanması	32
2.4.4.	Tablet çözeltilerinin hazırlanması	33
2.4.5.	Plazma çözeltilerinin hazırlanması	33
2.4.6.	Tez çalışmasında kullanılan diğer çözeltilerin hazırlanması	34
2.5.	Tez çalışmasında kullanılan nano-malzemelerin hazırlanması	35
2.5.1.	Li <sub>x</sub> MoS <sub>2</sub> sentezi	35
2.5.2.	Sistein – MoS <sub>2</sub> sentezi	35
2.6.	Tez çalışmasında kullanılan voltametrik yöntemler	36
2.6.1.	Dapagliflozinin analizi için kullanılan yöntemler	36
2.6.1.1.	Dönüşümlü voltametri	36
2.6.1.2.	Diferansiyel puls voltametri	37
2.6.2.	Linagliptin analizi için kullanılan yöntemler	37
2.6.2.1.	Dönüşümlü voltametri	37
2.6.2.2.	Diferansiyel puls voltametri	37
2.7.	Tez çalışmasında kullanılan sensörlerin hazırlanması	38
2.7.1.	CKE yüzeylerine yapılan ön işlemler	38
2.7.2.	Sis@MoS <sub>2</sub> temelli sensörlerin hazırlanması	38
2.7.3.	MoS <sub>2</sub> temelli sensörlerin hazırlanması	38
2.8.	Tez çalışmasında kullanılan karakterizasyon yöntemleri	39
2.8.1.	X-ışınları kırınım spektroskopisi	39
2.8.2.	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi	39
2.8.3.	Geçirimli elektron mikroskopisi	40
2.8.4.	X-ışınları fotoelektron spektroskopisi	40
<b>3.</b>	<b>BULGULAR</b>	<b>41</b>
3.1.	Karakterizasyon çalışmaları	41
3.1.1.	Sis@MoS <sub>2</sub> 'ün kimyasal karakterizasyonu	41

3.1.1.1.	XRD spektrumlarının incelenmesi	41
3.1.1.2.	FTIR spektrumlarının incelenmesi	46
3.1.1.3.	TEM görüntülerinin incelenmesi	47
3.1.1.4.	XPS spektrumlarının incelenmesi	50
3.1.2.	Sis@MoS <sub>2</sub> /CKE'un elektrokimyasal karakterizasyonu	56
3.1.2.1.	Elektro-aktif yüzey alanlarının hesaplanması	60
3.1.2.2.	Heterojen elektron transfer hız sabitinin hesaplanması	64
3.2.	Analitik yöntemlerin geliştirilmesi	65
3.2.1.	Dapagliflozin analizi için voltametrik yöntem geliştirilmesi	66
3.2.1.1.	Dapagliflozinin elektrokimyasal davranışının incelenmesi	66
3.2.1.2.	Dapagliflozin için voltametrik yöntem optimizasyonu	68
3.2.1.2.1.	Elektrolit çözeltinin pH değerinin etkisinin incelenmesi	68
3.2.1.2.2.	Tarama hızı çalışmaları	70
3.2.1.3.	Doğrusal çalışma aralığının belirlenmesi	74
3.2.1.4.	Seçicilik çalışmaları	77
3.2.1.5.	Tekrarlanabilirlik çalışmaları	79
3.2.1.6.	Yeniden üretilebilirlik çalışmaları	79
3.2.1.7.	Geri kazanım çalışmaları	79
3.2.2.	Linagliptin analizi için voltametrik yöntem geliştirilmesi	81
3.2.2.1.	Linagliptinin elektrokimyasal davranışının incelenmesi	81
3.2.2.2.	Linagliptin için voltametrik yöntem optimizasyonu	83
3.2.2.2.1.	Elektrolit çözeltinin pH değerinin etkisinin incelenmesi	83
3.2.2.2.2.	Tarama hızı çalışmaları	85
3.2.2.3.	Doğrusal çalışma aralığının belirlenmesi	89
3.2.2.4.	Seçicilik çalışmaları	92
3.2.2.5.	Tekrarlanabilirlik çalışmaları	95
3.2.2.6.	Yeniden üretilebilirlik	95
3.2.2.7.	Geri kazanım çalışmaları	95
<b>4.</b>	<b>TARTIŞMA</b>	<b>98</b>
<b>5.</b>	<b>SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>105</b>
	<b>ÖZET</b>	<b>107</b>
	<b>SUMMARY</b>	<b>108</b>
	<b>KAYNAKLAR</b>	<b>109</b>
	<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>115</b>

## ÖNSÖZ

Doktora öğrenimim süresince her türlü bilgi ve tecrübelerini zaman ve mekân gözetmeden benimle paylaşan, her ihtiyacım olduğunda yanımda olan, desteğini ve ilgisini hiç esirgmeden samimiyetle yol gösteren, birlikte başladığımız akademik yolculuğumda her türlü olanaktan en üst seviyede faydalanabilmem için her türlü gayreti gösteren, her zaman örnek aldığım kıymetli hocam Prof. Dr. Nevin ERK'e en içten minnet duygularımı ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tanıştığımız ilk günden itibaren her türlü bilgisini, tecrübelerini ve olanaklarını esirgmeden benimle paylaşan, bilimsel gelişimimde çok büyük emeği olan değerli hocam Prof. Dr. Hüseyin ÇELİKKAN'a sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Doktora öğrenimime olan katkılarından dolayı Analitik Kimya Anabilim dalı öğretim üyelerine ve Araştırma Görevlisi arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Doktora çalışmama proje desteği ile katkıda bulunan Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkürlerimi sunarım

Hayatım boyunca daimi şükür kaynağım olan, varlıklarını her zaman hissettiğim, hayatımın her döneminde bana destek olan, inanan ve güvenen kıymetli annem Canan ATEŞ'e, babam Nedim ATEŞ'e, ablalarım Elif ATEŞ BUDAK ve Cihan ATEŞ AVCIOĞLU'na ve abim Ahmet Serdar ATEŞ'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Doktora eğitimim sırasında hayatıma giren ve ömürlük yol arkadaşım olan, her zorluğun üstesinden birlikte geldiğim, her daim sevgisini ve ilgisini eksik etmeden yanımda olan değerli eşim Durdu Emine ATEŞ'e ve en sıkıntılı zamanlarımda hayatıma bir güneş gibi doğan, duygularımı ifade etmeye kelimelerin yetmediği sevgili kızım Zeynep ATEŞ'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## SİMGELER VE KISALTMALAR

1T	Metalik faz
2H	Yarı iletken faz
<i>A</i>	Elektro-aktif yüzey alanı
BRT	Britton – Robinson tamponu
BSS	Bağlı standart sapma
<i>c</i>	Konsantrasyon
CKE	Camsı karbon elektrot
DAP3OG	Dapagliflozin 3 - O - Glukuronid
DM	Diabetes Mellitus
DPP-4	Dipeptidil peptidaz 4
DPV	Diferansiyel puls voltametri
<i>D</i>	Difüzyon sabiti
<i>d<sub>s</sub></i>	Tabakalar arası mesafe
DTV	Doğrusal taramalı voltametri
DV	Dönüşümlü voltametri
<i>E<sup>o</sup></i>	Formal redoks potansiyeli
<i>E<sub>p</sub></i>	Pik potansiyeli
<i>E<sub>pa</sub></i>	Anodik pik potansiyeli
<i>F</i>	Faraday sabiti
FDA	Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi
FTIR	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopi
GIP	Gastrik inhibitör polipeptid
GLP-1	Glukagon benzeri peptid 1
GK	Geri kazanım
GS	Gözlenebilme sınırı
<i>I</i>	Akım
<i>I<sub>p</sub></i>	Pik akımı
<i>I<sub>pa</sub></i>	Anodik pik akımı

ICH	Uluslararası Harmonizasyon Topluluğu
$k^o$	Heterojen elektron aktarım hız sabiti
KDV	Kare dalga voltametri
KS	Kütle spektrometri
$m$	Eğim
$n$	Aktarılan elektron sayısı
$R$	Gaz sabiti
$R^2$	Korelasyon katsayısı
SGLT2	Sodyum glikoz kotransporter 2
Sis@MoS <sub>2</sub>	Sistein – 1T-MoS <sub>2</sub> nano-mazleme
SK	Sıvı kromatografi
SS	Standart sapma
SV	Sıyırma voltametri
$T$	Sıcaklık
T1DM	Tip 1 Diabetes Mellitus
T2DM	Tip 2 Diabetes Mellitus
TAS	Tayin alt sınırı
TEM	Geçirimli elektron mikroskobu
TF	Ters faz
UBSK	Ultra-yüksek basınçlı sıvı kromatografi
$v$	Tarama hızı
XPS	X-ışınları fotoelektron spektroskopisi
XRD	X-ışınları kırınım spektroskopisi
YBSK	Yüksek basınçlı sıvı kromatografi
YPİTK	Yüksek performanslı ince tabaka kromatografi
$\alpha$	Yük transfer katsayısı
$\psi$	Kinetik parametre

## ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Dapagliflozinin kimyasal yapısı	4
Şekil 1.2. Linagliptinin kimyasal yapısı	6
Şekil 1.3. Üç elektrotlu elektrokimyasal hücre yapısı (Yıldız ve Genç, 1993).	9
Şekil 1.4. Elektroanalitik yöntemler (Skoog ve ark., 2013).	12
Şekil 1.5. Voltametri de kullanılan uyarma sinyalleri; (A) doğrusal taramalı, (B) diferansiyel puls, (C) kare dalga ve (D) üçgen (Skoog ve ark., 2013).	13
Şekil 1.6. Karbon allotroplarının yapısı (Geim ve Novoselov, 2007).	17
Şekil 1.7. MoS <sub>2</sub> 'ün farklı kristal yapıları (Chia ve ark., 2015b)	18
Şekil 1.8. Sisteinin kimyasal yapısı.	21
Şekil 2.1. Sis@MoS <sub>2</sub> sentezinin şematik gösterimi	36
Şekil 3.1. 2H-MoS <sub>2</sub> , Li <sub>x</sub> MoS <sub>2</sub> , 1T-MoS <sub>2</sub> ve Sis@MoS <sub>2</sub> 'e ait XRD spektrumları	42
Şekil 3.2. 2H-MoS <sub>2</sub> , Li <sub>x</sub> MoS <sub>2</sub> , 1T-MoS <sub>2</sub> ve Sis@MoS <sub>2</sub> 'e ait yakınlaştırılmış XRD spektrumları	43
Şekil 3.3. 2H-MoS <sub>2</sub> ve 1T-MoS <sub>2</sub> 'ün (002) düzlemlerine ait kırınım pikleri	44
Şekil 3.4. MoS <sub>2</sub> ve Sis@MoS <sub>2</sub> 'e ait FTIR spektrumları	46
Şekil 3.5. 1T-MoS <sub>2</sub> 'e ait TEM görüntüsü	48
Şekil 3.6. Şekil 3.5.'ten yakınlaştırılmış kesit	49
Şekil 3.7. Sis@MoS <sub>2</sub> 'e ait TEM görüntüsü	50
Şekil 3.8. 1T-MoS <sub>2</sub> 'ün Mo3d çekirdek seviyesine ait XPS spektrumu	52
Şekil 3.9. 1T-MoS <sub>2</sub> 'ün S2p çekirdek seviyesine ait XPS spektrumu	53
Şekil 3.10. Sis@MoS <sub>2</sub> 'ün Mo3d çekirdek seviyesine ait XPS spektrumu	54
Şekil 3.11. Sis@MoS <sub>2</sub> 'ün S2p çekirdek seviyesine ait XPS spektrumu	55
Şekil 3.12. Sis@MoS <sub>2</sub> 'ün C1s çekirdek seviyesine ait XPS spektrumu	56
Şekil 3.13. 1 M KNO <sub>3</sub> içinde 1 mM K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ] çözeltisinin CKE yüzeyinde farklı tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramları	57
Şekil 3.14. 1 M KNO <sub>3</sub> içinde 1 mM K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ] çözeltisinin 1T-MoS <sub>2</sub> /CKE yüzeyinde farklı tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramları	58
Şekil 3.15. 1 M KNO <sub>3</sub> içinde 1 mM K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ] çözeltisinin Sis@MoS <sub>2</sub> /CKE yüzeyinde farklı tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramları	59

- Şekil 3.16.** 1 M KNO<sub>3</sub> içinde 1 mM K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] çözeltisinin CKE, 1T-MoS<sub>2</sub>/CKE ve Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeylerinde 50 mV/s tarama hızındaki dönüşümlü voltamogramları 60
- Şekil 3.17.** 1 M KNO<sub>3</sub> içinde 1 mM K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] çözeltisinin CKE yüzeyinde farklı tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramlarına ait  $I_{pa} - v^{1/2}$  grafiği 62
- Şekil 3.18.** 1 M KNO<sub>3</sub> içinde 1 mM K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] çözeltisinin 1T-MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde farklı tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramlarına ait  $I_{pa} - v^{1/2}$  grafiği 63
- Şekil 3.19.** 1 M KNO<sub>3</sub> çözeltisi içinde 1 mM K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] çözeltisinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde farklı tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramlarına ait  $I_{pa} - v^{1/2}$  grafiği 64
- Şekil 3.20.** 0.25 M pH: 2.0 BRT içerisinde 100 µM dapagliflozinin CKE, 1T-MoS<sub>2</sub>/CKE ve Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeylerindeki temel çizgileri eşitlenmiş diferansiyel puls voltamogramları (----- 0.25 M pH: 2.0 BRT'nun Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyindeki temel çizgisi eşitlenmiş diferansiyel puls voltamogramı) 67
- Şekil 3.21.** Farklı pH değerlerindeki 0.25 M BRT içerisindeki 100 µM dapagliflozinin temel çizgileri eşitlenmiş diferansiyel puls voltamogramları 69
- Şekil 3.22.** Elektrolit çözeltinin farklı pH değerlerine karşı 100 µM dapagliflozinin  $I_{pa}$  değerlerinin grafiği ( $N = 3$ ) 70
- Şekil 3.23.** 0.25 M pH: 2.0 BRT içerisindeki 100 µM dapagliflozinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde 25, 50, 75, 100, 150, 200, 300, 400 ve 500 mV/s tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramları 71
- Şekil 3.24.** 0,25 M pH: 2.0 BRT içerisindeki 100 µM dapagliflozinin tarama hızlarının logaritmlarına karşı anodik pik akımlarının logaritmlarının grafiği ( $N = 3$ ) 72
- Şekil 3.25.** 0.25 M pH: 2.0 BRT içerisindeki 100 µM dapagliflozinin tarama hızlarının doğal logaritmlarına karşı anodik pik potansiyellerinin grafiği ( $N = 3$ ) 73
- Şekil 3.26.** 0.25 M pH: 2.0 BRT içerisinde 2.0, 11.9, 21.6, 31.1, 40.4, 49.5, 47.5, 67.3 75.9, 84.4, 92.7, 100.9 ve 108.9 µM dapagliflozinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyindeki temel çizgileri eşitlenmiş diferansiyel puls voltamogramları (----- 0.25 M pH: 2.0 BRT'nun Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyindeki temel çizgisi eşitlenmiş diferansiyel puls voltamogramı) 75
- Şekil 3.27.** Dapagliflozin konsantrasyonuna karşı elde edilen  $I_{pa}$  değerlerinin kalibrasyon grafiği ( $N = 3$ ) 76
- Şekil 3.28.** (a) 0.25 M pH: 2.0 BRT içerisinde 100 µM dapagliflozinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyindeki temel çizgisi eşitlenmiş diferansiyel puls voltamogramı, (b) 0.25 M pH:2.0 BRT içerisinde 100 µM dapagliflozinin

- 10 mM glikoz, askorbik asit, üre  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{CaCl}_2$  ve  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  varlığındaki temel çizgisi eşitlenmiş diferansiyel puls voltamogramı 78
- Şekil 3.29.** Tabletlerden hazırlanan 100  $\mu\text{M}$  dapagliflozinin  $\text{Sis@MoS}_2/\text{CKE}$  yüzeyindeki temel çizgileri eşitlenmiş diferansiyel puls voltamogramları 80
- Şekil 3.30.** 0.25 M pH: 7.0 BRT içerisinde 100  $\mu\text{M}$  linagliptinin CKE, 1T- $\text{MoS}_2/\text{CKE}$  ve  $\text{Sis@MoS}_2/\text{CKE}$  yüzeylerindeki temel çizgileri eşitlenmiş diferansiyel puls voltamogramları (----- 0.25 M pH: 7.0 BRT'nun  $\text{Sis@MoS}_2/\text{CKE}$  yüzeyindeki temel çizgisi eşitlenmiş diferansiyel puls voltamogramı) 82
- Şekil 3.31.** Farklı pH değerlerindeki 0.25 M BRT içerisindeki 100  $\mu\text{M}$  linagliptinin dönüşümlü voltamogramları 84
- Şekil 3.32.** Elektrolit çözeltinin farklı pH değerlerine karşı 100  $\mu\text{M}$  linagliptinin  $I_{pa}$  değerlerinin grafiği ( $N = 3$ ) 85
- Şekil 3.33.** 0.25 M pH: 7.0 BRT içerisinde 100  $\mu\text{M}$  linagliptinin  $\text{Sis@MoS}_2/\text{CKE}$  yüzeyinde 25, 50, 75, 100, 150, 200, 300, 400 ve 500 mV/s tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramları 86
- Şekil 3.34.** 0.25 M pH: 7.0 BRT içerisindeki 100  $\mu\text{M}$  linagliptinin tarama hızlarının logaritmalarına karşı anodik pik akımlarının logaritmalarının grafiği ( $N = 3$ ) 87
- Şekil 3.35.** 0.25 M pH: 7.0 BRT içerisindeki 100  $\mu\text{M}$  linagliptinin tarama hızlarının doğal logaritmalarına karşı anodik pik potansiyellerinin grafiği ( $N = 3$ ) 88
- Şekil 3.36.** 0.25 M pH: 7.0 BRT içerisinde 1.0, 6.0, 10.9, 15.8, 20.6, 25.4, 30.1, 39.4, 48.6, 57.5, 66.4, 75.0, 83.5, 91.5, 100.0, 108.0, 115.9, 123.7, 131.3, 138.8, 146.2 ve 153.4  $\mu\text{M}$  linagliptinin  $\text{Sis@MoS}_2/\text{CKE}$  yüzeyindeki diferansiyel puls voltamogramları (-----0.25 M pH: 7.0 BRT'nun  $\text{Sis@MoS}_2/\text{CKE}$  yüzeyindeki diferansiyel puls voltamogramı) 90
- Şekil 3.37.** Linagliptin konsantrasyonuna karşı elde edilen  $I_{pa}$  değerlerinin kalibrasyon grafiği ( $N = 3$ ) 91
- Şekil 3.38.** 0.25 M pH: 7.0 BRT içerisindeki 5  $\mu\text{M}$  linagliptinin çeşitli girişimlerin varlığındaki temel çizgileri eşitlenmiş diferansiyel puls voltamogramları 93
- Şekil 3.39.** Çeşitli girişimlerin linagliptinin  $I_{pa}$  değerlerine etkisi 94
- Şekil 3.40.** Çeşitli girişimler in linagliptinin  $E_{pa}$  değerlerine etkisi 94
- Şekil 3.41.** 25  $\mu\text{M}$  linagliptin içeren plazma numunelerinin  $\text{Sis@MoS}_2/\text{CKE}$  yüzeyindeki temel çizgileri eşitlenmiş diferansiyel puls voltamogramları 96

## ÇİZELGELER

<b>Çizelge 2.1.</b> Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasal maddeler	29
<b>Çizelge 2.2.</b> Deneysel çalışmalarda kullanılan cihaz ve diğer ekipmanlar	30
<b>Çizelge 2.3</b> Tez çalışması kapsamında kullanılan elektrokimyasal sistem ve bileşenleri	31
<b>Çizelge 2.4.</b> Girişim çalışmalarında kullanılan çözeltilerin hazırlanması için gerekli kimyasal madde ve çözücü miktarları	34
<b>Çizelge 3.1.</b> 2H-MoS <sub>2</sub> 'nin farklı düzlemlerine ait kırınım piklerinin pozisyonları	45
<b>Çizelge 3.2.</b> 2H-MoS <sub>2</sub> , Li <sub>x</sub> MoS <sub>2</sub> , 1T-MoS <sub>2</sub> ve Sis@MoS <sub>2</sub> 'ün (002) düzlemlerine ait $d_s$ değerleri	45
<b>Çizelge 3.3.</b> Sis@MoS <sub>2</sub> 'e ait FTIR spektrumundaki bantların dalga boyları ve karşılık geldiği yapılar	47
<b>Çizelge 3.4.</b> 1T-MoS <sub>2</sub> 'ün Mo3d ve S2p çekirdek seviyelerine ait XPS spektrumları	51
<b>Çizelge 3.5.</b> Sis@MoS <sub>2</sub> 'ün Mo3d, S2p ve C1s çekirdek seviyelerine ait XPS spektrumları	51
<b>Çizelge 3.6.</b> CKE ve Sis@MoS <sub>2</sub> /CKE'a ait elektrokimyasal karakterizasyon parametreleri	65
<b>Çizelge 3.7.</b> CKE yüzeyinin 1T-MoS <sub>2</sub> ve Sis@MoS <sub>2</sub> ile modifikasyonunun dapagliflozinin elektrokimyasal sinyali üzerine etkileri ( $N = 3$ )	67
<b>Çizelge 3.8.</b> Dapagliflozin analizi için DPV yöntemine ait optimum enstrümantal parametreler	74
<b>Çizelge 3.9.</b> Dapagliflozinin Sis@MoS <sub>2</sub> /CKE ile elektrokimyasal analizi ile elde edilen analitik parametreler	77
<b>Çizelge 3.10.</b> Girişim yapması muhtemel maddelerin dapagliflozinin $I_{pa}$ ve $E_{pa}$ değerlerine etkisi ( $N = 3$ )	78
<b>Çizelge 3.11.</b> Dapagliflozinin, Sis@MoS <sub>2</sub> /CKE kullanılarak yapılan tabletlerden miktar tayini sonuçları ( $N = 3$ )	81
<b>Çizelge 3.12.</b> CKE yüzeyinin 1T-MoS <sub>2</sub> ve Sis@MoS <sub>2</sub> ile modifikasyonunun linagliptinin elektrokimyasal sinyali üzerine etkileri ( $N = 3$ )	82
<b>Çizelge 3.13.</b> Linagliptin analizi için DPV yöntemine ait optimum enstrümantal parametreler	89
<b>Çizelge 3.14.</b> Linagliptinin Sis@MoS <sub>2</sub> /CKE ile elektrokimyasal analizi ile elde edilen analitik parametreler	92
<b>Çizelge 3.15.</b> Girişim yapması muhtemel maddelerin linagliptinin $I_{pa}$ ve $E_{pa}$ değerlerine etkisi ( $N = 3$ )	93

<b>Çizelge 3.16.</b> Linagliptinin, Sis@MoS <sub>2</sub> /CKE kullanılarak yapılan plazma numunelerinden miktar tayini sonuçları ( $N = 3$ )	97
<b>Çizelge 4.1.</b> Çeşitli MoS <sub>2</sub> temelli elektrokimyasal sensörlere ait $k^o$ değerleri	100
<b>Çizelge 4.2.</b> Dapagliflozin için geliştirilen elektroanalitik yöntemin diğer analitik yöntemlerle karşılaştırılması	101
<b>Çizelge 4.3.</b> Linagliptin için geliştirilen elektroanalitik yöntemin diğer analitik yöntemlerle karşılaştırılması	103



# 1. GİRİŞ

## 1.1. Diyabet

### 1.1.1. Diyabet nedir?

Diabetes Mellitus (DM), insülin salınımı, insülin etkisi veya bu faktörlerin her ikisinde de bozukluk nedeniyle ortaya çıkan hiperglisemi ile karakterize kronik metabolik bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Klinik bulgu ve belirtileri, ağız kuruluğu, polifaji veya iştahsızlık, polidipsi, poliüri, noktüri, kilo kaybı, bulanık görme, ayaklarda uyuşma, karıncalanma, yanma, idrar yolu enfeksiyonları, kaşıntı, ciltte kuruma ve yorgunluk olarak belirtilmiştir. (TÜRKDİAB, 2019).

Dünya Sağlık Örgütü, dünya üzerinde özellikle düşük ve orta gelirli ülkelerde olmak üzere yaklaşık 422 milyon DM hastasının bulunduğunu bildirmiştir. (WHO, 2016).

DM aşağıdaki genel kategorilere ayrılmaktadır:

- Tip 1 DM (T1DM),  $\beta$ -hücrelerinin otoimmün hasarına bağlı insülin eksikliğinden kaynaklanan
- Tip 2 DM (T2DM), insülin direncine insülin salgılama bozukluğunun eşlik ettiği
- Gestasyonel (Gebeliğe bağlı) DM, gebeliğin ikinci veya üçüncü trimesterinde tanılanan, gebelik öncesi açık bir belirtisi olmayan
- Özel tip DM, monogenik diyabet sendromları, ekzokrin pankreas hastalıkları ve ilaç ya da kimyasal kaynaklı diyabet gibi farklı sebeplere bağlı DM türleri bulunmaktadır (ADA, 2017).

### 1.1.2. Diyabet tedavisi

DM için mevcut bir tam tedavi yöntemi yoktur. Ancak DM yaşamı kısıtlayıcı hastalık değildir. Profesyonel bir sağlık ekibi tarafından yönlendirilen ve tedaviye uyum sağlayan hastaların aktif ve sağlıklı bir yaşam sürdürmesi mümkün olmaktadır.

Diyabet tedavisinde amaç kan şekeri ayarını sağlamak diğer bir ifade ile kan şekeri yükselmelerini ve kan şekeri düşmelerini önlemektir. İyi diyabet kontrolü, kan şekeri seviyenizi mümkün olduğunca normale en yakın tutmak anlamına gelmektedir.

DM tedavisinde diyet, kilo kontrolü, egzersiz, eğitim, hastanın kendini izlemesi ve motivasyonu tedavide ciddi öneme sahip olmakla beraber tek başlarına yetersiz kalmakta ve ilaç tedavisi uygulanmaktadır.

### 1.1.3. Diyabet tedavisinde kullanılan ilaçlar

İnsülin ve analogları

- Kısa etki süreli enjektabl insülinler ve analogları
- Orta etki süreli enjektabl insülinler ve analogları
- Kısa orta etki süreli enjektabl insülinler ve analoglarının kombinasyonları
- Uzun etki süreli enjektabl insülinler ve analogları
- İnhalasyon insülini ve analogları

Oral kan şekeri düşürücüler (İnsülin dışındakiler)

- Biguanidinler
- Sülfonilüreler
- Heterosiklik sülfonamidler
- Oral kan şekeri düşürücü ilaç kombinasyonları
- Alfa glukozidaz inhibitörleri
- Tiazolidindionlar

- Glukagon benzeri peptid 1 (GLP-1) analogları
  - Sodyum glikoz kotransporter 2 (SGLT2) inhibitörleri
    - **Dapagliflozin**
    - Kanagliflozin
    - Empagliflozin
    - Ertugliflozin
    - İpragliflozin
  - Dipetidil peptidaz 4 (DPP-4) inhibitörleri
    - **Linagliptin**
    - Sitagliptin
    - Vildagliptin
    - Saksagliptin
    - Alogliptin
    - Simvastatin
  - İnsülin dışındaki diğer oral kan düşürücüler
- Diğer ilaçlar
- Aldoza redüktaz inhibitörleri

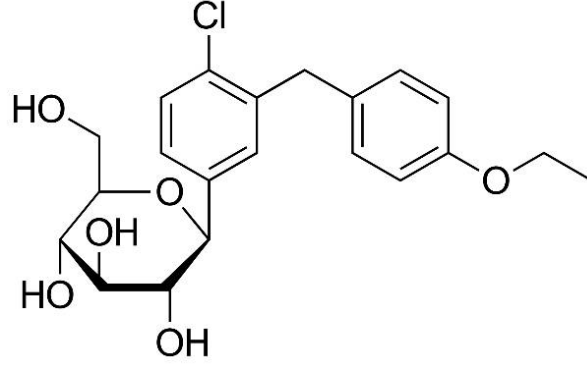
#### **1.1.4. Tez kapsamında analit olarak belirlenen ilaç etken maddeleri**

##### **1.1.4.1. Dapagliflozin**

Dapagliflozin, T2DM tedavisi için kullanılan SGLT2 inhibitörüdür. Yetişkinlerde diyet ve egzersiz ile beraber glisemik kontrole yardımcı olur (Obermeier ve ark., 2010). Dapagliflozin, 8 Ocak 2014 tarihinde Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmıştır.

#### 1.1.4.1.1. Kimyasal özellikler

Şekil 1.1.'de dapagliflozinin kimyasal yapısı gösterilmektedir.



Şekil 1.1. Dapagliflozinin kimyasal yapısı

<b><u>IUPAC adı:</u></b>	(2S,3R,4R,5S,6R)-2-[4-kloro-3-[(4-etoksifenil)metil]fenil]-6-(hidroksimetil)oksan-3,4,5-triol
<b><u>Kapalı formül:</u></b>	C <sub>21</sub> H <sub>25</sub> ClO <sub>6</sub>
<b><u>Molekül ağırlığı:</u></b>	408.9 g/mol
<b><u>ATC kodu:</u></b>	A10BK01
<b><u>pKa:</u></b>	12.57
<b><u>Cözünürlük:</u></b>	0.173 mg/mL (Su)
<b><u>Erime noktası:</u></b>	65 °C

#### 1.1.4.1.2. Farmakolojik özellikler

Dapagliflozin, SGLT2 inhibitörleri sınıfının ilk üyesidir. Glomerüllerden filtrelenen glikozun çoğunu reabsorbe eden böbrek proksimal tübülünde bulunan ve sodyumda çözünen bir kotransporter protein olan SGLT2 yoluyla renal glikoz reabsorbsiyonunu inhibe ederek hiperglisemi tedavisinde kullanılır (List ve ark., 2009).

#### **1.1.4.1.3. Farmakokinetik özellikler**

Dapagliflozin insanlarda 0.1 – 500 mg doz aralığında gastrointestinal yoldan %78,0 oral biyoyararlılıkta hızlıca absorbe edilmektedir (Boulton ve ark., 2013). Açlık durumunda uygulandığında 1 ila 2 saat içinde maksimum konsantrasyona ulaşmaktadır.

Gıdalarla birlikte uygulandığında da toplam absorpsiyon miktarı değişmeyerek maksimum konsantrasyona ulaşma süresi yaklaşık 1 saat kadar artmaktadır (Kasichayanula ve ark., 2011). Altı sağlıklı erkek bireye 50 mg dapagliflozin oral olarak uygulanmış ve %73.7 (%72.0 idrarda ve %1.65 feçeste) geri kazanımla metabolize olmuştur (Kasichayanula ve ark., 2008). Uygulanan dozun %66'sı doğrudan glukuronidasyona uğrarken yaklaşık %9'u oksidatif metabolizasyona maruz kalmakta ve bu metabolitlerin %29'luk bir kısmı tekrardan glukuronidasyona uğramaktadır. Dapagliflozin 3 - O - Glukuronid (DAP3OG) insanlardaki baskın metabolittir. İn vitro çalışmalar DAP3OG'in hem karaciğer hem de böbrekte oluştuğunu göstermektedir (Kasichayanula ve ark., 2014). Dapagliflozinin eliminasyonu metabolizasyon, safra, intestinal ve renal yollarla olsa da baskın mekanizma metabolik eliminasyondur (Obermeier ve ark., 2010; Zinker ve ark., 2011).

#### **1.1.4.1.4. Toksik etkiler**

Yaş, ırk, cinsiyet ve vücut ağırlığının dapagliflozinin dozu üzerinde herhangi bir etkisi bulunmamaktadır. Ancak pediatrik popülasyonlarda güvenlik testleri tamamlanmamıştır ve özellikle ileri yaştaki hastalar yan etkilere duyarlı olabilmektedirler. Yapılan hayvan çalışmalarında, hamilelikte ilk trimesterde fetal toksisite gözlenmemiştir, ancak hamilelin sonraki dönemlerinde ilaca maruz kalınması, önerilen maksimum insan dozundan çok daha yüksek dozlarda renal pelvik dilatasyon ve maternal toksisite ile ilişkilendirilmiştir. Bu veriler dikkate alındığında,

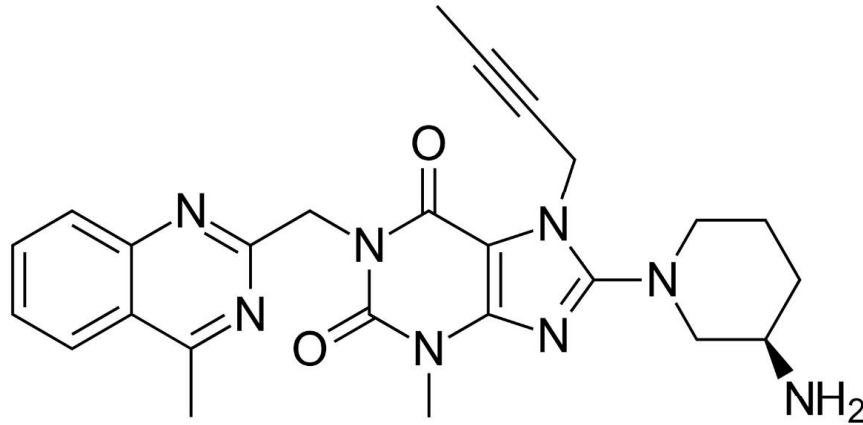
dapagliflozin, hamileliğin ikinci trimesterinde önerilmemektedir. İki yaş altı çocuklarda dapagliflozin, uygunsuz böbrek gelişimine neden olabilmektedir. Dapagliflozin, kreatinin klirensi 45 mL/dk olan hastalara önerilmemektedir. Kreatinin klirensi 30 mL/dk olan hastalarda ise kontra-endikedir.

#### 1.1.4.2. Linagliptin

Linagliptin, T2DM tedavisinde kullanılan DPP-4'ün bir inhibitörüdür (Freeman, 2011). Faz 3 klinik çalışmaları, linagliptinin glikoz düşürücü etkisinin olduğunu göstermektedir (Rosenstock ve ark., 2019). Linagliptin, doğrusal olmayan farmakokinetik profile sahip olması, öncelikle böbrek sistemi tarafından elimine edilmemesi ve konsantrasyona bağlı protein bağlanmasına uyması bakımından diğer DPP-4 inhibitörlerinden farklıdır (Graefe-Mody ve ark., 2012).

##### 1.1.4.2.1. Kimyasal özellikler

Şekil 1.2.'de linagliptinin kimyasal yapısı gösterilmektedir.



Şekil 1.2. Linagliptinin kimyasal yapısı

<b><u>IUPAC adı:</u></b>	8-[(3R)-3-aminopiperidin-1-il]-7-büt-2-inil-3-metil-1-[(4-metilkinazolin-2-il)metil]pürin-2,6-dion
<b><u>Kapalı formül:</u></b>	C <sub>25</sub> H <sub>28</sub> N <sub>8</sub> O <sub>2</sub>
<b><u>Molekül ağırlığı:</u></b>	472.5 g/mol
<b><u>ATC kodu:</u></b>	A10BH05
<b><u>pKa:</u></b>	9.86
<b><u>Çözünürlük:</u></b>	0,0502 mg/mL (Su)
<b><u>Erime noktası:</u></b>	190 – 196 °C

#### 1.1.4.2.2. Farmakolojik özellikler

Linagliptin, geri dönüşümlü DPP-4 inhibitörüdür. DPP-4 inhibisyonu, GLP-1 ve gastrik inhibitör polipeptid (GIP) parçalanmasını yavaşlatmaktadır. GLP-1 ve GIP, pankreas beta hücrelerinden glukagon salınımını inhibe ederken, pankreastaki beta hücrelerinden insülin salınımını uyarmaktadır. Bu etkiler karaciğerde glikojenin parçalanması azaltmakta ve glikoza yanıt olarak insülin salınımını arttırmaktadır (Graefe-Mody ve ark., 2012).

#### 1.1.4.2.3. Farmakokinetik özellikler

Linagliptinin oral biyoyararlılığı %30'dur. 36 sağlıklı erkekte 0.5–10 mg linagliptinin intravenöz infüzyonunu takiben kararlı durumda dağılım hacmi 380–1540 L olarak gözlenmiş olup dokulara yaygın bir şekilde dağıldığını göstermektedir (Graefe-Mody ve ark., 2012). Oral uygulanan linagliptinin %90'ı değişmemiş bir şekilde dışkı ve idrarla atılmaktadır (Blech ve ark., 2010) (Graefe-Mody ve ark., 2012). Plazmadaki baskın metabolit 7-büt-2-inil 8-(3S-hidroksi-piperidin-1-il)-3-metil-1-(4-metil-kinazolin-2-il metil)-3,7-dihidro-pürin-2,6-dion (CD1790)'dur ve atıldıktan sonra geri kazanılan baskın metabolit M489(1)'dur. Diğer metabolitler oksidasyon, oksidatif degradasyon, N-asetilasyon, glukuronidasyon ve sistein eklenti oluşumu yoluyla üretilmektedir. Diğer metabolitler için herhangi bir yapı belirlenmemiş ancak kütle

spektrometri yoluyla tanımlanmıştır. Linagliptin metabolizmasına sitokrom P450 3A4, aldo-keto redüktazlar ve karbonil redüktazlar aracılık etmektedir (Blech ve ark., 2010).

#### **1.1.4.2.4. Toksik etkiler**

Linagliptin için yaş, cinsiyet, ırk, kilo, böbrek yetmezliği veya karaciğer yetmezliğine bağlı doz ayarlanması gerekmemektedir. Pediatrik popülasyonlardaki etkinlik ve güvenlik çalışmaları orijinal ilaç onayına dahil edilmemiştir, ancak son klinik araştırmalar linagliptinin 10 ila 18 yaşındaki hastalarda iyi tolere edildiğini göstermektedir. Hayvan çalışmaları, dişi sıçanlarda klinik dozun 200 katından fazla dozum lenfoma riskinin arttığını göstermektedir.

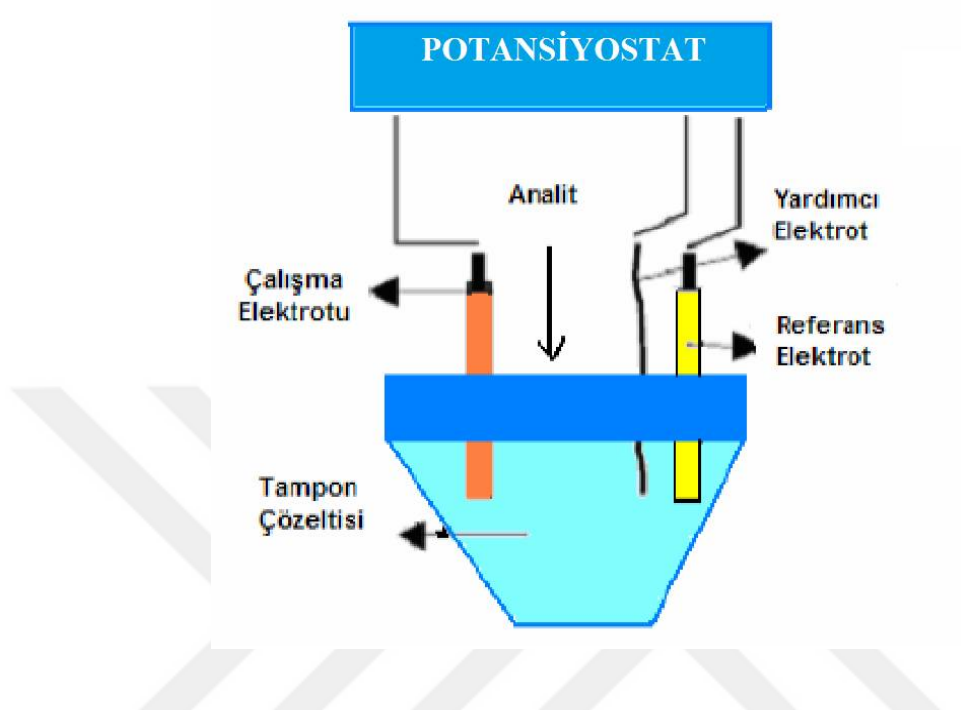
## **1.2. Elektrokimya**

Elektrokimya, elektriksel ve kimyasal etkilerin birbiri ile ilişkisini inceleyen bilim dalıdır (Bard ve Faulkner, 2001). Başka bir tanımlama ile elektrokimya, bir sistemin farklı fazları arasındaki indirgenme ve yükseltgenme süreçlerinin incelenmesidir (Kelter ve ark., 2000).

### **1.2.1. Elektrokimyasal hücreler**

Elektrokimyaya konu olan reaksiyonlar elektrokimyasal hücrelerde gerçekleşmektedir. Bir elektrokimyasal hücre, temel olarak, her biri uygun bir elektrolit çözeltisine daldırılmış elektrot adı verilen iki iletken meydana gelmektedir (Skoog ve ark., 2013). Günümüzde elektrokimyasal çalışmalarda üç elektrot içeren hücreler kullanılmaktadır. Hücreler elektrolit çözeltisine daldırılmış

çalışma elektrodu, karşılaştırma elektrodu ve yardımcı elektrottan oluşmaktadır. Şekil 1.3.'te üç elektrot içeren elektrokimyasal hücre yapısı gösterilmiştir.



Şekil 1.3. Üç elektrotlu elektrokimyasal hücre yapısı (Yıldız ve Genç, 1993).

### 1.2.1.1. Elektrokimyasal hücrelerde kullanılan elektrotlar

#### 1.2.1.1.1. Çalışma elektrotları

Elektrokimyasal reaksiyonlarda yükseltgenme ve indirgenme tepkimeleri çalışma elektrodu yüzeyinde gerçekleşir. Çalışma elektrodu, polarize olabilen ve potansiyeli zamana ve ortam şartlarına göre değişen elektrottur. Çalışma elektrodunun potansiyeli karşılaştırma elektroduna karşı kontrol edilmektedir. Çalışma elektrodu olarak civa elektrotlar (Damlayan civa, asılı civa, civa film), metal temelli katı elektrotlar (Au, Pt, Ag), ve karbon temelli katı elektrotlar kullanılmaktadır.

#### **1.2.1.1.2. Karşılaştırma elektrotları**

Karşılaştırma elektrodu, potansiyeli deney süresince sabit olan elektrottur. Çalışma elektrodunun potansiyelini kontrol etmeye olanak sağlamaktadır. Ag/AgCl elektrot ve doygun kalomel elektrot tercih edilen karşılaştırma elektrotlarıdır.

#### **1.2.1.1.3. Yardımcı elektrotlar**

Yardımcı elektrotlar yalnızca üç elektrotlu sistemlerde kullanılır. Bu tür sistemlerde akım, çalışma elektrodu ile yardımcı elektrot arasından akmaktadır. Yardımcı elektrot alanının, çalışma elektrodunun alanından daha fazla olması önerilmektedir. Böylece karşıt elektrodun akım ölçümünü etkilemesinin önüne geçilmektedir. Pt tel, Pt levha veya Ti tel, yardımcı elektrot olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

#### **1.2.1.1.4. Modifiye elektrotlar**

Elektrokimyasal çalışmalarda kullanılan çalışma elektrotlarının yüzeyi çeşitli iletken ve yarı iletkenler kullanılarak modifiye edilmektedir Bu sayede elektro-aktif yüzey alanları arttırılmakta, elektro-katalitik etkinlik sağlanmakta, analitin voltametrik cevabında artışlar sağlanarak hassas yöntemler geliştirilmektedir. Ayrıca sensörlerin analite karşı seçiciliği çeşitli modifikasyonlarla arttırılmaktadır. Modifikasyon işleminde kullanılan malzemeler, elektrot yüzeyine fiziksel veya kimyasal olarak tutturulmaktadır. Karbon temelli malzemeler, polimerler ve metal nanopartiküller elektrot yüzeylerinin modifikasyonu için sıklıkla tercih edilen malzemelerdir.

### **1.2.1.2. Elektrolit çözelti**

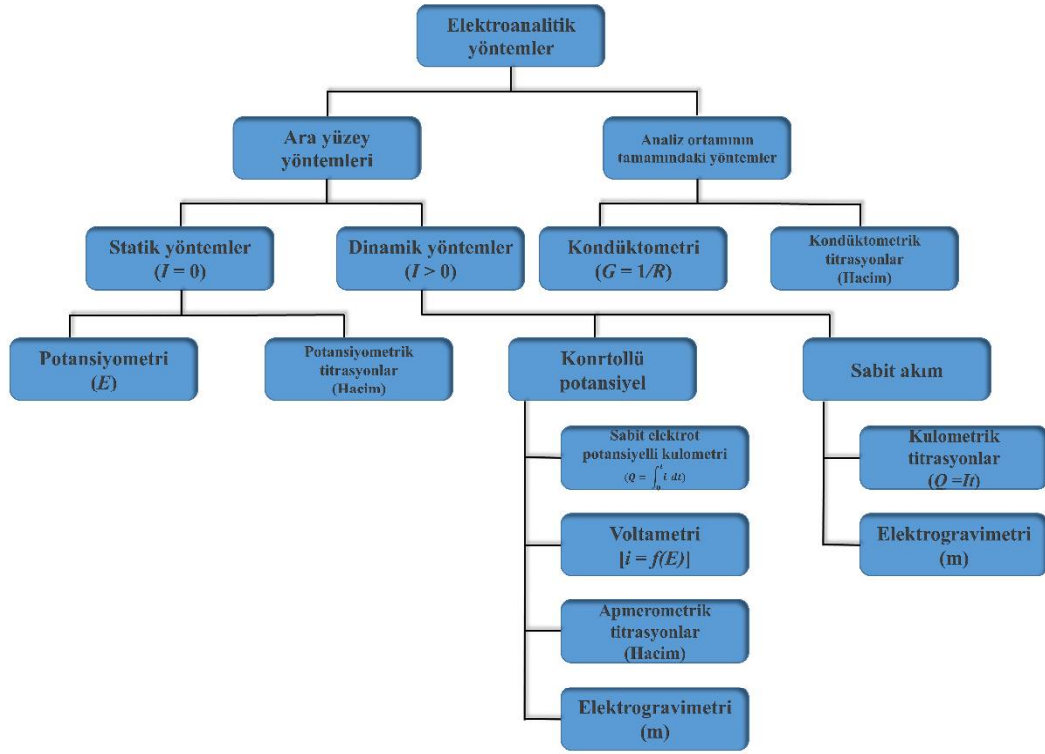
Elektrokimyasal çalışmalar, elektrolit çözelti adı verilen iletken bir çözücü ortamında gerçekleşmektedir. Elektrolit çözeltiler, yüksek saflıkta, analite karşı inert, çözme gücü yüksek, kolay ve ucuz şekilde temin edilebilir olmalıdır. Çeşitli tampon çözeltileri ve tuz çözeltileri elektrolit çözelti olarak kullanılmaktadırlar.

### **1.2.2. Elektrokimyasal yöntemler**

Günümüze kadar çok çeşitli elektrokimyasal yöntemler geliştirilmiştir. Yaygın kullanılan yöntemler Şekil 1.4.'te gösterilmiştir. Bu yöntemler temel olarak ara yüzeyde gerçekleşen ve analiz ortamının tamamında gerçekleşen yöntemler olarak iki ana başlık altında toplanmaktadır. Ara yüzeyde gerçekleşen yöntemler günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ara yüzey yöntemleri, elektrot yüzeyi ile bu yüzeye bitişik olan çözelti yüzeyi arasında oluşan olaylara dayanırken analiz ortamının tamamında gerçekleşen yöntemlerde ara yüzey etkilerinden kaçınmak için çeşitli yollara başvurulur (Skoog ve ark., 2013).

#### **1.2.2.1. Voltametri**

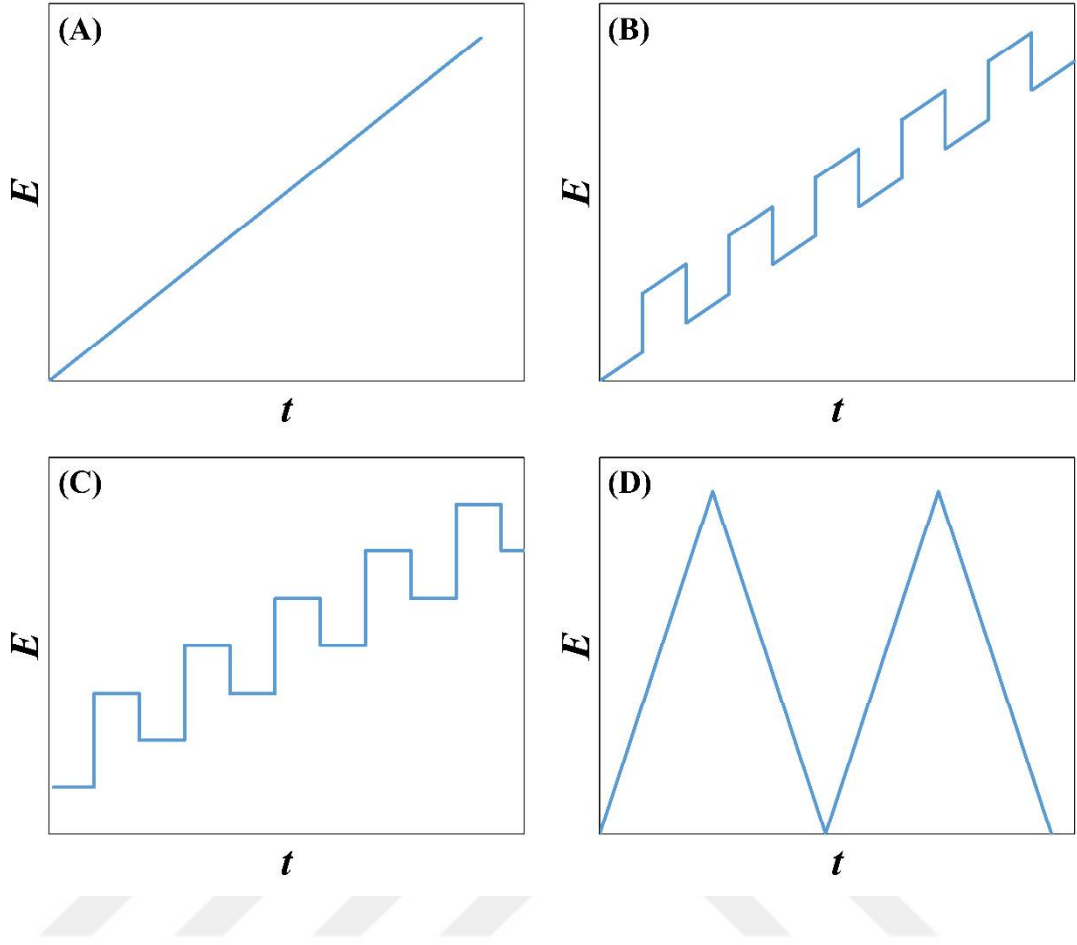
Voltametri, bir indikatör veya çalışma elektrodunun polarize olduğu koşullar altında uygulanan potansiyelin fonksiyonu olarak akımın ölçüldüğü ve analit hakkında bilgilerin elde edildiği bir grup elektroanalitik yöntemlerdir. Voltametri, derişim polarizasyonu şartları altında bir elektrokimyasal hücrede oluşan akımın ölçümüne dayanmaktadır (Skoog ve ark., 2013). Voltametri, incelenen maddenin tepkimesi sırasında kararlı hal ya da geçiş hali özelliklerinin ölçülmesi olarak tanımlanmaktadır (Bagotsky, 2006). Voltametrik ölçümler sonucunda voltamogram adı verilen potansiyel – akım grafikleri elde edilir (Bard ve ark., 2008).



Şekil 1.4. Elektroanalitik yöntemler (Skoog ve ark., 2013).

### 1.2.2.2. Voltametrik yöntemler

Voltametrik yöntemlerde bir mikro elektrot içeren elektrokimyasal hücreye değişen potansiyelden oluşan bir uyarma sinyali uygulanmaktadır. Voltametride en yaygın kullanılan uyarma sinyalleri Şekil 1.5.'te gösterilmiştir.



**Şekil 1.5.** Voltametri de kullanılan uyarma sinyalleri; (A) doğrusal taramalı, (B) diferansiyel puls, (C) kare dalga ve (D) üçgen (Skoog ve ark., 2013).

#### 1.2.2.2.1. Dönüşümlü voltametri

Dönüşümlü voltametri de (DV) Şekil 1.5. (D)'de gösterilen üçgen dalga formundaki potansiyel uygulanarak akım cevabı elde edilmektedir (Skoog ve ark., 2013). Belli bir süre boyunca bir yönde potansiyel uygulanmakta daha sonra taramanın yönü değiştirilerek başlangıç potansiyeline ulaşıldığında döngü tamamlanmaktadır (Browson ve Banks, 2014; Lefrou ve ark., 2012). DV, karmaşık elektrokimyasal tekniklerden biri olmasına rağmen, birçok kimyasal sistemin hem kinetik hem de termodinamik ayrıntılarına ışık tuttuğu için sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (Marken ve ark., 2010).

#### 1.2.2.2.2. Puls Voltametri

Doğrusal taramalı voltametrinin (DTV) uygulanmasında bazı sınırlamalar mevcuttur. Bu sınırlamalar puls yöntemlerinin geliştirilmesiyle ortadan kaldırılmıştır (Skoog ve ark., 2013). Elektroda puls uygulanması, DTV'ne kıyasla şarj akımı ile faradaik akımın oranında iyileşme sağlamaktadır (Stojek, 2010). Çoğunlukla tercih edilen puls voltametrik yöntemler, diferansiyel puls voltametri (DPV) ve kare dalga voltametridir (KDV).

##### 1.2.2.2.2.1. Diferansiyel puls voltametri

DPV tekniğinde potansiyel, Şekil 1.5. (B)'de gösterilen dalga formunda uygulanmaktadır. Akım, pulstan hemen önce ve pulsun bitiminden hemen önce olmak üzere iki defa ölçülmekte ve aradaki fark ( $\Delta$ ) grafiğe geçirilmektedir. DPV en hassas tekniklerden biridir. Klasik voltametri ile kıyaslandığında 100 – 1000 kat daha hassas sonuçlar elde edilebilmektedir. Bunun sebebi yöntemde faradaik akımın artması ve şarj akımının azalmasıdır. Şarj akımı, puls ilk uygulandığında ani artış göstermektedir ancak bu zamanla azalarak pulsun sonuna doğru sifıra yaklaşmaktadır. Dolayısıyla, akımın pulsun sonunda ölçülmesi sinyal/gürültü oranını azaltarak duyarlılıkta artış sağlamaktadır (Bard ve ark., 2008; Skoog ve ark., 2013).

##### 1.2.2.2.2.2. Kare dalga voltametri

KDV, adını kare dalga şeklinde uygulanan uyarma sinyallerinden almaktadır (Şekil 1.5. C). Oldukça hızlı ve hassas bir yöntemdir. KDV'de, tersinir bir reaksiyon için pulsun boyutu, ileri tarama sırasında oluşan ürünün geri tarama sırasında yükseltgenmesini sağlayabilecek kadar büyüktür. Bu sayede, ileri puls katodik akımı, geri puls ise anodik akımı oluşturur ve bu akımların farkı ( $\Delta$ ) grafiğe geçirilerek voltamogramlar elde edilmektedir. Bu fark analitin konsantrasyonu ile doğru

orantılıdır ve pik potansiyeli ( $E_p$ ), voltametrik yarı-dalga potansiyeline karşılık gelmektedir (Skoog ve ark., 2013).

### **1.2.2.2.3. Sıyırma voltametri**

Sıyırma voltametri (SV), analitin bir elektroanalitik yöntem aracılığıyla doğrudan veya dolaylı olarak ölçümünden önce çalışma elektrodu üzerine ön derişimini içeren birtakım prosedürleri ifade etmektedir (Bard ve ark., 2008). Başka bir ifade ile elektrokimyasal sıyırma, atomların, iyonların veya bileşiklerin bir elektrot yüzeyinden oksidatif veya redüktif olarak çıkarılması anlamına gelmektedir (Lovric, 2010). SV yöntemlerinde, elektrolit çözelti karıştırılırken analit, çalışma elektrodu üzerine belli bir süre biriktirilmektedir. Biriktirme işleminden sonra elektrot yüzeyindeki analitin daha önce bahsedilen voltametrik yöntemlerden biri ile ölçümü gerçekleştirilmektedir. Analizin bu aşamasında çalışma üzerinde biriken analit elektrot yüzeyinden sıyrılarak yeniden çözeltilmeye geçmektedir. SV yöntemlerinde analitin elektrot yüzeyindeki konsantrasyonu, çözeltideki konsantrasyonundan çok daha fazladır. Bu sayede SV, tüm voltametrik yöntemler içinde en düşük tayin sınırlarını vermektedir. (Skoog ve ark., 2013).

## **1.3. Elektrokimyasal sensörler**

Sensör, ortamın fiziksel özelliklerindeki değişiklikleri algılayan ve bunları ölçülebilen sinyale dönüştüren cihazlardır. Günümüzde sıklıkla kullanılan elektrokimyasal sensörleri ve biyosensörleri içeren kimyasal sensörler, belirli bir numune bileşeninin konsantrasyonundan toplam bileşim analizine kadar değişen kimyasal bilgileri analitik olarak yararlı sinyale dönüştüren cihazlardır. Kimyasal sensörler temel olarak algılayıcı ve dönüştürücü olmak üzere iki fonksiyonel kısımdan oluşur. Algılayıcı analitle etkileşime girerek kimyasal bilgiyi daha sonra dönüştürücü tarafından kullanılabilir analitik sinyale dönüştürülen enerji formuna çevirir.

Elektrokimyasal sensörler, kimyasal bilgiyi elektriksel sinyale dönüştüren kimyasal sensörlerdir (Bard ve ark., 2008).

İdeal sensörün analite karşı yüksek hassasiyete sahip olması, seçici olması ve kısa sürede iyi analiz gerçekleştirmesi gerekmektedir. Ayrıca uygun maliyet, kolay hazırlanabilirlik ve uzun kullanım ömrü sensörün sahip olması gereken özellikler olarak sayılmaktadır.

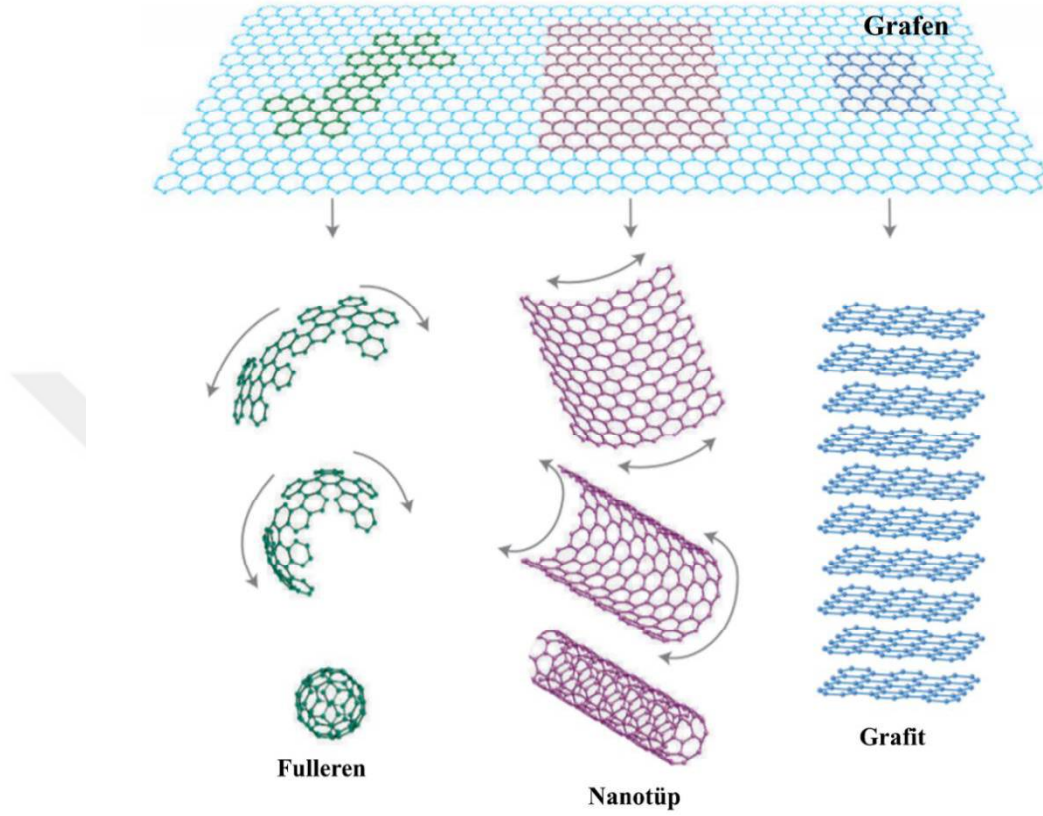
Nano-malzemeler, üzerinde çok sayıda çalışma yapılmış ve elektrokimyasal sensör üretiminde yaygın şekilde faydalanılan “nano” boyutta (<100 nm) malzemeler olarak bilinmektedir. Nano-malzemeler kullanılarak hazırlanan elektrokimyasal sensörler, elektrokimyasal nanosensörler olarak adlandırılmaktadır. Karbon temelli nano-malzemeler, metal nanopartiküller, iletken polimerler vb. malzemeler, geniş yüzey alanlarına sahip olmaları, yüksek iletken özellikleri, elektrokatalitik aktiviteleri, kimyasal kararlılıkları gibi özelliklerinden dolayı elektrokimyasal sensör üretiminde sıklıkla kullanılmaktadır.

### **1.3.1. Karbon temelli nano-malzemeler**

Karbon temelli materyaller olarak ilk akla gelen malzeme grafendir. Grafen,  $sp^2$  hibritleşmesi yapmış karbon atomlarının iki boyutlu bal peteği formunda bir araya gelmesiyle oluşan tek tabakalı yapıdır (Geim ve Novoselov, 2007). Grafen, farklı karbon allotropları olan, grafit, karbon nanotüp ve fulleren yapılarını oluşturmaktadır. Şekil 1.6.’da grafen ve diğer karbon allotroplarının yapıları gösterilmektedir.

Grafen ve nanotüp başta olmak üzere karbon temelli nano-malzemeler, geniş yüzey alanları, yüksek iletkenlikleri, kimyasal kararlılıkları ve mekanik dayanıklılıkları gibi üstün özelliklerinden dolayı elektrokimyasal sensör uygulamalarında sıklıkla kullanılmaktadırlar. Grafen ayrıca, nano-elektronik, opto-

elektronik, süperkapasitör, batarya, solar hücre, yakıt hücreleri ve biyoteknoloji gibi birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır.



Şekil 1.6. Karbon allotroplarının yapısı (Geim ve Novoselov, 2007).

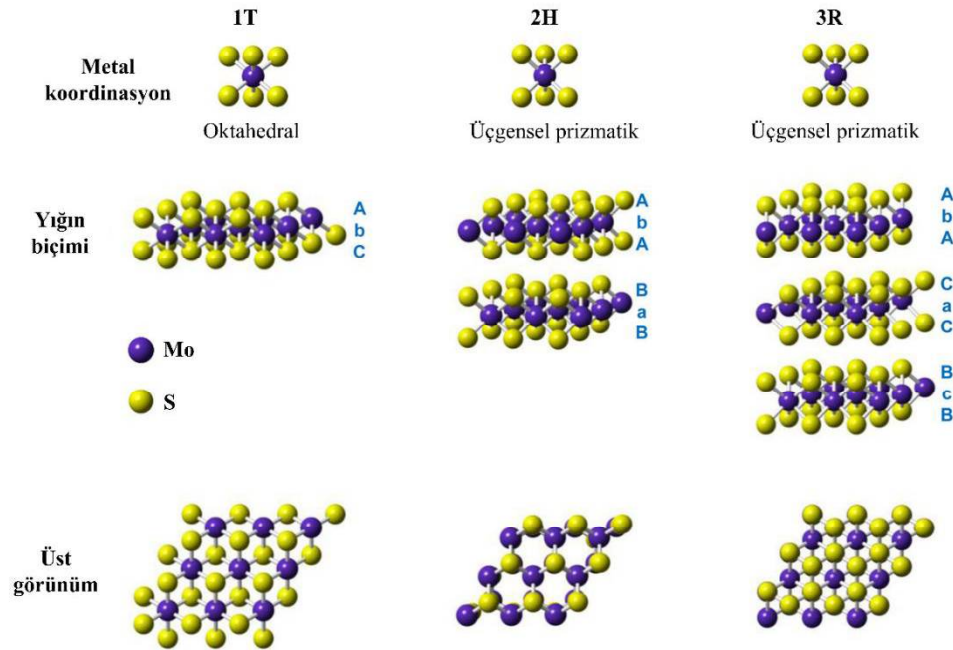
### 1.3.2. Metal nanopartiküller

Elektrokimyasal çalışmalarda metal nanopartiküller yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle altın, gümüş ve platin gibi metaller elektrotların elektro-aktif yüzey alanlarını genişlettikleri ve elektrokatalitik özelliklerini arttırdıkları için sensör üretiminde sıklıkla tercih edilmektedir. Metal nanopartiküller aynı zamanda elektrokimyasal sensörlerin üretiminde kullanılan karbon temelli materyaller, geçiş metali dikalkojenitleri, vb. materyallerin elektro-aktif yüzey alanları arttırmak, iletkenliklerini arttırmak ve elektrokatalitik aktivitelerini arttırmak için kombine halde kullanılmaktadırlar.

### 1.3.3. Molibden disülfür

Molibden disülfür ( $\text{MoS}_2$ ), geçiş metal dikalkojenitlerinin bir üyesidir. Grafen benzeri yapıya sahip olan  $\text{MoS}_2$  kristalleri, van der Waals etkileşimleriyle bir arada tutulan dikey olarak istiflenmiş, zayıf etkileşimli üç atomik katmandan (S-Mo-S) oluşur (Huang ve ark., 2017; Radisavljevic ve ark., 2011).  $\text{MoS}_2$ 'ün tek S-Mo-S tabakası yaklaşık 0.7 nm kalınlığındadır. Mo-S uzunluğu, kristal kafes sabiti ve alt-üst S atomları arasındaki mesafe sırasıyla 2.4 Å, 3.2 Å ve 3.1 Å'dur (Han ve Hu, 2016).

$\text{MoS}_2$ 'ün 1T, 2H ve 3R olmak üzere 3 farklı kristal formu bulunmaktadır. Şekil 1.7.'de  $\text{MoS}_2$ 'ün farklı kristal formları gösterilmiştir. Farklı formlar, Mo ile S atomlarının koordinasyon pozisyonlarının kristal örgü yapısındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. 2H fazı, üçgensel prizmatik koordinasyona sahip altıgen simetride birim hücre yığını başına 2 katman içerirken 3R fazı, üçgensel prizmatik koordinasyona sahip eşkenar dörtgen simetride birim hücre yığını başına 3 katman içermektedir. 2H fazı doğada baskın formdur ve daha karardır. 1T fazında ise Mo atomları oktahedral bir şekilde koordine olmuştur (Han ve Hu, 2016; Voiry ve ark., 2015).



Şekil 1.7.  $\text{MoS}_2$ 'ün farklı kristal yapıları (Chia ve ark., 2015b)

### 1.3.3.1. MoS<sub>2</sub>'ün elektrokimyasal özellikleri

Doğada yaygın olarak bulunan 2H fazı, 1.3 eV ile 1.9 eV aralığında değişebilen bant genişliğine sahiptir ve yarı iletken özelliğindedir (Chang ve ark., 2016). 2H fazı, kimyasal veya elektrokimyasal eksfoliasyon yöntemleri ile metalik faz olan 1T fazına çevrilebilmektedir. 1T fazı, 2H fazından daha yüksek katalitik aktiviteye sahiptir. 1T fazının üstün elektrokimyasal özellikleri, hidrofiliğine, yüksek elektriksel iletkenliğine (MoS<sub>2</sub>'ün metalik fazı, 2H fazına kıyasla 10<sup>7</sup> kat daha iletkendir) ve farklı iyonlara nüfus edebilme kabiliyetine atfedilmektedir (Jayabal ve ark., 2018). Üstün özelliklerinden dolayı 1T-MoS<sub>2</sub> yaygın şekilde kullanılan iki boyutlu malzemeler arasında yer almaktadır. 1T-MoS<sub>2</sub>'ün uygulama alanları arasında süperkapasitörler, transistörler, hidrojen çıkış reaksiyonları, yüzeyde geliştirilmiş Raman spektroskopisi temelli sensörler, enerji depolama vs. bulunmaktadır (Anbazhagan ve ark., 2018; Yin ve ark., 2017).

### 1.3.3.2. MoS<sub>2</sub> kullanılarak üretilmiş elektrokimyasal sensörler

MoS<sub>2</sub>, elektrokimyasal sensörlerin üretiminde yaygın şekilde kullanılmaktadır. Er ve Erk (2020), 1T-MoS<sub>2</sub> tabakalarına Au nano-çubukları yerleştirerek nano-kompozitler hazırlamışlardır. Hazırladıkları kompozitler ile perde baskılı elektrot yüzeylerini kaplayarak sensör üretmişler ve doksorubisinin yapay plazmadan elektrokimyasal tayini için kullanmışlardır. Üretilen sensör, doksorubisine karşı 0.01 µM – 9.50 µM aralığında doğrusallık sergilemiş ve gözlenebilirlik sınırı (GS) 2.5 nM olarak belirtilmiştir. Geliştirilen sensör ile yapay plazmadan yapılan analizlerde %99.2 – %100.8 aralığında değişen geri kazanım (GK) değerleri rapor edilmiştir (Er ve Erk, 2020).

Vijayaraj ve ark. (2017), MoS<sub>2</sub>, çok katmanlı karbon nanotüp ve polipirol içeren kompozit hazırlamış ve kompozit ile camı karbon elektrot (CKE) yüzeyini modifiye ederek sensör geliştirmişlerdir. Geliştirdikleri sensör ile dopaminin fare beyin hücrelerinden eks-vivo tayinini gerçekleştirmişlerdir. Sensör, dopamine karşı 25.0 nM – 1000.0 nM aralığında doğrusallık göstermiştir. Araştırmacılar, sensörün GS'nı 10.0

nM olarak hesaplamışlardır. Dopaminin fare beyin hücrelerinden tayini için standart ekleme yöntemi kullanılmış ve %97.6 – %101.6 aralığında değişen sonuçlar elde edilmiştir (Vijayaraj ve ark., 2017).

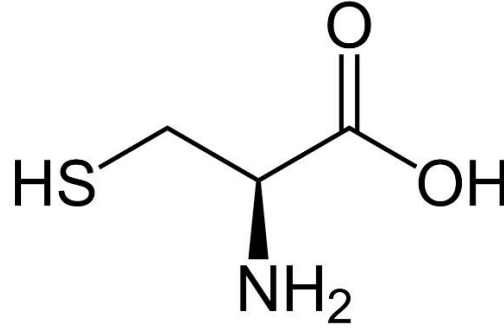
Wang ve ark. (2020), polipirol – MoS<sub>2</sub> içeren bir nano-kompozit sentezlemiş ve perde baskı karbon elektrot yüzeyini modifiye etmek için kullanmışlardır. Geliştirdikleri sensör ile rat plazmasından berberin tayini gerçekleştirmişlerdir. Araştırmacılar, sensörün berberine karşı 0.15 µM – 242.5 µM aralığında doğrusallığa ve 0.05 µM GS'na sahip olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca rat plazmasından berberin analizi için standart ekleme metodu kullanılmış ve sensörün gerçek numuneden analiz için kullanışlı olduğu belirtilmiştir (Wang ve ark., 2020).

Vinay ve ark. (2020), tek katmanlı karbon nanotüp, MoS<sub>2</sub> ve polietilen glikol ile bir kompozit hazırlamış, hazırladıkları bu kompoziti grafit tozu ve silikon yağı ile karıştırarak pasta hazırlamış ve pastayı karbon pasta elektrot yuvasına doldurarak sülfadiazin için elektrokimyasal sensör üretmişlerdir. Üretilen sensörün sülfadiazin için doğrusallık aralığı 2.0 µM – 90.0 µM, GS ise 1.69 µM olarak rapor edilmiştir. Sensör ile sülfadiazin içeren kan ve idrar numuneleri analiz edilmiş ve GK değerleri kan numuneleri için %99.0 – %102.2, idrar numuneleri için ise %98.3 – %101.0 olarak belirtilmiştir (Vinay ve ark., 2020).

#### **1.3.4. Sistein**

Sistein, yapısında S içeren bir amino asittir. 20 amino asit arasında yalnızca Sistein ve metiyonin yapılarında S atomları içermektedirler. Havada kararsız haldedir. Sistein yan zinciri, genellikle enzimlerin aktif bölgesinde çalışan bir –SH grubu içermektedir. Protein moleküllerinde genellikle iki sistein kalıntısı, yapılarını daha kararlı hale getirmek için disülfid bağı oluşturarak sistin formunda bulunmakta ve proteinlerin yüksek sıralı yapısı için bir dengeleyici olarak veya proteinlerin biyoaktivitesinde aktif merkez olarak işlev görmek için protein içinde dikkatli bir

şekilde korunmaktadır. Proteinler amino asit analizi için asit ile hidrolize edildiğinde, sistein kolayca dimerleşerek sistin meydana getirmektedir (Kobayashi, 2011; Sakamoto ve ark., 2017). Sisteinin kimyasal yapısı Şekil 1.8.'de gösterilmektedir.



Şekil 1.8. Sisteinin kimyasal yapısı.

<b><u>IUPAC adı:</u></b>	2-amino-3-sülfanilpropanoyik asit
<b><u>Kapalı formül:</u></b>	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub> S
<b><u>Molekül ağırlığı:</u></b>	121.16 g/mol
<b><u>pKa:</u></b>	1.71 – 8.33 – 10.78
<b><u>Çözünürlük:</u></b>	280 mg/mL (Su)
<b><u>Erime noktası:</u></b>	260 °C (Bozulmaktadır)

Sistein güçlü bir antioksidan ajandır ve reaktif oksijen türlerini yakalama potansiyeline sahiptir, ayrıca yaşlanmayı engelleyici özelliği ile ümit vadetmektedir. Sistein, antioksidan aktivite sergileyemediği hücrelere emilme eğilimde olduğundan yerine N-asetil sistein kullanılmaktadır. Ayrıca cilt beyazlatma özelliği mevcuttur (Sakamoto ve ark., 2017).

#### 1.3.4.1. Sisteinin elektrokimyasal özellikleri

Sistein, -SH gruplarının elektroaktif özelliklerinden dolayı polimer malzeme olarak kullanılan önemli biyomoleküllerden biridir. Esneklik ve kolay hazırlanabilirlik

gibi özelliklerinden dolayı elektrokimyasal sensörlerin üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Elektrot malzemesi olarak sistein, analitleri bağlamak için bol miktarda aktif bölge, yüksek seçicilik ve hassasiyet, ayarlanabilir iletkenlik ve zenginleştirilmiş elektrokatalitik aktivite sağlamaktadır (Sohouli ve ark., 2020).

#### **1.3.4.2. Sistein kullanılarak üretilmiş elektrokimyasal sensörler**

Wang ve Du (2004), altın elektrodu sistein çözelti içinde 24 saat bekleterek yüzeyde kendiliğinden sistein tabakası oluşmasını sağlamışlardır. Daha sonra sistein tabakası içeren altın elektrodu kullanarak 10 mmol ferrosen içeren 0.1 M pH: 5.8 Britton – Robinson tamponu (BRT) içerisinde 0.0 – 0.5 V potansiyel aralığında 500 defa dönüşümlü voltamogramlarını alarak yüzeye ferrosen eklemiş ve sensör geliştirmişlerdir. Geliştirdikleri sensör ile askorbik asiti tayin etmişlerdir. Geliştirilen sensör, askorbik asite karşı 1 – 500  $\mu\text{M}$  aralığında doğrusallık sağlamış ve GS 0.2  $\mu\text{M}$  olarak hesaplanmıştır. Araştırmacılar sensörü kullanarak farmasötik preparattan askorbik asit tayini gerçekleştirmiş ve %95.3 ile %105.0 aralığında değişen GK değerleri elde etmişlerdir (Wang ve Du, 2004).

Wang ve ark. (2006), CKE yüzeyini sistein ile modifiye ederek asetaminofen tayini için sensör üretmişlerdir. Araştırmacılar,  $-\text{NH}_3$  gruplarındaki azot atomları ve CKE yüzeyi arasında kovalent bağ oluşturmak için  $-\text{NH}_3$  gruplarının analog radikallerine elektro-oksidasyonundan faydalanmışlardır. Asetaminofen için 0.2  $\mu\text{M}$  – 10.0  $\mu\text{M}$  ve 10.0  $\mu\text{M}$  – 100.0  $\mu\text{M}$  olmak üzere iki doğrusallık aralığı bildirilmiştir. GS, 0.05  $\mu\text{M}$  olarak hesaplanmıştır. GK değerleri tabletten yapılan analizler için %98.9 - %102.9, idrardan yapılan analizlerde ise %98.3 - %105.5 olarak bildirilmiştir (Wang ve ark., 2006).

Oliveira ve ark. (2020), ZnO nano-fiber ve sistein içeren malzeme sentezlemiş ve malzeme ile CKE yüzeyini modifiye etmişlerdir. Hazırladıkları elektrot ile  $\text{Pb}^{2+}$  tayini gerçekleştirmişlerdir. Araştırmacılar ZnO nano-fiber yapısına sistein

eklenmesinin analitik cevapta ciddi bir artış sağladığını bildirmişlerdir. 10.0 µg/L – 140.0 µg/L doğrusallık aralığı, 0.397 µg/L GS ve %94.0 ile %95.0 GK değerleri rapor edilmiştir (Oliveira ve ark., 2020).

Ghanbari ve ark. (2019), levofloksasin tayini için CKE yüzeyini sistein, altın nano-parçacıklar ve indirgenmiş grafen oksit ile kaplayarak bir elektrokimyasal sensör hazırlamışlardır. Araştırmacılar, 0.01 nM – 100.0 nM ve 0.1 µM – 100.0 µM olmak üzere iki doğrusallık aralığı ve 0.001 nM GS bildirmişlerdir. Kan numunesinden yapılan analizler sonucu GK değerleri %96.0 – %102.2 olarak bildirilmiştir (Ghanbari ve ark., 2019).

#### **1.4. Etken maddeler için mevcut analiz yöntemleri**

Dapagliflozin ve linagliptin için günümüze kadar yapılmış farklı analitik çalışmalardan bazıları aşağıda özetlenmiştir.

##### **1.4.1. Dapagliflozin için mevcut analiz yöntemleri**

###### **1.4.1.1. Spektroskopik yöntemler**

Lotfy ve ark. (2019), dapagliflozin ve saksagliptinin tablet formülasyonlarından tayini için orijinal, türev ve oran farklarının faktörize edilmiş spektrumlarının kullanıldığı çeşitli spektrofotometrik yöntemler geliştirmişlerdir. Araştırmacılar, geliştirilen tüm yöntemlerin GK hesaplamalarında faktörize edilmiş spektrumların sinyallerinin kullanıldığı yeni ve tek bir denkleme dayandığını bildirmiştir. Her üç yöntemin çalışma aralığı dapagliflozin için 2.5 – 50.0 µg/mL olarak verilmiştir. GS, dapagliflozin için 0.67, 0.64 ve 0.40 µg/mL olarak bildirilmiştir. Geliştirilen yöntemlerin, mevcut piyasa formülasyonlarının rutin kalite kontrol analizlerinde etkin bir şekilde kullanılabileceği belirtilmiştir (Lotfy ve ark., 2019).

Omar ve ark. (2019), dapagliflozinin tablet formülasyonundan ve insan plazmasından tayini için yeni bir spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. Önerilen yöntemde 4-kloro-7-nitrobenzo-2-oksa-1,3-diazol reaktifi ile dapagliflozin arasındaki yer değiştirme reaksiyonu ile organik sıvılarda çözünebilen floresan kompleksinin oluşumundan yararlanıldığı belirtilmiştir. Floresans şiddeti, 453 nm'de uyarımdan sonra 522 nm'de ölçülmüştür. Dapagliflozin için 50.0 – 1000.0 ng/mL doğrusallık aralığı ve 14.24 ng/mL GS değerleri rapor edilmiştir. Tabletten ortalama %99.84, plazmadan ortalama %98.71 GK elde edilmiştir. Araştırmacılar önerdikleri yöntemin, dapagliflozinin kalite kontrol laboratuvarlarındaki rutin analizleri için kullanılabilmesini ve aynı zamanda insan plazmasından dapagliflozin analizi ve dapagliflozinin farmakokinetik araştırmaları için uygulanabilmesini belirtmişlerdir (Omar ve ark., 2019a).

#### **1.4.1.2. Kromatografik yöntemler**

El-Zaher ve ark. (2019), dapagliflozin, saksagliptin ve metforminin insan plazmasından tayini için dedektör olarak ikili kütle spektrometri (KS) kullanan bir yüksek basınçlı sıvı kromatografi (YBSK) yöntemi (YBSK-KS/KS) geliştirmişlerdir. Kromatografik ayırım, Zorbax C<sub>18</sub> (50 × 4.6 mm, 5 µm) kolonda 25 °C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Hareketli faz olarak 45:55 hacimsel oranda asetonitril: %0.1 formik asit, dakikada 0.5 mL akış hızında kullanılmıştır. Dapagliflozin için çalışma aralığı 5.0 – 500.0 ng/mL olarak bildirilmiştir. Hassasiyet, doğruluk, seçicilik, geri kazanım ve kararlılık çalışmaları yapılmış ve FDA yönergeleri dahilinde kabul edilebilir sınırlar içinde olduğu ve yöntemin farmakokinetik çalışmalar için uygun olduğu belirtilmiştir (El-Zaher ve ark., 2019).

Nasser ve ark. (2018), dapagliflozin ve metforminin farmasötik formülasyonlardan tayini için YBSK ve yüksek performanslı ince tabaka kromatografi (YPİTK) yöntemleri geliştirmişlerdir. YBSK yönteminde Water-pak C<sub>18</sub> kolon ve

65:35 hacimsel oranda 10 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>:asetnitril hareketli fazı dakikada 1.2 mL akış hızında kullanılmıştır. YPİTK yönteminde ise ayırım silika-jel kaplı alüminyum plakalar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hareketli faz olarak 9:0,9:0.1 hacimsel oranda asetonitril: %10 amonyum asetat: asetik asit karışımı kullanılmıştır. Uluslararası Harmonizasyon Topluluğu (ICH) kılavuzları doğrultusunda validasyon çalışmaları yapılmış ve her iki yöntemin doğru ve kesin olduğu, dapagliflozin için YBSK yönteminin 2.0 – 20.0 µg/mL, YPİTK yönteminin ise 1.0 – 10.0 µg/bant aralığında doğrusal olduğu bildirilmiştir (Nasser ve ark., 2018).

Reddy ve Sankar (2019), dapagliflozin ve saksagliptinin farmasötik üründen tayini için hızlı, kesin, doğru ve seçici bir ultra-yüksek basınçlı sıvı kromatografi (UBSK) yöntemi geliştirmişlerdir. Çalışmada HSS 100 × 2.1 mm, 1.8 m kolon kullanılmıştır. Hareketli faz olarak 50:50 oranda asetonitril: fosfat tamponu kullanılmıştır. Hareketli faz 0.3 mL/dk akış hızında verilmiştir. Dapagliflozin için alıkonma zamanı 0.9 dk, doğrusallık aralığı ise 2.5 – 15.0 µg/mL olarak bildirilmiştir (Reddy ve Sankar, 2019).

#### **1.4.2. Linagliptin için mevcut analiz yöntemleri**

##### **1.4.2.1. Spektroskopik yöntemler**

Aref ve ark. (2020), linagliptinin pH: 8.5 borat tamponu içinde 4-kloro7-nitrobenzofurazan ile etkileşiminden yararlanarak biyolojik sıvılardan tayini için spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. Uyarma ve yayma için dalga boyları sırasıyla 459 ve 529 nm olarak bildirilmiştir. Doğrusallık aralığı 1.0 – 100.0 ng/mL, GS ise 0.6 ng/mL olarak rapor edilmiştir. Yöntemin GK değerleri ticari tabletler ve insan plazması için sırasıyla %100.12 ve %99.65 olarak belirtilmiştir. Araştırmacılar, geliştirdikleri yöntemin klinik çalışmalarda linagliptin tayini için umut verici bir alternatif yöntem olduğunu belirtmişlerdir (Aref ve ark., 2020).

Amin ve ark. (2019), metformin HCl, empagliflozin, linagliptin ve pioglitazon HCl'ün eşzamanlı tayini için iki türev spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. Yöntemler oran ve türev spektrumlarının kullanıldığı birkaç adımdan oluşmaktadır. İlaçların absorpsiyon spektrumları 200 – 350 nm dalga boyu aralığından kaydedilmiş, linagliptinin absorbansı 272 ile 260 nm dalga boylarında ölçülmüştür. Yöntemin doğruluk, kesinlik ve tekrarlanabilirlik değerlerinin ICH kılavuzlarına göre belirlenen sınırlar içinde olduğu, F ve t testleri sonucuna göre de daha önce yapılmış çalışmalarla aralarında anlamlı bir fark olmadığı bildirilmiştir (Amin ve ark., 2019).

Omar ve ark. (2019), linagliptinin tabletlerden tayini için spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. Yöntemde pH: 8.5 borat tamponu içinde linagliptinin amino grupları ile floreskamin reaktifinin etkileşmesi ve floresan özellikte ürün meydana getirmelerinden faydalanılmıştır. Uyarma 390 nm, yayma 479 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Yöntemin 0.2 – 2.0 µg/mL konsantrasyon aralığında doğrusal olduğu ve GS'nin 0.079 µg/mL olduğu bildirilmiştir. Yöntem tabletlerden linagliptin tayini için başarılı bir şekilde uygulanmış ve ortalama GK % 101.34 olarak belirtilmiştir (Omar ve ark., 2019b).

#### **1.4.2.2. Kromatografik yöntemler**

Salapaka ve ark. (2019), linagliptinin S-enantiyomerinin tayini için hassas ve hızlı uygulanabilir bir Ters faz (TF)-YBSK yöntemi geliştirmişlerdir. Enantiyomerik ayırım, Selüloz tris (4-kloro-3-metilfenilkarbammat) sabit fazında gerçekleştirilmiştir. Hareketli faz olarak 35:65 h/h (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> tamponu ve asetonitril karışımı kullanılmıştır. Tekdüze akış hızı 1 mL/dk ve kolon sıcaklığı 40 °C olarak ayarlanmıştır. Veriler 226 nm dalga boyunda kaydedilmiştir. Belirtilen koşullar altında 0.17 – 1.7 µg/mL konsantrasyon aralığında doğrusallık ve 0.057 µg/mL GS elde edilmiştir. S-enantiyomerin GK oranı %99.8 olarak bildirilmiştir. Araştırmacılar, geliştirdikleri yöntemin, özgünlük, kesinlik, doğrusallık, doğruluk ve sağlamlık açısından doğrulandığını bildirmişlerdir (Salapaka ve ark., 2019).

Shah ve ark. (2019), empagliflozin ve linagliptinin insan plazmasından tayini için seçici, hassas, kesin ve doğru bir YBSK-KS/KS yöntemi geliştirmişlerdir. Analiz için XSelect HSS Cyano (50 × 2.1 mm, 3.5 µm) kolon ve 2 mM CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> ile asetonitril karışımından oluşan hareketli faz kullanılmıştır. Analitlerin tespiti, pozitif mod elektrosprey iyonizasyonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Linagliptin için 0.015 – 15.0 ng/mL konsantrasyon aralığında doğrusallık ve 0.004 ng/mL GS değerleri bildirilmiştir (Shah ve ark., 2019).

Ayoub (2015), empagliflozin, linagliptin ve metformin HCl'ün farmasötik formlardan eşzamanlı tayini için UBSK yöntemi geliştirmiştir. Araştırmacı çalışmasında Symmetry® Acclaim™ RSLC 120 C<sub>18</sub> kolon (100 mm × 2.1 mm, 2.2 mm) ve sabit akış hızında KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: Metanol (50:50 h/h) hareketli fazı kullanmıştır. Geliştirilen yöntemin linagliptin için 0.5 – 16.0 µg/mL konsantrasyon aralığında doğrusal, doğru ve kesin olduğu bildirilmiştir. GS, 0.12 µg/mL olarak verilmiştir. Araştırmacı, önerdiği yöntemin linagliptinin farmasötik formlardan kalite kontrolü için uygun olduğunu bildirmiştir (Ayoub, 2015).

El-Kimary ve ark. (2016), linagliptin, saksagliptin ve vidagliptinin metformin ile ikili karışımlarının farmasötik formlardan tayini için basit ve seçici bir YPİTK yöntemi geliştirmişlerdir. Kromatografik ayırım, silika jel 60 F<sub>254</sub> ile kaplı alüminyum plakalar üzerinde metanol: %0.5 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (8:2 hacimsel oran) hareketli faz kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen yöntemin, doğrusallık, GS, kesinlik, doğruluk, seçicilik ve özgünlük parâmetreleri açısından iyi bir performans gösterdiği araştırmacı tarafından bildirilmiştir (El-Kimary ve ark., 2016).

### **1.4.2.3. Elektrokimyasal yöntemler**

Rizk ve ark. (2020), linagliptin ve empagliflozinin farmasötik formlardan ve biyolojik sıvılardan elektrokimyasal tayini için KDV yöntemi geliştirmişlerdir. Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nano-parçacıkları ve çok katmanlı karbon nanotüp ile modifiye ettikleri KPE'u

çalışma elektrodu olarak kullanmışlardır. Elektrolit çözelti olarak pH: 8.0 BRT kullanmışlardır. Linagliptin için  $3.98 \times 10^{-5}$  –  $1.53 \times 10^{-3}$  M doğrusallık aralığında  $1.13 \times 10^{-5}$  M GS ve %98.80 – 102.0 arasında değişen GK değerleri elde etmişlerdir (Rizk ve ark., 2020).

Naggar ve ark. (2020), linagliptinin farmasötik formlardan ve biyolojik sıvılardan tayini için kalem grafit elektrot kullanarak, kolay uygulanabilir, düşük maliyetli, hızlı ve güvenilir bir anodik KDV yöntemi geliştirmişlerdir. Linagliptin, 0.1 M NaClO<sub>4</sub> içeren pH: 5.5 Teorell & Stenhagen tamponu içinde 1.2 V potansiyelde net bir oksidasyon piki vermiştir. Geliştirilen yöntemin 0.24 – 5.20 µg/mL aralığında doğrusal olduğu ve 0.1 µg/mL GS'na sahip olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar, geliştirdikleri yöntemin linagliptinin farmasötik formlardan ve biyolojik sıvılardan tayinini başarılı bir şekilde gerçekleştirdiğini bildirmişlerdir (Naggar ve ark., 2020).

Gandomi ve ark. (2020), linagliptin için karbon nitrit-β-siklodekstrin ile modifiye edilmiş elektrokimyasal sensör geliştirmişlerdir. Modifikasyon ajanının sensörün seçiciliği, hassasiyeti ve analitik cevap üzerindeki etkileri incelenmiş ve geliştirilen yöntemin linagliptin için 0.01 – 50.0 µM doğrusallık aralığında ve 3 nM GS'nda olduğu bildirilmiştir. Olası girişim yapabilecek maddelerin önemli etkisinin olmadığı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Gandomi ve ark., 2020)

Tez kapsamında, yeni nesil antidiyabetik ilaç etken maddelerinin tayini için, kolaylıkla üretilebilen ve düşük maliyetli MoS<sub>2</sub> temelli elektrokimyasal sensör geliştirilmesi ve geliştirilen sensör kullanılarak analit olarak seçilen etken maddelerin gerçek numunelerden tayini için hızlı ve etkin elektrokimyasal analiz yöntemleri geliştirmesi amaçlanmıştır.

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Tez çalışmasında kullanılan kimyasal maddeler

Tez çalışmasında kullanılan kimyasal maddeler Çizelge 2.1.'de gösterilmiştir.

**Çizelge 2.1.** Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasal madde	Formül	Marka
Dapagliflozin	C <sub>21</sub> H <sub>25</sub> ClO <sub>6</sub>	Bristol-Myers Squib
Linagliptin	C <sub>25</sub> H <sub>28</sub> N <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	Boehringer Ingelheim
Molibden sülfür	MoS <sub>2</sub>	Özdoğu Madencilik
Sistein	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub> S	Sigma-Aldrich
1,6 M n-bütül lityum (Hekzan içerisinde)	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> Li	Sigma-Aldrich
Hekzan	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	Merck
Dimetilformamid	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO	Sigma-Aldrich
Argon	Ar	AnkaraGaz
Aseton	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	Merck
Etanol	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O	Carlo Erba
Metanol	CH <sub>4</sub> O	Merck
Asetik asit	CH <sub>3</sub> COOH	Merck
Fosforik asit	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Merck
Borik asit	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	Merck
Soydum hidroksit	NaOH	Merck
Hidroklorik asit	HCl	Merck
Potasyum nitrat	KNO <sub>3</sub>	Merck
Potasyum ferrisiyanür	K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]	Acros Organics
Glukoz	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	Sigma-Aldrich
Üre	CH <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O	Sigma-Aldrich
Ürik asit	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	Sigma-Aldrich
Dopamin	C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	Alfa-Aesar
Kafein	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	Sigma-Aldrich

**Çizelge 2.1. Devam** Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasal maddeler

<b>Kimyasal madde</b>	<b>Formül</b>	<b>Marka</b>
Askorbik asit	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>	Sigma-Aldrich
Kalsiyum klorür	CaCl <sub>2</sub>	Merck
Sodyum sülfat	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Merck
Alüminyum süspansiyon	Al	Metkon
Metformin	C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> N <sub>5</sub>	Abdi İbrahim
Vildagliptin	C <sub>17</sub> H <sub>25</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	Sanovel
Saksagliptin	C <sub>18</sub> H <sub>25</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	AstraZeneca
Yapay plazma	–	Sera-Flx

## 2.2. Tez çalışmasında kullanılan cihazlar

Deneysel çalışmalarda kullanılan cihazlar ve diğer ekipmanlar Çizelge 2.2.'de gösterilmiştir.

**Çizelge 2.2.** Deneysel çalışmalarda kullanılan cihaz ve diğer ekipmanlar

<b>Cihaz</b>	<b>Marka – Model</b>
X-ışınları kırınım spektrometre	Panalytical Empyrean
X-ışınları fotoelektron spektrometre	PHI500 VersaProbe
Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometre	Shimadzu IR-Affinity 1
Geçirimli elektron mikroskobu	JEOL JEM 2100F
Hassas terazi	Radwag AS 220 R.2
pH metre	Hanna Instruments
Vakum etüv	Nüve EV 018
Ultrasonik banyo	Bandelin sonorex
Isıticılı manyetik karıştırıcı	Heidolp MR Hei-Standard
Ultra-saf su cihazı	Millipore, Milli-Q
Otomatik pipet	Thermo Fisher Scientific Finnpiptette
Santrifüj cihazı	Thermo Electron Corp. MicroCL 17R
Santrifüj cihazı	Nüve NF-200
Vorteks	Velp Scientifica

### 2.3. Tez çalışmasında kullanılan elektrokimyasal sistem ve bileşenleri

Tez çalışması kapsamında kullanılan elektrokimyasal sistem ve bileşenleri Çizelge 2.3.'te gösterilmiştir.

**Çizelge 2.3** Tez çalışması kapsamında kullanılan elektrokimyasal sistem ve bileşenleri

<b>Bileşen</b>	<b>Marka-Model</b>
Potansiyostat – Galvanostat sistemi	Metrohm Autolab PGSTAT 128N
Elektrot hücre standı	BASi® - C3
Çalışma elektrodu (CKE, 3 mm çap)	BASi® - MF 2012
Karşılaştırma elektrodu (Ag/AgCl)	BASi® - MF 2052
Yardımcı elektrot (Pt tel, 7,5 cm)	BASi® - MW 1032
Parlatma – cilalama seti	BASi® - MF 2060
Cam hücre	BASi® - MR 1208

### 2.4. Tez çalışmasında kullanılan çözeltilerin hazırlanması

Tez çalışması kapsamında analitik saflıkta kimyasallar ve ultra-saf su kullanılmıştır. Hazırlanan bütün çözeltiler isimleri, konsantrasyonları ve hazırlanma tarihleri yazılarak etiketlenmiştir.

#### 2.4.1. Dapagliflozin standart çözeltilerin hazırlanması

Dapagliflozin stok çözeltisi 1.0 mM olarak hazırlanmıştır. Çözücü olarak metanol kullanılmıştır. 20.445 mg (0.05 mmol) dapagliflozin standardı hassas terazide tartılmış ve 50 mL'lik bir balon jöjeye aktarılmıştır. Daha sonra ortam sıcaklığında metanol ile 50 mL'ye tamamlanmıştır. Dapagliflozin metanol içerisinde tamamen çözünene kadar ultrasonik banyoda tutulmuştur. Dapagliflozin stok çözelti buzdolabında +4 °C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir. Kullanılmadan önce

buzdolabından çıkartılıp ortam sıcaklığına gelmesi beklenmiştir. Dapagliflozin stok çözelti, elektrokimyasal ölçümler sırasında istenilen konsantrasyonlara elektrolit çözelti ile seyreltilmiştir.

#### **2.4.2. Linagliptin standart çözeltilerin hazırlanması**

Linagliptin stok çözeltisi 1.0 mM olarak hazırlanmıştır. Çözücü olarak metanol kullanılmıştır. 23.625 mg (0,05 mmol) linagliptin standardı hassas terazide tartılmış ve 50 mL'lik bir balon jøjeye aktarılmıştır. Daha sonra ortam sıcaklığında metanol ile 50 mL'ye tamamlanmıştır. Linagliptin metanol içerisinde tamamen çözünene kadar ultrasonik banyoda tutulmuştur. Linagliptin stok çözelti buzdolabında +4 °C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir. Kullanılmadan önce buzdolabından çıkartılıp ortam sıcaklığına gelmesi beklenmiştir. Linagliptin stok çözeltisi, elektrokimyasal ölçümler sırasında istenilen konsantrasyonlara elektrolit çözelti ile seyreltilmiştir.

#### **2.4.3. Elektrolit çözeltisinin hazırlanması**

Elektrolit çözelti olarak 0.25 M BRT kullanılmıştır. 500 mL'lik balon jøjeye bir miktar ultra-saf su konulmuştur. 2.47 g H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> hassas terazide tartılmış ve balon jøjeye aktarılmıştır. 2.7 mL H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> ve 2.3 mL CH<sub>3</sub>COOH otomatik pipet ile balon jøjeye aktarılmıştır. Eklenen bütün kimyasalların iyice çözünmesi için balon jöje bir süre ultrasonik banyoda tutulmuştur. 0.25 M BRT buzdolabında +4 °C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir. Kullanılmadan önce buzdolabından çıkartılıp ortam sıcaklığına gelmesi beklenmiştir. BRT tamponunu istenilen pH değerine ayarlamak için 0.1 M NaOH ve 0.1 M HCl çözeltileri kullanılmıştır.

#### **2.4.4. Tablet çözeltilerinin hazırlanması**

Tez çalışması kapsamında dapagliflozinin tablet formlarından analizi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla yerel bir eczaneden tedarik edilen ve etken madde olarak bir tablette 10 mg dapagliflozin içeren Forziga® film kaplı tablet kullanılmıştır. 10 adet tablet hassas terazide teker teker tartılmış ve bu değerler kullanılarak ortalama tablet ağırlığı 261.02 mg olarak belirlenmiştir. 10 adet tablet havanda iyice toz edilmiştir. Dapagliflozin tablet çözeltisi 1.0 mM olarak hazırlanmıştır. 10.223 mg (0.025 mol) dapagliflozine tekabül eden 266.84 mg tablet tozu hassas terazide tartılmış ve 25 mL'lik balon jøjeye alınmıştır. Balon jøjedeki tablet tozu metanol ile 25 mL'ye tamamlanmıştır. Tablet tozu içerisindeki dapagliflozinin metanol içerisinde tamamen çözünmesi için 5 dk ultrasonik banyoda tutulmuştur. Daha sonra tabletin yapısında bulunan ve çözünmeyen yardımcı maddeleri ayırmak için çözelti 0.45 µm PTFE şırınga filtre ile süzölmüştür. Çözelti +4 °C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir. Kullanılmadan önce ortam sıcaklığına gelmesi için bir süre bekletilmiştir. Elektrokimyasal ölçümler sırasında istenilen konsantrasyona elektrolit çözelti ile seyreltilmiştir.

#### **2.4.5. Plazma çözeltilerinin hazırlanması**

Tez çalışması kapsamında linagliptinin yapay plazmadan tayini gerçekleştirilmiştir. Uygun miktarda linagliptin standart çözeltisi yapay plazma üzerine eklenmiş ve homojen bir karışım elde etmek için 1 dk boyunca vortekslenmiştir. Plazma proteinlerini çöktürmek için üzerine aseton eklenmiş ve tekrar 1 dk boyunca vortekslenmiştir. Çöken proteinleri plazmadan ayırmak için numune dakikada 10000 devir hızında 10 dk santrifüj edilmiştir. Proteinlerinden ayrılmış plazma elektrokimyasal ölçümler sırasında istenilen konsantrasyonlara elektrolit çözelti ile seyreltilmiştir.

#### 2.4.6. Tez çalışmasında kullanılan diğer çözeltilerin hazırlanması

Üretilen sensörlerin elektrokimyasal karakterizasyonu için 1.0 mM  $K_3[Fe(CN)_6]$  ve 1.0 M  $KNO_3$  çözeltileri hazırlanmıştır. 1.0 mM  $K_3[Fe(CN)_6]$  çözelti, 4.22 mg madde 10 mL ultra-saf suda çözünerek hazırlanmıştır. 1.0 M  $KNO_3$  çözeltisi, 10.1 g madde 100 mL ultra-saf suda çözünerek hazırlanmıştır.

Girişim çalışmalarında kullanılmak üzere 1.0 mM'lık glikoz, üre, dopamin, kafein, askorbik asit,  $CaCl_2$ ,  $NaSO_4$ , metformin, vildagliptin ve saksagliptin çözeltileri hazırlanmıştır. Gerekli miktarda maddeler hesaplanarak hassas terazide tartılmış ve balon jöjelere alınıp uygun çözücüler ile tamamlanarak hazırlanmışlardır. Çizelge 2.4.'te tartılan kimyasal madde miktarları, kullanılan çözücüler ve hacimleri detaylı olarak gösterilmiştir. 10 mL 50  $\mu$ M ürik asit doğrudan BRT içinde hazırlanarak kullanılmıştır.

**Çizelge 2.4.** Girişim çalışmalarında kullanılan çözeltilerin hazırlanması için gerekli kimyasal madde ve çözücü miktarları

Kimyasal madde	Kimyasal madde miktarı (mg)	Çözücü	Çözücü miktarı (mL)
Glukoz	9.01	Ultra-saf su	50 mL
Üre	3.00	Ultra-saf su	50 mL
Kafein	9.71	Ultra-saf su	50 mL
Askorbik asit	8.81	Ultra-saf su	50 mL
Dopamin	1.53	Ultra-saf su	10 mL
$KNO_3$	1.01	Ultra-saf su	10 mL
$CaCl_2$	1.11	Ultra-saf su	10 mL
$NaSO_4$	1.42	Ultra-saf su	10 mL
Ürik asit	0.08	BRT	10 mL
Metformin	1.29	Metanol	10 mL
Vidagliptin	3.03	Metanol	10 mL
Saksagliptin	3.33	Metanol	10 mL

## 2.5. Tez çalışmasında kullanılan nano-malzemelerin hazırlanması

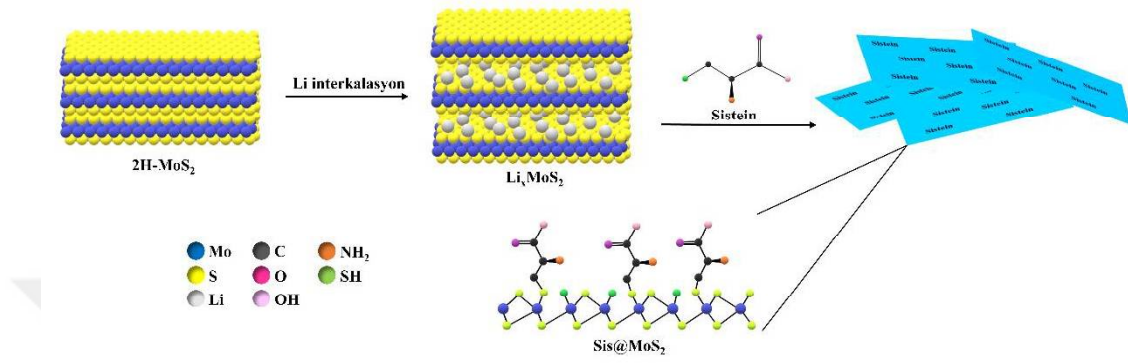
### 2.5.1. $\text{Li}_x\text{MoS}_2$ sentezi

Tez çalışmaları kapsamında ilk olarak Li – interkalasyon metodu (Eda ve ark., 2011) ile  $\text{Li}_x\text{MoS}_2$  sentezlenmiştir. Li – interkalasyon metodu ile  $\text{MoS}_2$ 'ün yarı iletken faz olan 2H fazından metalik faz olan 1T fazına dönüşümü de sağlanmaktadır. İlk olarak 2H- $\text{MoS}_2$  tozu vakum etüvde 120 °C sıcaklıkta 24 saat boyunca kurutulmuştur. 1 g kuru  $\text{MoS}_2$  reaksiyon balonuna alınmış ve üzerine 30 mL hekzan eklenerek 1 dk boyunca ultrasonike edilmiştir. Elde edilen süspansiyon geri soğutucu altında yağ banyosuna alınmış ve üzerine 7 mL 1.6 M n-bütillityum çözeltisi yavaşça ve dikkatli bir şekilde eklenmiştir. Karışım, 80 °C yağ banyosunda 24 saat boyunca Ar atmosferinde karıştırılmıştır. Reaksiyon sonlandırıldıktan sonra  $\text{Li}_x\text{MoS}_2$  çözeltisi süzülerek ayrılmıştır.  $\text{Li}_x\text{MoS}_2$ , hekzan ile üç defa yıkanmıştır. Daha sonra  $\text{Li}_x\text{MoS}_2$ , vakum etüvde 60 °C sıcaklıkta 24 saat kurutularak kalan çözücüler uzaklaştırılmıştır.  $\text{Li}_x\text{MoS}_2$ , sıkıca kapatılmış ışık geçirmeyen kaplara konularak desikatörde muhafaza edilmiştir.

### 2.5.2. Sistein – $\text{MoS}_2$ sentezi

$\text{Li}_x\text{MoS}_2$  sentezlendikten sonra sistein –  $\text{MoS}_2$  nano-malzeme ( $\text{Sis}@\text{MoS}_2$ ) sentezlenmiştir.  $\text{Sis}@\text{MoS}_2$  sentezi için 30 mL dimetilformamid bir reaksiyon balonuna konulmuş, üzerine 250 mg  $\text{Li}_x\text{MoS}_2$  tozu eklenmiş ve karışım geri soğutucu altında ve Ar atmosferinde yağ banyosuna alınmıştır. Yağ banyosunun sıcaklığı 60 °C olarak ayarlanmıştır. 250 mg sistein 20 mL dimetilformamid içerisinde dispers edilmiş ve reaksiyon balonundaki karışıma damla damla ilave edilmiştir. Sistemin dış ortamla yalıtımı sağlanmış ve Ar gazı akışı kesilmiştir. Karışım yağ banyosunda 8 saat boyunca sabit hızda karıştırılmıştır. Reaksiyon sonlandırıldıktan sonra  $\text{Sis}@\text{MoS}_2$  nano-malzemeleri süzülerek dimetilformamid ortamdan uzaklaştırılmıştır. Nano-malzemede kalan fazla Li ve diğer safsızlıkları uzaklaştırmak için malzeme sırasıyla

aseton ve etanol ile üçer defa yıkanmıştır. Son olarak vakum etüvde 60 °C sıcaklıkta 24 saat kurularak kalan yıkama çözeltileri uzaklaştırılmıştır. Sis@MoS<sub>2</sub>, ışık geçirmeyen sıkıca kapatılmış kaplara konularak desikatörde muhafaza edilmiştir. Şekil 2.1.'de Sis@MoS<sub>2</sub> nano-kompozitlerinin hazırlanışı şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Sis@MoS<sub>2</sub> sentezinin şematik gösterimi

## 2.6. Tez çalışmasında kullanılan voltametrik yöntemler

Tez çalışmaları kapsamında üretilen sensörlerin elektrokimyasal karakterizasyon çalışmaları için DV yöntemi kullanılmıştır.

### 2.6.1. Dapagliflozinin analizi için kullanılan yöntemler

#### 2.6.1.1. Dönüşümlü voltametri

Üretilen sensör yüzeyinde dapagliflozin için gerçekleşen elektrokimyasal reaksiyon türünün belirlenmesi için yapılan çalışmalarda DV yöntemi kullanılmıştır. Dapagliflozinin elektrokimyasal reaksiyonu sırasında aktarılan elektron sayısının hesaplanması için yapılan çalışmalarda DV yöntemi kullanılmıştır.

### **2.6.1.2. Diferansiyel puls voltametri**

Dapagliflozinin elektrokimyasal davranışı DPV yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Dapagliflozinin elektrokimyasal analizi sırasında kullanılacak elektrolit çözeltilerinin uygun pH değerlerinin belirlenmesi için DPV yöntemi kullanılmıştır. Dapagliflozinin analitik uygulamaları, seçicilik, tekrarlanabilirlik, yeniden üretilebilirlik, girişim ve GK çalışmaları DPV yöntemi kullanılarak yapılmıştır.

### **2.6.2. Linagliptin analizi için kullanılan yöntemler**

#### **2.6.2.1. Dönüşümlü voltametri**

Üretilen sensör yüzeyinde linagliptin için gerçekleşen elektrokimyasal reaksiyon türünün belirlenmesi için yapılan çalışmalarda DV yöntemi kullanılmıştır. Linagliptinin elektrokimyasal reaksiyonu sırasında aktarılan elektron sayısının hesaplanması için yapılan çalışmalarda DV yöntemi kullanılmıştır. Linagliptinin elektrokimyasal analizi sırasında kullanılacak elektrolit çözeltilerinin uygun pH değerlerinin belirlenmesi için DV yöntemi kullanılmıştır.

#### **2.6.2.2. Diferansiyel puls voltametri**

Linagliptinin elektrokimyasal davranışı DPV yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Linagliptinin analitik uygulamaları, seçicilik, tekrarlanabilirlik, yeniden üretilebilirlik, girişim ve GK çalışmaları DPV yöntemi kullanılarak yapılmıştır.

## 2.7. Tez çalışmasında kullanılan sensörlerin hazırlanması

### 2.7.1. CKE yüzeylerine yapılan ön işlemler

Elektrokimyasal sensörler üretilmeden önce CKE yüzeyi, parlatma – cilalama plakaları üzerinde Al süspansiyonu ile cilalanmıştır. Cilalanan elektrot yüzeyindeki kaba Al kalıntıları ultra-saf su ile uzaklaştırılmıştır. Cilalanan ve kaba Al artıklarından temizlenen elektrotlar ultra-saf su ile uzaklaştırılmayan Al artıkları ve diğer safsızlıkları uzaklaştırmak için sırasıyla etanol ve ultra-saf su ile 5 dk ultrasonike edilmiştir. Ultrasonik banyodan alınan elektrotlar ortam sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Hazırlanan CKE'lar hem sensörlerin üretiminde kullanılmış hem de karşılaştırma amacıyla çalışma elektrodu olarak kullanılmıştır.

### 2.7.2. Sis@MoS<sub>2</sub> temelli sensörlerin hazırlanması

Sis@MoS<sub>2</sub> temelli elektrokimyasal sensörleri (Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE) hazırlamak için 1 mg Sis@MoS<sub>2</sub>, 1 mL ultra-saf suda dispers edilmiştir. Homojen bir dağılım sağlayabilmek için 1 mg/mL Sis@MoS<sub>2</sub> dispersiyonu her kullanımdan önce 1 dk süresince vorteksenmiştir. Daha önce cilalanıp temizlenen ve kurutulan CKE yüzeyine, elektrot yüzeyini tamamen kapatacak ancak taşmayacak şekilde, 6 µL 1 mg/mL Sis@MoS<sub>2</sub> dispersiyonu otomatik pipet yardımı ile damlatılmış ve ortam sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır.

### 2.7.3. MoS<sub>2</sub> temelli sensörlerin hazırlanması

Tez çalışmaları kapsamında karşılaştırma yapabilmek amacıyla MoS<sub>2</sub> temelli elektrokimyasal sensörler (1T-MoS<sub>2</sub>/CKE) hazırlanmıştır. 1T-MoS<sub>2</sub>/CKE hazırlanması için daha önce sentezlenip kurutulmuş ve toz haline getirilmiş Li<sub>x</sub>MoS<sub>2</sub> kompozitleri kullanılmıştır. İlk olarak kompozit yapıdan Li moleküllerini

uzaklaştırmak için  $\text{Li}_x\text{MoS}_2$  ultra-saf su ile yıkanmıştır. Yıkama işlemi için  $\text{Li}_x\text{MoS}_2$  santrifüj tüpüne alınarak üzerine ultra-saf su eklenmiş ve 5000 rpm hızda 15 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra süpernatant kısım atılmıştır. Bu işlem üç defa tekrar edilmiştir. Yıkama işlemi sonunda elde edilen  $\text{MoS}_2$  üzerine ultra-saf su eklenerek 1 mg/mL konsantrasyonda olacak şekilde dispersiyon hazırlanmıştır.  $\text{MoS}_2$  kompozitlerinin ultra-saf suda iyice dağılması için dispersiyon kullanılmadan önce 5 dk boyunca ultrasonike edilmiştir. Daha önceden cilalanıp temizlenmiş ve kurutulmuş CKE yüzeyine 6  $\mu\text{L}$  1 mg/mL  $\text{MoS}_2$  dispersiyonu otomatik pipet yardımı ile damlatılmış ve ortam sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır.

## **2.8. Tez çalışmasında kullanılan karakterizasyon yöntemleri**

### **2.8.1. X-ışınları kırınım spektroskopisi**

Tez çalışması sırasında kullanılan 2H-  $\text{MoS}_2$ ,  $\text{Li}_x\text{MoS}_2$ , 1T- $\text{MoS}_2$  ve  $\text{Sis@MoS}_2$  kompozitlerinin kristal yapıları, maddenin yüzeyine gönderilen x-ışınlarının kırılmasına ve bu kırılmanın derecesinin ölçülmesi esasına dayanan yüzey analiz metodu olan x-ışınları kırınım spektroskopisi (XRD) kullanılarak incelenmiştir.

### **2.8.2. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi**

Sisteinin 1T- $\text{MoS}_2$  yapısına bağlandığını doğrulamak için Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) yöntemi kullanılmıştır. Hem 1T- $\text{MoS}_2$  hem de  $\text{Sis@MoS}_2$  kompozitlerinin FTIR spektrumları kaydedilmiş ve piklerde meydana gelen değişiklikler incelenmiştir.

### **2.8.3. Geçirimli elektron mikroskobu**

Geçirimli elektron mikroskobu (TEM) yönteminde, çeşitli malzemeler ile kaplı ızgaralar üzerinde çok ince film halinde yerleştirilmiş numune üzerine çok yüksek enerjili elektronlar gönderilmekte ve elektronlar numunenin içinden geçmekte veya kırılmaktadır. TEM, numuneden geçen ışınların incelenmesi esasına dayanan görüntüleme yöntemidir. Tez çalışmaları kapsamında 1T-MoS<sub>2</sub> ve Sis@MoS<sub>2</sub> kompozitlerinin tabakalı yapılarını doğrulamak için TEM görüntüleri incelenmiştir. Numuneler formvar kaplı bakır ızgaralar üzerinde hazırlanılarak analize gönderilmiştir.

### **2.8.4. X-ışınları fotoelektron spektroskopisi**

Tez çalışmaları kapsamında sentezlenen 1T-MoS<sub>2</sub> ve Sis@MoS<sub>2</sub>'ün elementel düzeyde kompozisyonlarını incelemek için x-ışınları fotoelektron spektroskopisi (XPS) yöntemi kullanılmıştır. XPS metodunda numune üzerine gönderilen x-ışınlarının numune yüzeyi ile etkileşmesi sonucu elektronların yörüngelerden kopmakta ve kopan elektronların bağlanma enerjileri ölçülmektedir.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Karakterizasyon çalışmaları

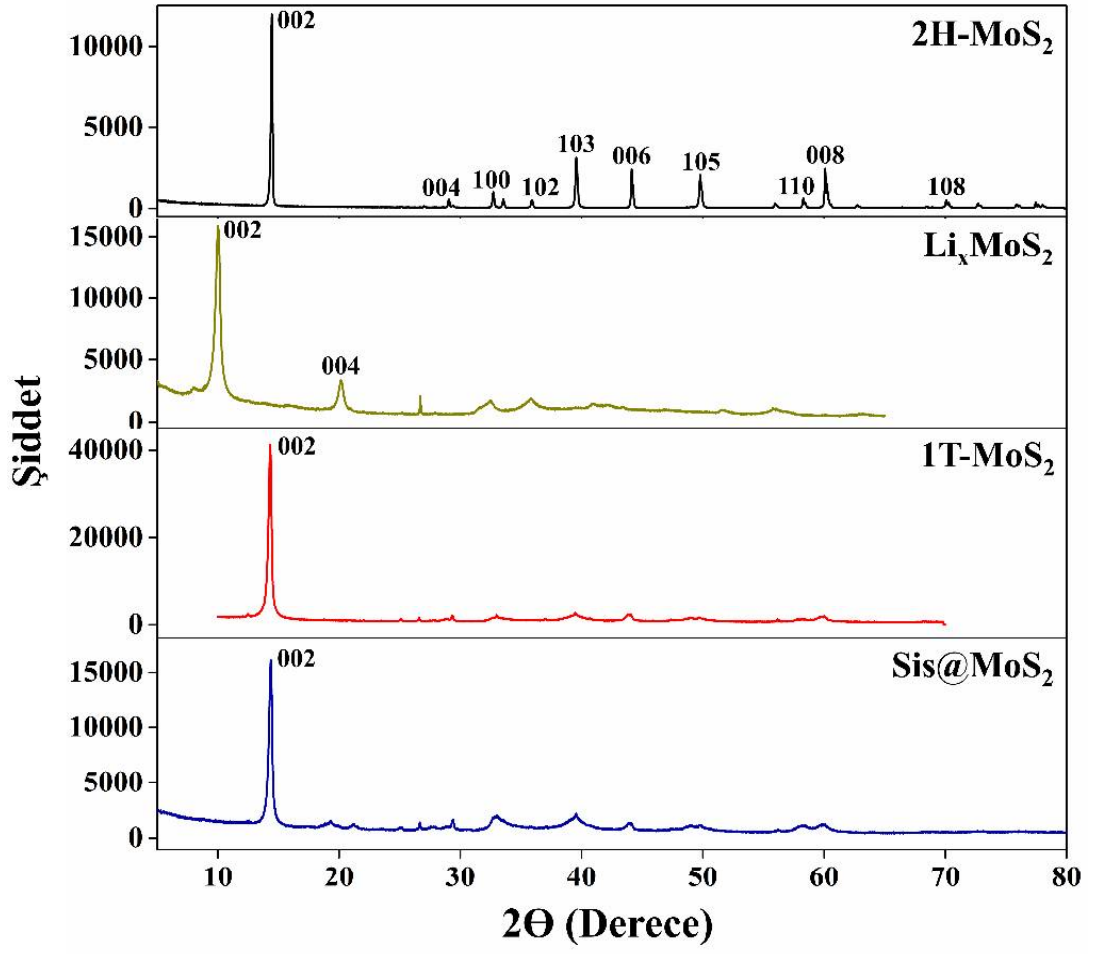
Tez çalışmaları kapsamında sentezlenen Sis@MoS<sub>2</sub> kompozitlerinin karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Sis@MoS<sub>2</sub>'ün kimyasal karakterizasyon çalışmaları tamamlandıktan sonra üretilen Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE sensörler için elektrokimyasal karakterizasyon çalışmaları tamamlanmıştır.

##### 3.1.1. Sis@MoS<sub>2</sub>'ün kimyasal karakterizasyonu

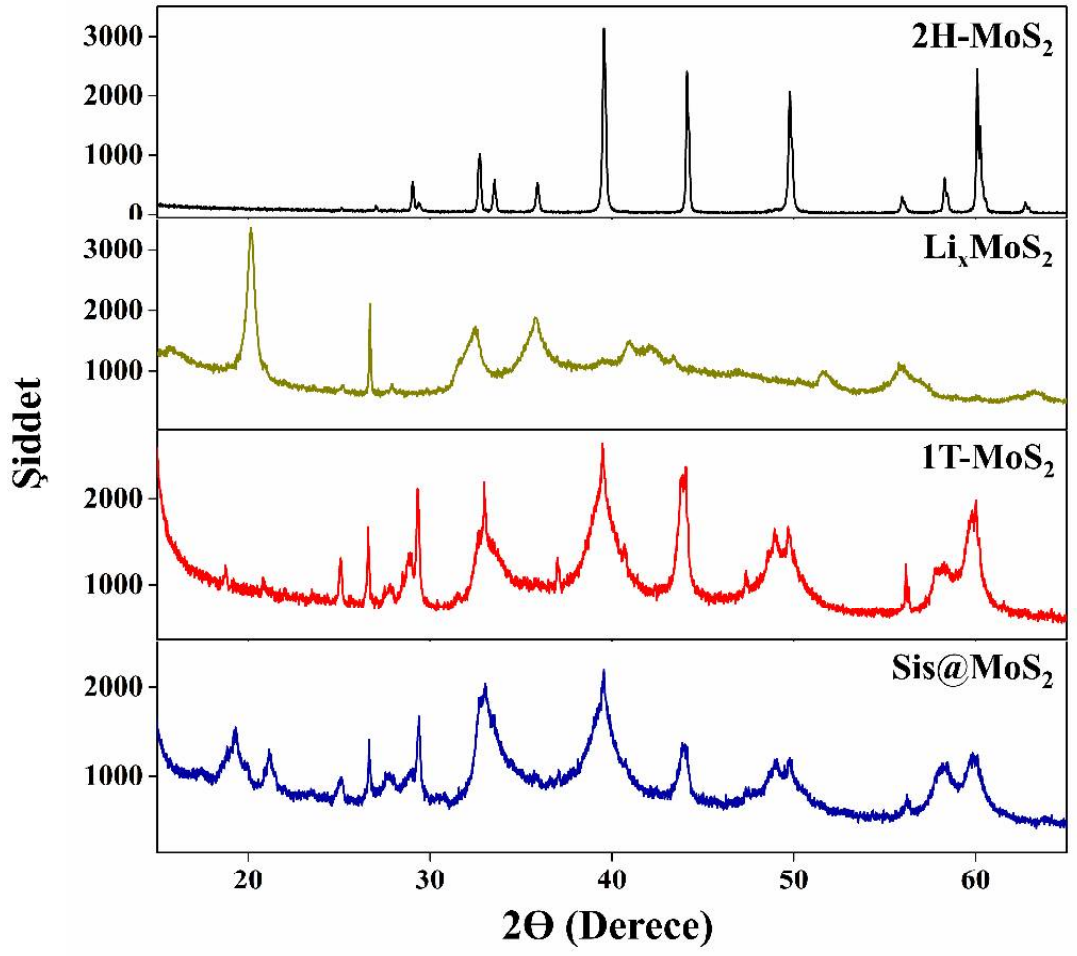
Sis@MoS<sub>2</sub> nano-malzemesinin kimyasal karakterizasyonu için XRD, XPS, FTIR ve TEM yöntemleri kullanılmıştır.

##### 3.1.1.1. XRD spektrumlarının incelenmesi

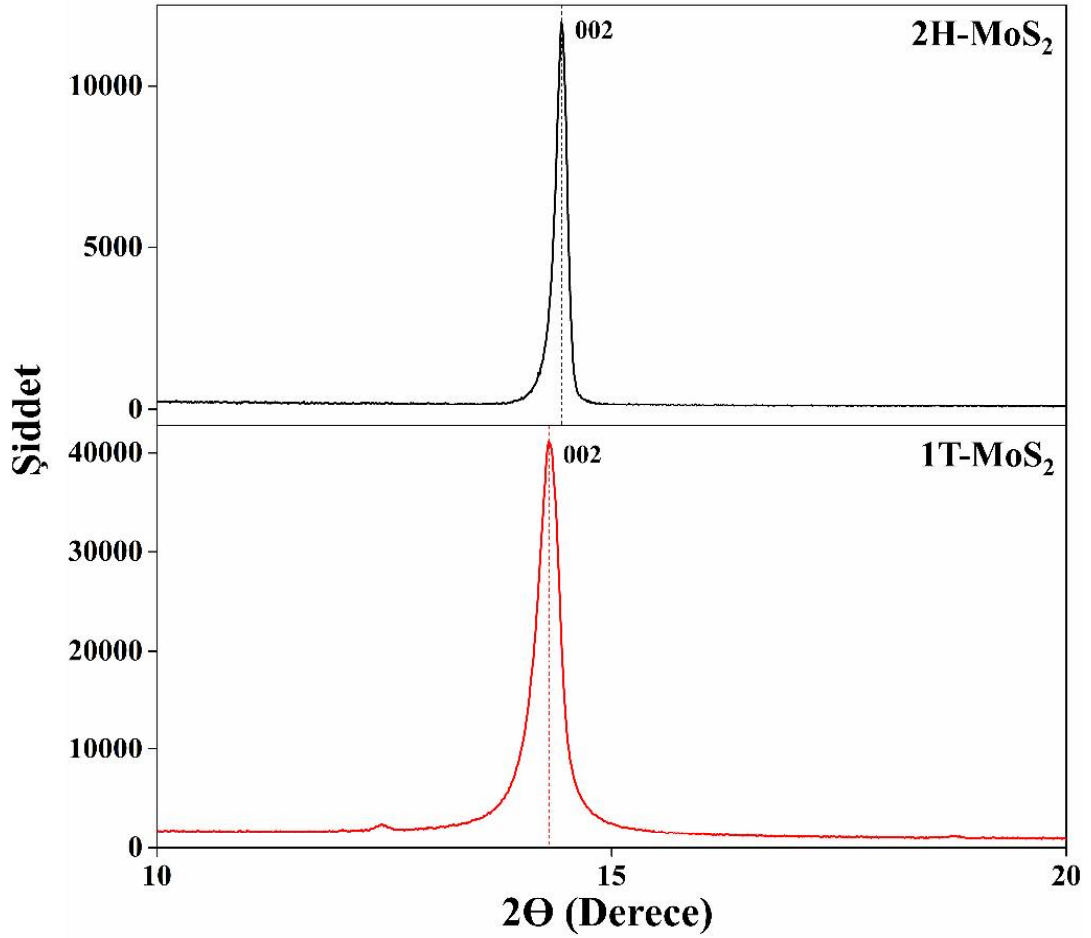
Bölüm 2.5'te belirtildiği üzere tez çalışmaları kapsamında ilk olarak Li – interkalasyon metodu kullanılarak 2H-MoS<sub>2</sub>'den hareketle Li<sub>x</sub>MoS<sub>2</sub> sentezlenmiştir. İşlem sırasında Li atomları MoS<sub>2</sub> tabakaları arasına girerek tabakalar arası mesafenin artmasını sağlamaktadır. Li – interkalasyon metodu aynı zamanda MoS<sub>2</sub>'ün 2H fazından 1T fazına dönüşümünü sağlamaktadır. Yine bölüm 2.5'te Li<sub>x</sub>MoS<sub>2</sub>'den hareketle Sis@MoS<sub>2</sub> yapısının sentezlendiği belirtilmiştir. Bölüm 2.7.3'te Li<sub>x</sub>MoS<sub>2</sub> moleküllerinin ultra-saf su ile yıkanarak Li atomlarının yapıdan uzaklaştırıldığı ve 1T-MoS<sub>2</sub>'ün sensör üretiminde kullanıldı belirtilmiştir. Tez çalışmaları kapsamında kullanılan 2H-MoS<sub>2</sub>, Li<sub>x</sub>MoS<sub>2</sub>, 1T-MoS<sub>2</sub> ve Sis@MoS<sub>2</sub>'ün kristal yapıları XRD yöntemi ile incelenmiştir. Maddelere ait XRD spektrumları Şekil 3.1. ve Şekil 3.2.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. 2H-MoS<sub>2</sub>, Li<sub>x</sub>MoS<sub>2</sub>, 1T-MoS<sub>2</sub> ve Sis@MoS<sub>2</sub>'e ait XRD spektrumları



Şekil 3.2. 2H-MoS<sub>2</sub>, Li<sub>x</sub>MoS<sub>2</sub>, 1T-MoS<sub>2</sub> ve Sis@MoS<sub>2</sub>'e ait yakınlaştırılmış XRD spektrumları



**Şekil 3.3.** 2H-MoS<sub>2</sub> ve 1T-MoS<sub>2</sub>'ün (002) düzlemlerine ait kırınım pikleri

Şekil 3.1.'de 2H-MoS<sub>2</sub>'e ait  $2\theta = 14.46^\circ$  de (002) düzlemine ait karakteristik kırınım piki görülmektedir. Toz Kırınım Standartları Ortak Komitesi veri tabanında 03-065-0160 kart numarasıyla kayıtlı olan tipik MoS<sub>2</sub> ile uyumlu olarak, diğer kırınım piklerinin konumları ve düzlemleri Çizelge 3.1.'de gösterilmiştir. Li – interkalasyon işleminden sonra 2H-MoS<sub>2</sub>'de  $2\theta = 14.46^\circ$  de gözlenen (002) düzlemine ait kırınım piki, Li<sub>x</sub>MoS<sub>2</sub>'de  $2\theta = 10.02^\circ$ 'ye,  $2\theta = 29.1^\circ$ 'de gözlenen (004) düzlemine ait kırınım piki  $2\theta = 20.16^\circ$ 'ye kaymıştır. Piklerdeki bu kaymalar, tabakalar arası mesafenin ( $d_s$ ) arttığını ve eksfoliasyon işleminin başarılı şekilde gerçekleştiğini göstermektedir (Acerce ve ark., 2015). Şekil 3.1. ve 3.2.'de görüldüğü üzere 2H-MoS<sub>2</sub>'e kıyasla 1T-MoS<sub>2</sub>'de daha geniş ve zayıf pikler gözlenmiştir. Bu durum MoS<sub>2</sub> tabakaları arasındaki van der Waals kuvvetleri ile kısmen tekrar bir araya toplanmasından kaynaklanmaktadır. Piklerin genişlemesi ve bazı piklerin kaybolması da eksfoliasyon

işleminin başarılı olduğunu doğrulamaktadır (Cheng ve ark., 2016). Şekil 3.3.'te görüldüğü üzere, 1T-MoS<sub>2</sub>'de (002) düzlemine ait kırınım piki  $2\Theta = 14.31^\circ$ ye kaymıştır. 2H-MoS<sub>2</sub>, Li<sub>x</sub>MoS<sub>2</sub>, 1T-MoS<sub>2</sub> ve Sis@MoS<sub>2</sub>'ün (002) düzlemlerine ait  $d_s$  değerleri Çizelge 3.2.'de belirtilmiştir. Yapıya sistein eklendikten sonra  $2\Theta = 19.3^\circ$  de ve  $2\Theta = 21.1^\circ$  de iki yeni kırınım piki gözlenmiştir. Kırınım piklerinin MoS<sub>2</sub>'ün (004) düzlemi ile alakalı olduğu, sistein moleküllerinin MoS<sub>2</sub> tabakalarına iki farklı bağlanma şekliyle bağlandığı ve (004) düzlemine ait kırınım pikinin yarıldığı düşünülmektedir.

**Çizelge 3.1.** 2H-MoS<sub>2</sub>'nin farklı düzlemlerine ait kırınım piklerinin pozisyonları

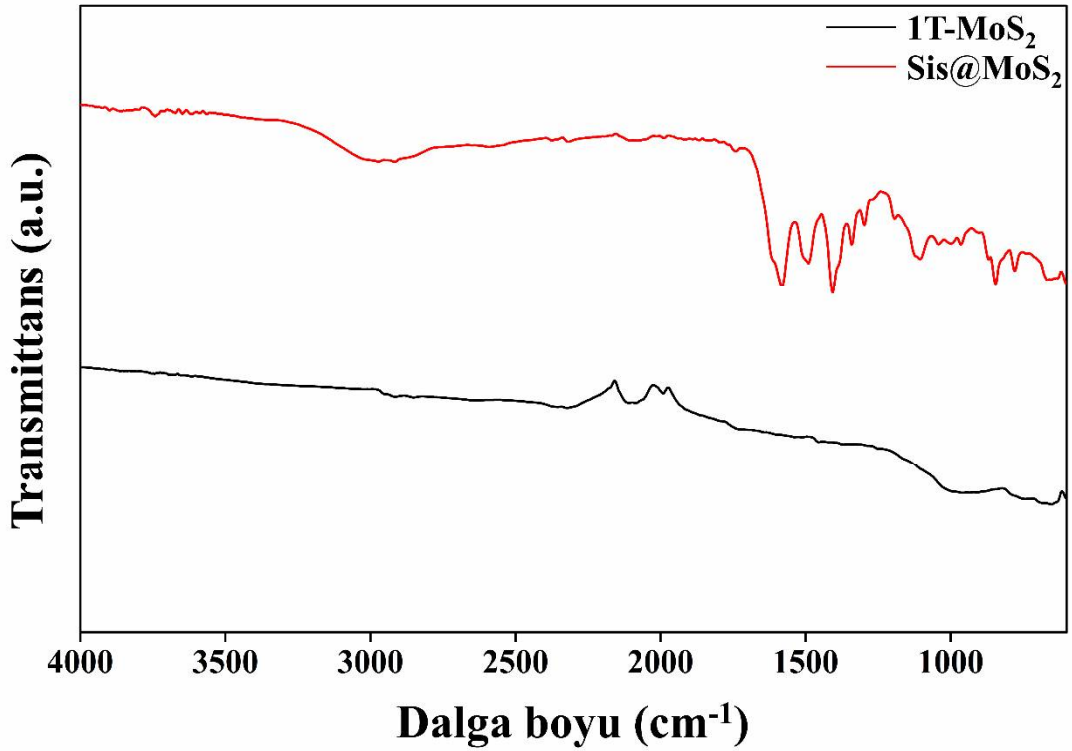
Düzlem (h-k-l)	$2\Theta$ (Derece)
(002)	14.46
(004)	29.02
(100)	32.77
(102)	35.90
(103)	39.56
(006)	44.14
(105)	49.79
(110)	58.28
(008)	60.08
(108)	70.08

**Çizelge 3.2.** 2H-MoS<sub>2</sub>, Li<sub>x</sub>MoS<sub>2</sub>, 1T-MoS<sub>2</sub> ve Sis@MoS<sub>2</sub>'ün (002) düzlemlerine ait  $d_s$  değerleri

Malzeme	$d_s$ (nm)
2H-MoS <sub>2</sub>	0.613
Li <sub>x</sub> MoS <sub>2</sub>	0.882
1T-MoS <sub>2</sub>	0.619
Sis@MoS <sub>2</sub>	0.616

### 3.1.1.2. FTIR spektrumlarının incelenmesi

Sistein moleküllerinin 1T-MoS<sub>2</sub> yapısına bağlandığını doğrulamak amacıyla 1T-MoS<sub>2</sub> ve Sis@MoS<sub>2</sub>'e ait FTIR spektrumları incelenmiştir. Şekil 3.4.'te 1T-MoS<sub>2</sub> ve Sis@MoS<sub>2</sub>'e ait FTIR spektrumları gösterilmiştir. Daha önce rapor edilmiş çalışmalarla uyumlu olarak (Gao ve ark., 2013; Jia ve ark., 2017), MoS<sub>2</sub> için 650 – 4000 cm<sup>-1</sup> dalga boyu aralığında önemli bir pik gözlenmemiştir. Sis@MoS<sub>2</sub>'ün spektrumu incelendiğinde MoS<sub>2</sub>'de görülmeyen yeni pikler gözlenmiştir. Yeni pikler yapıdaki sistein moleküllerinden kaynaklanmaktadır. Sis@MoS<sub>2</sub>'e ait piklerin dalga boyları ve hangi yapılara karşılık geldikleri (Pawlukojć ve ark., 2005) Çizelge 3.3.'te detaylı olarak belirtilmiştir.



Şekil 3.4. MoS<sub>2</sub> ve Sis@MoS<sub>2</sub>'e ait FTIR spektrumları

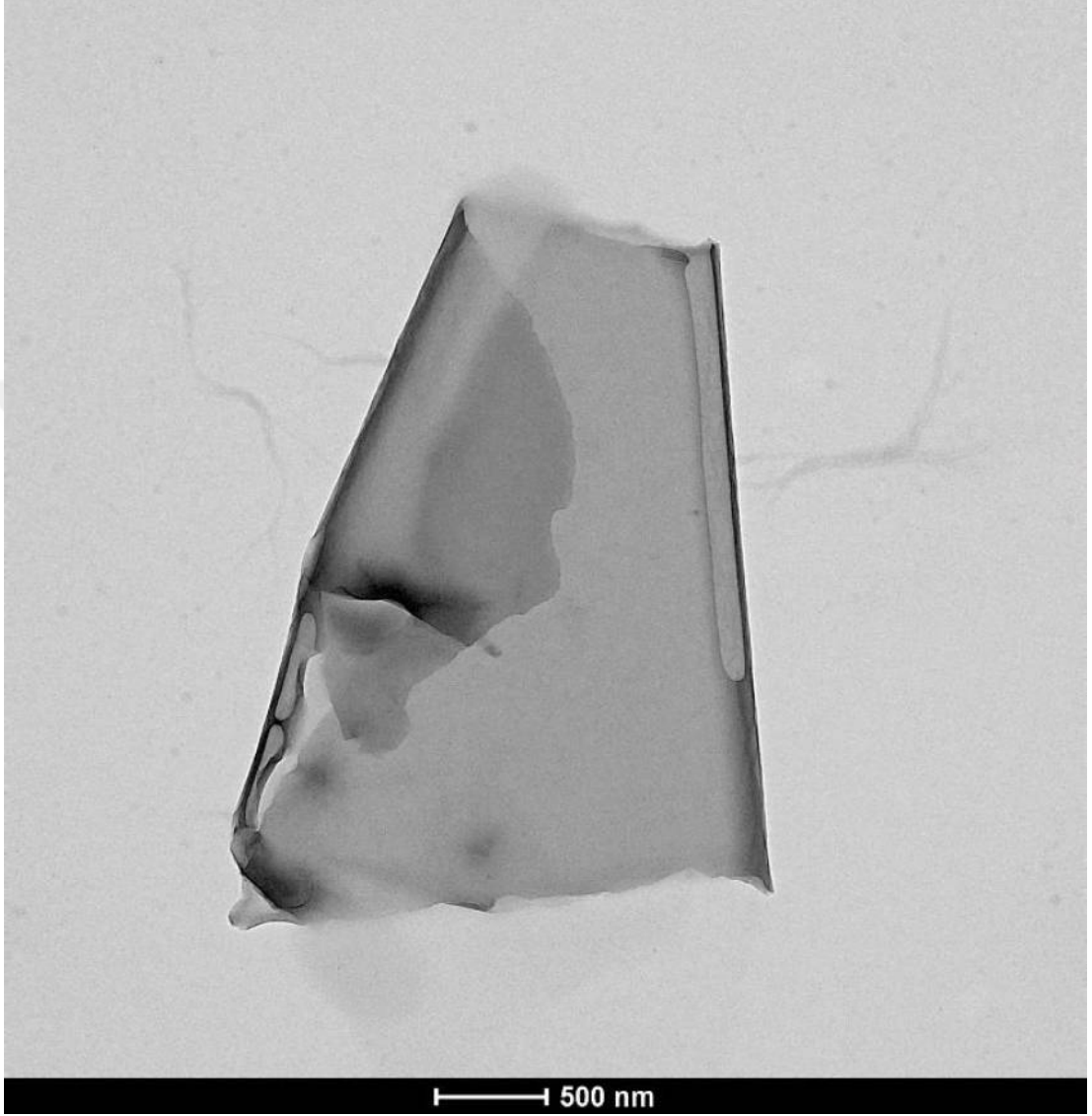
**Çizelge 3.3.** Sis@MoS<sub>2</sub>'e ait FTIR spektrumundaki bantların dalga boyları ve karşılık geldiği yapılar

Dalga boyu (cm <sup>-1</sup> )	Yapı
1612	NH <sub>3</sub> (Asimetrik eğilme)
1582	NH <sub>3</sub> (Asimetrik eğilme)
1408	CH <sub>2</sub>
1384	CO <sub>2</sub> (Simetrik eğilme)
1339	NH <sub>3</sub> (Simetrik eğilme)
1298	CH <sub>2</sub> (düzlem dışı eğilme)
1196	CH <sub>2</sub> (düzlem dışı eğilme)
1105	CH
1045	NH <sub>3</sub> (Düzlem içi eğilme)
999	NH <sub>3</sub> (Düzlem içi eğilme)
847	C–C gerilmesi
781	CH <sub>2</sub> (Düzlem içi eğilme)

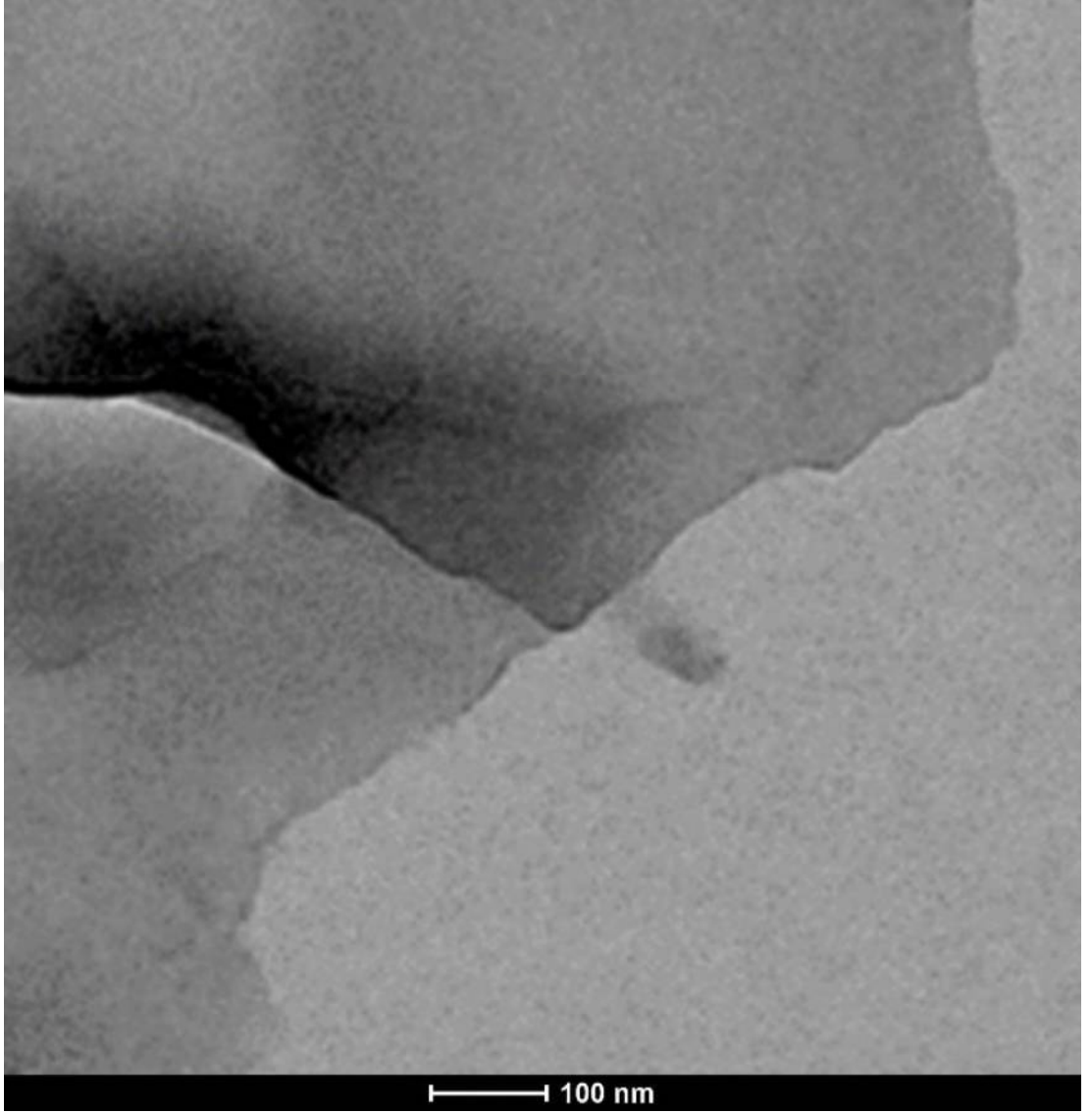
### 3.1.1.3. TEM görüntülerinin incelenmesi

1T-MoS<sub>2</sub> ve Sis@MoS<sub>2</sub>'ün morfolojik yapıları TEM görüntüleri kullanılarak incelenmiştir. Şekil 3.5. ve 3.6.'da 1T-MoS<sub>2</sub>'e ait, Şekil 3.7.'de ise Sis@MoS<sub>2</sub>'e ait TEM görüntüleri yer almaktadır. Şekil 3.5'te, literatürde daha önce bildirilmiş çalışmalara (Gao ve ark., 2013; Gao ve ark., 2019; Zhou ve ark., 2018) benzeyen tipik MoS<sub>2</sub> tabakaları görülmektedir. Her iki yapıda da gözlenen çoklu koyu bölgeler, üst üste konumlanmış eksfolie yapıyı doğrulamaktadır (Kukkar ve ark., 2016). Şekil 3.7.'de görüldüğü üzere, bu koyu bölgeler Sis@MoS<sub>2</sub> yapısında artış göstermiştir. Bu artışın, 1T-MoS<sub>2</sub> yapısına sistenin dahil olmasıyla artan S bağlarından kaynaklandığı düşünülmektedir. 1T-MoS<sub>2</sub> ile Sis@MoS<sub>2</sub> yapıları arasında dikkat çeken bir diğer fark ise Sis@MoS<sub>2</sub>'ün dalgalı yapısıdır ki dalgalı yapı bölüm 3.1.1.1'de açıklanan (004) düzlemine ait kırınım pikinin yarılması ile uyum içerisindedir. (004) düzleminin  $d_s$  değerleri arasındaki fark yapıya sistenin katıldığına kanıttır. Çünkü sistenin yapısındaki S atomları Mo ile bağ yapmakta ve Mo'den elektron çekmektedir. Bunun

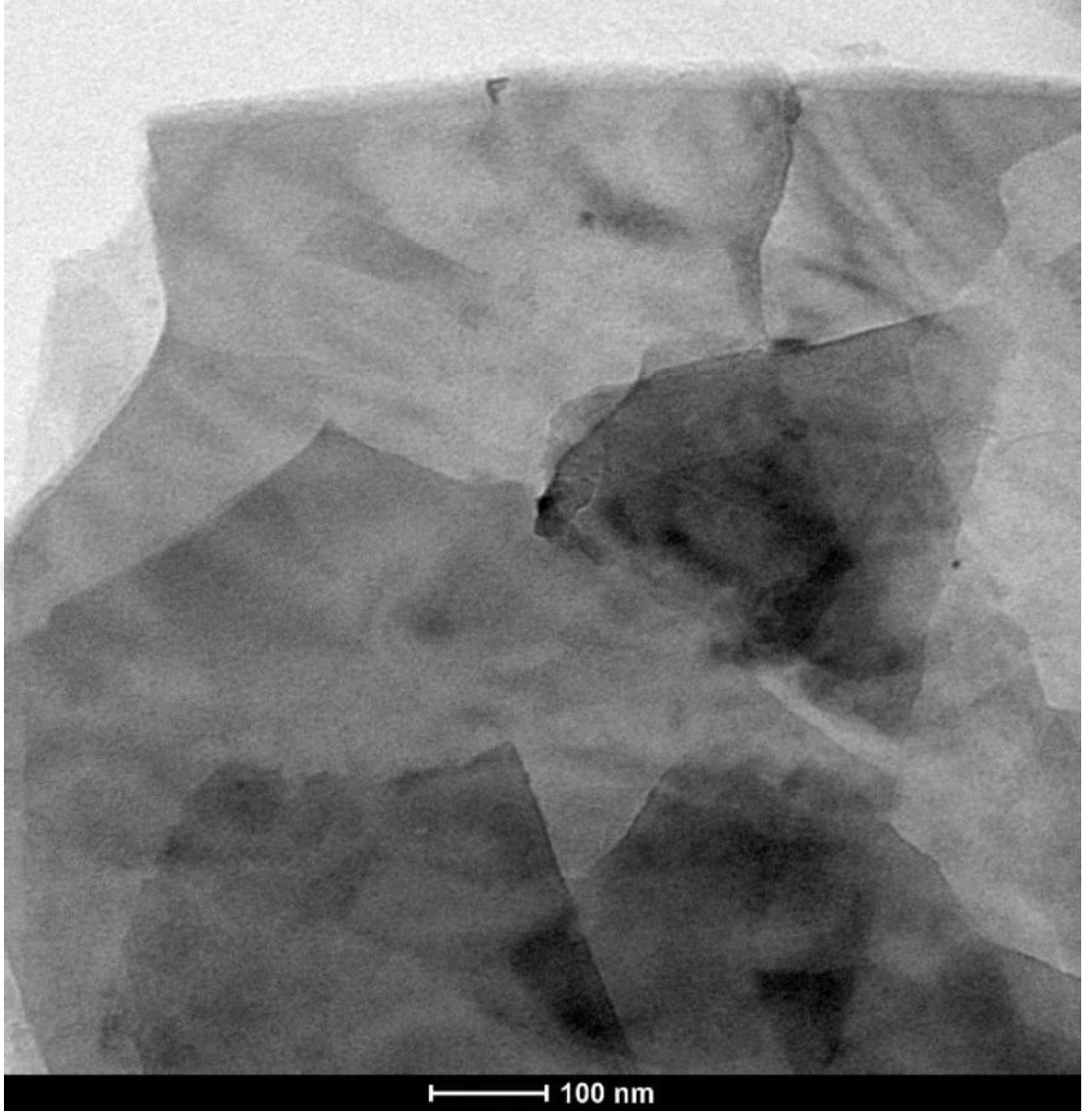
sonucunda MoS<sub>2</sub>'ün kendi yapısındaki Mo-S bağı zayıflayarak ve gerilmektedir. Bu gerilme sonucu yapıda dalgalanmalar gözlenmiştir.



Şekil 3.5. 1T-MoS<sub>2</sub>'e ait TEM görüntüsü



**Şekil 3.6.** Şekil 3.5.'ten yakınlaştırılmış kesit



**Şekil 3.7.** Sis@MoS<sub>2</sub>'e ait TEM görüntüsü

#### **3.1.1.4. XPS spektrumlarının incelenmesi**

Tez çalışmaları kapsamında sentezlenen 1T-MoS<sub>2</sub> ve Sis@MoS<sub>2</sub>'ün elementel yapılarını aydınlatmak amacıyla XPS spektrumları incelenmiştir. Şekil 3.8. ve 3.9.'da 1T-MoS<sub>2</sub>'ün Mo3d ve S2p çekirdek seviyelerine ait XPS spektrumları, Şekil 3.10., 3.11. ve 3.12.'de Sis@MoS<sub>2</sub>'ün Mo3d, S2p ve C1s çekirdek seviyelerine ait XPS spektrumları gösterilmiştir. Çizelge 3.4. ve Çizelge 3.5.'te sırasıyla 1T-MoS<sub>2</sub> ve Sis@MoS<sub>2</sub>'ye ait pikler detaylı olarak gösterilmiştir. Piklerin konumlarının literatürde

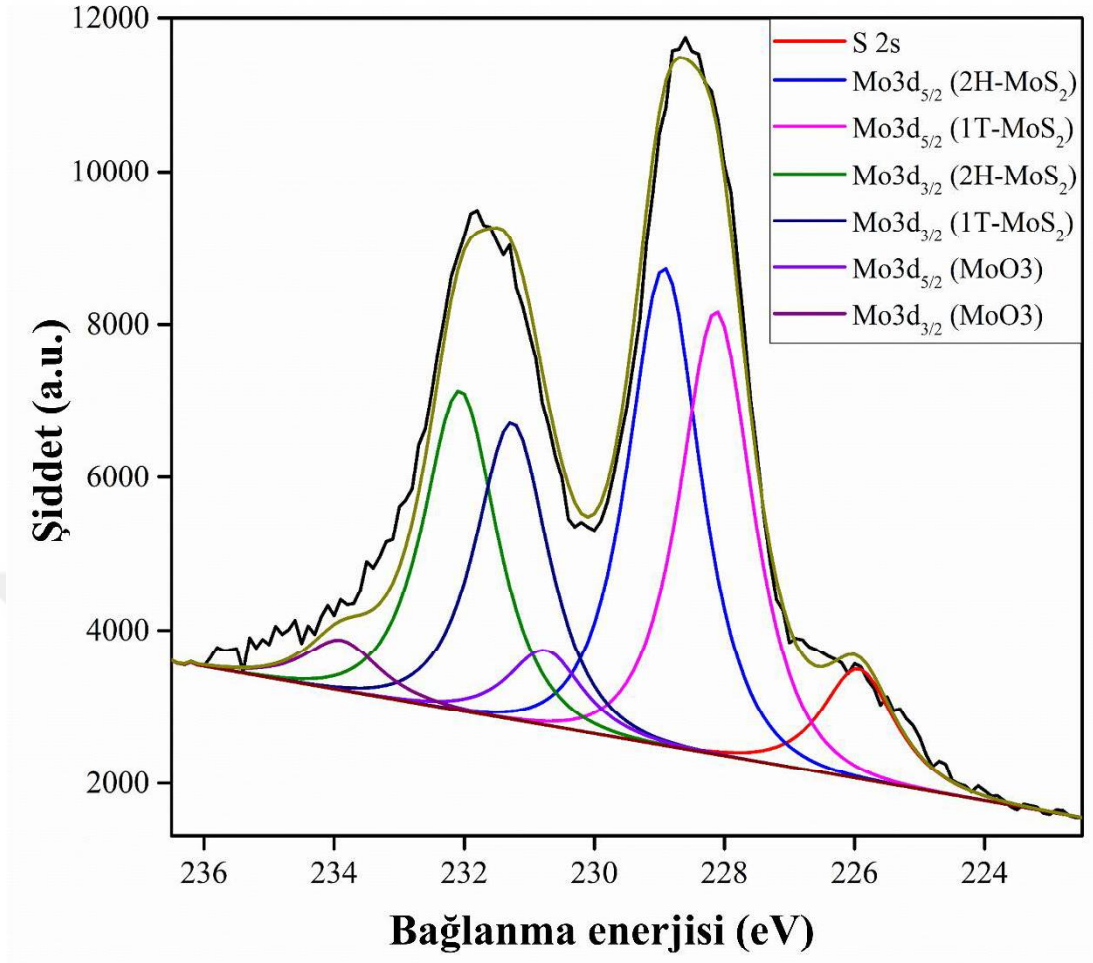
daha önce bildirilen değerlerle uyumlu olduğu gözlenmiştir (Jiang ve ark., 2015; Sim ve ark., 2017; Wang ve ark., 2018). Şekil 3-12.'de Şekil 3-9.'a kıyasla fazladan bir çift S2p piki gözlenmektedir. Bu pikler, Sis@MoS<sub>2</sub> yapısındaki sisteinden kaynaklanmaktadır. XPS verileri kullanılarak Sis@MoS<sub>2</sub> yapısındaki S:Mo atomik oranı 2.5 olarak hesaplanmıştır. Bu değer 2'nin üzerinde olması yapıya katılan sistenin de S atomları ihtiva etmesinden kaynaklanmaktadır.

**Çizelge 3.4.** 1T-MoS<sub>2</sub>'ün Mo3d ve S2p çekirdek seviyelerine ait XPS spektrumları

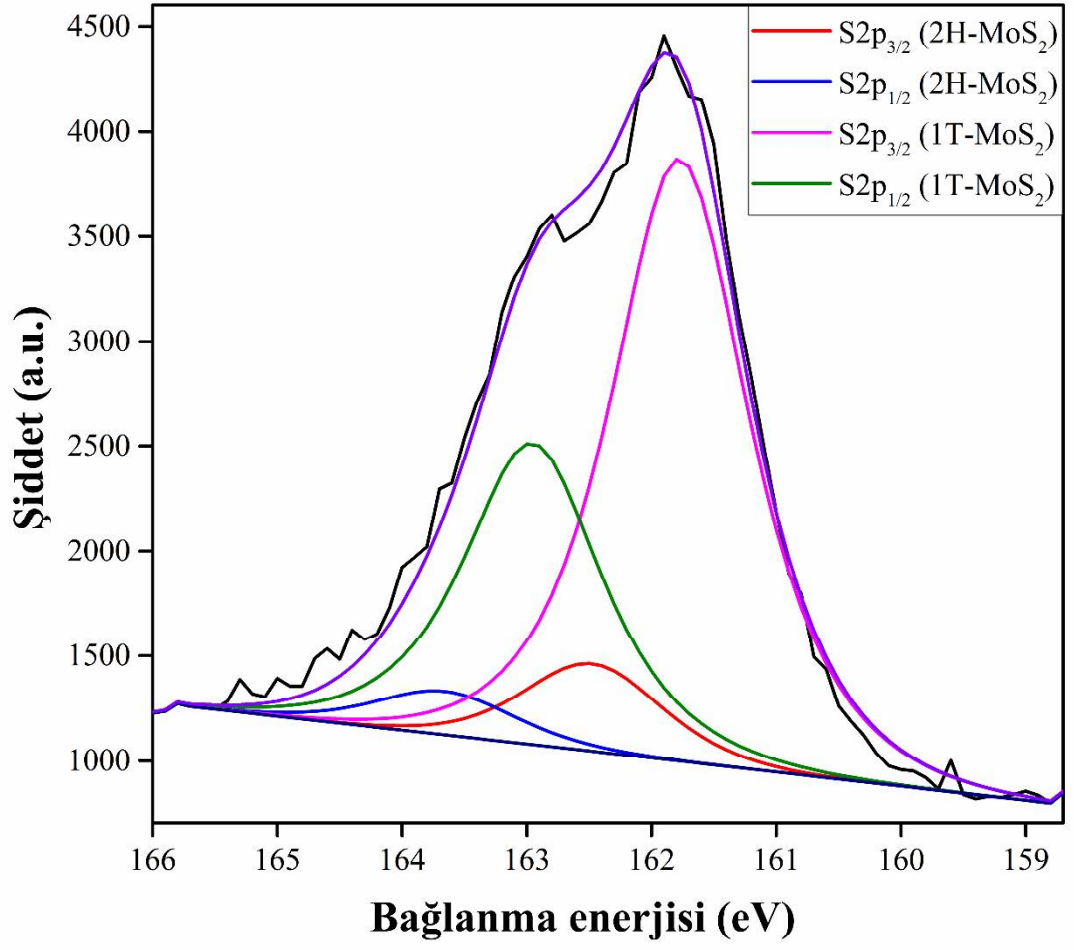
Çekirdek seviyesi	Komponent	Komponent oranı (%)	Bağlanma Enerjisi (eV)
Mo3d	S2s	-	225.94
	Mo3d <sub>5/2</sub> (2H)	28.73	228.92
	Mo3d <sub>5/2</sub> (1T)	26.64	228.12
	Mo3d <sub>3/2</sub> (2H)	19.07	232.06
	Mo3d <sub>3/2</sub> (1T)	17.85	231.26
	MoO <sub>3/2</sub>	4.50	230.75
	MoO <sub>3/2</sub>	3.02	233.89
S2p	S2p <sub>3/2</sub> (2H)	7.92	162.47
	S2p <sub>3/2</sub> (1T)	58.74	161.77
	S2p <sub>1/2</sub> (2H)	3.96	163.65
	S2p <sub>1/2</sub> (1T)	29.37	162.95

**Çizelge 3.5.** Sis@MoS<sub>2</sub>'ün Mo3d, S2p ve C1s çekirdek seviyelerine ait XPS spektrumları

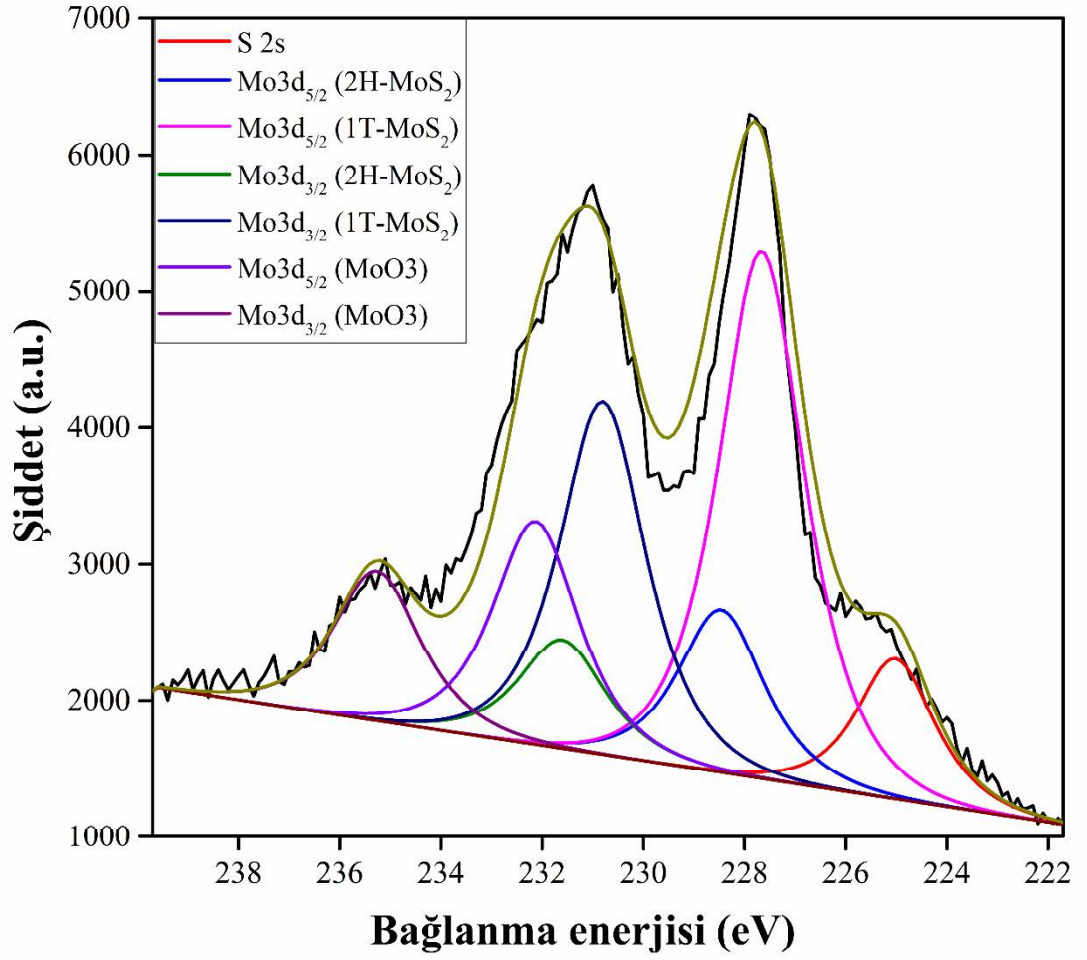
Çekirdek seviyesi	Komponent	Komponent oranı (%)	Bağlanma Enerjisi (eV)
Mo3d	S2s	-	225.01
	Mo3d <sub>5/2</sub> (2H)	10.65	228.46
	Mo3d <sub>5/2</sub> (1T)	34.59	227.66
	Mo3d <sub>3/2</sub> (2H)	7.13	231.60
	Mo3d <sub>3/2</sub> (1T)	23.17	230.80
	MoO <sub>3/2</sub>	14.64	232.13
	MoO <sub>3/2</sub>	9.81	235.27
S2p	S2p <sub>3/2</sub> (2H)	36.80	161.22
	S2p <sub>3/2</sub> (1T)	14.16	160.52
	S2p <sub>1/2</sub> (2H)	18.40	162.40
	S2p <sub>1/2</sub> (1T)	7.08	161.70
	S2p <sub>3/2</sub> (Sistein)	15.71	162.80
	S2p <sub>1/2</sub> (Sistein)	7.85	163.98
C1s	C-C, C-H	40.20	284.40
	C-S	21.63	285.55
	C-N	17.90	288.09
	O-C=O	27.27	289.28



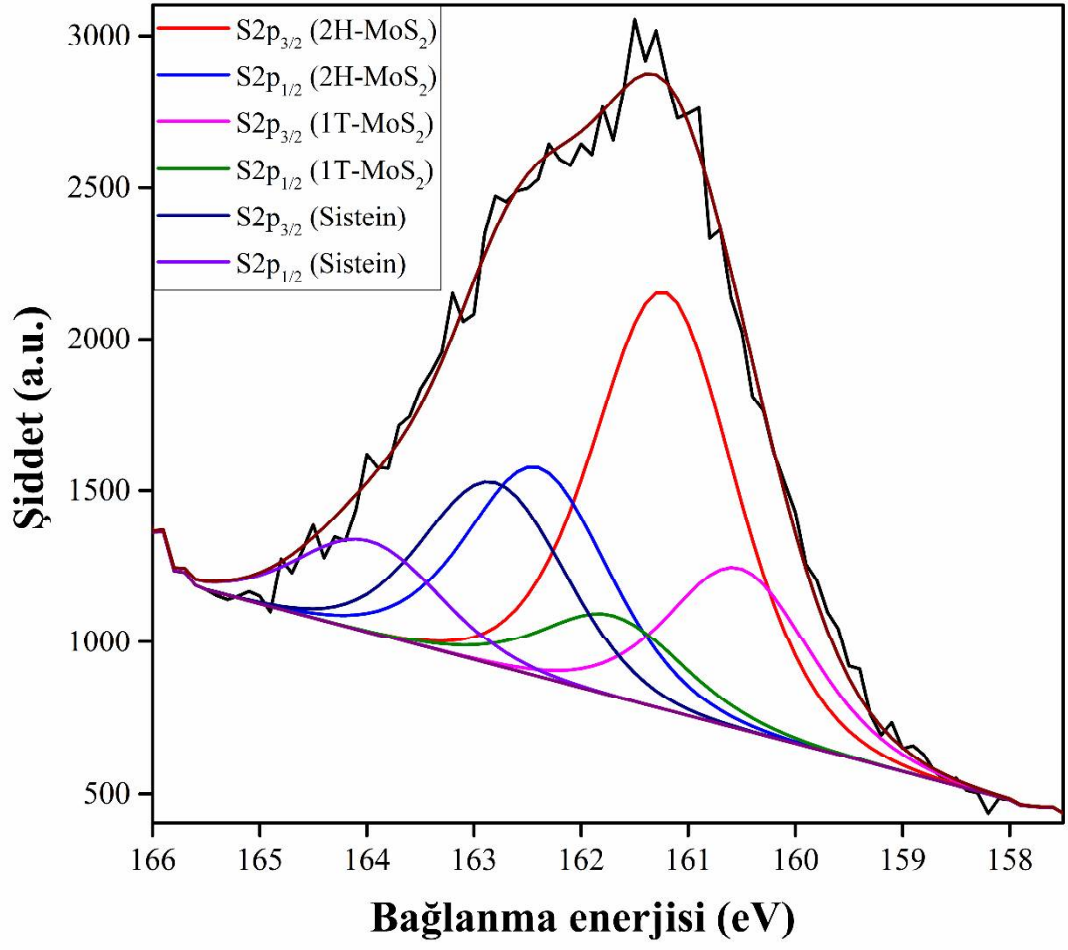
Şekil 3.8. 1T-MoS<sub>2</sub>'ün Mo3d çekirdek seviyesine ait XPS spektrumu



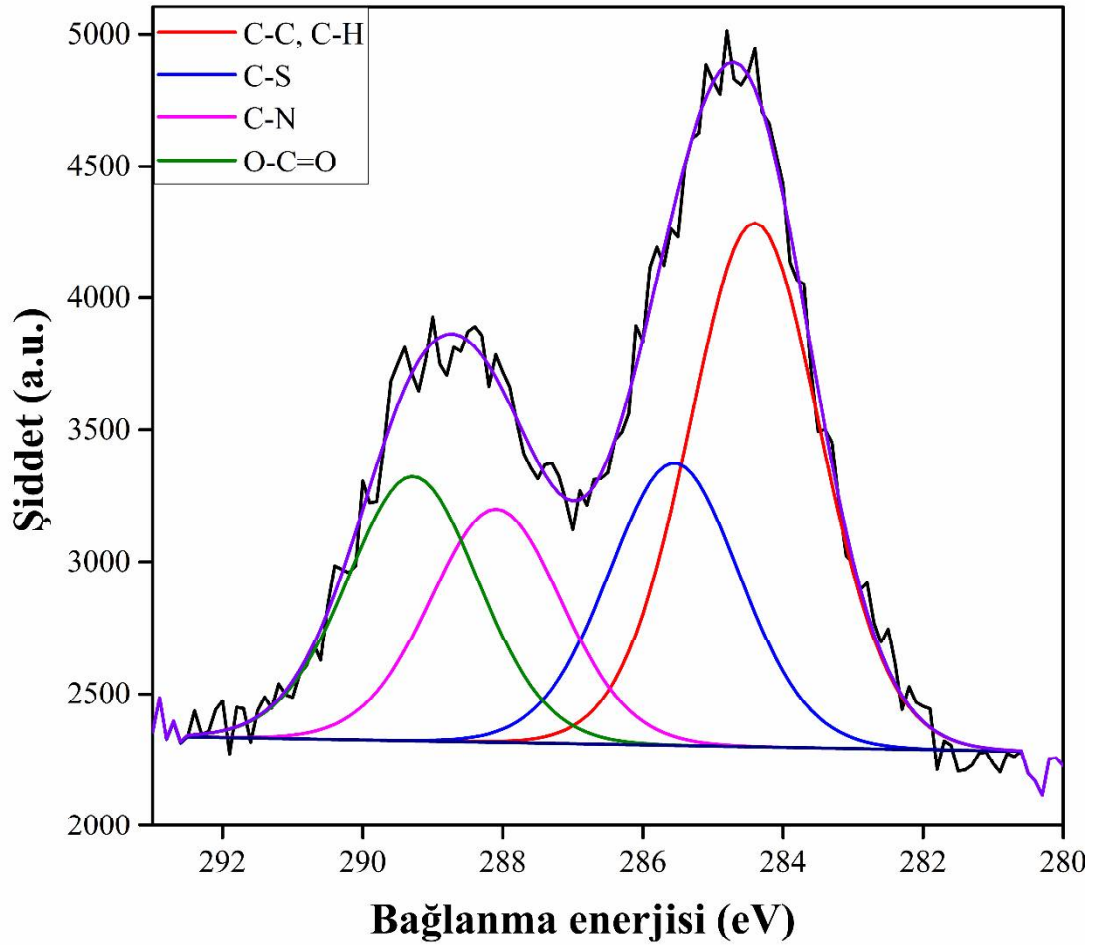
Şekil 3.9. 1T-MoS<sub>2</sub>'ün S2p çekirdek seviyesine ait XPS spektrumu



Şekil 3.10. Sis@MoS<sub>2</sub>'ün Mo3d çekirdek seviyesine ait XPS spektrumu



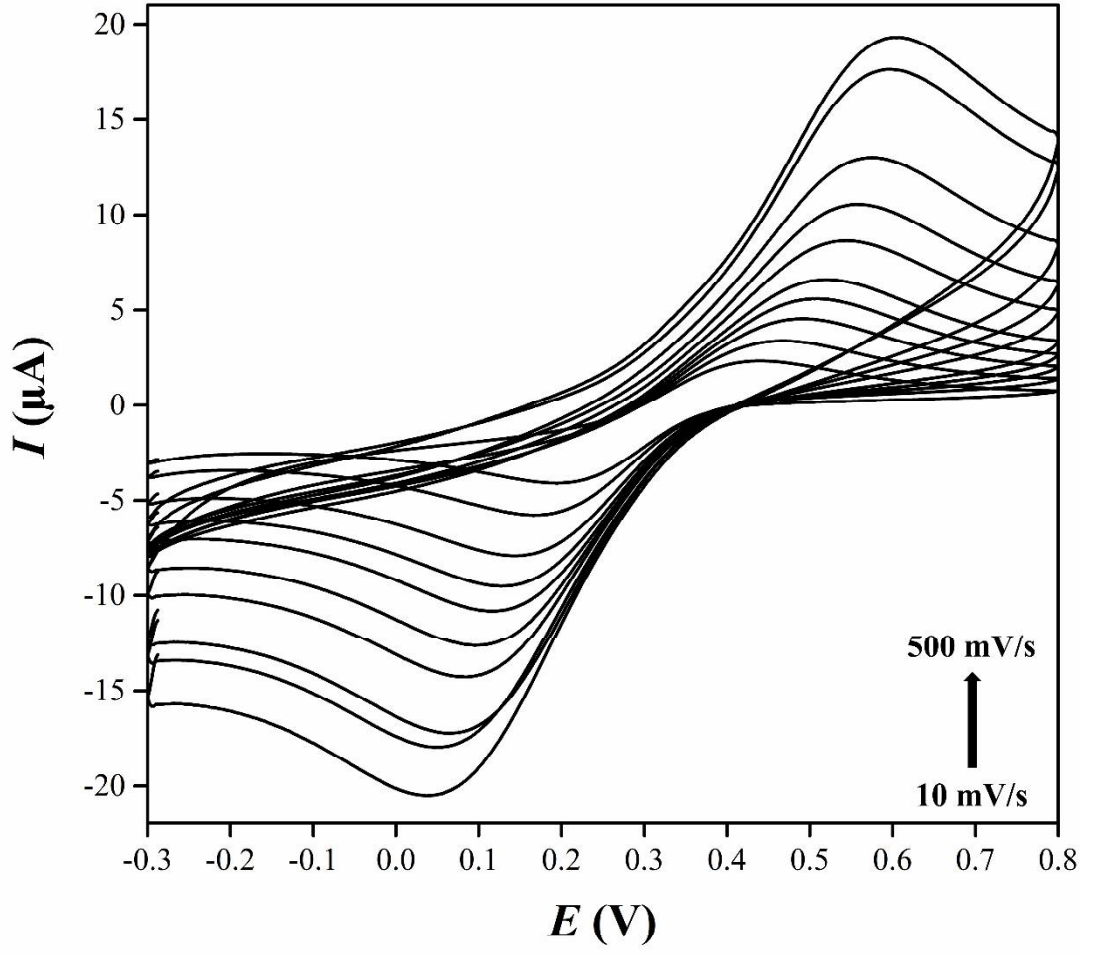
Şekil 3.11. Sis@MoS<sub>2</sub>'ün S2p çekirdek seviyesine ait XPS spektrumu



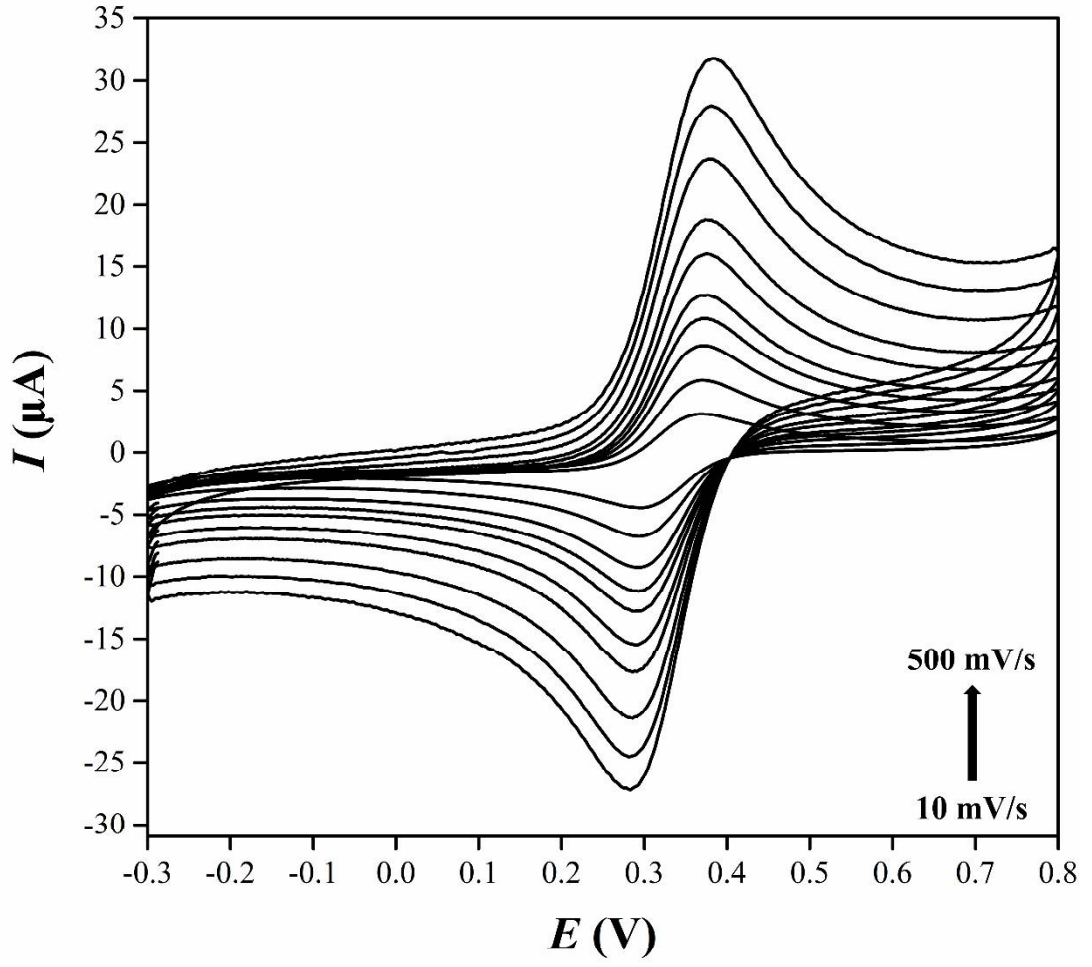
Şekil 3.12. Sis@MoS<sub>2</sub>'ün C1s çekirdek seviyesine ait XPS spektrumu

### 3.1.2. Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE'un elektrokimyasal karakterizasyonu

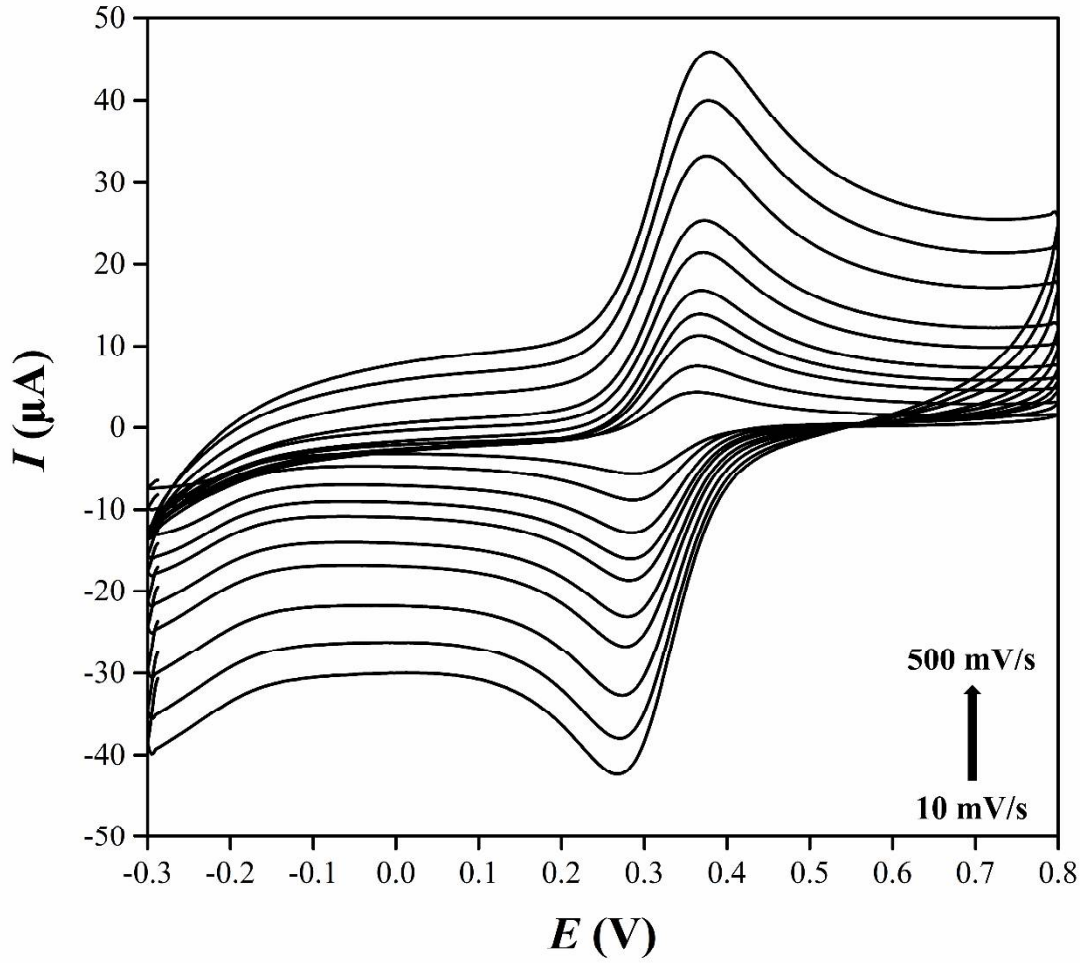
Tez çalışmaları kapsamında üretilen Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE sensörlerin elektrokimyasal karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Üretilen sensörlerin elektroaktif yüzey alanı ( $A$ ) ve heterojen elektron aktarım hız sabiti ( $k^0$ ) hesaplanmıştır. Her iki parametrenin hesaplanması için Fe(CN)<sub>3</sub><sup>3-</sup>/Fe(CN)<sub>6</sub><sup>4-</sup> redoks sistemi kullanılmıştır. 1 M KNO<sub>3</sub> içinde 1 mM K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] çözeltisinin CKE, 1T-MoS<sub>2</sub>/CKE ve Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeylerinde -0,3 – 0,8 V potansiyel aralığında 10, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 300, 400 ve 500 mV/s tarama hızlarında dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiştir. Şekil 3.13., Şekil 3.14. ve Şekil 3.15.'te sırasıyla 1 M KNO<sub>3</sub> içinde 1 mM K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] çözeltisinin CKE, 1T-MoS<sub>2</sub>/CKE ve Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeylerindeki DV'ları gösterilmiştir.



**Şekil 3.13.** 1 M  $KNO_3$  içinde 1 mM  $K_3[Fe(CN)_6]$  çözeltisinin CKE yüzeyinde farklı tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramları

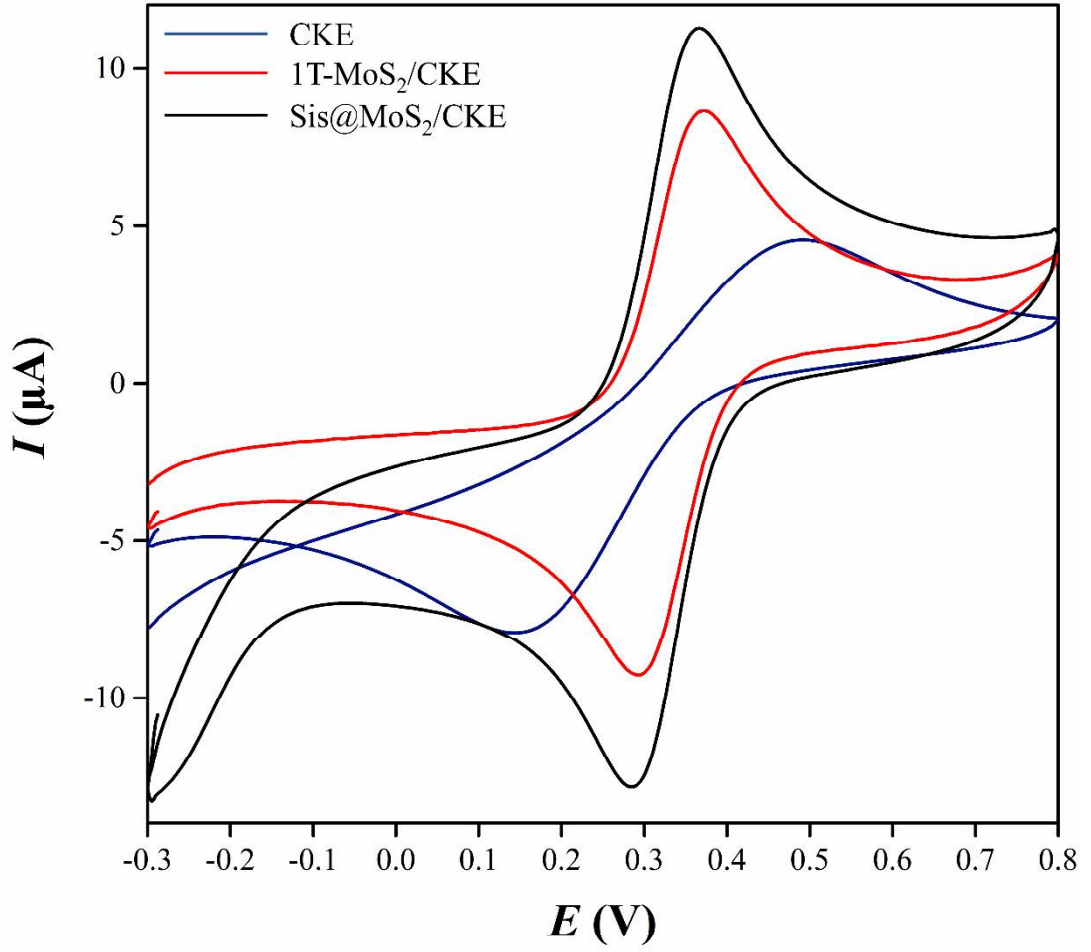


**Şekil 3.14.** 1 M  $\text{KNO}_3$  içinde 1 mM  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  çözeltisinin 1T- $\text{MoS}_2/\text{CKE}$  yüzeyinde farklı tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramları



**Şekil 3.15.** 1 M  $\text{KNO}_3$  içinde 1 mM  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  çözeltisinin  $\text{Sis@MoS}_2/\text{CKE}$  yüzeyinde farklı tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramları

Şekil 3.16.'da 1 M  $\text{KNO}_3$  içinde 1 mM  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  çözeltisinin CKE, 1T- $\text{MoS}_2/\text{CKE}$  ve  $\text{Sis@MoS}_2/\text{CKE}$  yüzeylerinde 50 mV/s tarama hızındaki dönüşümlü voltamogramları görünmektedir. Görüldüğü üzere, CKE yüzeyinde anodik ve katodik pik potansiyelleri arasındaki fark ( $\Delta E_p$ ) 345 mV iken, bu değer 1T- $\text{MoS}_2/\text{CKE}$  yüzeyinde 72 mV,  $\text{Sis@MoS}_2/\text{CKE}$  yüzeyinde ise 74 mV olarak ölçülmüştür.  $\Delta E_p$  değerindeki bu düşüş sensörün heterojen elektron aktarım hızının daha iyi olduğu ve elektrokatalitik etkinliğinin olduğunu göstermektedir (Rohaizad ve ark., 2017).



**Şekil 3.16.** 1 M KNO<sub>3</sub> içinde 1 mM K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] çözeltisinin CKE, 1T-MoS<sub>2</sub>/CKE ve Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeylerinde 50 mV/s tarama hızındaki dönüşümlü voltamogramları

### 3.1.2.1. Elektro-aktif yüzey alanlarının hesaplanması

Tez çalışmaları kapsamında CKE, 1T-MoS<sub>2</sub>/CKE ve Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE'un elektro-aktif yüzey alanları hesaplanmıştır. Elektro-aktif yüzey alanları hesaplamalarında Randles – Sevcik eşitliği (3-1) (Skoog ve ark., 2009) kullanılmıştır. Randles – Sevcik eşitliği;

$$I_p = 2,686 \times 10^5 n^{3/2} A c D^{1/2} \nu^{1/2} \quad (3-1)$$

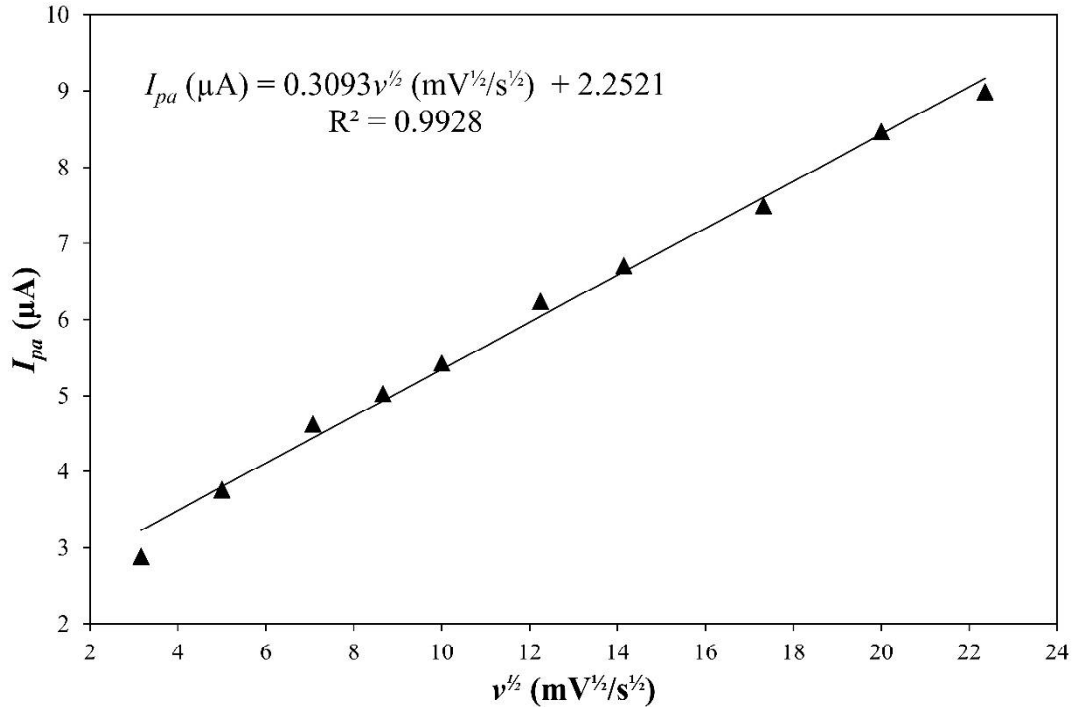
- $I_p$ : Pik akımı (A)  
 $A$ : Elektro-aktif yüzey alanı (cm<sup>2</sup>)  
 $D$ : Difüzyon sabiti (cm<sup>2</sup>/s)  
 $c$ : Konsantrasyon (mol/cm<sup>3</sup>)  
 $v$ : Tarama hızı (V/s)  
 $n$ : Aktarılan elektron sayısı

şeklinde tanımlanmıştır.

Fe(CN)<sub>3</sub><sup>3-</sup>/Fe(CN)<sub>6</sub><sup>4-</sup> redoks sistemi için Randles – Sevcik eşitliğinde  $D = 7.6 \times 10^{-6}$  cm<sup>2</sup>/s ve  $n = 1$  olarak kullanılmıştır. 1 M KNO<sub>3</sub> çözeltisi içinde 1 mM K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] çözeltisinin CKE yüzeyinde farklı tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramlarının yükseltgenme piklerinin akım değerleri ( $I_{pa}$ ), tarama hızlarının kareköklerine ( $v^{1/2}$ ) karşı grafiğe geçirilmiştir. Şekil 3.17.'de ilgili grafik gösterilmiştir. Grafiğe ait regresyon eşitliği (3-2) aşağıda verilmiştir

$$I_{pa} (\mu A) = 0.3093 v^{1/2} (mV^{1/2}/s^{1/2}) + 2.2521 (R^2 = 0.9928) \quad (3-2)$$

CKE için eşitlik 3-2'de elde edilen eğim ve Randles – Sevcik eşitliğinde yerine konarak  $A$  değeri 1.32 mm<sup>2</sup> olarak hesaplanmıştır.

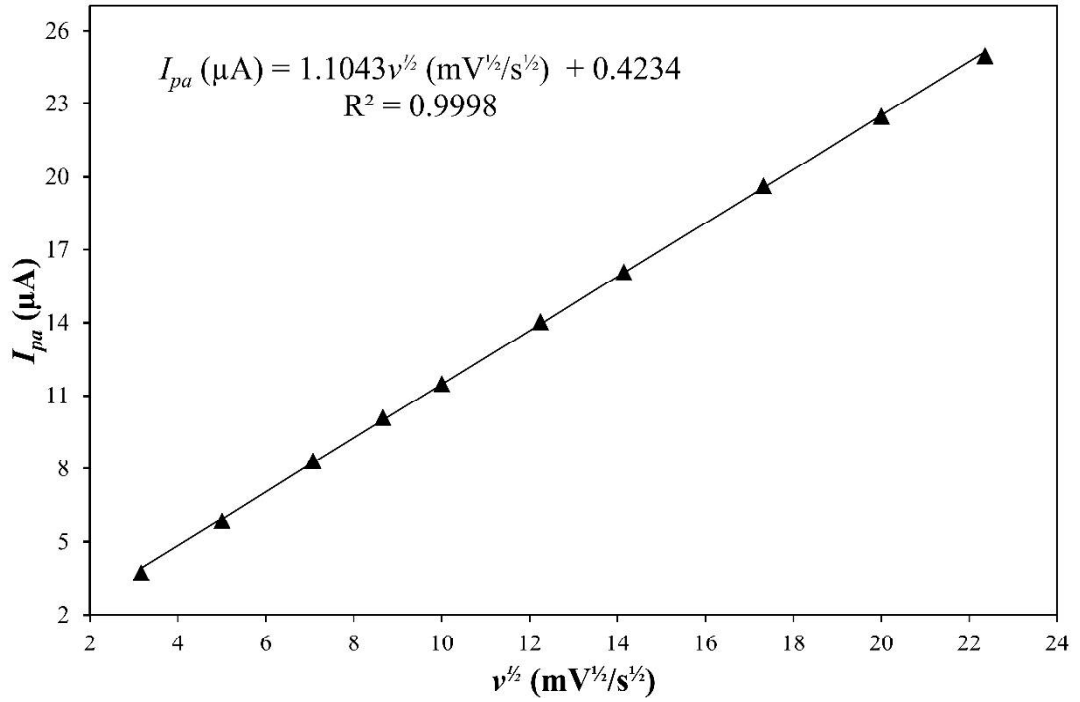


**Şekil 3.17.** 1 M KNO<sub>3</sub> içinde 1 mM K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] çözeltisinin CKE yüzeyinde farklı tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramlarına ait  $I_{pa} - v^{1/2}$  grafiği

1 M KNO<sub>3</sub> çözeltisi içinde 1 mM K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] çözeltisinin 1T-MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde farklı tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramlarının  $I_{pa}$  değerleri  $v^{1/2}$  değerlerine karşı grafiğe geçirilmiştir. Şekil 3.18.'de ilgili grafik gösterilmiştir. Grafiğe ait regresyon eşitliği (3-3) aşağıda verilmiştir

$$I_{pa} (\mu A) = 1.1043 v^{1/2} (mV^{1/2}/s^{1/2}) + 0.4234 (R^2 = 0.9998) \quad (3-3)$$

1T-MoS<sub>2</sub>/CKE için eşitlik 3-3'te elde edilen eğim ve Randles – Sevcik eşitliğinde yerine konarak  $A$  değeri 4.71 mm<sup>2</sup> olarak hesaplanmıştır.

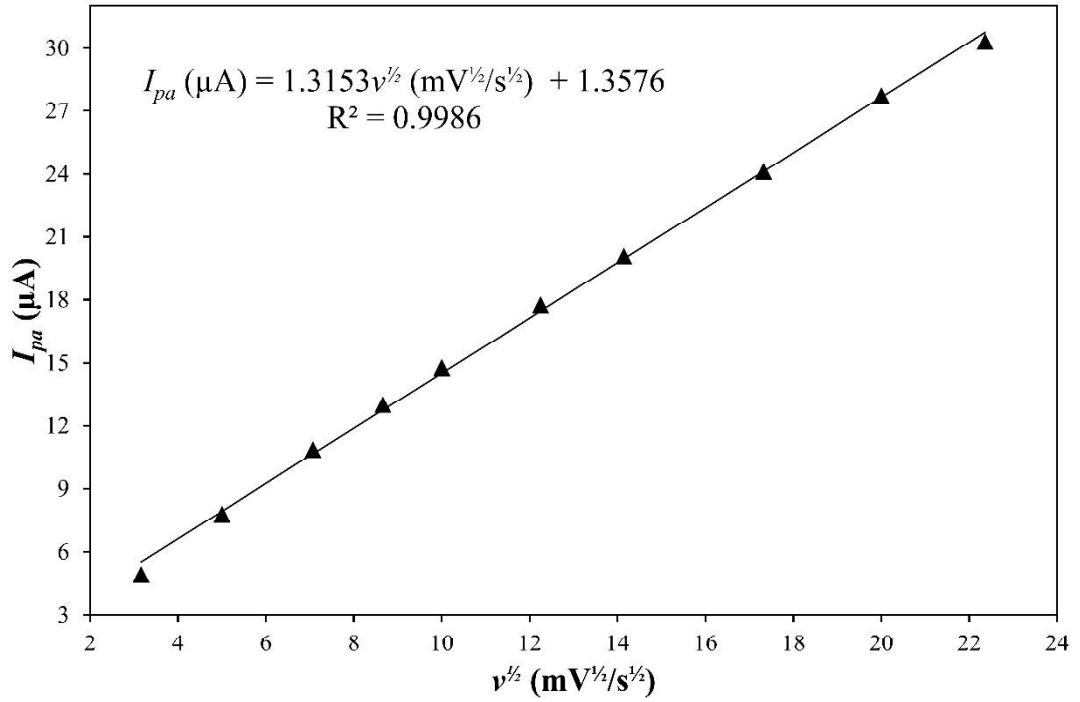


**Şekil 3.18.** 1 M KNO<sub>3</sub> içinde 1 mM K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] çözeltisinin 1T-MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde farklı tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramlarına ait  $I_{pa} - v^{1/2}$  grafiği

1 M KNO<sub>3</sub> içinde 1 mM K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] çözeltisinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde farklı tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramlarının  $I_{pa}$  değerleri  $v^{1/2}$  değerlerine karşı grafiğe geçirilmiştir. Şekil 3.19.'da ilgili grafik gösterilmiştir. Grafiğe ait regresyon eşitliği (3-4) aşağıda verilmiştir

$$I_{pa} (\mu A) = 1.3153 v^{1/2} (mV^{1/2}/s^{1/2}) + 1.3576 (R^2 = 0.9986) \quad (3-4)$$

Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE için eşitlik 3-3'te elde edilen eğim ve Randles – Sevcik eşitliğinde yerine konarak  $A$  değeri 6.46 mm<sup>2</sup> olarak hesaplanmıştır.



**Şekil 3.19.** 1 M KNO<sub>3</sub> çözeltisi içinde 1 mM K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] çözeltisinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde farklı tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramlarına ait  $I_{pa} - v^{1/2}$  grafiği

CKE yüzeyinin 1T-MoS<sub>2</sub> ile modifiye edilmesi  $A$  değerinde 3.6 katlık bir artış sağlarken, Sis@MoS<sub>2</sub> ile modifiye edilmesi 4.9 katlık bir artış sağlamıştır.

### 3.1.2.2. Heterojen elektron transfer hız sabitinin hesaplanması

Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE'a ait  $k^o$  değeri Nicholson metodu (Nicholson ve Shain, 1964) ile hesaplanmıştır. Nicholson tarafından geliştirilen eşitlik;

$$\psi = k^o \left[ \frac{\pi D n v F}{RT} \right]^{-1/2} \quad (3-5)$$

$\psi$ : Kinetik parametre

$F$ : Faraday sabiti

$R$ : Gaz sabiti

*T*: Sıcaklık

olarak ifade edilmiştir

$\text{Fe(CN)}_3^{3-}/\text{Fe(CN)}_6^{4-}$  redoks sistemi kullanılarak yapılan ölçümler sonucu tüm parametreler eşitlik 3-5'te yerine konmuş ve  $\text{Sis@MoS}_2/\text{GCE}$  için  $k^o$  değeri  $1.2 \times 10^{-2}$  cm/s olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar  $\text{Sis@MoS}_2$ 'ün sensörün elektron aktarım kapasitesine katkı sağladığını göstermektedir. Çizelge 3.6.'da CKE, 1T-MoS<sub>2</sub>/CKE ve  $\text{Sis@MoS}_2/\text{CKE}$ 'a ait elektrokimyasal karakterizasyon parametreleri karşılaştırmalı olarak verilmiştir.

**Çizelge 3.6.** CKE ve  $\text{Sis@MoS}_2/\text{CKE}$ 'a ait elektrokimyasal karakterizasyon parametreleri

Sensör	$\Delta E_p^*$ (mV)	<i>A</i> (mm <sup>2</sup> )
CKE	345	1.32
1T-MoS <sub>2</sub> /CKE	72	4.71
$\text{Sis@MoS}_2/\text{CKE}$	74	6.46

\*(*v* = 50 mV/s)

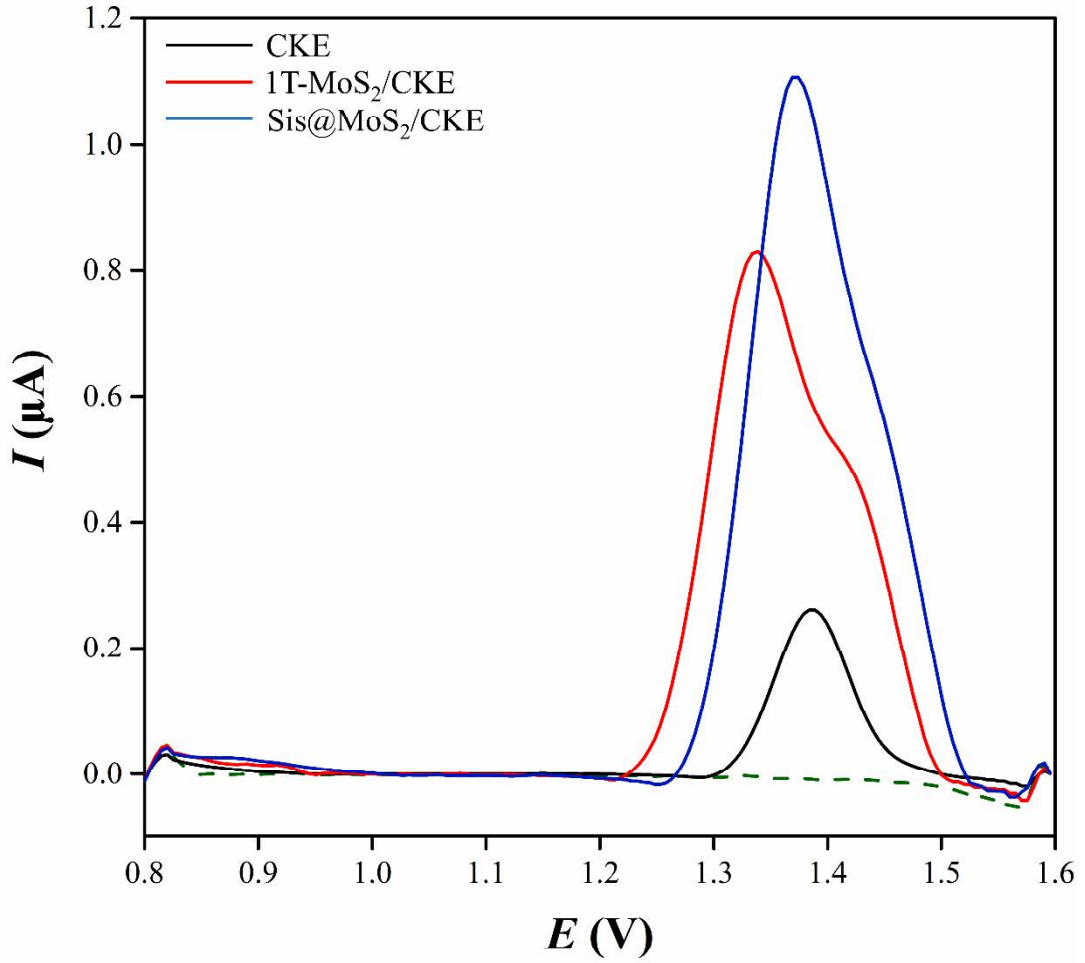
### 3.2. Analitik yöntemlerin geliştirilmesi

Tez çalışmaları kapsamında üretilen sensörün karakterizasyon çalışmaları tamamlandıktan sonra dapagliflozin ve linagliptinin tayini için elektrokimyasal yöntemler geliştirilmiştir. Geliştirilen yöntemlerin validasyon çalışmaları yapılmıştır. Dapagliflozinin tablet formlarından, linagliptinin yapay plazmadan tayini gerçekleştirilmiştir.

### 3.2.1. Dapagliflozin analizi için voltametrik yöntem geliştirilmesi

#### 3.2.1.1. Dapagliflozinin elektrokimyasal davranışının incelenmesi

0.25 M pH: 2.0 BRT içerisinde 100 µM dapagliflozinin elektrokimyasal davranışı, CKE, 1T-MoS<sub>2</sub>/CKE ve Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE kullanılarak incelenmiştir. İlk olarak dapagliflozin içermeyen 0.25 M pH: 2.0 BRT içerisinde 0.8 – 1.6 V potansiyel aralığında durağan bir voltammogram gözlenene kadar DV yöntemi ile tarama yapılarak sensör yüzeyinin kararlı hale gelmesi sağlanmıştır. Daha sonra DPV yöntemi kullanılarak 0.8 – 1.6 V potansiyel aralığında dapagliflozinin voltamogramları kaydedilmiştir. Şekil 3.20.'de dapagliflozinin farklı sensörler kullanılarak elde edilen voltamogramları gösterilmiştir. CKE yüzeyinde, 1386 mV potansiyelde 0.27 µA değerinde yükseltgenme piki gözlenmiştir. Çizelge 3.7.'de 1T-MoS<sub>2</sub>/CKE ve Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE'un performansları ve CKE ile kıyaslamaları verilmiştir. 1T-MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde dapagliflozine ait  $E_{pa}$  değeri 1329 mV'a kayarken  $I_{pa}$  değeri 0.84 µA'e yükselmiştir. Yapıya sistein eklendiğinde ise bu değerler  $E_{pa} = 1369$  mV ve  $I_{pa} = 1.09$  µA olarak kaydedilmiştir. CKE'a kıyasla, hem 1T-MoS<sub>2</sub> hem de Sis@MoS<sub>2</sub>'ün elektrokatalitik etkinlik gösterdiği ve  $I_{pa}$  değerinde önemli artışlar sağladığı gözlenmiştir. Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE, 1T-MoS<sub>2</sub>/CKE'a göre  $I_{pa}$  değerini daha fazla arttırmakla beraber 1T-MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde kaydedilen pikteki omuzlanma Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde gözlenmemiştir. Tüm sonuçlar değerlendirilerek çalışmalara Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE ile devam edilmesine karar verilmiştir.



**Şekil 3.20.** 0.25 M pH: 2.0 BRT içerisinde 100  $\mu$ M dapagliflozinin CKE, 1T-MoS<sub>2</sub>/CKE ve Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeylerindeki temel çizgileri eşitlenmiş diferansiyel puls voltamogramları (----- 0.25 M pH: 2.0 BRT'nun Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyindeki temel çizgisi eşitlenmiş diferansiyel puls voltamogramı)

**Çizelge 3.7.** CKE yüzeyinin 1T-MoS<sub>2</sub> ve Sis@MoS<sub>2</sub> ile modifikasyonunun dapagliflozinin elektrokimyasal sinyali üzerine etkileri ( $N = 3$ )

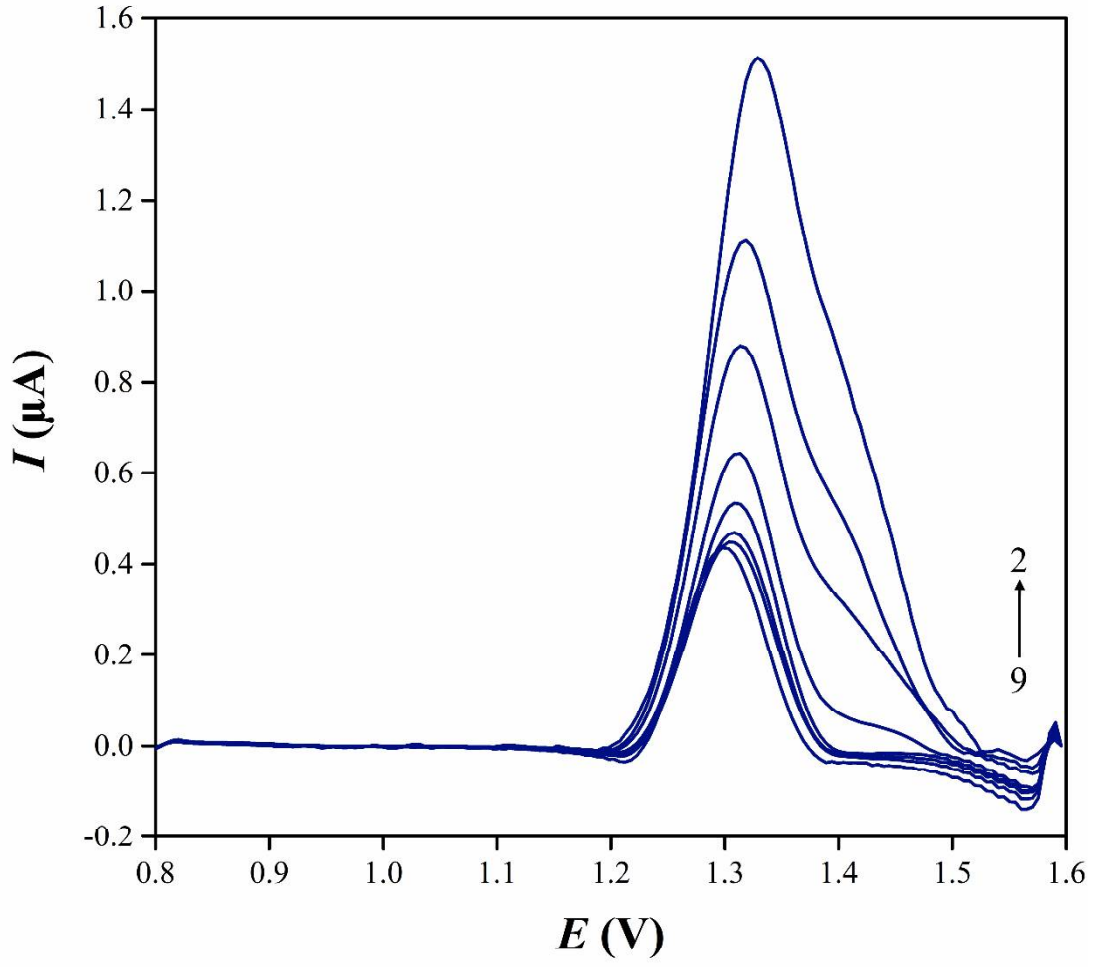
Sensör	$E_{pa}$ (mV)	Elektrokatalitik etki (mV)	$I_{pa}$ ( $\mu$ A)	$I_{pa}$ artış oranı (CKE'a oran)
CKE	1386	-	0.27	-
1T-MoS <sub>2</sub> /CKE	1329	+57	0.84	3.1
Sis@MoS <sub>2</sub> /CKE	1369	+17	1.09	4.1

### 3.2.1.2. Dapagliflozin için voltametrik yöntem optimizasyonu

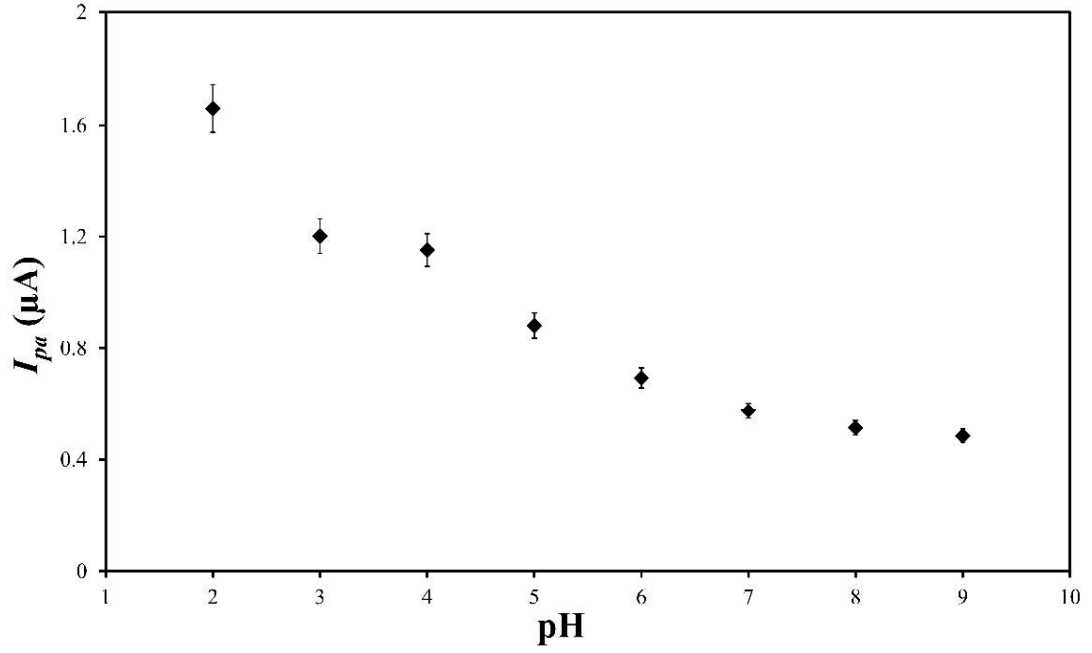
Dapagliflozinin elektrokimyasal davranışı incelenip çalışmaların devamında kullanılacak sensör belirlendikten sonra yöntemin optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Elektrolit çözeltinin pH değeri incelenmiş ve tarama hızı çalışmaları yapılmıştır

#### 3.2.1.2.1. Elektrolit çözeltinin pH değerinin etkisinin incelenmesi

Elektroanalitik çalışmalarda, elektrolit çözeltinin pH değerinin analitik yanıt üzerinde etkisi olduğu bilinmektedir. Araştırmalarımız kapsamında dapagliflozin analizi için en iyi koşulları sağlayabilmek ve en yüksek analitik cevabı elde edebilmek amacıyla kullanılan BRT'nun pH değerlerinin etkisi incelenmiştir. 100 µM dapagliflozinin pH: 2.0 – 9.0 aralığında 0.25 M BRT içerisindeki diferansiyel puls voltamogramları kaydedilmiştir. Her pH değeri için üç ölçüm alınmış ve ortalama değerler kullanılmıştır. Şekil 3.21.'de farklı pH değerlerindeki 0.25 M BRT içerisindeki 100 µM dapagliflozinin diferansiyel puls voltamogramları, Şekil 3.22.'de elektrolit çözeltinin farklı pH değerlerine karşı dapagliflozinin  $I_{pa}$  değerlerinin grafiği gösterilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde dapagliflozin için en yüksek elektroanalitik cevabın pH: 2.0 BRT çözeltisi ile elde edildiği saptanmıştır. Dolayısıyla elektrolit çözeltinin optimum pH değeri 2.0 olarak belirlenmiş ve dapagliflozin analizi için elektrolit çözelti olarak 0.25 M pH: 2.0 BRT kullanılmıştır.



**Şekil 3.21.** Farklı pH değerlerindeki 0.25 M BRT içerisindeki 100 µM dapagliflozinin temel çizgileri eşitlenmiş diferansiyel puls voltamogramları



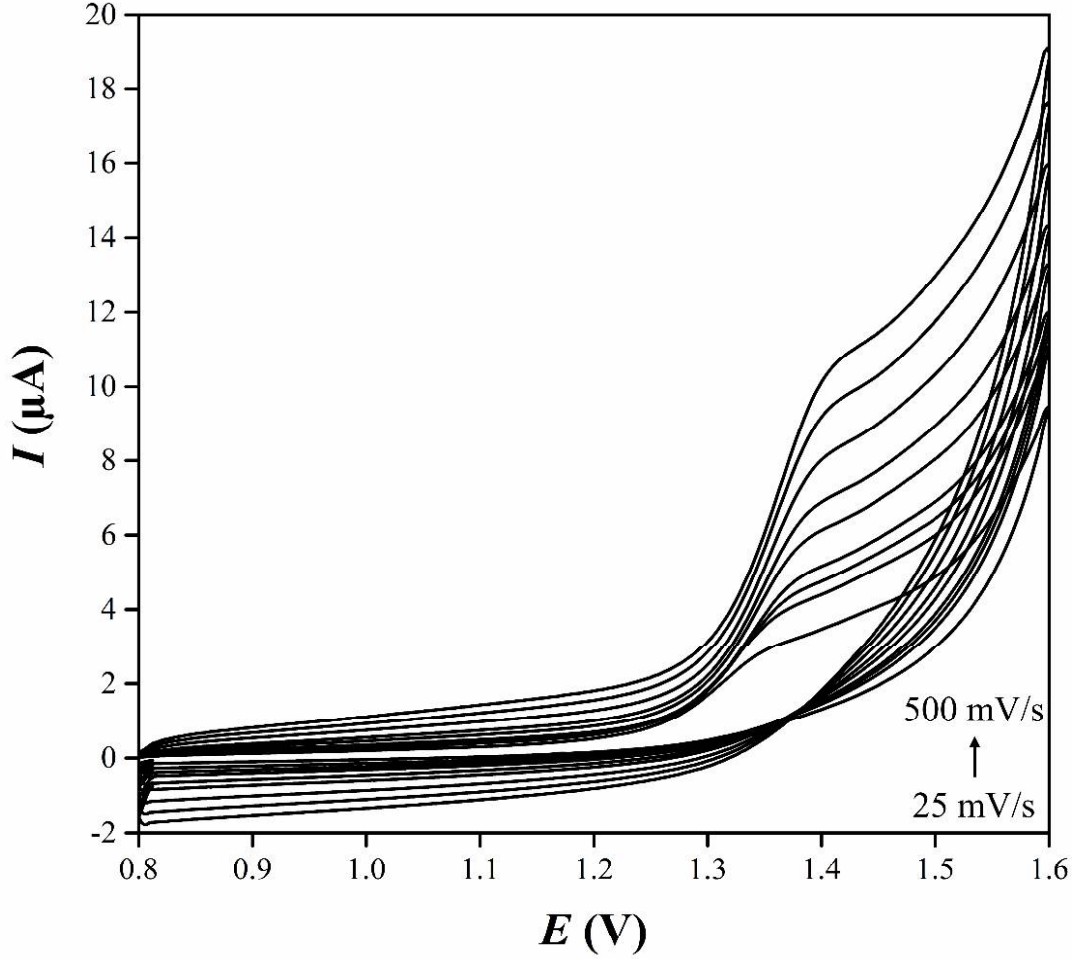
**Şekil 3.22.** Elektrolit çözeltinin farklı pH değerlerine karşı 100  $\mu M$  dapagliflozinin  $I_{pa}$  değerlerinin grafiği ( $N = 3$ )

### 3.2.1.2.2. Tarama hızı çalışmaları

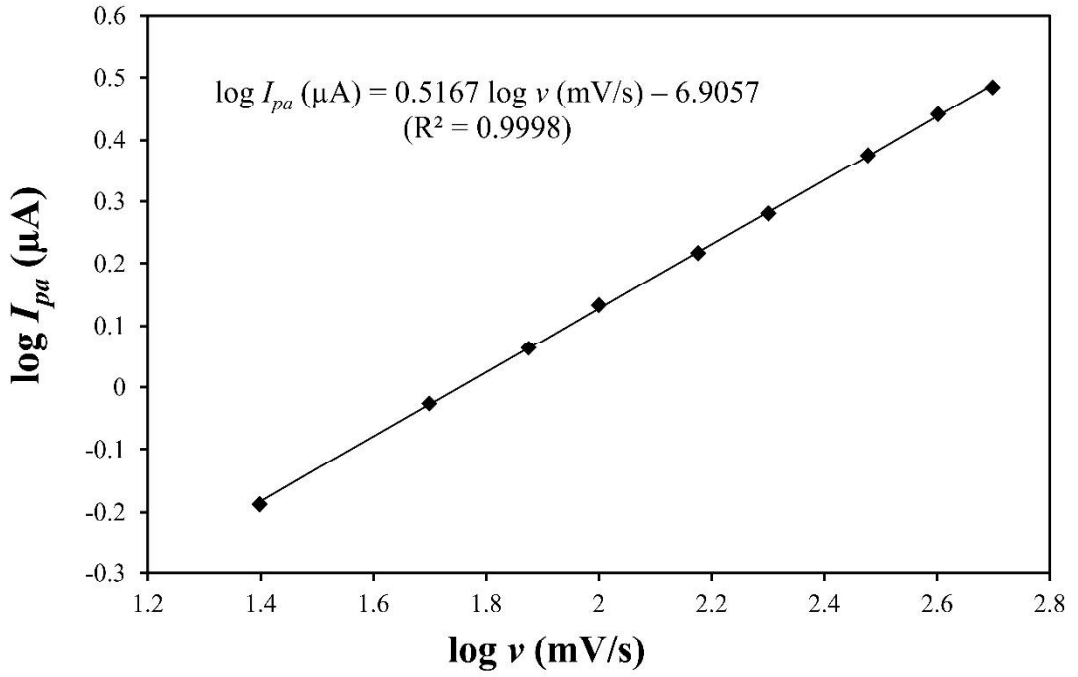
Dapagliflozinin elektrokimyasal analizi sırasında Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde gerçekleşen reaksiyonu aydınlatmak amacıyla tarama hızı çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla 0.25 M pH: 2.0 BRT içerisinde 100  $\mu M$  dapagliflozinin 0.8 – 1.6 V potansiyel aralığında 25, 50, 75, 100, 150, 200, 300, 400 ve 500 mV/s tarama hızlarında dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiştir. Her tarama hızında üç ölçüm alınmış ve ortalama değerler kullanılmıştır. Elde edilen voltamogramlar Şekil 3.23.'te gösterilmiştir. Tarama hızının logaritmasına karşı pik akımının logaritması grafiğe geçirilmiştir (Şekil 3.24.). Grafikten elde edilen regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı aşağıda verilmiştir;

$$\log I_{pa} (\mu A) = 0.5167 \log v (mV/s) - 6.9057 (R^2 = 0.9998) \quad (3-6)$$

Doğrunun eğimi 0.5167 olarak hesaplanmıştır. Eğim değerinin 0.5'e yakın olması, dapagliflozinin elektrokimyasal analizi sırasında sensör yüzeyinde difüzyon kontrollü bir reaksiyonun gerçekleştiğini göstermektedir.



**Şekil 3.23.** 0.25 M pH: 2.0 BRT içerisinde 100 μM dapagliflozinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde 25, 50, 75, 100, 150, 200, 300, 400 ve 500 mV/s tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramları



**Şekil 3.24.** 0,25 M pH: 2.0 BRT içerisindeki 100 μM dapagliflozinin tarama hızlarının logaritmalarına karşı anodik pik akımlarının logaritmalarının grafiği ( $N = 3$ )

Şekil 3.23.'te görüldüğü üzere tarama hızının artmasıyla beraber dapagliflozinin  $E_{pa}$  değerinde pozitif yönde kayma gözlenmiştir. Bu pozitif kayma dapagliflozinin tersinmez oksidasyon reaksiyonuna sahip olduğunu göstermektedir. Laviron eşitliği (Laviron, 1974) kullanılarak dapagliflozinin elektrokimyasal reaksiyonu esnasında aktarılan elektron sayısı hesaplanmıştır. Laviron eşitliği aşağıdaki şekilde ifade edilmiştir;

$$E_{pa} = E^{\theta} + \left(\frac{RT}{\alpha nF}\right) \ln \left(\frac{RTk^{\theta}}{\alpha nF}\right) + \left(\frac{RT}{\alpha nF}\right) \ln v \quad (3-7)$$

$E^{\theta}$ : Formal redoks potansiyeli

$E_{pa}$ : Anodik pik potansiyeli

$n$ : Transfer edilen elektron sayısı

$\alpha$ : Yük transfer katsayısı

$v$ : Tarama hızı

$R$ : Gaz sabiti

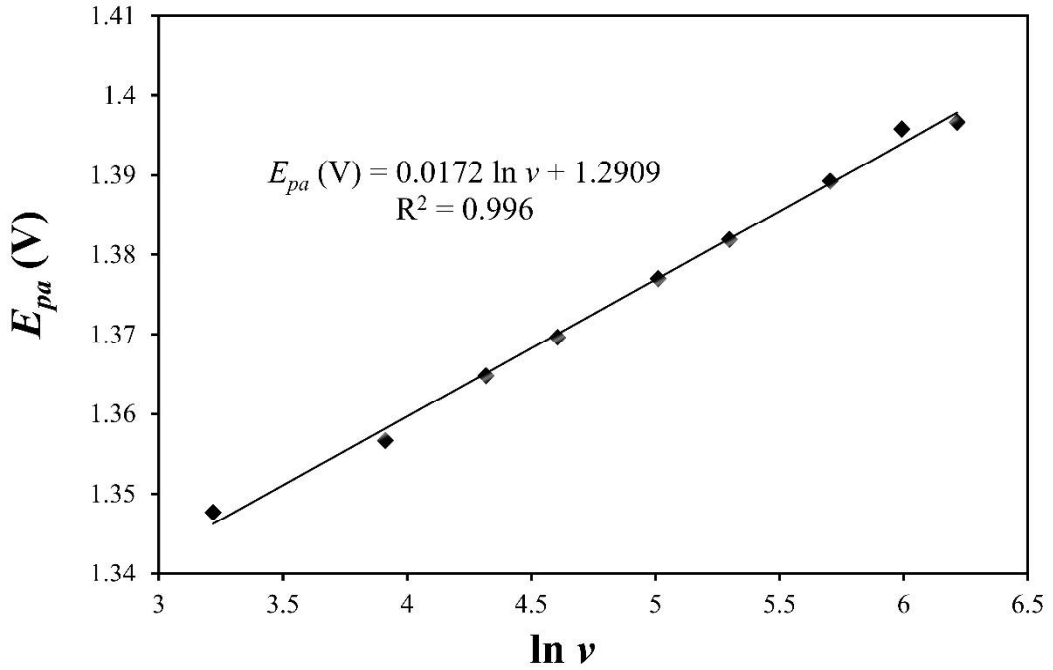
$T$ : Sıcaklık

$F$ : Faraday sabiti

Laviron eşitliğine göre tarama hızının doğal logaritma değeri  $E_{pa}$  ile doğru orantılı olarak artmaktadır. Şekil 3.25.'te tarama hızının doğal logaritmasına karşı  $E_{pa}$  grafiği gösterilmiştir. Grafikten elde edilen regresyon denklemi aşağıdaki şekildedir;

$$E_{pa} \text{ (V)} = 0.0172 \ln v + 1.2909 \quad (R^2 = 0.996) \quad (3-8)$$

Değerler Laviron eşitliğinde yerine konulduğunda dapagliflozinin elektrokimyasal oksidasyonu sırasında aktarılan elektron sayısı üç olarak hesaplanmıştır.



**Şekil 3.25.** 0.25 M pH: 2.0 BRT içerisindeki 100  $\mu\text{M}$  dapagliflozinin tarama hızlarının doğal logaritmalarına karşı anodik pik potansiyellerinin grafiği ( $N = 3$ )

### 3.2.1.3. Doğrusal çalışma aralığının belirlenmesi

pH optimizasyonu ve tarama hızı çalışmalarından sonra dapagliflozin için doğrusal çalışma aralığı belirlenmiştir. Bölüm 3.2.1.2.2’de, dapagliflozinin sensör yüzeyinde gerçekleşen elektrokimyasal reaksiyonunun difüzyon kontrollü olduğu açıklanmıştır. Bu sebeple dapagliflozin analizi için DPV yöntemi kullanılmıştır. Yöntemi etkileyen diğer parametreler Çizelge 3.8.’de gösterildiği gibi optimize edilmiştir.

**Çizelge 3.8.** Dapagliflozin analizi için DPV yöntemine ait optimum enstrümantal parametreler

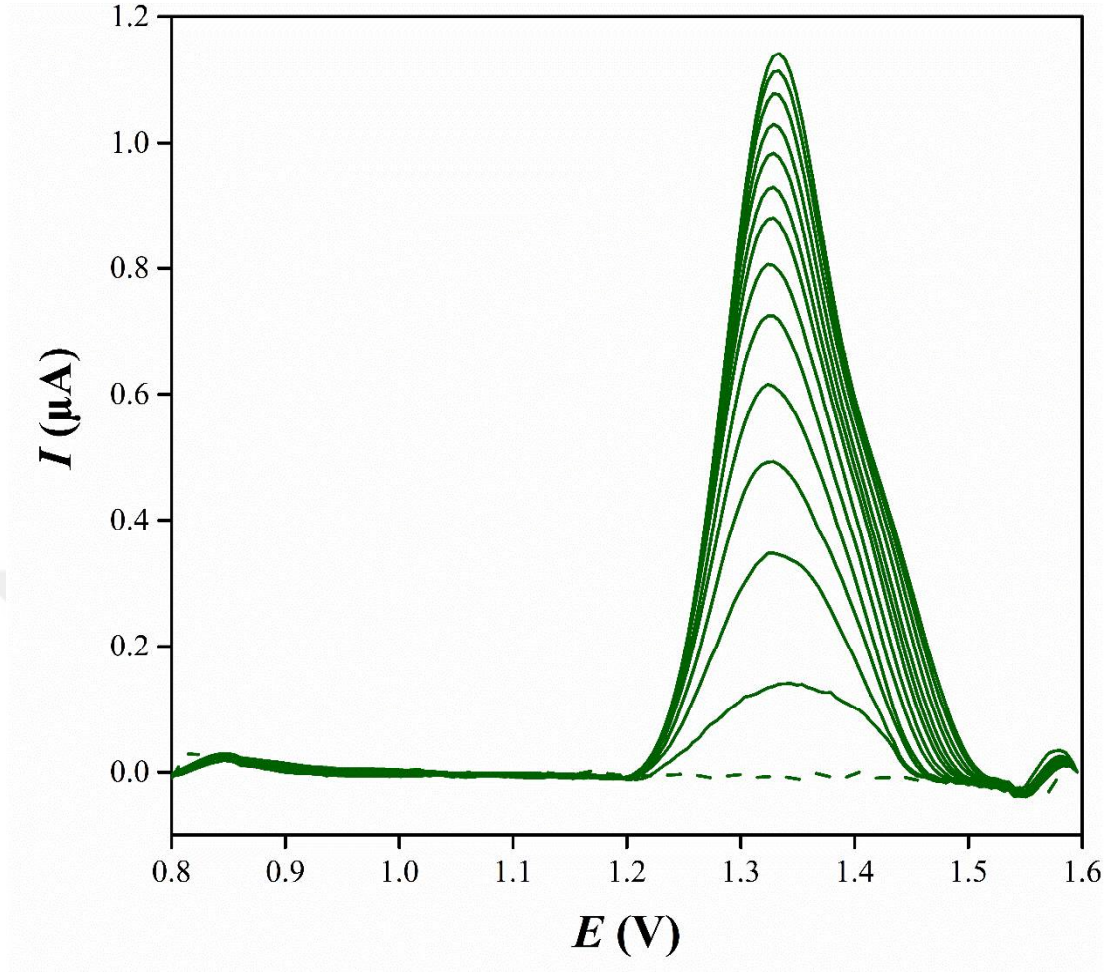
Parametre	Optimum değer
Puls büyüklüğü (V)	0.025
Puls süresi (s)	0.05
Basamak potansiyeli (V)	0.005
Tarama hızı (V/s)	0.05

Optimize şartlar altında dapagliflozinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde DPV yöntemi ile yapılan analizleri sonucu 2.0 – 58.5 µM ve 58.5 – 108.9 µM olmak üzere iki farklı doğrusal çalışma aralığı belirlenmiştir. Her konsantrasyon değeri için ölçümler üç tekrarlı olarak yapılmış ve ortalama değerler kullanılmıştır. Elde edilen regresyon denklemleri aşağıda verilmiştir;

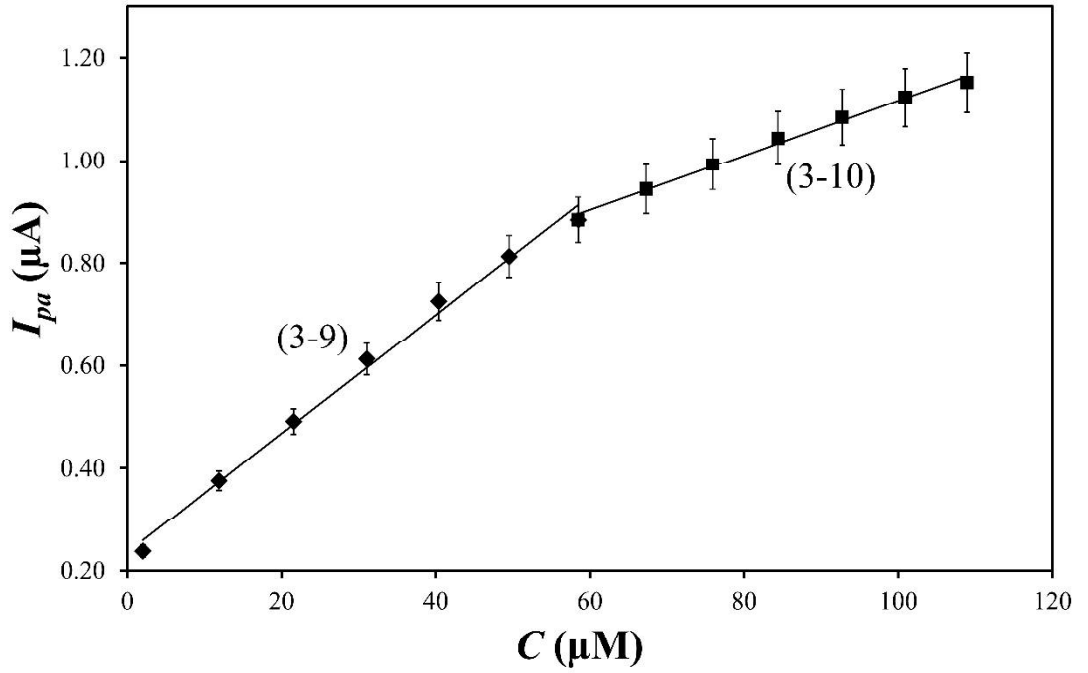
$$I_{pa} (\mu A) = 0.0116 C + 0.2363 (R^2 = 0.9936) \quad (3-9)$$

$$I_{pa} (\mu A) = 0.0053 C + 0.5836 (R^2 = 0.9919) \quad (3-10)$$

Dapagliflozinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde DPV yöntemi ile analizi sonucu elde edilen voltamogramlar ve kalibrasyon grafiği sırasıyla Şekil 3.26. ve Şekil 3.27.’de verilmiştir.



**Şekil 3.26.** 0.25 M pH: 2.0 BRT içerisinde 2.0, 11.9, 21.6, 31.1, 40.4, 49.5, 47.5, 67.3 75.9, 84.4, 92.7, 100.9 ve 108.9  $\mu\text{M}$  dapagliflozinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyindeki temel çizgileri eşitlenmiş diferansiyel puls voltamogramları (----- 0.25 M pH: 2.0 BRT'nun Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyindeki temel çizgisi eşitlenmiş diferansiyel puls voltamogramı)



**Şekil 3.27.** Dapagliflozin konsantrasyonuna karşı elde edilen  $I_{pa}$  değerlerinin kalibrasyon grafiği ( $N = 3$ )

Geliştirilen metodun GS ve tayin alt sınırı (TAS) aşağıdaki formüller kullanılarak hesaplanmıştır;

$$GS = 3 \times \frac{SS}{m}$$

$$TAS = 10 \times \frac{SS}{m}$$

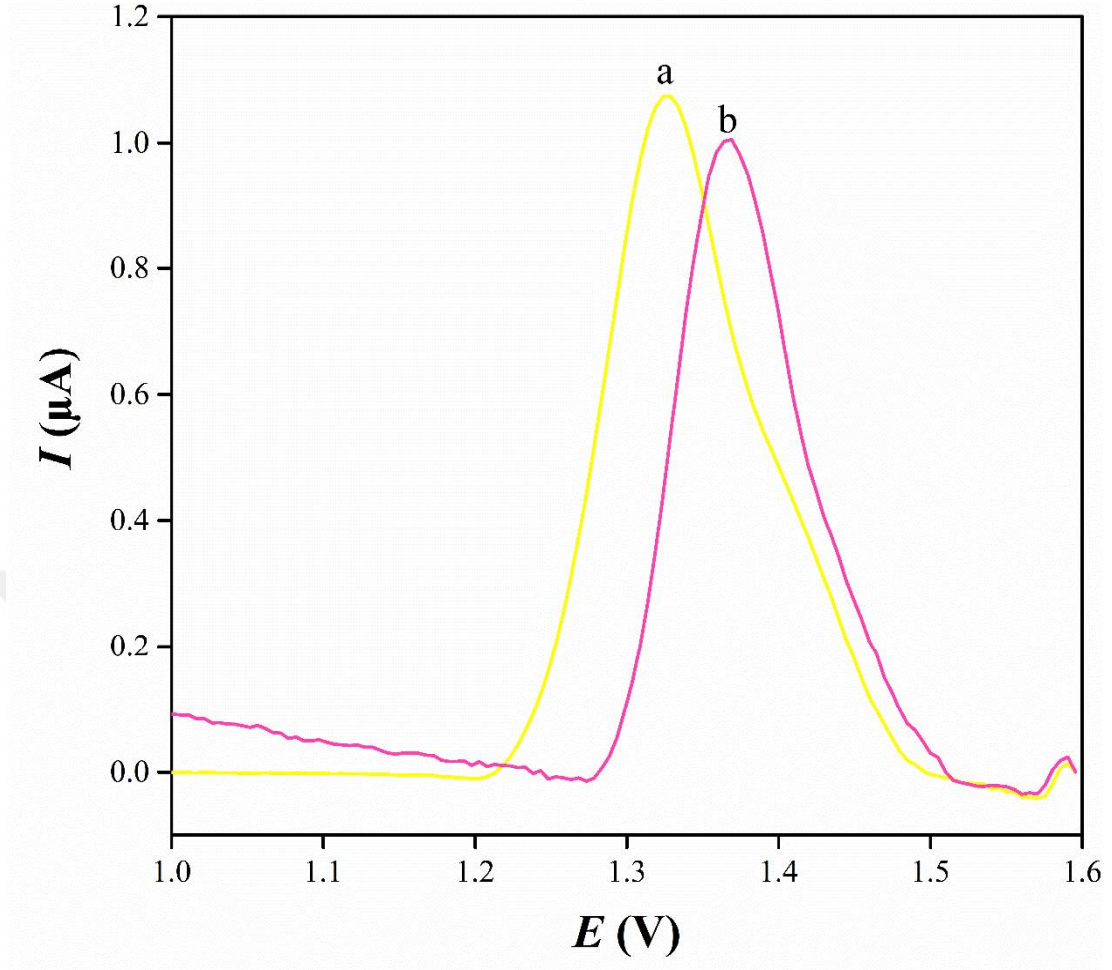
Formüllerde  $SS$  standart sapmayı,  $m$  ise doğru denkleminin eğimini ifade etmektedir. GS ve TAS, 3-9 numaralı denklem kullanılarak hesaplanmıştır. Denklemdeki kesişim değerinin en küçük kareler yöntemi kullanılarak hesaplanan  $SS$  değeri (Skoog ve ark., 2009) kullanılmıştır. Geliştirilen yöntemin GS 1.6 µM, TAS ise 5.3 µM olarak hesaplanmıştır. Çizelge 3.9.'da dapagliflozinin DPV yöntemi ile Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde analizi için geliştirilen yöntemle ait parametreler özetlenmiştir.

**Çizelge 3.9.** Dapagliflozinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE ile elektrokimyasal analizi ile elde edilen analitik parametreler

Parametre	Sis@MoS <sub>2</sub> /CKE	
Ölçülen potansiyel, mV	1369	
Doğrusal çalışma aralığı, µM	2.0 – 58.5	58.5 – 108.9
Eğim, µA/µM	0.0116	0.0053
Kesişim, µA	0.2363	
Korelasyon katsayısı (R <sup>2</sup> )	0.9936	0.9919
GS, µM	1.6	
TAS, µM	5.3	

#### 3.2.1.4. Seçicilik çalışmaları

Geliştirilen sensörün dapagliflozine karşı seçiciliğini incelemek amacıyla, 100 µM dapagliflozinin, yüz katı konsantrasyonda glikoz, askorbik asit, üre, KNO<sub>3</sub>, CaCl<sub>2</sub> ve Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gibi girişim yapması muhtemel maddelerin varlığında  $I_{pa}$  değerindeki değişim incelenmiştir. Olası girişim yapabilecek maddeler varlığındaki  $I_{pa}$  değeri, sadece dapagliflozine ait  $I_{pa}$  değeri ile kıyaslandığında (Her biri için üç ölçüm alınmış ve ortalama değerler kullanılmıştır) %6.01 oranında bir azalma gözlenmiştir. Şekil 3.28.'de dapagliflozinin tek başına ve girişim yapabilecek maddeler varlığındaki diferansiyel puls voltamogramları verilmiştir. Şekil 3.28.'de görüldüğü gibi ortamdaki maddeler dapagliflozinin  $E_{pa}$  değerini yaklaşık 40 mV kadar pozitif yönde kaydırmıştır. Çizelge 3.10.'da dapagliflozinin tek başına ve girişim yapabilecek maddeler varlığındaki  $I_{pa}$  değerleri ve  $E_{pa}$  değerleri verilmiştir. Girişim çalışmalarından elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE'un dapagliflozine karşı seçici olduğu görülmektedir.



**Şekil 3.28.** (a) 0.25 M pH: 2.0 BRT içerisinde 100  $\mu$ M dapagliflozinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyindeki temel çizgisi eşitlenmiş diferansiyel puls voltamogramı, (b) 0.25 M pH:2.0 BRT içerisinde 100  $\mu$ M dapagliflozinin 10 mM glikoz, askorbik asit, üre KNO<sub>3</sub>, CaCl<sub>2</sub> ve Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> varlığındaki temel çizgisi eşitlenmiş diferansiyel puls voltamogramı

**Çizelge 3.10.** Girişim yapması muhtemel maddelerin dapagliflozinin  $I_{pa}$  ve  $E_{pa}$  değerlerine etkisi ( $N = 3$ )

Analit (100 $\mu$ M)	Girişim (10 mM)	$I_{pa}$ ( $\mu$ A)	$E_{pa}$ (mV)	$\Delta I_{pa}$ (%)
Dapagliflozin	-	1.1048	1328	
Dapagliflozin	Glikoz Üre Askorbik asit KNO <sub>3</sub> CaCl <sub>2</sub> Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1.0384	1369	6.01

### 3.2.1.5. Tekrarlanabilirlik çalışmaları

Tez çalışmaları kapsamında geliştirilen sensörün tekrarlanabilirlik çalışmaları için 0.25 M pH: 2.0 BRT içerisinde 100 µM dapagliflozin aynı sensör ile altı defa analiz edilmiş ve tekrarlanabilirlik ölçütü olarak  $I_{pa}$  değerlerinin % bağıl standart sapma (%BSS) değerleri hesaplanmıştır. %BSS aşağıda verilen formül kullanılarak hesaplanmıştır;

$$\%BSS = \frac{SS}{X_{ort}} \times 100$$

$SS$ ,  $I_{pa}$  değerlerinin standart sapmasını,  $X_{ort}$  ise  $I_{pa}$  değerlerinin ortalamasının ifade etmektedir. Yapılan ölçümler sonucu dapagliflozin için %BSS değeri 2.86 olarak hesaplanmıştır.

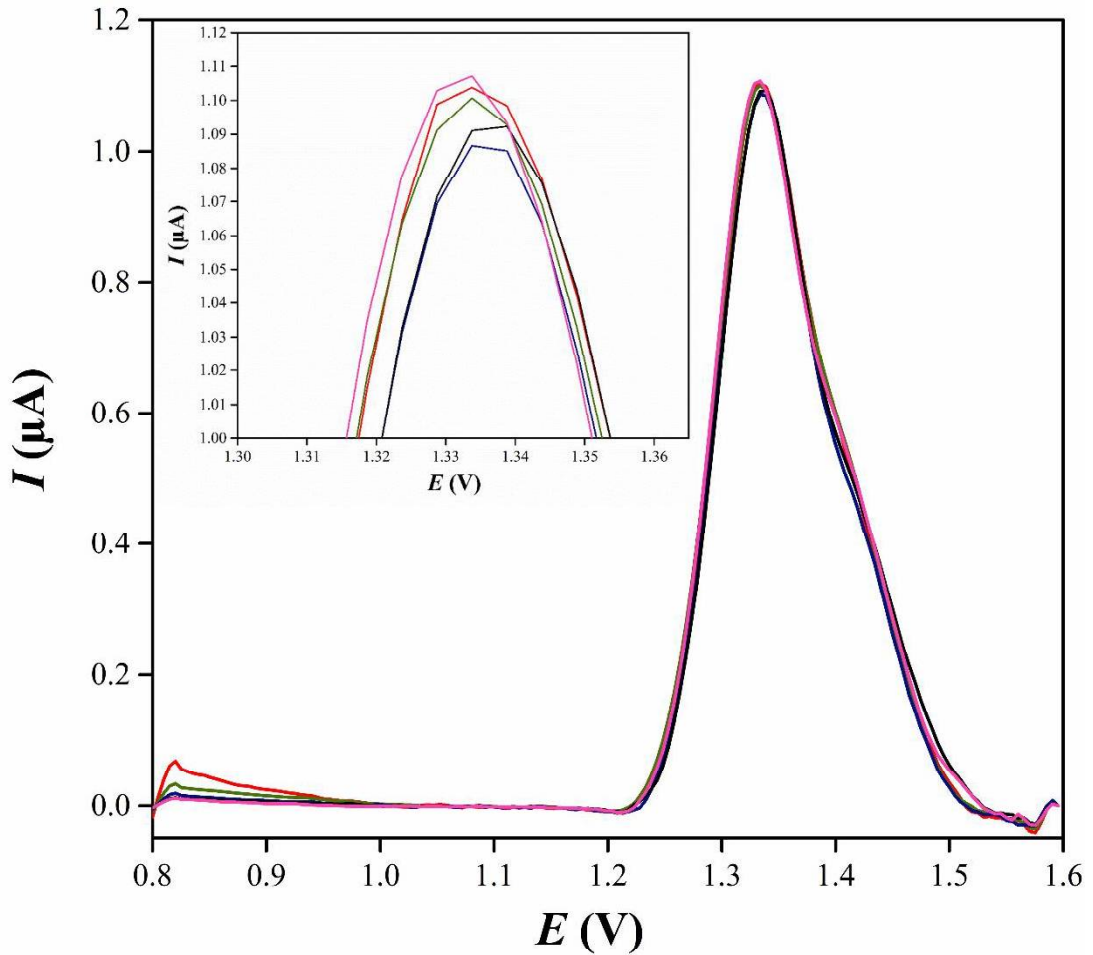
### 3.2.1.6. Yeniden üretilebilirlik çalışmaları

Tez çalışmaları kapsamında üretilen sensörün yeniden üretilebilirliğini değerlendirmek amacıyla 0.25 M pH: 2.0 BRT içerisinde 100 µM dapagliflozin altı farklı sensör ile analiz edilmiş ve yeniden üretilebilirlik ölçütü olarak  $I_{pa}$  değerlerinin %BSS değeri hesaplanmıştır. Her bir sensör ile üç ölçüm alınmış ve %BSS hesaplanırken her sensöre ait ortalama  $I_{pa}$  değeri kullanılmıştır. Yapılan ölçümler sonucunda %BSS değeri 4.71 olarak hesaplanmıştır.

### 3.2.1.7. Geri kazanım çalışmaları

Tez çalışmaları kapsamında yerel bir eczaneden tedarik edilen Forziga® tabletlerin dapagliflozin içeriği analiz edilmiştir. Hesaplamalar kalibrasyon grafiği yöntemi ile yapılmıştır. Bölüm 2.4.3'te tabletlerden 1 mM dapagliflozin çözeltilisinin

nasıl hazırlandığı anlatılmıştır. Beş farklı tablet için hazırlanan çözeltiler 0.25 M pH: 2.0 BRT ile 10 kat seyreltilmiş ve DPV yöntemi ile analiz edilmiştir. Tabletlerden hazırlanan dapagliflozin çözeltilerine ait voltamogramlar Şekil 3.29.'da gösterilmiştir. Elde edilen  $I_{pa}$  değerleri kalibrasyon grafiğinden elde edilen regresyon eşitliğinde yerine konularak analiz çözelti konsantrasyonu ve stok çözeltinin konsantrasyonu hesaplanmıştır. Stok çözeltinin konsantrasyonundan hareketle bir tabletin içerdiği dapagliflozin miktarı hesaplanmıştır. Her bir tablet için üç analiz gerçekleştirilmiş ve hesaplamalarda ortalama  $I_{pa}$  değeri kullanılmıştır. Dapagliflozinin tabletlerden ortalama GK  $99.97 \pm 1.32$  olarak hesaplanmıştır. Çizelge 3.11.'de her bir tablet için hesaplanan dapagliflozin miktarı verilmiştir.



**Şekil 3.29.** Tabletlerden hazırlanan 100 µM dapagliflozinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyindeki temel çizgileri eşitlenmiş diferansiyel puls voltamogramları

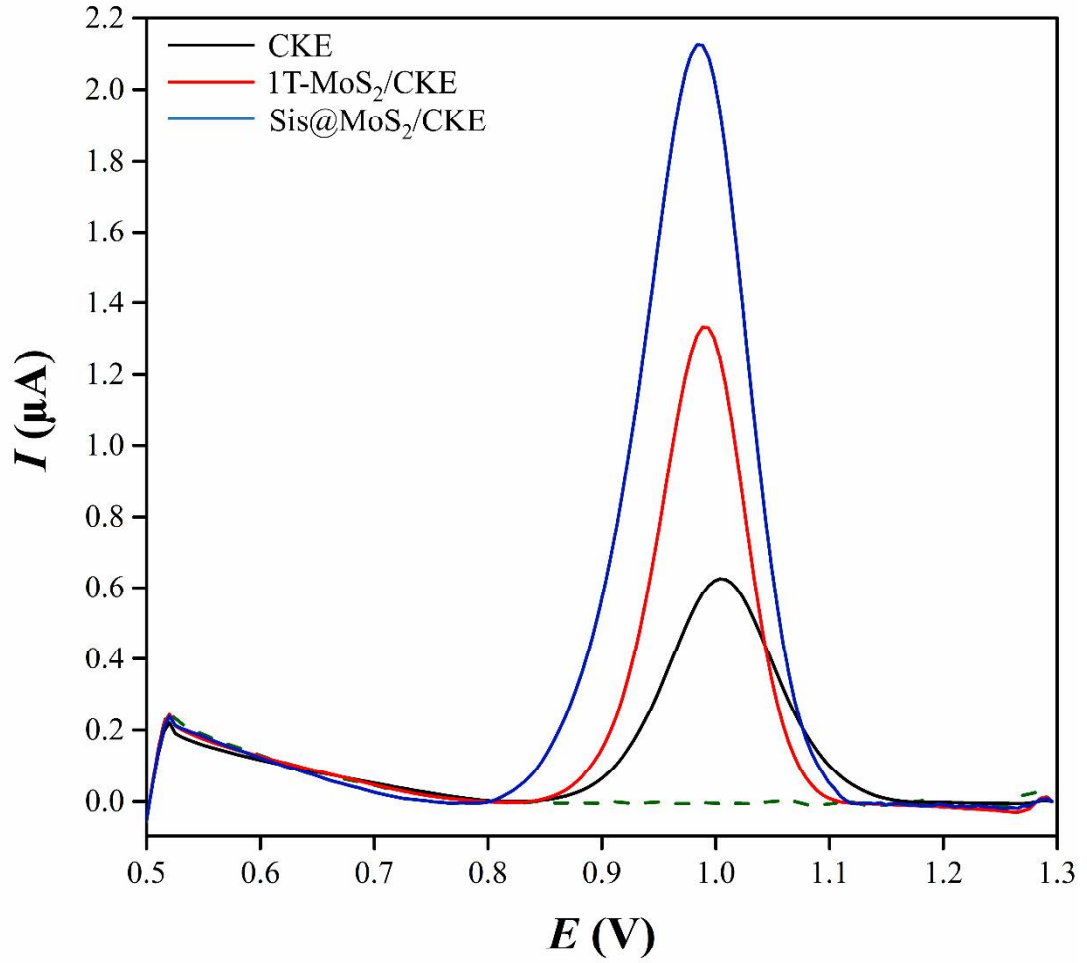
**Çizelge 3.11.** Dapagliflozinin, Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE kullanılarak yapılan tabletlerden miktar tayini sonuçları (N = 3)

Tablet	Etiketteki miktar (mg)	Bulunan miktar (mg)	GK (%)
1	10	9.997	99.97
2	10	9.928	99.28
3	10	10.198	101.98
4	10	9.803	98.03
5	10	10.062	100.62
Ortalama			99.97
Standart sapma			1.32

### 3.2.2. Linagliptin analizi için voltametrik yöntem geliştirilmesi

#### 3.2.2.1. Linagliptinin elektrokimyasal davranışının incelenmesi

0.25 M pH: 7.0 BRT içerisinde 100 µM linagliptinin elektrokimyasal davranışı, CKE, 1T-MoS<sub>2</sub>/CKE ve Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE kullanılarak incelenmiştir. İlk olarak linagliptin içermeyen 0.25 M pH: 7.0 BRT içerisinde 0.5 – 1.3 V potansiyel aralığında durağan bir voltammogram gözlenene kadar DV yöntemi ile tarama yapılarak sensör yüzeyinin kararlı hale gelmesi sağlanmıştır. Daha sonra DPV yöntemi kullanılarak 0.5 – 1.3 V potansiyel aralığında linagliptinin voltamogramları kaydedilmiştir. Şekil 3.30.'da linagliptinin farklı sensörler kullanılarak elde edilen voltamogramları gösterilmiştir. CKE yüzeyinde, 1007 mV potansiyelde 0.64 µA değerinde bir yükseltgenme piki gözlenmiştir. Çizelge 3.12.'de 1T-MoS<sub>2</sub>/CKE ve Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE'un performansları ve CKE ile kıyaslamaları verilmiştir. 1T-MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde linagliptine ait  $E_{pa}$  değeri 985 mV'a kayarken  $I_{pa}$  değeri 1.42 µA'e yükselmiştir. Yapıya sistein eklendiğinde ise bu değerler  $E_{pa} = 982$  mV ve  $I_{pa} = 2.07$  µA olarak kaydedilmiştir. CKE'a kıyasla, hem 1T-MoS<sub>2</sub> hem de Sis@MoS<sub>2</sub>'ün  $I_{pa}$  değerinde önemli artışlar sağladığı gözlenmiştir. Sonuçlar değerlendirilerek çalışmalara Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE ile devam edilmesine karar verilmiştir.



**Şekil 3.30.** 0.25 M pH: 7.0 BRT içerisinde 100  $\mu$ M linagliptinin CKE, 1T-MoS<sub>2</sub>/CKE ve Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeylerindeki temel çizgileri eşitlenmiş diferansiyel puls voltamogramları (----- 0.25 M pH: 7.0 BRT'nun Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyindeki temel çizgisi eşitlenmiş diferansiyel puls voltamogramı)

**Çizelge 3.12.** CKE yüzeyinin 1T-MoS<sub>2</sub> ve Sis@MoS<sub>2</sub> ile modifikasyonunun linagliptinin elektrokimyasal sinyali üzerine etkileri ( $N = 3$ )

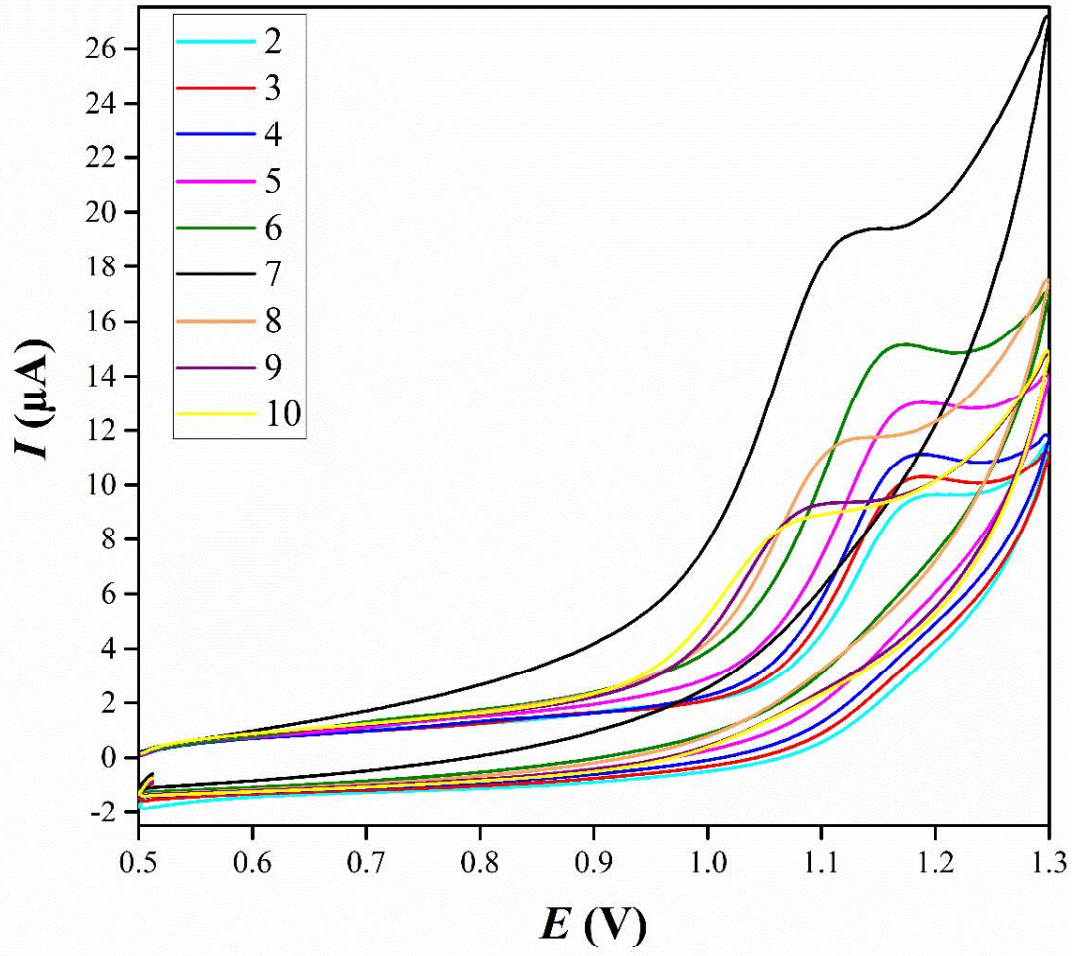
Sensör	$E_{pa}$ (mV)	Elektrokatalitik etki (mV)	$I_{pa}$ ( $\mu$ A)	$I_{pa}$ artış oranı (CKE'a oran)
CKE	1007	-	0.64	-
1T-MoS <sub>2</sub> /CKE	985	+22	1.42	2.2
Sis@MoS <sub>2</sub> /CKE	982	+25	2.07	3.2

### 3.2.2.2. Linagliptin için voltametrik yöntem optimizasyonu

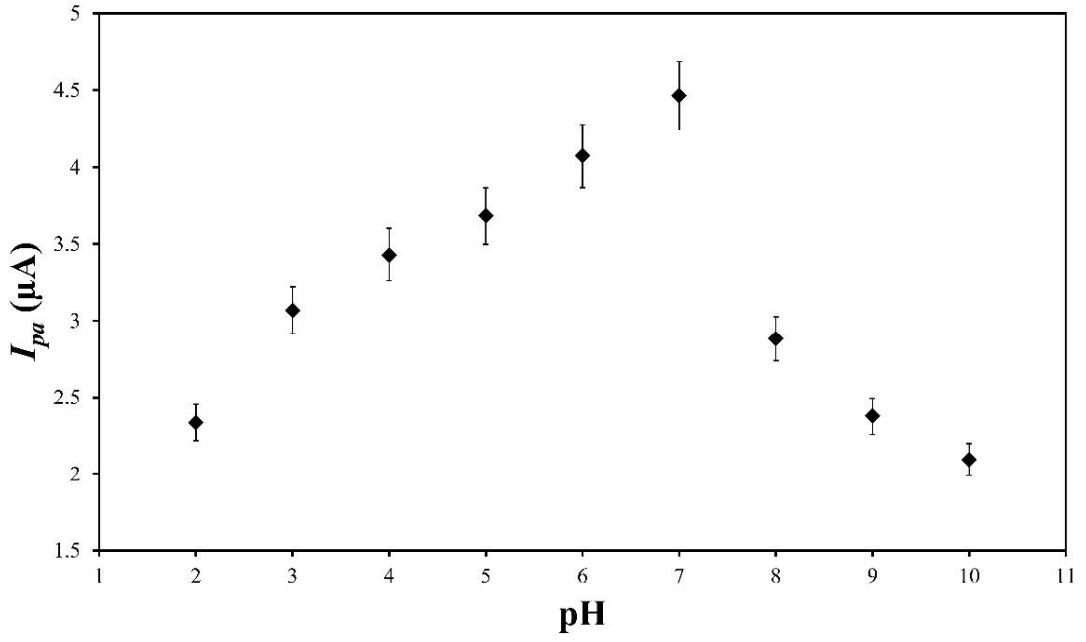
Linagliptinin elektrokimyasal davranışı incelenip çalışmaların devamında kullanılacak sensör belirlendikten sonra yöntemin optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Elektrolit çözeltinin pH değeri incelenmiş ve tarama hızı çalışmaları yapılmıştır.

#### 3.2.2.2.1. Elektrolit çözeltinin pH değerinin etkisinin incelenmesi

Araştırmalarımız kapsamında linagliptin analizi için iyi koşulları sağlayabilmek ve yüksek analitik cevabı elde edebilmek amacıyla kullanılan BRT'nun pH değerlerinin etkisi incelenmiştir. 100 µM linagliptinin pH: 2.0 – 10.0 aralığında 0.25 M BRT içerisindeki dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiştir. Her pH değeri için üç ölçüm alınmış ve ortalama değerler kullanılmıştır. Şekil 3.31.'de farklı pH değerlerindeki 0.25 M BRT içerisindeki 100 µM linagliptinin dönüşümlü voltamogramları, Şekil 3.32.'de elektrolit çözeltinin farklı pH değerlerine karşı linagliptinin  $I_{pa}$  değerlerinin grafiği gösterilmiştir. Görüldüğü üzere pH: 2.0'dan pH: 7.0'a doğru linagliptinin voltametrik cevabında artış gözlenirken, pH değerleri alkali bölgeye kaydığında keskin düşüşler gözlenmiştir. Linagliptin için en yüksek elektroanalitik cevap pH: 7.0 BRT çözelti ile elde edilmiştir. Dolayısıyla elektrolit çözeltinin optimum pH değeri 7.0 olarak belirlenmiş ve linagliptin analizi için elektrolit çözelti olarak 0.25 M pH: 7.0 BRT kullanılmıştır.



Şekil 3.31. Farklı pH değerlerindeki 0.25 M BRT içerisindeki 100  $\mu\text{M}$  linagliptinin dönüşümlü voltamogramları



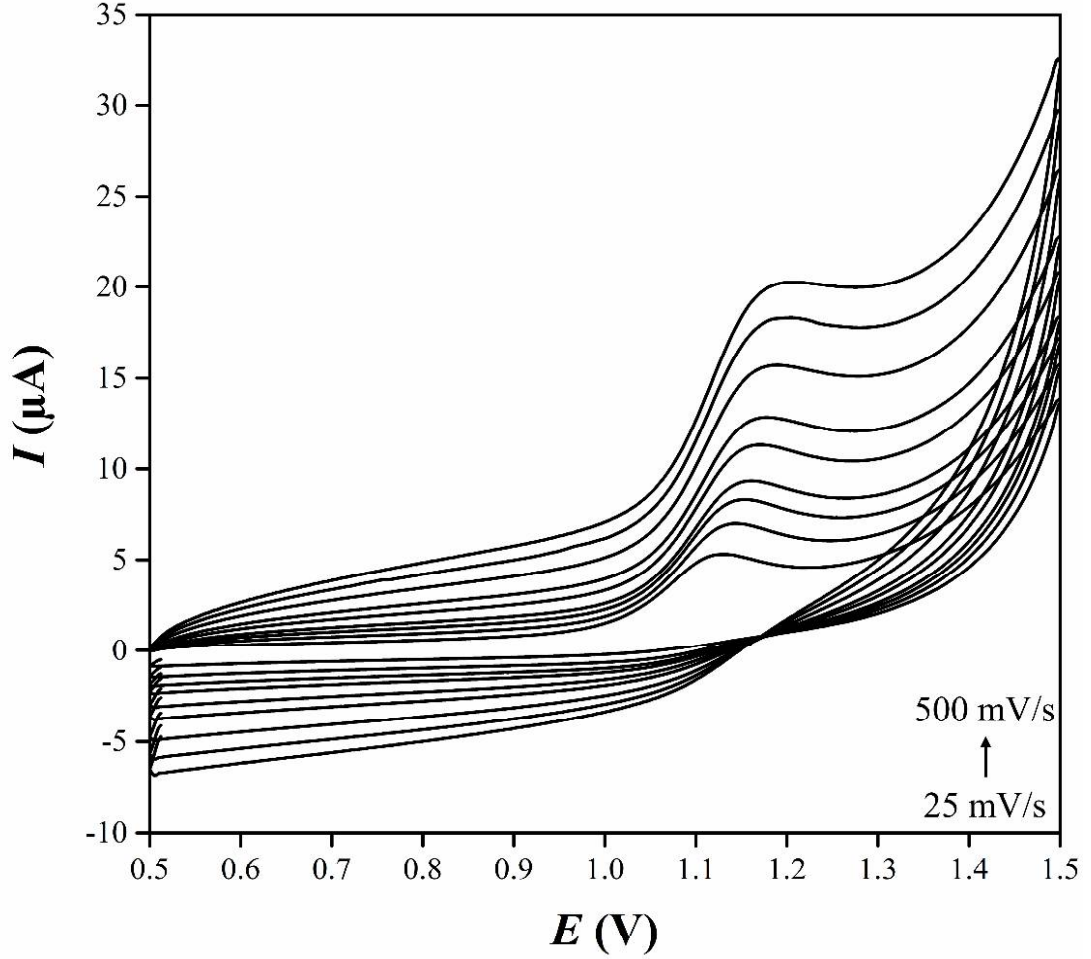
**Şekil 3.32.** Elektrolit çözeltinin farklı pH değerlerine karşı 100  $\mu M$  linagliptinin  $I_{pa}$  değerlerinin grafiği ( $N = 3$ )

### 3.2.2.2.2. Tarama hızı çalışmaları

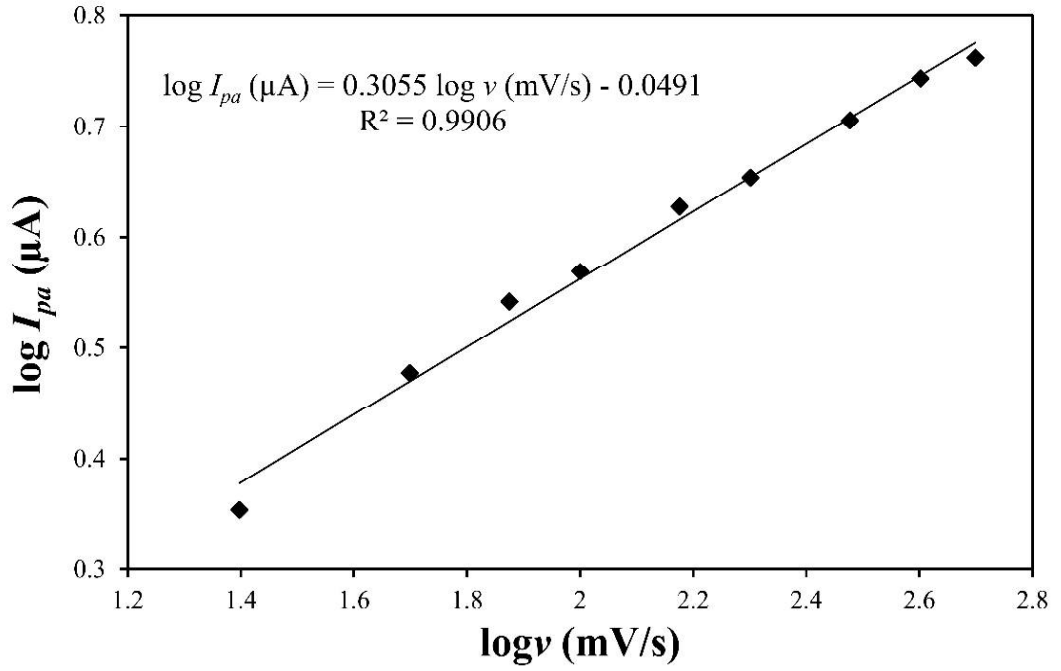
Linagliptinin elektrokimyasal analizi sırasında Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde gerçekleşen reaksiyonu aydınlatmak amacıyla tarama hızı çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla 0.25 M pH: 7.0 BRT içerisinde 100  $\mu M$  Linagliptinin 0,5 – 1,5 V potansiyel aralığında 25, 50, 75, 100, 150, 200, 300, 400 ve 500 mV/s tarama hızlarında dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiştir. Her tarama hızında üç ölçüm alınmış ve ortalama değerler kullanılmıştır. Elde edilen voltamogramlar Şekil 3.33.'te gösterilmiştir. Tarama hızının logaritmasına karşı pik akımının logaritması grafiğe geçirilmiştir (Şekil 3.34.). Grafikten elde edilen regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı aşağıda verilmiştir;

$$\log I_{pa} (\mu A) = 0.3055 \log v (mV/s) - 0.0491 (R^2 = 0.9906) \quad (3-11)$$

Doğrunun eğimi 0.3055 olarak hesaplanmıştır. Eğim değerinin 0.5'ten küçük olması, linagliptinin elektrokimyasal analizi sırasında sensör yüzeyinde difüzyon kontrollü reaksiyonun gerçekleştiğini göstermektedir.



**Şekil 3.33.** 0.25 M pH: 7.0 BRT içerisinde 100  $\mu\text{M}$  linagliptinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde 25, 50, 75, 100, 150, 200, 300, 400 ve 500 mV/s tarama hızlarındaki dönüşümlü voltamogramları



**Şekil 3.34.** 0.25 M pH: 7.0 BRT içerisindeki 100 μM linagliptinin tarama hızlarının logaritmalarına karşı anodik pik akımlarının logaritmalarının grafiği ( $N = 3$ )

Şekil 3.33.'te görüldüğü üzere tarama hızının artmasıyla beraber linagliptinin  $E_{pa}$  değerinde pozitif yönde kayma gözlenmiştir. Bu pozitif kayma linagliptinin tersinmez oksidasyon reaksiyonuna sahip olduğunu göstermektedir. Laviron eşitliği (Laviron, 1974) kullanılarak linagliptinin elektrokimyasal reaksiyonu esnasında aktarılan elektron sayısı hesaplanmıştır. Laviron eşitliği aşağıdaki şekilde ifade edilmiştir;

$$E_{pa} = E^{\theta} + \left(\frac{RT}{\alpha nF}\right) \ln \left(\frac{RTk^{\theta}}{\alpha nF}\right) + \left(\frac{RT}{\alpha nF}\right) \ln v \quad (3-7)$$

$E^{\theta}$ : Formal redoks potansiyeli

$E_{pa}$ : Anodik pik potansiyeli

$n$ : Transfer edilen elektron sayısı

$\alpha$ : Yük transfer katsayısı

$v$ : Tarama hızı

$R$ : Gaz sabiti

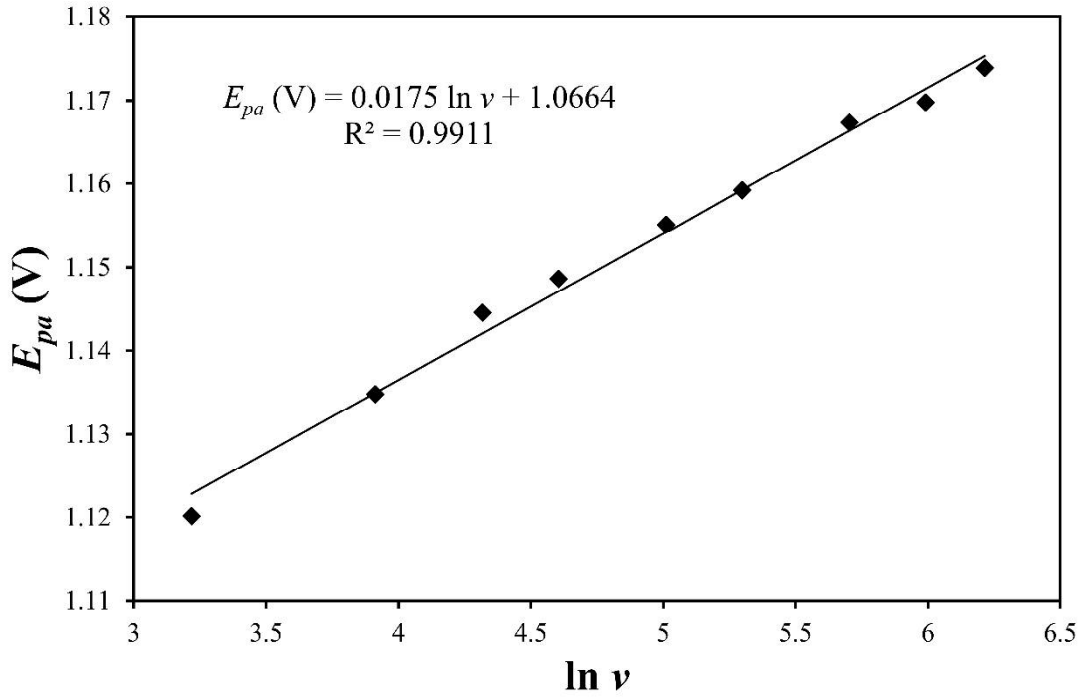
$T$ : Sıcaklık

$F$ : Faraday sabiti

Laviron eşitliğine göre tarama hızının doğal logaritma değeri  $E_{pa}$  ile doğru orantılı bir şekilde artmaktadır. Şekil 3.35.'te tarama hızının doğal logaritmasına karşı  $E_{pa}$  grafiği gösterilmiştir. Grafikten elde edilen regresyon denklemi aşağıdaki şekildedir;

$$E_{pa} \text{ (V)} = 0.0175 \ln v + 1.0664 \text{ (R}^2 = 0.9911\text{)} \quad (3-12)$$

Değerler Laviron eşitliğinde yerine konulduğunda linagliptinin elektrokimyasal oksidasyonu sırasında aktarılan elektron sayısı üç olarak hesaplanmıştır.



**Şekil 3.35.** 0.25 M pH: 7.0 BRT içerisindeki 100  $\mu$ M linagliptinin tarama hızlarının doğal logaritmalarına karşı anodik pik potansiyellerinin grafiği ( $N = 3$ )

### 3.2.2.3. Doğrusal çalışma aralığının belirlenmesi

pH optimizasyonu ve tarama hızı çalışmalarından sonra linagliptin için doğrusal çalışma aralığı belirlenmiştir. Bölüm 3.2.2.2.2’de, linagliptinin sensör yüzeyinde gerçekleşen elektrokimyasal reaksiyonunun difüzyon kontrollü olduğu açıklanmıştır. Bu sebeple linagliptin analizi için DPV yöntemi kullanılmıştır. Yöntemi etkileyen diğer parametreler Çizelge 3.13.’te gösterildiği gibi optimize edilmiştir

**Çizelge 3.13.** Linagliptin analizi için DPV yöntemine ait optimum enstrümantal parametreler

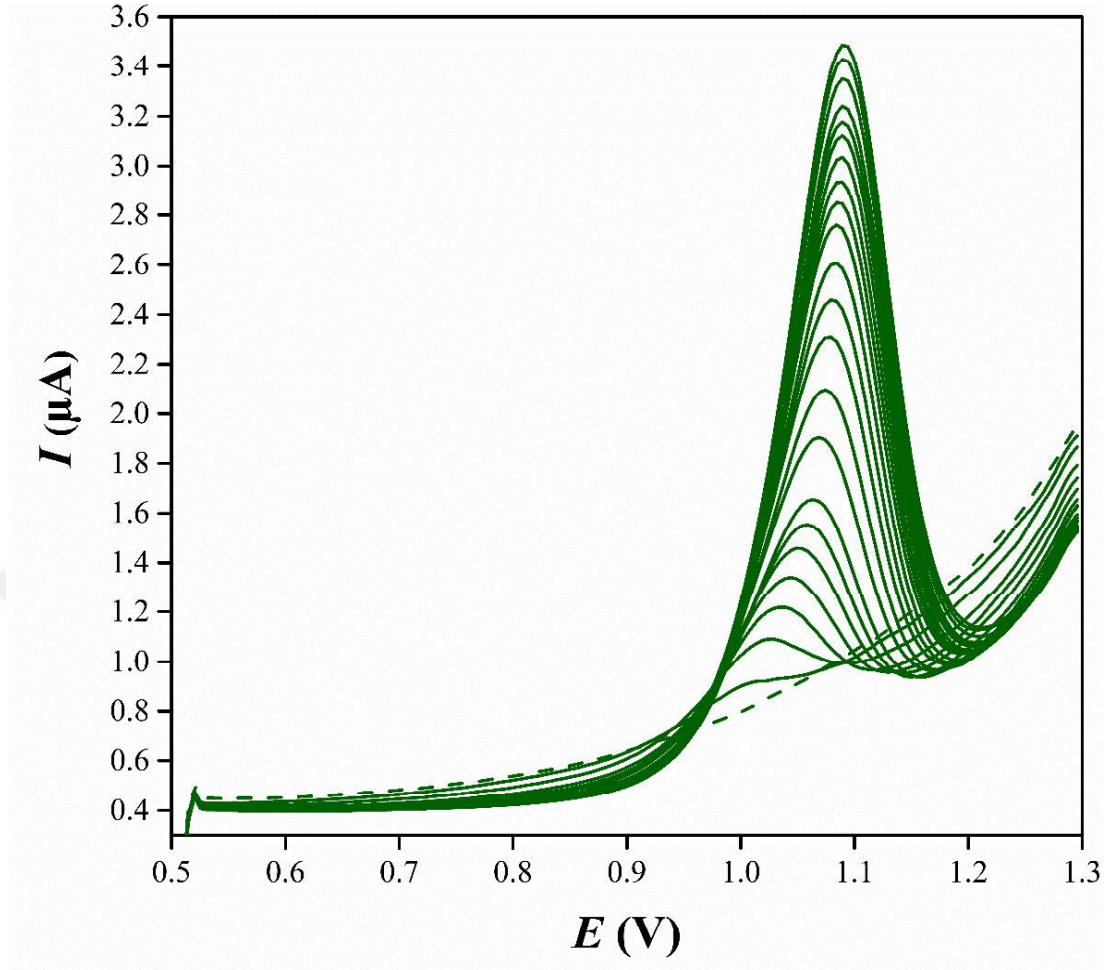
Parametre	Optimum değer
Puls büyüklüğü (V)	0.025
Puls süresi (s)	0.05
Basamak potansiyeli (V)	0.005
Tarama hızı (V/s)	0.05

Optimize şartlar altında linagliptinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde DPV ile yapılan analizleri sonucu 1.0 – 75.0 µM ve 75.0 – 153.4 µM olmak üzere iki farklı doğrusal çalışma aralığı belirlenmiştir. Her bir konsantrasyon değeri için ölçümler üç tekrarlı olarak yapılmış ve ortalama değerler kullanılmıştır. Elde edilen regresyon denklemleri aşağıda verilmiştir;

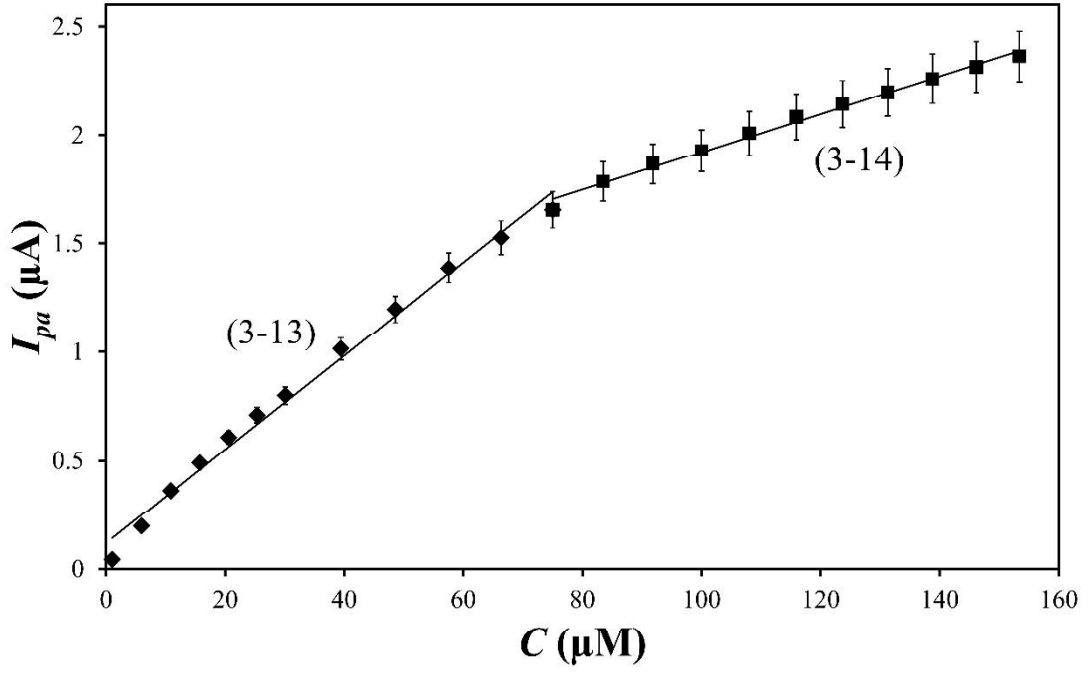
$$I_{pa} (\mu A) = 0.0215 C + 0.12 (R^2 = 0.9907) \quad (3-13)$$

$$I_{pa} (\mu A) = 0.0087 C + 1.05 (R^2 = 0.9911) \quad (3-14)$$

Linagliptinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde DPV yöntemi ile analizi sonucu elde edilen voltamogramlar ve kalibrasyon denklemi sırayla Şekil 3.36. ve Şekil 3.37.’de verilmiştir.



**Şekil 3.36.** 0.25 M pH: 7.0 BRT içerisinde 1.0, 6.0, 10.9, 15.8, 20.6, 25.4, 30.1, 39.4, 48.6, 57.5, 66.4, 75.0, 83.5, 91.5, 100.0, 108.0, 115.9, 123.7, 131.3, 138.8, 146.2 ve 153.4  $\mu\text{M}$  linagliptinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyindeki diferansiyel puls voltamogramları (-----0.25 M pH: 7.0 BRT'nun Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyindeki diferansiyel puls voltamogramı)



**Şekil 3.37.** Linagliptin konsantrasyonuna karşı elde edilen  $I_{pa}$  değerlerinin kalibrasyon grafiği ( $N = 3$ )

Geliştirilen metodun GS ve tayin alt sınırı (TAS) aşağıdaki formüller kullanılarak hesaplanmıştır;

$$GS = 3 \times \frac{SS}{m}$$

$$TAS = 10 \times \frac{SS}{m}$$

Formüllerde  $SS$  standart sapmayı,  $m$  ise doğru denkleminin eğimini ifade etmektedir. GS ve TAS, 3-13 numaralı denklem kullanılarak hesaplanmıştır. Doğrusal çalışma aralığının en düşük konsantrasyon değerinde 10 numune DPV ile analiz edilmiş ve  $I_{pa}$  değerlerinin  $SS$  değeri kullanılmıştır. Geliştirilen yöntemin GS  $0.19 \mu\text{M}$ , TAS ise  $0.65 \mu\text{M}$  olarak hesaplanmıştır. Çizelge 3.14.'te linagliptinin DPV yöntemi ile  $\text{Sis@MoS}_2/\text{CKE}$  yüzeyinde analizi için geliştirilen yöntemle ait parametreler özetlenmiştir.

**Çizelge 3.14.** Linagliptinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE ile elektrokimyasal analizi ile elde edilen analitik parametreler

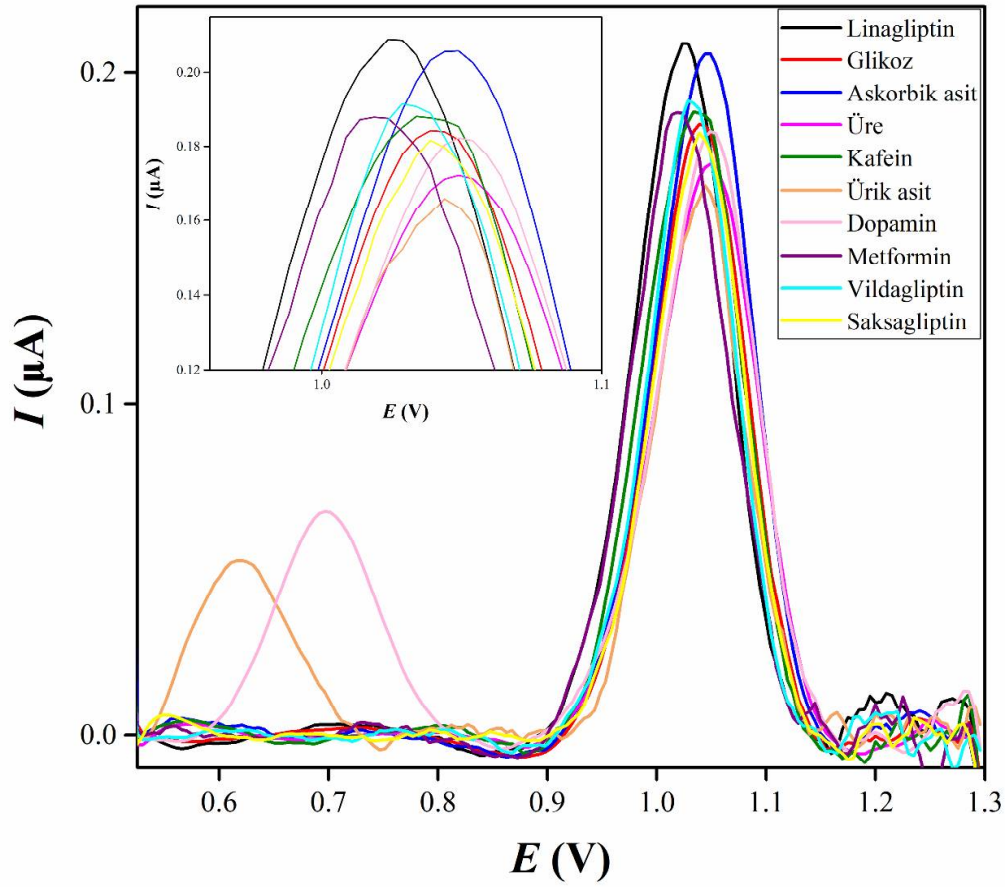
Parametre	Sis@MoS <sub>2</sub> /CKE	
Ölçülen potansiyel, mV	982	
Doğrusal çalışma aralığı, µM	1.0 – 75.0	75.0 – 153,4
Eğim, µA/µM	0.0215	0.0087
Kesişim, µA	0.12	
Korelasyon katsayısı (R <sup>2</sup> )	0.9907	0.9911
GS, µM	0.19	
TAS, µM	0.65	

#### 3.2.2.4. Seçicilik çalışmaları

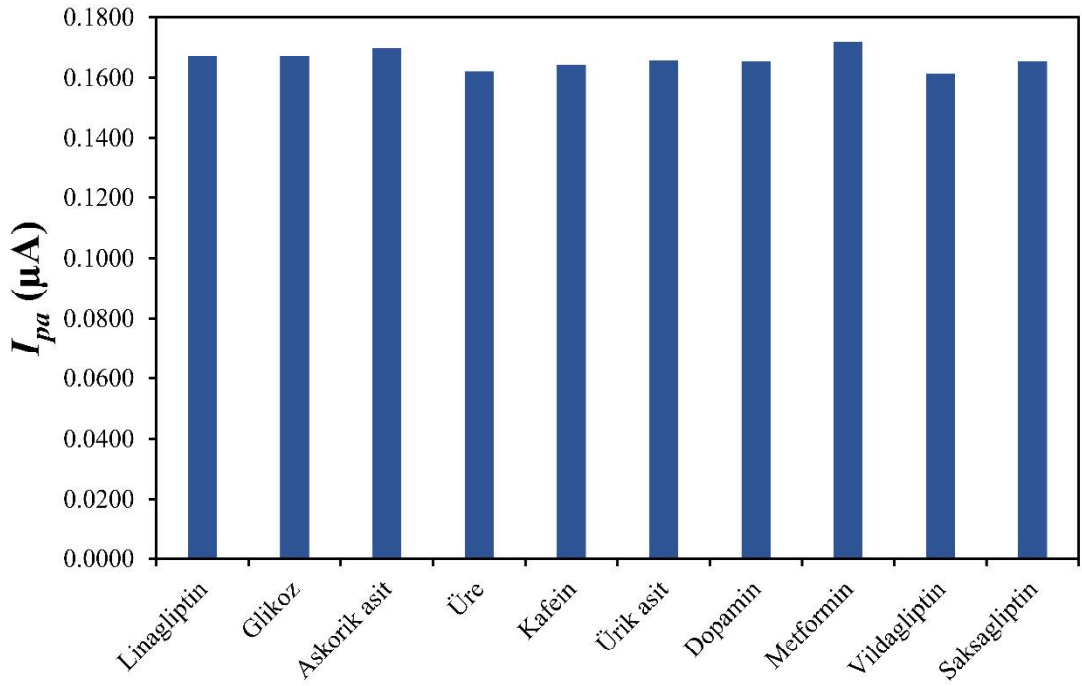
Geliştirilen sensörün linagliptine karşı seçiciliğini incelemek amacıyla, 5 µM linagliptinin, glikoz, askorbik asit, üre, kafein, ürik asit ve dopamin gibi girişim yapması muhtemel maddelerin ve metformin, vildagliptin ve saksagliptin gibi sıklıkla kullanılan antidiyabetik ilaçların varlığında  $I_{pa}$  değerindeki değişim incelenmiştir. Çizelge 3.15.'te seçicilik çalışmalarında kullanılan maddelerin konsantrasyonları,  $I_{pa}$  ve  $E_{pa}$  değerleri karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Çizelge 3.15.'te görüldüğü üzere, girişim yapabilecek maddeler varlığındaki  $I_{pa}$  değeri, sadece linagliptine ait  $I_{pa}$  değeri ile kıyaslandığında (Her biri için üç ölçüm alındı ve ortalama değerler kullanıldı) en fazla değişim %3.56 oranında vildagliptin varlığında gözlenmiştir. Şekil 3.38.'de linagliptinin tek başına ve girişim yapabilecek maddeler varlığındaki diferansiyel puls voltamogramları verilmiştir. Şekil 3.39. ve Şekil 3.40.'ta sırasıyla linagliptinin tek başına ve girişim yapan maddeler varlığındaki  $I_{pa}$  ve  $E_{pa}$  değerleri verilmiştir. Şekil 3.40.'ta görüldüğü gibi ortamdaki maddeler, linagliptinin  $E_{pa}$  değerinde önemsenmeyecek derecede kaymalara neden olmuştur. Girişim çalışmalarından elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE'un linagliptine karşı oldukça seçici olduğu görülmektedir.

**Çizelge 3.15.** Girişim yapması muhtemel maddelerin linagliptinin  $I_{pa}$  ve  $E_{pa}$  değerlerine etkisi ( $N=3$ )

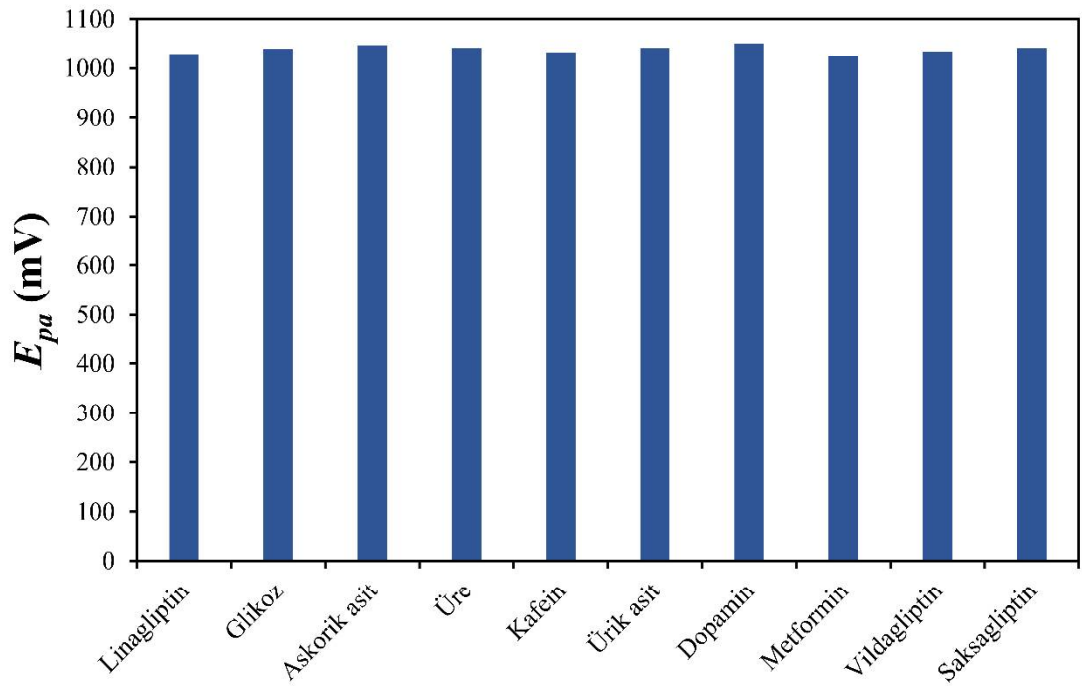
Analit	Girişim	$C_{GİRİŞİM}$ ( $\mu\text{M}$ )	$I_{pa}$ ( $\mu\text{A}$ )	$E_{pa}$ (mV)	$\Delta I_{pa}$ (%)	$\Delta E_{pa}$ (mV)
Linagliptin (5 $\mu\text{M}$ )	-	-	0.1673	1030		
	Glikoz	500	0.1673	1041	0	11
	Askorbik asit	500	0.1701	1049	1.70	19
	Üre	500	0.1621	1042	3.10	12
	Kafein	500	0.1643	1034	1.79	4
	Ürik asit	50	0.1657	1042	0.94	12
	Dopamin	50	0.1655	1052	1.07	22
	Metformin	50	0.1721	1025	2.88	5
	Vildagliptin	50	0.1613	1035	3.56	5
	Saksagliptin	50	0.1656	1042	1.03	12



**Şekil 3.38.** 0.25 M pH: 7.0 BRT içerisindeki 5  $\mu\text{M}$  linagliptinin çeşitli girişimlerin varlığındaki temel çizgileri eşitlenmiş diferansiyel puls voltamogramları



Şekil 3.39. Çeşitli girişimlerin linagliptinin  $I_{pa}$  değerlerine etkisi



Şekil 3.40. Çeşitli girişimlerin linagliptinin  $E_{pa}$  değerlerine etkisi

### 3.2.2.5. Tekrarlanabilirlik çalışmaları

Tez çalışmaları kapsamında geliştirilen sensörün tekrarlanabilirlik çalışmaları için 0.25 M pH: 7.0 BRT içerisinde 50 µM linagliptin aynı sensör ile altı defa analiz edilmiş ve tekrarlanabilirlik ölçütü olarak  $I_{pa}$  değerlerinin %BSS değerleri hesaplanmıştır. %BSS aşağıda verilen formül kullanılarak hesaplanmıştır;

$$\%BSS = \frac{SS}{X_{ort}} \times 100$$

$SS$ ,  $I_{pa}$  değerlerinin standart sapmasını,  $X_{ort}$  ise  $I_{pa}$  değerlerinin ortalamasının ifade etmektedir. Yapılan ölçümler sonucu linagliptin için %BSS değeri 1.42 olarak hesaplanmıştır.

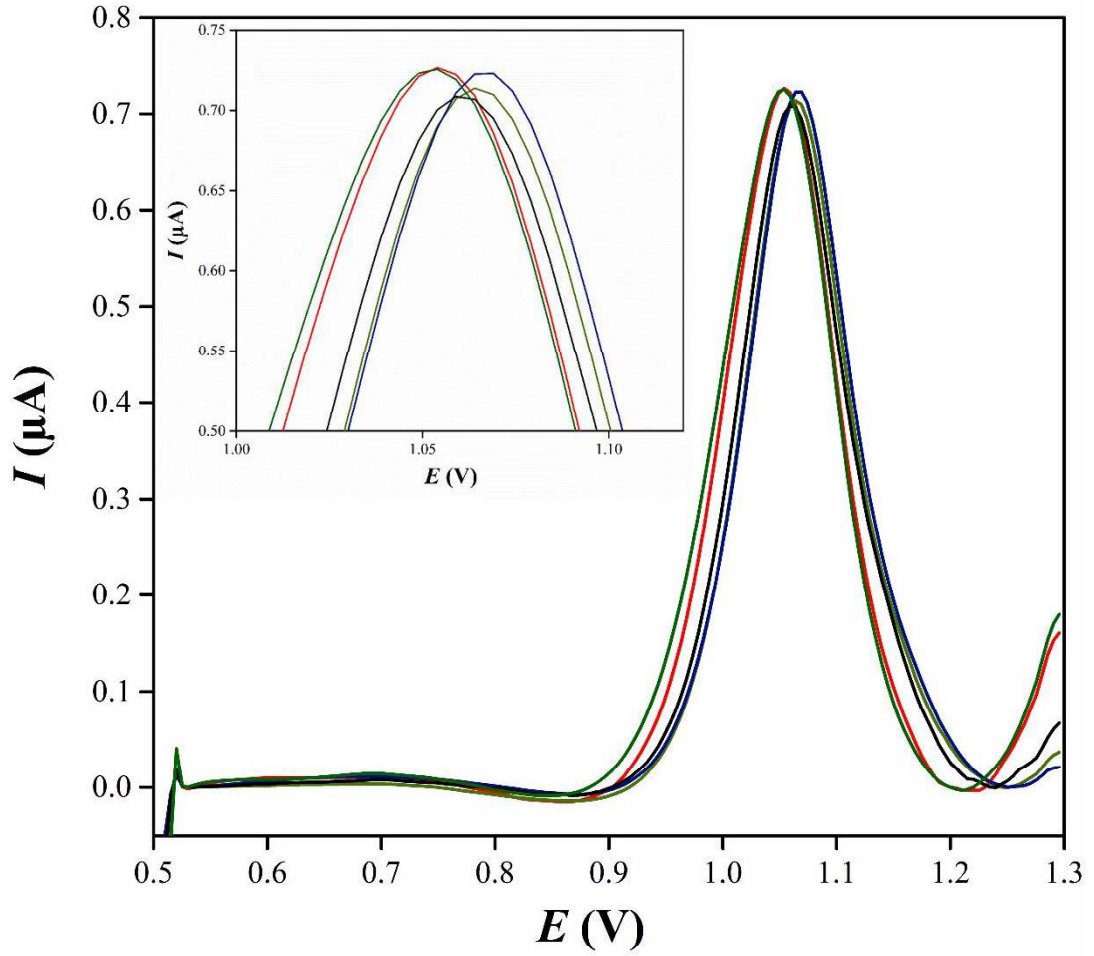
### 3.2.2.6. Yeniden üretilebilirlik

Tez çalışmaları kapsamında üretilen sensörün yeniden üretilebilirliğini değerlendirmek amacıyla 0.25 M pH: 7.0 BRT içerisinde 50 µM linagliptin altı farklı sensör ile analiz edilmiş ve yeniden üretilebilirlik ölçütü olarak  $I_{pa}$  değerlerinin %BSS değeri hesaplanmıştır. Her bir sensör ile üç ölçüm alınmış ve %BSS hesaplanırken her sensöre ait ortalama  $I_{pa}$  değeri kullanılmıştır. Yapılan ölçümler sonucunda %BSS değeri 3.72 olarak hesaplanmıştır.

### 3.2.2.7. Geri kazanım çalışmaları

Tez çalışmaları kapsamında yapay plazma numunelerinin linagliptin içeriği analiz edilmiştir. Hesaplamalar kalibrasyon grafiği yöntemi ile yapılmıştır. Bölüm 2.4.4'te plazma numunelerinin nasıl hazırlandığı anlatılmıştır. Beş farklı plazma numunesi DPV ile analiz edilmiştir. Plazma numunelerine ait voltamogramlar Şekil

3.41.'de gösterilmiştir. Elde edilen  $I_{pa}$  değerleri kalibrasyon grafiğinden elde edilen regresyon eşitliğinde yerine konularak plazma numunelerinin konsantrasyonu hesaplanmıştır. Her bir numune için üç analiz gerçekleştirilmiş ve hesaplamalarda ortalama  $I_{pa}$  değeri kullanılmıştır. Linagliptinin plazma numunelerinden ortalama GK  $\%100.23 \pm 1.17$  olarak hesaplanmıştır. Çizelge 3.16.'da her bir numune için hesaplanan linagliptin miktarı verilmiştir.



**Şekil 3.41.** 25 µM linagliptin içeren plazma numunelerinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyindeki temel çizgileri eşitlenmiş diferansiyel puls voltamogramları

**Çizelge 3.16.** Linagliptinin, Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE kullanılarak yapılan plazma numunelerinden miktar tayini sonuçları (*N* = 3)

<b>Numune</b>	<b>Eklenen miktar (<math>\mu\text{M}</math>)</b>	<b>Bulunan miktar (<math>\mu\text{M}</math>)</b>	<b>GK (%)</b>
1	25	25.40	101.60
2	25	24.61	98.46
3	25	25.15	100.58
4	25	24.96	99.84
5	25	25.17	100.67
Ortalama			100.23
Standart sapma			1.17

#### 4. TARTIŞMA

Doktora tezi kapsamında 2H-MoS<sub>2</sub>'den, Li – interkalasyon yöntemi ile 1T-MoS<sub>2</sub> sentezlenmiş ve sentezlenen 1T-MoS<sub>2</sub> tabakaları üzerine sistein amino asidi yerleştirilmiştir. 1T-MoS<sub>2</sub> nano-tabakaları üzerine sistein moleküllerinin yerleştirmek için tarafımızdan geliştirilen metot kullanılmıştır. Geliştirilen metodun etkinliği ve sentezlenen malzemenin (Sis@MoS<sub>2</sub>) doğruluğu birtakım spektroskopik ve mikroskopik yöntemler kullanılarak test edilmiştir. Tarafımızdan geliştirilen yöntem kullanılarak sistein amino asidi, MoS<sub>2</sub> tabakaları üzerine başarılı şekilde bağlanmıştır.

Li – interkalasyon yöntemi sonucu Li atomlarının MoS<sub>2</sub> tabakaları arasına girdiği ve Li<sub>x</sub>MoS<sub>2</sub> sentezlendiği, yapılan XRD analizleri ile doğrulanmıştır. 2H-MoS<sub>2</sub>'ün (002) düzleminde tabakalar arası mesafe 0.613 nm iken Li<sub>x</sub>MoS<sub>2</sub>'de bu mesafe 0.882 nm'ye çıkmıştır. 2H-MoS<sub>2</sub>'ye ait kırının piklerinin Li – interkalasyon işleminden sonra genişlemesi ve bazı piklerin kaybolması da eksfoliasyon işleminin başarılı olduğunu ve MoS<sub>2</sub>'ün 2H fazından 1T fazına dönüştüğünü doğrulamaktadır.

Sis@MoS<sub>2</sub>, XPS yöntemi ile analiz edilmiş ve MoS<sub>2</sub>'ün 1T oranı %76.5 olarak hesaplanmıştır. Bu değerler MoS<sub>2</sub>'ün büyük oranda metalik faza geçtiğini ve iletkenliğinin arttığını doğrulamıştır.

Tarafımızca geliştirilen yöntem ile sistein moleküllerinin MoS<sub>2</sub> tabakalarına bağlandığı XPS ve FTIR analizleri ile doğrulanmıştır. Sis@MoS<sub>2</sub> yapısındaki S:Mo oranı, XPS verileri kullanılarak, 2.5 olarak hesaplanmıştır. Oranın ikinin üzerinde olması sistein moleküllerinin MoS<sub>2</sub> tabakalarına bağlandığını, dolayısıyla S oranının arttığını doğrulamaktadır.

Sisteinin MoS<sub>2</sub> tabakalarına bağlandığı, FTIR analizleri ile doğrulanmıştır. MoS<sub>2</sub>'e ait FTIR spektrumunda herhangi bir pik gözlenmezken, Sis@MoS<sub>2</sub>'ye ait FTIR spektrumunda bazı pikler gözlenmiştir. Sistein ilavesinden sonra gözlenen pikler, sisteinin MoS<sub>2</sub>'e bağlandığını göstermektedir. Çizelge 3.3.'te piklerin hangi yapılardan kaynaklandığı gösterilmiştir.

Sentezlenen 1T-MoS<sub>2</sub> ve Sis@MoS<sub>2</sub>'ün tabakalı yapıları TEM görüntüleri ile doğrulanmıştır. Sis@MoS<sub>2</sub>'ün TEM görüntülerinde (Şekil 3.7.), 1T-MoS<sub>2</sub>'de (Şekil 3.5. ve 3.6.) olmayan dalgalanmalar gözlenmiştir. Dalgalanmaların sisteinin –SH gruplarından Mo'e bağlanması sonucu Mo üzerinden elektron çekmesi ve MoS<sub>2</sub>'ün kendi içerisindeki Mo-S bağlarının zayıflayarak gerilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

CKE yüzeyleri Sis@MoS<sub>2</sub> ile modifiye edilerek tez kapsamında hedeflenen sensörler (Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE) üretilmiştir. Randles – Sevcik eşitliği kullanılarak üretilen sensörün elektro-aktif yüzey alanı 6.46 mm<sup>2</sup> olarak hesaplanmıştır. Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE'un elektro-aktif yüzey alanı, CKE'un elektro-aktif yüzey alanının 4.9 katı, 1T-MoS<sub>2</sub>/CKE'un elektro-aktif yüzey alanının ise 1.4 katıdır. Şekil 3.16. ve Çizelge 3.6.'da gösterildiği üzere, 1 M KNO<sub>3</sub> içinde 1 mM K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] çözeltisinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyindeki dönüşümlü voltamogramındaki anodik ve katodik pik potansiyelleri arasındaki fark, CKE yüzeyine göre daha dardır. Pik potansiyelleri arasındaki bu farkın düşmesi sensörün heterojen elektron aktarım hızının daha iyi olduğunu göstermektedir. Nicholson eşitliği kullanılarak Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE'a ait  $k^o$  değeri hesaplanmıştır. Sis@MoS<sub>2</sub>/GCE için  $k^o$  değeri  $1.2 \times 10^{-2}$  olarak bulunmuştur. Bu değerler geliştirilen sensörün elektron aktarım kapasitesinin CKE'a nazaran daha yüksek olduğunu göstermektedir. Geliştirdiğimiz sensör, literatürde daha önceden bildirilmiş MoS<sub>2</sub> temelli elektrotlara kıyasla daha iyi elektron aktarım kapasitesine sahiptir. Çizelge 4.1.'de tarafımızdan geliştirilen Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE ile literatürde mevcut bazı MoS<sub>2</sub> temelli elektrokimyasal sensörlerin  $k^o$  değerleri karşılaştırmalı olarak verilmiştir.

**Çizelge 4.1.** Çeşitli MoS<sub>2</sub> temelli elektrokimyasal sensörlere ait  $k^o$  değerleri

Sensör	$k^o$	Kaynak
Sis@MoS <sub>2</sub>	$1.2 \times 10^{-2}$	Tez çalışmamız
Eks-MoS <sub>2</sub>	$2.53 \times 10^{-3}$	(Chia ve ark., 2015a)
Y-Eks-MoS <sub>2</sub>	$9.5 \times 10^{-4}$	(Chia ve ark., 2015a)
MoS <sub>2</sub>	$2.11 \times 10^{-3}$	(Chia ve ark., 2014)
Y-MoS <sub>2</sub>	$2.67 \times 10^{-4}$	(Chia ve ark., 2014)
İ-MoS <sub>2</sub>	$3.35 \times 10^{-3}$	(Chia ve ark., 2014)
Eks-MoS <sub>2</sub>	$2.26 \times 10^{-4}$	(Chia ve ark., 2014)
Y-Eks-MoS <sub>2</sub>	$2.5 \times 10^{-4}$	(Chia ve ark., 2014)
İ-Eks-MoS <sub>2</sub>	$2.15 \times 10^{-4}$	(Chia ve ark., 2014)
MoS <sub>2</sub>	$2.1 \times 10^{-5}$	(Velický ve ark., 2015)

- Eks; eksfolie, Y; yükseltgenmiş, İ: indirgenmiş

Tez kapsamında geliştirilen sensör kullanılarak antidiyabetik ilaç etken maddeleri olan dapagliflozin ve linagliptin için elektrokimyasal analiz yöntemleri geliştirilmiştir. Dapagliflozin için geliştirilen analiz yöntemi, ilk elektrokimyasal analiz yöntemi olma özelliği taşımaktadır. Dapagliflozinin elektrokimyasal davranışı farklı sensörler kullanılarak 0.25 M pH: 2.0 BRT içerisinde DPV yöntemi ile incelenmiştir ve en iyi performans Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE'ta gözlenmiştir (Çizelge 3.7.). Dapagliflozinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE ile farklı pH değerlerindeki elektroanalitik cevapları DPV yöntemi ile incelenmiştir ve yüksek  $I_{pa}$  değeri pH: 2'de elde edilmiştir (Şekil 3.21.). Dapagliflozinin DV yöntemi ile tarama hızı çalışmaları yapılmış ve Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde gerçekleşen elektrokimyasal reaksiyonun difüzyon kontrollü olduğu belirlenmiştir. Tarama hızı çalışmalarında, tarama hızının doğal logaritmasına karşı anodik pik potansiyeli grafiğe geçirilmiş ve elde edilen regresyon denkleminin eğiminden dapagliflozinin elektro-oksidasyonu sırasında aktarılan elektron sayısı hesaplanmıştır. Dapagliflozin için aktarılan elektron sayısı üç olarak bulunmuştur.

Elektrolit çözeltinin pH değeri ve sensör yüzeyinde gerçekleşen elektrokimyasal reaksiyon tipi belirlendikten sonra DPV yöntemi ile doğrusal çalışma aralığı belirlenmiştir. Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE ile dapagliflozin için 2.0 – 58.5 µM ve 58.5 – 108.9 µM olmak üzere iki doğrusal çalışma aralığı belirlenmiştir. Gözlenebilme sınırı 1.6 µM olarak hesaplanmıştır. Çizelge 4.2.'de tarafımızca geliştirilen sensörün analitik performansı, literatürde daha önceden bildirilmiş bazı analitik yöntemlerle karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Çizelge 4.2.'de görüldüğü gibi geliştirdiğimiz sensör ve yöntem dapagliflozine karşı yüksek analitik performans göstermiştir.

**Çizelge 4.2.** Dapagliflozin için geliştirilen elektroanalitik yöntemin diğer analitik yöntemlerle karşılaştırılması

Yöntem	Çalışma aralığı (µM)	Gözlenebilme sınırı (µM)	Kaynak
Spektrofotometri	6.114 – 122.279	1.64	(Lotfy ve ark., 2019)
Spektrofluorimetri	0.122 – 0.244	0.035	(Omar ve ark., 2019a)
SK-KS/KS	0.012 – 1.223	0.012	(El-Zaher ve ark., 2019)
YBSK	4.891 – 48.912	1.44	(Nasser ve ark., 2018)
YBİTK*	1 – 10	0.314	(Nasser ve ark., 2018)
UBSK	6.114 – 36.684	0.07	(Reddy ve Sankar, 2019)
DPV	2.0 – 108.9	1.6	Tez çalışmamız

Doktora çalışmaları kapsamında geliştirilen Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE'un dapagliflozine uygulanabilirliğini incelemek için seçicilik, tekrarlanabilirlik, yeniden üretilebilirlik ve gerçek numuneden geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Sensörün dapagliflozine karşı seçiciliğini incelemek amacıyla dapagliflozin 100 katı fazla konsantrasyonda glikoz, üre, ürik asit, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup> ve SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> varlığında analiz edilmiş ve sinyaldeki değişim %6.1 olarak belirlenmiştir. Sonuçlar, Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE'un dapagliflozini girişim yapması muhtemel maddelerin varlığında seçici bir şekilde tayin edebildiğini göstermektedir. Geliştirilen sensörün dapagliflozine karşı tekrarlanabilirliğini incelemek amacıyla, dapagliflozin aynı sensör ile altı defa analiz edilmiş ve tekrarlanabilirliğin ölçütü olarak anodik pik akımlarının % bağıl standart sapması %2,86 olarak hesaplanmıştır. Sensörün yeniden üretilebilirliğini incelemek amacıyla dapagliflozin, altı farklı sensör ile analiz edilmiş ve yeniden üretilebilirliğin

ölçütü olarak anodik pik akımlarının % bağıl standart sapması %4.71 olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar geliştirilen sensörün dapagliflozinin elektrokimyasal tayini için tekrarlanabilir olduğunu göstermektedir. Geri kazanım çalışmaları kapsamında dapagliflozinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE ile tabletlerden analizi yapılmış ve ortalama geri kazanım değeri %99.97 ± 1.32 olarak hesaplanmıştır. Elde edilen veriler, Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE'un dapagliflozini gerçek numuneden başarılı bir şekilde tayin ettiğini ispatlamaktadır.

Linagliptinin elektrokimyasal davranışı farklı sensörler kullanılarak 0.25 M pH: 7.0 BRT içerisinde DPV yöntemi ile incelenmiştir ve iyi performans Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE'ta gözlenmiştir (Çizelge 3.12.). Linagliptinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE ile farklı pH değerlerindeki elektroanalitik cevapları DPV yöntemi ile incelenmiştir ve yüksek  $I_{pa}$  değeri pH: 7.0'de elde edilmiştir (Şekil 3.31.). Linagliptinin DV yöntemi ile tarama hızı çalışmaları yapılmış ve Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde gerçekleşen elektrokimyasal reaksiyonun difüzyon kontrollü olduğu belirlenmiştir. Tarama hızı çalışmalarında, tarama hızının doğal logaritmasına karşı anodik pik potansiyeli grafiğe geçirilmiş ve elde edilen regresyon denkleminin eğiminden linagliptinin elektrooksidasyonu sırasında aktarılan elektron sayısı hesaplanmıştır. Linagliptin için aktarılan elektron sayısı üç olarak hesaplanmıştır.

Elektrolit çözeltinin pH değeri ve sensör yüzeyinde gerçekleşen elektrokimyasal reaksiyon tipi belirlendikten sonra DPV yöntemi ile doğrusal çalışma aralığı belirlenmiştir. Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE ile linagliptin için 1.0 – 75.0 µM ve 75.0 – 153.4 µM olmak üzere iki doğrusal çalışma aralığı belirlenmiştir. Gözlenebilir sınıırı 0.19 µM olarak hesaplanmıştır. Çizelge 4.3.'te tarafımızca geliştirilen sensörün analitik performansı, literatürde daha önceden bildirilmiş analitik yöntemlerle karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Çizelge 4.3.'te görüldüğü gibi geliştirdiğimiz sensör ve yöntem linagliptine karşı yüksek analitik performans göstermiştir.

**Çizelge 4.3.** Linagliptin için geliştirilen elektroanalitik yöntemin diğer analitik yöntemlerle karşılaştırılması

Yöntem	Çalışma aralığı (µM)	Gözlenebilme sınırı (µM)	Kaynak
TF-YBSK	0.36 – 3.6	0.12	(Salapaka ve ark., 2019)
Spektroflorimetri	0.002 – 0.2	0.0013	(Aref ve ark., 2020)
Spektrofotometri	5.3 – 63.5	1.33	(Amin ve ark., 2019)
KDV	39.8 – 1530.0	11.3	(Rizk ve ark., 2020)
KDV	0.5 – 11.0	0.21	(Naggar ve ark., 2020)
DPV	1.0 – 153,4	0.19	Tez çalışmamız

Doktora çalışmaları kapsamında geliştirilen Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE'un linagliptine uygulanabilirliğini incelemek için seçicilik, tekrarlanabilirlik, yeniden üretilebilirlik ve gerçek numuneden geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Sensörün linagliptine karşı seçiciliğini incelemek amacıyla linagliptin 100 katı fazla konsantrasyonda glikoz, askorbik asit, üre, kafein ve 10 katı fazla konsantrasyonda ürik asit, dopamin, metformin, vildagliptin ve saksagliptin varlığında analiz edilmiş ve sinyaldeki en fazla değişim %3.56 olarak vildagliptin varlığında gözlenmiştir. Sonuçlar, Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE'un linagliptini girişim yapması muhtemel maddelerin ve tedavide yaygın kullanılan bazı antidiyabetik ilaçların varlığında seçici şekilde tayin edebildiğini göstermektedir. Geliştirilen sensörün linagliptine karşı tekrarlanabilirliğini incelemek amacıyla linagliptin aynı sensör ile altı defa analiz edilmiş ve tekrarlanabilirliğin ölçütü olarak anodik pik akımlarının % bağıl standart sapması %1.42 olarak hesaplanmıştır. Sensörün yeniden üretilebilirliğini incelemek amacıyla linagliptin, altı farklı sensör ile analiz edilmiş ve yeniden üretilebilirliğin ölçütü olarak anodik pik akımlarının % bağıl standart sapması %3.72 olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar geliştirilen sensörün linagliptinin elektrokimyasal tayini için tekrarlanabilir olduğunu göstermektedir. Geri kazanım çalışmaları kapsamında linagliptinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE ile plazma çözeltilerinden analizi yapılmış ve ortalama geri kazanım değeri %100.23 ± 1.17 olarak hesaplanmıştır. Bu değer, Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE'un linagliptini gerçek numuneden başarılı bir şekilde tayin ettiğini ispatlamaktadır.

Sonuç olarak, diyabet tedavisinde farklı mekanizmalarla etki eden yeni nesil ilaçlar olan dapagliflozin ve linagliptinin gerçek numunelerden elektrokimyasal olarak tayini için sistein ve MoS<sub>2</sub> kombinasyonu bir nano-malzeme sentezlenmiş ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen nano-malzeme ile camı karbon elektrot yüzeyi modifiye edilerek MoS<sub>2</sub> temelli elektrokimyasal sensör üretilmiştir. Üretilen sensör çalışma elektrodu olarak kullanılarak dapagliflozin ve linagliptin için ayrı ayrı hızlı, hassas, tekrarlanabilir, herhangi bir ön ayırım gerektirmeyen, kolay uygulanabilir ve ilaç analizlerinde yaygın olarak kullanılan ve diğer analiz yöntemlerine kıyasla daha düşük maliyetli elektrokimyasal analiz yöntemleri geliştirilmiş, geliştirilen yöntemler valide edilmiştir. Bu özellikleri göz önüne alındığında, geliştirilen analiz yöntemlerinin, dapagliflozin ve linagliptinin rutin analizleri ve klinik analizleri için alternatif yöntemler olabileceği düşünülmektedir.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Doktora çalışmamız bünyesinde, dünya genelinde çok yaygın bir hastalık olan diyabet tedavisinde kullanılan yeni nesil ilaçlar olan dapagliflozin ve linagliptinin analizi için MoS<sub>2</sub> temelli elektrokimyasal sensör geliştirilmesi ve geliştirilen sensör kullanılarak elektroanalitik yöntemler geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu hedefler doğrultusunda geliştirilecek sensörün analitik uygulamalar sırasında pratik olması ve kolayca üretilebilmesi amaçlanmıştır.

Dapagliflozin ve linagliptinin tayini için MoS<sub>2</sub> ve sistein kullanılarak elektrokimyasal sensör tasarımı yapılmıştır. MoS<sub>2</sub>'ün metalik fazı olan 1T fazı (1T-MoS<sub>2</sub>) üzerine sistein amino asidi bağlanmış ve elde edilen nano-malzemenin (Sis@MoS<sub>2</sub>) karakterizasyon çalışmaları, x-ışınları kırınım spektroskopisi, x-ışınları fotoelektron spektroskopisi, Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi ve geçirimli elektron mikroskopik yöntemleri kullanılarak yapılmıştır. Camı karbon elektrot (CKE) yüzeyi 1T-MoS<sub>2</sub> ve Sis@MoS<sub>2</sub> ile modifiye edilerek tez kapsamında amaçlanan elektrokimyasal sensörler (1T-MoS<sub>2</sub>/CKE ve Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE) üretilmiştir. Geliştirilen sensörlerin ve CKE'un elektro-aktif yüzey alanları hesaplanmış ve Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE elektro-aktif yüzey alanının CKE ve 1T-MoS<sub>2</sub>/CKE elektro-aktif yüzey alanlarından yüksek olduğu gözlenmiştir. Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE elektro-aktif yüzey alanı literatürde daha önce rapor edilmiş bazı MoS<sub>2</sub> temelli elektrokimyasal sensörlerin elektro-aktif yüzey alanları ile kıyaslanmış ve geliştirdiğiniz sensörün mevcut sensörlere nazaran daha iyi elektro-aktif yüzey alanına sahip olduğu belirlenmiştir.

Dapagliflozinin elektrokimyasal davranışı CKE, 1T-MoS<sub>2</sub>/CKE ve Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeylerinde incelenmiş ve en yüksek analitik yanıt Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde elde edilmiştir. Dapagliflozinin farklı pH değerindeki Britton – Robinson tamponu (BRT) içerisindeki elektrokimyasal davranışları Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE ile incelenmiş ve yüksek analitik yanıt pH: 2.0 BRT ortamında elde edilmiştir. Dapagliflozinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyindeki reaksiyonun diffüzyon kontrollü olduğu

belirlenmiştir. Diferansiyel puls voltametri (DPV) yöntemi ile dapagliflozin analizi için validasyon çalışmaları tamamlanmıştır. Dapagliflozin için Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde 2.0 – 58.5 µM ve 58.5 – 108.9 µM olmak üzere iki doğrusal çalışma aralığı belirlenmiş ve gözlenebilme sınırı (GS) 1.6 µM olarak hesaplanmıştır.

Linagliptinin elektrokimyasal davranışı CKE, 1T-MoS<sub>2</sub>/CKE ve Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeylerinde incelenmiş ve yüksek analitik yanıt Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde elde edilmiştir. Linagliptinin farklı pH değerindeki BRT içerisindeki elektrokimyasal davranışları Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE ile incelenmiş ve yüksek analitik yanıt pH: 7.0 BRT ortamında elde edilmiştir. Dapagliflozinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyindeki reaksiyonun difüzyon kontrollü olduğu belirlenmiştir. DPV yöntemi ile linagliptin analizi için validasyon çalışmaları tamamlanmıştır. Linagliptin için Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde 1.0 – 75.0 µM ve 75.0 – 153.4 µM olmak üzere iki doğrusal çalışma aralığı belirlenmiş ve GS 0.19 µM olarak belirlenmiştir. Geliştirdiğimiz sensörün analitik performansı dapagliflozin ve linagliptin için daha önce yapılan bazı analitik yöntemlerle karşılaştırılmış ve tez çalışmaları kapsamında dapagliflozin ve linagliptinin elektrokimyasal analizi için hassas olduğu sonucuna varılmıştır.

Tez çalışmamız kapsamında geliştirilen elektrokimyasal sensörün dapagliflozin ve linagliptine karşı seçiciliği incelemek için her iki ilaç etken maddesi, girişim yapması muhtemel maddelerin varlığında analiz edilmiştir. Dapagliflozin için tablet formlarından, linagliptin için ise plazma ortamından geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar geliştirilen sensörün hem dapagliflozin hem de linagliptin için seçici olduğunu göstermiştir.

Sonuç olarak, doktora çalışmaları kapsamında yeni nesil antidiyabetik ilaç etken maddeleri olan dapagliflozin ve linagliptinin gerçek numunelerden tayini için geliştirilen MoS<sub>2</sub> temelli elektrokimyasal sensörün, sodyum glukoz kotransporter 2 inhibitörleri ve dipetidil peptidaz 4 inhibitörleri grubundaki antidiyabetik ilaçların rutin ve klinik analizlerinde alternatif olarak kullanılabilmesi tarafımızca ön görülmektedir.

## ÖZET

### Bazı Antidiyabetik İlaç Etken Maddelerinin Tayini için MoS<sub>2</sub> Temelli Elektrokimyasal Sensörlerin Geliştirilmesi

Tez çalışmasında, tip 2 diyabet tedavisinde kullanılan sodyum glukoz kotransporter 2 inhibitörleri grubundan dapagliflozin ve dipetidil peptidaz 4 inhibitörleri grubundan linagliptinin gerçek numunelerden analizine yönelik MoS<sub>2</sub> temelli elektrokimyasal sensör tasarlanmıştır. Li – interkalasyon yöntemi ile metalik faz MoS<sub>2</sub> (1T-MoS<sub>2</sub>) sentezlenmiş, sentezlenen 1T-MoS<sub>2</sub> üzerine sistein amino asidi bağlanmıştır. Elde edilen nano-malzeme (Sis@MoS<sub>2</sub>), x-ışınları kırınım spektroskopisi, x-ışınları fotoelektron spektroskopisi, Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi ve geçirimsiz elektron mikroskopik yöntemleri kullanılarak karakterize edilmiştir. Camsı karbon elektrot yüzeyleri Sis@MoS<sub>2</sub> ile modifiye edilerek tez kapsamında amaçlanan elektrokimyasal sensör (Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE) üretilmiştir.

Dapagliflozinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde elektrokimyasal analizi dönüşümlü (DV) ve diferansiyel puls voltametri (DPV) yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE, dapagliflozinin elektro-oksidasyonuna karşı yüksek elektrokatalitik aktivite göstermiştir. Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE, dapagliflozin için 2.0 – 58.5 µM ve 58.5 – 108.9 µM olmak üzere iki doğrusal çalışma aralığına ve 1.6 µM gözlenebilir sınıra (GS) sahiptir.

Linagliptinin Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE yüzeyinde elektrokimyasal analizi DV ve DPV yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE, linagliptinin elektro-oksidasyonuna karşı yüksek elektrokatalitik aktivite göstermiştir. Sis@MoS<sub>2</sub>/CKE, linagliptin için 1.0 – 75.0 µM ve 75.0 – 15344 µM olmak üzere iki doğrusal çalışma aralığına ve 0.19 µM GS'na sahiptir.

Tarafımızca geliştirilen elektrokimyasal sensörün uygulanabilirliği, dapagliflozin için tablet formundan, linagliptin için plazma ortamından analiz yapılarak incelenmiş ve elde edilen veriler geliştirildiğimiz sensörün her iki etken maddenin gerçek numunelerden analizinde kullanılabilir alternatif yöntemler olduğunu göstermiştir.

**Anahtar Sözcükler:** Dapagliflozin, Elektrokimyasal sensör, Linagliptin, Molibden disülfür, Sistein,

## SUMMARY

### Development of MoS<sub>2</sub> based Electrochemical Sensors for the Determination of Some Antidiabetic Active Drug Substances

In the thesis study, MoS<sub>2</sub> based electrochemical sensor was designed for the analysis of dapagliflozin, a sodium glucose cotransporter 2 inhibitor, and linagliptin, a dipeptidyl peptidase 4 inhibitor, used for the treatment of type 2 diabetes, from real samples. Metallic phase MoS<sub>2</sub> (1T-MoS<sub>2</sub>) was synthesized by Li - intercalation method, and cysteine, an amino acid, was attached to the 1T-MoS<sub>2</sub>. The obtained nano-material (Cys@MoS<sub>2</sub>) was characterized using x-ray diffraction spectroscopy, x-ray photoelectron spectroscopy, Fourier transform infrared spectroscopy and transmission electron microscopy methods. Glassy carbon electrode (GCE) surfaces were modified with Cys@MoS<sub>2</sub> and the electrochemical sensor (Cys@MoS<sub>2</sub>/GCE) was produced within the scope of the thesis.

Electrochemical analysis of dapagliflozin on the Cys@MoS<sub>2</sub>/GCE surface was performed using cyclic voltammetry (CV) and differential pulse voltammetry (DPV) methods. Cys@MoS<sub>2</sub>/GCE exhibited high electrocatalytic activity towards the electro-oxidation of dapagliflozin. Cys@MoS<sub>2</sub>/GCE exhibited two linear working ranges for dapagliflozin determination in the concentration ranges of 2.0 - 58.5  $\mu$ M and 58.5 - 108.9  $\mu$ M with a 1.6  $\mu$ M limit of detection (LOD).

Electrochemical analysis of linagliptin on the Cys@MoS<sub>2</sub>/GCE surface was performed using CV and DPV methods. Cys@MoS<sub>2</sub>/GCE exhibited high electrocatalytic activity towards the electro-oxidation of linagliptin. Cys@MoS<sub>2</sub>/GCE exhibited two linear working ranges for linagliptin determination in the concentration ranges of 1.0 - 75.0  $\mu$ M and 75.0 - 153.4  $\mu$ M with a 0.19  $\mu$ M LOD.

In order to investigate the applicability of the electrochemical sensor we have produced, dapagliflozin content of tablet forms and linagliptin content of plasma samples were analysed, and the results showed that the developed sensor could be an alternative way for the analysis of both active substances from real samples.

**Keywords:** Cysteine, Dapagliflozin, Electrochemical sensor, Linagliptin, Molybdenum disulfide.

## KAYNAKLAR

- ACERCE M, VOIRY D, CHHOWALLA M (2015). Metallic 1T phase MoS<sub>2</sub> nanosheets as supercapacitor electrode materials. *Nature Nanotechnology*, **10(4)**: 313-318.
- ADA (2017). Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes care*, **40(Supplement 1)**: S11-S24.
- AMIN KFM, ABDULLAH AM, FAKHRE NA (2019). Mean centering-triple divisor and ratio derivative-zero crossing for simultaneous determination of some diabetes drugs in their quaternary mixture with severely overlapping spectra. *Spectroc. Acta Pt. A-Molec. Biomolec. Spectr.*, **222**: 10.
- ANBAZHAGAN R, VADIVELMURUGAN A, TSAI H-C, JENG R-J (2018). Surface-enhanced Raman scattering of alkyne-conjugated MoS<sub>2</sub>: A comparative study between metallic and semiconductor phases. *Journal of Materials Chemistry C*, **6(5)**: 1071-1082.
- AREF HA, HAMMAD SF, ELGAWISH MS, DARWISH KM (2020). Novel spectrofluorimetric quantification of linagliptin in biological fluids exploiting its interaction with 4-chloro-7-nitrobenzofurazan. *Luminescence*, **35(5)**: 626-635.
- AYOUB BM (2015). UPLC simultaneous determination of empagliflozin, linagliptin and metformin. *RSC Adv.*, **5(116)**: 95703-95709.
- BAGOTSKY VS. (2006). Fundamentals of Electrochemistry. (Ed. 2nd). New Jersey: John&Wiley Sons.
- BARD AJ, FAULKNER LR. (2001). Electrochemical methods fundamentals and applications. (Ed. 2nd): John Wiley & Sons.
- BARD AJ, INZELT G, SCHOLZ F. (2008). Electrochemical Dictionary. (Ed. 2nd). New York: Springer.
- BLECH S, LUDWIG-SCHWELLINGER E, GRÄFE-MODY EU, WITHOPF B, WAGNER K (2010). The metabolism and disposition of the oral dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, linagliptin, in humans. *Drug Metabolism and Disposition*, **38(4)**: 667-678.
- BOULTON DW, KASICHAYANULA S, KEUNG CF, ARNOLD ME, CHRISTOPHER LJ, XU X, LACRETA F (2013). Simultaneous oral therapeutic and intravenous 14C-microdoses to determine the absolute oral bioavailability of saxagliptin and dapagliflozin. *British Journal of Clinical Pharmacology*, **75(3)**: 763-768.
- BROWSON DAC, BANKS CE. (2014). The Handbook of Graphene Electrochemistry. (Ed. 1st). London: Springer.
- CHANG K, HAI X, PANG H, ZHANG H, SHI L, LIU G, LIU H, ZHAO G, LI M, YE J (2016). Targeted synthesis of 2H-and 1T-phase MoS<sub>2</sub> monolayers for catalytic hydrogen evolution. *Advanced Materials*, **28(45)**: 10033-10041.
- CHENG P, SUN K, HU YH (2016). Memristive behavior and ideal memristor of 1T phase MoS<sub>2</sub> nanosheets. *Nano Letters*, **16(1)**: 572-576.

- CHIA X, AMBROSI A, SEDMIDUBSKÝ D, SOFER Z, PUMERA M (2014). Precise tuning of the charge transfer kinetics and catalytic properties of MoS<sub>2</sub> materials via electrochemical methods. *Chemistry—A European Journal*, **20(52)**: 17426-17432.
- CHIA X, AMBROSI A, SOFER Z, LUXA J, PUMERA M (2015a). Catalytic and charge transfer properties of transition metal dichalcogenides arising from electrochemical pretreatment. *ACS Nano*, **9(5)**: 5164-5179.
- CHIA X, ENG AYS, AMBROSI A, TAN SM, PUMERA M (2015b). Electrochemistry of nanostructured layered transition-metal dichalcogenides. *Chemical Reviews*, **115(21)**: 11941-11966.
- EDA G, YAMAGUCHI H, VOIRY D, FUJITA T, CHEN M, CHHOWALLA M (2011). Photoluminescence from chemically exfoliated MoS<sub>2</sub>. *Nano Letters*, **11(12)**: 5111-5116.
- EL-KIMARY EI, HAMDY DA, MOURAD SS, BARARY MA (2016). HPTLC Determination of Three Gliptins in Binary Mixtures with Metformin. *J. Chromatogr. Sci.*, **54(1)**: 79-87.
- EL-ZAHER AA, HASHEM HA, ELKADY EF, ALLAM MA (2019). A validated LC-MS/MS bioanalytical method for the simultaneous determination of dapagliflozin or saxagliptin with metformin in human plasma. *Microchem J.*, **149**: 104017.
- ER E, ERK N (2020). Construction of a sensitive electrochemical sensor based on 1T-MoS<sub>2</sub> nanosheets decorated with shape-controlled gold nanostructures for the voltammetric determination of doxorubicin. *Microchimica Acta*, **187(4)**: 1-9.
- FREEMAN MK (2011). Efficacy and safety of linagliptin (tradjenta) in adults with type-2 diabetes mellitus. *Pharmacy and Therapeutics*, **36(12)**: 807.
- GANDOMI F, KHOSROWSHAHI EM, SOHOULI E, AGHAEI M, MOHAMMADNIA MS, NAGHIAN E, RAHIMI-NASRABADI M (2020). Linagliptin electrochemical sensor based on carbon nitride-β-cyclodextrin nanocomposite as a modifier. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **876**: 114697.
- GAO D, SI M, LI J, ZHANG J, ZHANG Z, YANG Z, XUE D (2013). Ferromagnetism in freestanding MoS<sub>2</sub> nanosheets. *Nanoscale Research Letters*, **8(1)**: 129.
- GAO J, ZHANG M, WANG J, LIU G, LIU H, JIANG Y (2019). Bioinspired Modification of Layer-Stacked Molybdenum Disulfide (MoS<sub>2</sub>) Membranes for Enhanced Nanofiltration Performance. *ACS Omega*, **4(2)**: 4012-4022.
- GEIM A, NOVOSELOV KS (2007). The rise of graphene. *Nat. Mater*, **6(3)**: 183-191.
- GHANBARI MH, KHOSHROO A, SOBATI H, GANJALI MR, RAHIMI-NASRABADI M, AHMADI F (2019). An electrochemical sensor based on poly (L-Cysteine)@AuNPs @ reduced graphene oxide nanocomposite for determination of levofloxacin. *Microchem J.*, **147**: 198-206.
- GRAEFE-MODY U, RETLICH S, FRIEDRICH C (2012). Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of linagliptin. *Clinical Pharmacokinetics*, **51(7)**: 411-427.
- HAN B, HU YH (2016). MoS<sub>2</sub> as a co-catalyst for photocatalytic hydrogen production from water. *Energy Science & Engineering*, **4(5)**: 285-304.

- HUANG H, LV L, XU F, LIAO J, LIU S, WEN H-R (2017). PrFeO<sub>3</sub>-MoS<sub>2</sub> nanosheets for use in enhanced electro-oxidative sensing of nitrite. *Microchimica Acta*, **184(10)**: 4141-4149.
- JAYABAL S, WU J, CHEN J, GENG D, MENG X (2018). Metallic 1T-MoS<sub>2</sub> nanosheets and their composite materials: Preparation, properties and emerging applications. *Materials Today Energy*, **10**: 264-279.
- JIA F, ZHANG X, SONG S (2017). AFM study on the adsorption of Hg<sup>2+</sup> on natural molybdenum disulfide in aqueous solutions. *Physical Chemistry Chemical Physics*, **19(5)**: 3837-3844.
- JIANG L, ZHANG S, KULINICH SA, SONG X, ZHU J, WANG X, ZENG H (2015). Optimizing hybridization of 1T and 2H phases in MoS<sub>2</sub> monolayers to improve capacitances of supercapacitors. *Materials Research Letters*, **3(4)**: 177-183.
- KASICHAYANULA S, LIU X, LACRETA F, GRIFFEN SC, BOULTON DW (2014). Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of dapagliflozin, a selective inhibitor of sodium-glucose co-transporter type 2. *Clinical Pharmacokinetics*, **53(1)**: 17-27.
- KASICHAYANULA S, LIU X, ZHANG W, PFISTER M, REELE S, AUBRY AF, LACRETA F, BOULTON D (2011). Effect of a high-fat meal on the pharmacokinetics of dapagliflozin, a selective SGLT2 inhibitor, in healthy subjects. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, **13(8)**: 770-773.
- KASICHAYANULA S, YAO M, VACHHARAJANI M (2008). Disposition and Mass Balance of [<sup>14</sup>C]-dapagliflozin after single oral dose in healthy male volunteers. *AAPS J*, **10**.
- KELTER P, MOSHER M, SCOTT A. (2000). *Chemistry The Practical Science*. (Ed.). Houghton Mifflin Company.
- KOBAYASHI K. (2011). Cysteine. In: *Encyclopedia of Astrobiology* Ed.: Gargaud, M., Amils, R., Quintanilla, J. C., Cleaves, H. J., Irvine, W. M., Pinti, D. L., Viso, M., Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. 403-403.
- KUKKAR M, TUTEJA SK, SHARMA AL, KUMAR V, PAUL AK, KIM K-H, SABHERWAL P, DEEP A (2016). A new electrolytic synthesis method for few-layered MoS<sub>2</sub> nanosheets and their robust biointerfacing with reduced antibodies. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **8(26)**: 16555-16563.
- LAVIRON E (1974). Adsorption, autoinhibition and autocatalysis in polarography and in linear potential sweep voltammetry. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, **52(3)**: 355-393.
- LEFROU C, FABRY P, POIGNET J-C. (2012). *Electrochemistry: the basics, with examples*. (Ed.): Springer Science & Business Media.
- LIST JF, WOO V, MORALES E, TANG W, FIEDOREK FT (2009). Sodium-Glucose Cotransport Inhibition With Dapagliflozin in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, **32(4)**: 650-657.
- LOTFY HM, MOHAMED D, ELSHAHED MS (2019). Novel univariate spectrophotometric determination of the recently released solid dosage form comprising dapagliflozin and saxagliptin via factorized response spectra: assessment of the average content and

- dosage unit uniformity of tablets. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **222**: 117120.
- LOVRIC M. (2010). Stripping Voltammetry. In: *Electroanalytical Methods: Guide to Experiments and Applications* Ed.: Scholz, F.: Springer. 2nd.
- MARKEN F, NEUDECK A, BOND AM. (2010). Cyclic Voltammetry. In: *Electroanalytical Methods: Guide to Experiments and Applications* Ed.: Scholz, F.: Springer. 2nd.
- NAGGAR AH, SALEH GA, OMAR MA, HAREDY AM, DERAYEA SM (2020). Square-wave Adsorptive Anodic Stripping Voltammetric Determination of Antidiabetic Drug Linagliptin in Pharmaceutical Formulations and Biological Fluids Using a Pencil Graphite Electrode. *Anal. Sci.*, **36(9)**: 1031-1038.
- NASSER S, SALAMA I, MOSTAFA SM, ELGAWISH MS (2018). Comparative high-performance liquid chromatographic and high-performance thin-layer chromatographic study for the simultaneous determination of dapagliflozin and metformin hydrochloride in bulk and pharmaceutical formulation. *JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC*, **31(6)**: 469-476.
- NICHOLSON RS, SHAIN I (1964). Theory of stationary electrode polarography. Single scan and cyclic methods applied to reversible, irreversible, and kinetic systems. *Analytical Chemistry*, **36(4)**: 706-723.
- OBERMEIER M, YAO M, KHANNA A, KOPLOWITZ B, ZHU M, LI W, KOMOROSKI B, KASICHAYANULA S, DISCENZA L, WASHBURN W (2010). In vitro characterization and pharmacokinetics of dapagliflozin (BMS-512148), a potent sodium-glucose cotransporter type II inhibitor, in animals and humans. *Drug Metabolism and Disposition*, **38(3)**: 405-414.
- OLIVEIRA VHB, RECHOTNEK F, DA SILVA EP, MARQUES VD, RUBIRA AF, SILVA R, LOURENCO SA, MUNIZ EC (2020). A sensitive electrochemical sensor for Pb<sup>2+</sup> ions based on ZnO nanofibers functionalized by L-cysteine. *J. Mol. Liq.*, **309**: 11.
- OMAR MA, AHMED HM, HAMID MAA, BATAKOUSHY HA (2019a). New spectrofluorimetric analysis of dapagliflozin after derivatization with NBD-Cl in human plasma using factorial design experiments. *Luminescence*, **34(6)**: 576-584.
- OMAR MA, HAREDY AM, SALEH GA, NAGGAR AH, DERAYEA SM (2019b). Diarylpyrrolone based fluorophore for the selective spectrofluorometric method for determination of Linagliptin antidiabetic drug in pharmaceutical tablets. *Microchem J.*, **148**: 555-560.
- PAWLUKOJC A, LECIEJEWICZ J, RAMIREZ-CUESTA A, NOWICKA-SCHEIBE J (2005). L-cysteine: neutron spectroscopy, Raman, IR and ab initio study. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **61(11-12)**: 2474-2481.
- RADISAVLJEVIC B, RADENOVIC A, BRIVIO J, GIACOMETTI V, KIS A (2011). Single-layer MoS<sub>2</sub> transistors. *Nature Nanotechnology*, **6(3)**: 147-150.
- REDDY YS, SANKAR DG (2019). NEW STABILITY INDICATING UPLC METHOD FOR SIMULTANEOUS DETERMINATION OF DAPAGLIFLOZIN AND SAXAGLIPTIN. *Int. J. Pharm.l Sci. Res.*, **10(7)**: 3311-3317.
- RIZK M, ATTIA AK, MOHAMED HY, ELSHAHED MS (2020). Validated Voltammetric Method for the Simultaneous Determination of Anti-diabetic Drugs, Linagliptin and

Empagliflozin in Bulk, Pharmaceutical Dosage Forms and Biological Fluids. *Electroanalysis*, **32(8)**: 1737-1753.

- ROHAIZAD N, MAYORGA-MARTINEZ CC, SOFER ZK, PUMERA M (2017). 1T-phase transition metal dichalcogenides (MoS<sub>2</sub>, MoSe<sub>2</sub>, WS<sub>2</sub>, and WSe<sub>2</sub>) with fast heterogeneous electron transfer: application on second-generation enzyme-based biosensor. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **9(46)**: 40697-40706.
- ROSENSTOCK J, PERKOVIC V, JOHANSEN OE, COOPER ME, KAHN SE, MARX N, ALEXANDER JH, PENCINA M, TOTO RD, WANNER C (2019). Effect of linagliptin vs placebo on major cardiovascular events in adults with type 2 diabetes and high cardiovascular and renal risk: the CARMELINA randomized clinical trial. *Jama*, **321(1)**: 69-79.
- SAKAMOTO K, LOCHHEAD RY, MAIBACH HI, YAMASHITA Y. (2017). *Cosmetic science and technology: theoretical principles and applications*. (Ed.): Elsevier.
- SALAPAKA A, BONIGE KB, KORUPOLU RB, REDDY TC, REDDY KC, SREENIVAS N, SHARMA HK, RAY UK (2019). A new stability indicating reverse phase high performance liquid chromatography method for the determination of enantiomeric purity of a DPP-4 inhibitor drug linagliptin. *Electrophoresis*, **40(7)**: 1066-1073.
- SHAH PA, SHRIVASTAV PS, GEORGE A (2019). Mixed-mode solid phase extraction combined with LC-MS/MS for determination of empagliflozin and linagliptin in human plasma. *Microchem J.*, **145**: 523-531.
- SIM DM, HAN HJ, YIM S, CHOI M-J, JEON J, JUNG YS (2017). Long-term stable 2H-MoS<sub>2</sub> dispersion: critical role of solvent for simultaneous phase restoration and surface functionalization of liquid-exfoliated MoS<sub>2</sub>. *ACS Omega*, **2(8)**: 4678-4687.
- SKOOG D, HOLLER F, CROUCH S. (2013). *Enstrümantal Analiz İlkeleri*. (Ed. 6th): Bilim yayıncılık.
- SKOOG DA, WEST DM, HOLLER FJ, CROUCH SR, KILİÇ E, YILMAZ H. (2009). *Analitik kimya: temel ilkeler*. (Ed. 8th): Bilim Yayıncılık.
- SOHOULI E, GHALKHANI M, ROSTAMI M, RAHIMI-NASRABADI M, AHMADI F (2020). A noble electrochemical sensor based on TiO<sub>2</sub>@CuO-N-rGO and poly (L-cysteine) nanocomposite applicable for trace analysis of flunitrazepam. *Mater. Sci. Eng. C-Mater. Biol. Appl.*, **117**: 14.
- STOJEK Z. (2010). Pulse Voltammetry. In: *Electroanalytical Methods: Guide to Experiments and Applications* Ed.: Scholz, F.: Springer. 2nd.
- TÜRKDİAB. (2019). *Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi*. (Ed.).
- VELICKÝ M, BISSETT MA, TOTH PS, PATTEN HV, WORRALL SD, RODGERS AN, HILL EW, KINLOCH IA, NOVOSELOV KS, GEORGIU T (2015). Electron transfer kinetics on natural crystals of MoS<sub>2</sub> and graphite. *Physical Chemistry Chemical Physics*, **17(27)**: 17844-17853.
- VIJAYARAJ K, DINAKARAN T, LEE Y, KIM S, KIM HS, LEE J, CHANG S-C (2017). One-step construction of a molybdenum disulfide/multi-walled carbon nanotubes/polypyrrole nanocomposite biosensor for the ex-vivo detection of dopamine in mouse brain tissue. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **494(1-2)**: 181-187.

- VINAY MM, BASAVARAJAPPA KV, MANJUNATHA P, PURUSHOTHAMA HT, YATHISHA RO, NAYAKA YA (2020). Development of Single Walled Carbon Nanotube-Molybdenum Disulfide Nanocomposite/poly-ethylene Glycol Modified Carbon Paste Electrode as an Electrochemical Sensor for the Investigation of Sulfadiazine in Biological Samples. *Analytical and Bioanalytical Electrochemistry*, **12(2)**: 155-167.
- VOIRY D, MOHITE A, CHHOWALLA M (2015). Phase engineering of transition metal dichalcogenides. *Chemical Society Reviews*, **44(9)**: 2702-2712.
- WANG C, LI C, WANG F, WANG C (2006). Covalent modification of glassy carbon electrode with L-cysteine for the determination of acetaminophen. *Microchimica Acta*, **155(3-4)**: 365-371.
- WANG J-S, SAKTHIVEL R, ANBAZHAGAN R, KUBENDHIRAN S, LAI J-Y, TSAI H-C, CHEN S-M (2020). Electroactive polypyrrole-molybdenum disulfide nanocomposite for ultrasensitive detection of berberine in rat plasma. *Analytica Chimica Acta*, **1125**: 210-210.
- WANG S, DU D (2004). Differential pulse voltammetry determination of ascorbic acid with ferrocene-L-cysteine self-assembled supramolecular film modified electrode. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **97(2-3)**: 373-378.
- WANG S, ZHANG D, LI B, ZHANG C, DU Z, YIN H, BI X, YANG S (2018). Ultrastable In-Plane 1T-2H MoS<sub>2</sub> Heterostructures for Enhanced Hydrogen Evolution Reaction. *Advanced Energy Materials*, **8(25)**: 1801345.
- WHO. (2016). Global Reports on Diabetes. (Ed.). France: World Health Organization.
- YİLDİZ A, GENÇ Ö. (1993). Enstrumental Analiz. (Ed.): Hacettepe Üniv. Yayınları.
- YIN Y, MIAO P, ZHANG Y, HAN J, ZHANG X, GONG Y, GU L, XU C, YAO T, XU P (2017). Significantly increased Raman enhancement on MoX<sub>2</sub> (X= S, Se) monolayers upon phase transition. *Advanced Functional Materials*, **27(16)**: 1606694.
- ZHOU K, TANG G, GAO R, JIANG S (2018). In situ growth of 0D silica nanospheres on 2D molybdenum disulfide nanosheets: Towards reducing fire hazards of epoxy resin. *Journal of Hazardous Materials*, **344**: 1078-1089.
- ZINKER B, MA X, LIU H, CAI C, PONTICIELLO R, ZALAZNICK J, WASHBURN WN, WHALEY J. (2011). *Chronic dapagliflozin treatment reduces elevated hepatic glucose production and enhances pancreatic insulin content in male ZDF rats*. Paper presented at the Diabetes.