



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



KANSER TEDAVİLERİNDE KULLANILAN İBRUTİNİB ETKEN MADDESİNİN VOLTAMETRİK YÖNTEMLE TAYİNİ

Cihat METE

TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
(ECZACILIK PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Pınar TALAY PINAR

VAN-2023

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KANSER TEDAVİLERİNDE KULLANILAN İBRUTİNİB ETKEN
MADDESİNİN VOLTAMETRİK YÖNTEMLE TAYİNİ**

Cihat METE
TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
(ECZACILIK PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Pınar TALAY PINAR

VAN-2023

KABUL VE ONAY



ETİK BEYAN

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MÜDÜRLÜĞÜNE

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “*Kanser Tedavilerinde Kullanılan İbrutinib Etken Maddesinin Voltametrik Yöntemle Tayini*” başlıklı tezim; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Bu tezdeki bütün bilgiler akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak hazırlanıp, bu kural ve ilkeler gereği, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yapılmış ve kaynak gösterilmiştir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Cihat METE

Tarih:

İmza:

TEŞEKKÜR

Bu alıŐma Eczacılık Temel Bilimleri Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tez çalışması olarak yürütülmüŐtür. Bu tezin ilk adımından son adımına kadar her aŐamasında bana destek veren, sonuçların değerlendirmesini yapıp gerekli noktalarda gerektiği Şekilde yönlendirmelerde bulunan, tez çalıŐmam süresince; tezin oluŐumu, yazımı ve deneysel çalıŐmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen, yalnızca akademik geliŐim sürecinde değil her zaman fikirleri, nerileri ve destekleri ile yanımda olan yanımda çalıŐmaktan mutluluk duyduğum, tecrübelerinden yararlanırken göstermiŐ olduğu hoŐgörü ve tez yazma aŐamasında göstermiŐ olduğu sabırdan dolayı değerli hocam Doç. Dr. Pınar TALAY PINAR'a ve hayatımın her anında yanımda olan, yaptığım tüm iŐlerde beni cesaretlendiren, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen ve beni bu günlere getiren çok sevgili aileme teşekkür etmekten mutluluk ve onur duyarım.

Cihat METE

ÖZET

METE C, Kanser Tedavilerinde Kullanılan İbrutinib Etken Maddesinin Voltametrik Yöntemle Tayini, Van Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Eczacılık Anabilim Dalı, Analitik Kimya Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van, 2023. Bu tez çalışmasında, bruton tirozin kinaz (BTK) inhibitörlerinden yeni nesil akıllı bir antikanser ilaç olan ibrutinib (IBR)'in, elektrokimyasal özellikleri, bor katkılı elmas (BDD) elektrot ile anyonik bir yüzey aktif madde (sodyum dodesil sülfat, SDS) ortamında voltametrik bir yaklaşım kullanılarak incelenmiştir. IBR, dönüşümlü voltametri (CV) tekniği kullanılarak 0.1 mol L⁻¹ H₂SO₄ çözeltisinde yaklaşık +1.56 V'ta (Ag/AgCl'ye karşı (3.0 mol L⁻¹ KCl) bir yükseltgenme piki göstermiştir. IBR'nin tarama hızı çalışmalarıyla geri dönüşümsüz ve difüzyon kontrollü olduğu tespit edilmiştir. IBR'in potansiyel elektrokimyasal yükseltgenme reaksiyonu IBR'nin yapısındaki elektroaktif halkaya (pirazol-pirimidin halkası) bağlı model yapılarıyla ilişkisi araştırılmıştır. Farmasötik ve idrar örneklerinde IBR tayini için hassas bir teknik olması nedeniyle çalışma yöntemi olarak kare dalga voltametri (SWV) tercih edilmiştir. IBR, uygun SWV parametre değerlerinde 0.01-2.00 µg mL⁻¹ (5.7×10⁻⁷-2.3×10⁻⁶ mol L⁻¹) konsantrasyon aralığında 0.1 mol L⁻¹ H₂SO₄ içinde 6×10⁻⁴ mol L⁻¹ SDS varlığında iyi doğrusallık göstermiştir. IBR için LOD (gözlenebilirlik sınırı) ve LOQ (tayin sınırı) sınırları sırasıyla 0.003 µg mL⁻¹ (6.9×10⁻⁹ mol L⁻¹) ve 0.01 µg mL⁻¹ (2.27×10⁻⁸ mol L⁻¹) olarak belirlenmiştir. Önerilen yöntemin gün içi ve günler arası tekrarlanabilirliğinin sırasıyla 2.15 ve 3.76 bağıl standart sapmaya sahip olduğu bulunmuştur. En iyi deney koşulları altında hem farmasötik dozaj formundan hem de insan idrar örneklerinden elde edilen geri kazanım bulguları, tasarlanan yöntemin doğruluğunu ve kesinliğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Antikanser İlaç, Bor Katkılı Elmas Elektrot, İbrutinib, Sürfaktan, Voltametri

ABSTRACT

METE C, Voltammetric Determination of Ibrutinib Active Substance Used in Cancer Treatments, Van Y.Y.Ü. Institute of Health Sciences, Department of Basic Pharmaceutical Sciences, Analytical Chemistry Science, Master Thesis, Van, 2023. The electrochemical properties of ibrutinib (IBR), a new generation smart anti-cancer drug, one of the Bruton's tyrosine kinase (BTK) inhibitors were investigated by a voltammetric method in the anionic surfactant (sodium dodecyl sulfate, SDS) medium with the boron-doped diamond electrode (BDDE). IBR showed an oxidation step at about +1.56 V (vs Ag/AgCl (3.0 mol L⁻¹ KCl) by cyclic voltammetry (CV) technique in 0.1 mol L⁻¹ H₂SO₄ solution. IBR was found to be irreversible and diffusion-controlled on the surface of the BDDE with studies of scan rate. The possible electrochemical oxidation reaction of IBR with the electroactive ring (pyrazole-pyrimidine ring) in the structure of IBR is discussed. Square wave voltammetry (SWV) was preferred as the study method due to reproducibility for the determination of IBR in pharmaceutical and urine samples. At optimal values of SWV parameters, IBR showed good linearity in the concentration range of 0.01–2.00 µg mL⁻¹ (5.7×10⁻⁸–2.3×10⁻⁶ mol L⁻¹) in 0.1 mol L⁻¹ H₂SO₄ with 6×10⁻⁴ M SDS. The detection (LOD) and quantification (LOQ) limits for IBR were set at 0.003 µg mL⁻¹ (6.9×10⁻⁹ mol L⁻¹) and 0.01 µg mL⁻¹ (2.27×10⁻⁸ mol L⁻¹), respectively. The relative standard deviation of the intra-day and inter-day repeatability of the proposed method was found 2.15 and 3.76 respectively. The necessary validation parameters have also been studied, and the recovery results obtained from both pharmaceutical dosage form and human urine samples show that the developed method is accurate and precise.

Key words: Anticancer drug, BDDE, Ibrutinib, Surfactant, Voltammetry

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
Etik Beyan.....	III
Teşekkür.....	IV
Özet.....	V
Abstract.....	VI
Simgeler ve Kısaltmalar.....	IX
Şekiller Listesi	XII
Tablolar Listesi	XIV
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kanser	3
2.2. Kemoterapi.....	3
2.2.1. Tirozin kinaz inhibitörleri.....	4
2.3. Elektrokimya.....	7
2.3.1. Elektrokimyasal hücre	9
2.4. Elektrokimyasal Yöntemler	18
2.5. Voltametri	19
2.5.1 Voltametrik yöntemler.....	21
2.5.2. Voltametrik analizlerde yüzey aktif maddelerin uygulanması	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	32
3.1. Deneyde Kullanılan Kimyasallar	32
4. BULGULAR.....	33
4.1. IBR Bileşiğinin BDD Elektrot Yüzeyinde Elektrokimyasal Davranışı	33
4.1.1. Dönüşümlü voltametri çalışmaları	34
4.1.2. Kare dalga voltametri çalışmaları.....	36
4.1.3. Sürfaktan etkisi	39
4.2. IBR Bileşiğinin SDS Ortamında BDD Elektrot Üzerinde Tayini.....	40
4.2.1. Geliştirilen yöntemin analitik performans özellikleri.....	40
4.2.2. Voltametrik yöntemin seçicilik çalışmaları.....	42
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	45
KAYNAKLAR	46

ÖZGEÇMİŞ.....	51
EKLER.....	52



SİMGELER VE KISALTMALAR

ΔE_s	: Step gerilimi
ΔE_{sw}	: Amplitüd
AgCL	: Gümüş klorür
ALK	: Anaplastik lenfoma kinaz
APT	: Anodik ön işlem
ATC Kodu	: Anatomik terapötik kimyasal sınıflandırma kodu
ATP	: Adenozin trifosfat
BCR	: B hücresi reseptörü
BCR ABL	: Füzyon geni
BDDE	: Bor katkılı elmas elektrot
BR	: Britton-Robinson tamponu
BTK	: Bruton tirozin kinaz
CMC	: Kritik misel konsantrasyonu
Cp*	: Pentametilsiklopentadienil
CPB	: Setilpiridinyum bromit
CPT	: Katodik ön işlem
CTAB	: Setiltrimetilamonyum bromit
CV	: Dönüşümlü voltametri
DCM	: Diklorometan
DKE	: Doygun kalomel elektrot
DMF	: Dimetil formamid
Dppe	: Difenilfosfinoetan
DPV	: Diferansiyel puls voltametri
EGFR	: Epidermal büyüme faktörü reseptörü
eV	: Elektrovolt
f	: Frekans
FAK	: Fokal adezyon kinaz
Fc	: Ferrosen
Fc⁺	: Ferroseniyum
FDA	: Amerikan gıda ve ilaç dairesi

FLT	: FMS benzeri tirozin kinaz
GCE	: Camsı karbon elektrot
GVHD	: Graft-versus-host hastalığı
H₂SO₄	: Sülfürik asit
HER	: İnsan epidermal büyüme faktörü
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografi
HUMO	: En yüksek dolu moleküler orbital
Hz	: Hertz
I	: Elektrik akımı
IBR	: Ibrutinib
iF	: Faradayik akım
I_p	: Pik akımı
IUPAC	: Uluslararası temel ve uygulamalı kimya birliği
JAK	: Janus kinaz proteinleri
K	: Kelvin
KDV	: Kare dalga voltametri
KIT	: Kök hücre faktör transmembran reseptörü
KLL	: Kronik lenfositik lösemi
L	: Litre
LOD	: Gözlenebilme sınırı
log	: Logaritma
logV	: Tarama hızı logaritması
LOQ	: Tayin alt sınırı
LUMO	: En düşük dolu olmayan moleküler orbital
M	: Molarite
mg	: Miligram
MHL	: Mantle hücreli lenfoma
ml	: Mililitre
mol/L⁻¹	: Mol/litre
mv	: Milivolt
mV/s⁻¹	: Milivolt/saniye
n	: Deney sayısı

pKa	: Asit ayırma sabiti
RET	: Transfeksiyon sırasında yeniden düzenleyici
RON	: Reseptör d'orijin nantais
RP-LC	: Ters faz sıvı kromatografi
RSD	: Bağlı standart sapma
RTK	: Reseptör tirozin kinaz
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
SHE	: Standart hidrojen elektrot
SRC	: Proto-onkojenik tirozin kinaz grubu
SWV	: Kare dalga voltametri
SYK	: Spleen tirozin kinaz
THF	: Tetrahidrofur
TKI	: Tirozin kinaz inhibitörleri
TRKB	: Tropomiyozin Reseptör Kinaz B
Vd	: Dağılım hacmi
VEGFR	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
μA	: Mikroamper
μg/mL⁻¹	: Mikrogram/mililitre

ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 1.** IBR'in kimyasal yapısı.....6
- Şekil 2.** Fc⁺'nin (A) homojen ve (B) heterojen formlarda Fc'ye indirgenmesi.....9
- Şekil 3.** Galvanik ve elektrolitik hücre sistemleri.....10
- Şekil 4.** Bileşik A, bileşik B'yi oluşturmak için yükseltgendiğinde bir elektrot yüzeyinde gelişen difüzyon tabakası.11
- Şekil 5.** Elektrokimyasal hücre ve bileşenleri.....11
- Şekil 6.** İnorganik elektrokimyanın bazı çözücülerini için olası kararlılık pencereleri...12
- Şekil 7.** Voltametri devre sistemi 13
- Şekil 8.** Voltametrik çalışma elektrotların sınıflandırılması..... 14
- Şekil 9.** Katı çalışma elektrotlarından bazı örnekleri.....16
- Şekil 10.** Yüzey sonlanması hakkında bazı önemli açıklamalar.....17
- Şekil 11.** Voltamogram grafiği.....20
- Şekil 12.** Voltametri kullanılarak uyarı sinyallerinin dördünün dalga şekli.....21
- Şekil 13.** Taramalı voltametri uygulanan gerilim ve elde edilen voltamogram.....22
- Şekil 14.** Diferansiyel puls voltametri için sinyal grafikleri.....23
- Şekil 15.** Kare dalga uyarı sinyali ve voltamogramı.....24
- Şekil 16.** Yalın elektrotun N₂ altında voltamogramları25
- Şekil 17.** CV verilerini raporlamak için sıklıkla kullanılan iki görüş.....25
- Şekil 18.** Voltamogram sırasında çeşitli noktalarda elektrottan uzaklığın bir fonksiyonu olarak Fc⁺ ve Fc için derişim grafikler.....26
- Şekil 19.** 10 µg mL⁻¹ IBR'nin 0.1 mol L⁻¹ H₂SO₄ içinde üç farklı elektrokimyasal ön işleme tabii tutulmuş BDD elektrodu ile kaydedilen SW voltamogramları...33
- Şekil 20.** A) 30 µg mL⁻¹ IBR'nin BR tamponu pH 2-7 aralığında BDD elektrodu ile alınan dönüşümlü voltamogramları ve B) 30 µg mL⁻¹ IBR'nin farklı elektrolit çözeltilerinde 0.1 mol L⁻¹ H₂SO₄, 0.1 mol L⁻¹ fosfat tamponu, pH 2.5; 0.1 mol L⁻¹ asetat tamponu pH 4.8) BDD elektodu ile alınan dönüşümlü voltamogramları.....34
- Şekil 21.** 30 µg mL⁻¹ IBR'nin 0.1 mol L⁻¹ H₂SO₄ içinde BDD elektrot ile alınan üç taramalı dönüşümlü voltamogramı..... 35

- Şekil 22.** $30 \mu\text{g mL}^{-1}$ ($1.7 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) IBR'nin $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ içinde $25\text{-}800 \text{ mV s}^{-1}$ tarama hızı aralığında elde edilen (A) $i_p - v^{1/2}$ ve (B) $\log i_p - \log v$ doğrusal grafikleri.....36
- Şekil 23.** $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ IBR'nin A) BR tamponu pH 2.0-8.0 ve B) farklı destek elektrolitleri ($0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$, pH 2.5 fosfat tamponu, pH 4.8 asetat tamponu) içinde alınan SW voltamogramları.....37
- Şekil 24.** IBR'nin elektro-yükseltgenme ve tautomerizasyonu için önerilen reaksiyon mekanizması.....38
- Şekil 25.** $1.0 \mu\text{g mL}^{-1}$ IBR'nin $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ içinde 5×10^{-5} ve $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ aralığında farklı derişimlerde SDS eklenmesi ile elde edilen kare dalga voltamogramları.....40
- Şekil 26.** IBR'nin $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ içinde $6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ SDS varlığında (1-10) 0.010, 0.025, 0.050, 0.075, 0.100, 0.250, 0.500, 0.750, 1.000, 1.500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ derişimlerinde elde edilen SW voltamogramları41
- Şekil 27.** $0.5 \mu\text{g mL}^{-1}$ IBR ve $1.0 \mu\text{g mL}^{-1}$ ürik asit (UA), dopamin (DP) ve askorbik asit'in (AA) $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ içinde $6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ SDS varlığında elde edilen SW voltamogramları.....43
- Şekil 28.** $6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ SDS varlığında $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ çözeltilisinde $0.05 \mu\text{g mL}^{-1}$ IBR ve IBR'nin (0.025, 0.050, 0.075, 0.10, 0.25 $\mu\text{g mL}^{-1}$) standart olarak eklenmesinden sonra elde edilen SW voltamogramları.....44

TABLULAR LİSTESİ

- Tablo 1.** Tirozin Kinaz İnhibitörlerinin hedefleri, onay tarihleri ve endikasyonları...5
- Tablo 2.** IBR'nin farmakodinamik özellikleri.....7
- Tablo 3.** 6×10^{-4} mol L⁻¹ SDS içeren 0.1 mol L⁻¹ H₂SO₄ çözeltisinde SWV tekniği kullanılarak IBR'nin yükseltgenmesi ile elde edilen analitik parametreler.....41
- Tablo 4.** IBR için BDD elektrodu ve önceki analitik performanslarının karşılaştırılması.42
- Tablo 5.** Model idrar örneğinden elde edilen geri kazanım sonuçları.....44



1. GİRİŞ

Bir canlı sisteminde hücrelerin anormal bir biçimde bölünmesi, çoğalması ve birikmesi sonucu oluşan komplike hastalık kanser olarak bilinir. Sadece bir organa değil, bütün organizmaya dağılma potansiyeline sahiptir. Kanser hem tedavisi hem de tedavi yaklaşımı hakkında sayısız kaynak ve söylenti yer almaktadır. Kanser tedavisinde kemoterapi, cerrahi işlemler, immünoterapi, radyoterapi, hormon terapisi, hedeflenmiş terapiler ve gen terapi gibi biyolojik terapiler tek başına veya birlikte kullanılabilirler. İnsan bedenini etkilediği bilinen 200'e yakın kanser türü bulunmaktadır.

Sitotoksik antineoplastik ajanlar, kemoterapinin temel hedefi olan kanser hücrelerini öldürmekte veya çoğalmasını durdurmaktadır. Kanser hücrelerinin gelişiminin baskılanması, kanser hücrelerini engellemenin en iyi yollarından biridir.

Büyüme etmenleri, vücut tarafından üretilen moleküllerdir. Bu moleküller, hücrenin alıcılarına bağlanarak hücrenin büyümesini veya ölmesini kontrol eder.

IBR, Mantle hücreli lenfoma (MCL), Kronik ve küçük lenfositik lenfoma (KLL/SLL), Waldenström makroglobulinemisi (WM) ve Marjinal zon lenfoma (MZL) için onaylanan sınıfının ilk kovalent Bruton tirozin kinaz (BTK) inhibitörüdür ve şu anda diğer hematolojik malignite hastaları için araştırma aşamasındadır. IBR'in Multipl Miyelom, B hücreli Non-Hodgkin lenfoma ve Kronik lenfoblastik lösemili (KLL) hastalarda klinik olarak anlamlı olduğu gösterilmiştir.

Yapılan kaynakça araştırmasına göre IBR ilaç etken maddesinin voltametrik tayinlerine yönelik çalışma bulunmadığı görülmüştür. Tez konusuyla ilgili olan ilaç etken maddesinin son yıllarda Mass spektroskopisi, Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC), Ters faz sıvı kromatografisi (RP-LC) analitik yöntemleriyle yapılan çalışmalarının olduğu anlaşılmıştır.

Elektroanalitik yöntemler ilaç etken maddelerinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılır. Nedeni ise ucuz olmaları, aletsel olarak basit olmaları, ilgili molekülün hızlı bir şekilde tayini için imkan sağlaması ve küçük ölçekli örneklere uygulanabiliyor olmasıdır. Yapılan voltametrik çalışmada kullanılan bor katkılı elmas (BDD) elektrodun

diğer modifiye elektrotlar gibi hazırlama süreci bulunmamaktadır. Ayrıca kullandığımız BDD elektrot, kullanılan diğer yöntemlere göre daha az ön işleme ihtiyaç duyar.

Bu çalışmada, IBR ilaç etken maddesinin ilk kez BDD elektrot kullanılarak detaylı olarak elektrokimyasal özelliklerinin incelenmesini amaçlamaktadır. Ayrıca geliştirilen voltametrik yöntem ile sentetik idrar örnekleri kullanılarak yöntemin uygulanabilirliği test edilmektedir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser

Kanser, hücrelerin kontrolsüz çoğalması, yayılması ve hücre bölünmesi, programlı hücre ölümü gibi önemli hücresel süreçleri kontrol eden mutasyonlar veya artmış gen ekspresyonu nedeniyle onkogene dönüşebilen, normal genlerde ve tümör baskılayıcı genler olarak bilinen genlerde birçok genetik ve somatik mutasyonun birikmesiyle sonuçlanan pek çok değişikene bağlı bir hastalıktır. Dünyanın en yaygın ölüm nedenlerinden biri kanser olarak görülmektedir. Kanser, her yıl milyonlarca insanın hayatını kaybettiği bir hastalıktır. Bununla birlikte, 2012 yılından 2030 yılına kadar kanser vakalarının %50 oranında artacağı öngörülmektedir (Siegel ve ark., 2016).

Kanserin türüne ve aşamasına göre farklı tedavi seçenekleri vardır. Bunların bazıları kemoterapi, cerrahi tedavi, radyoterapi, hormonal terapi ve immunoterapidir. Bazı durumlarda tedavi daha etkili olması için yöntemler kombine olarak kullanılmaktadır (Haloua ve ark., 2013).

GLOBOCAN, 2018 yılı verilerine göre, küresel ölçekte 2018 yılında 9,6 milyon kanser ölümü ve 18,1 milyon yeni kanser teşhisi olduğu tahmin edilmektedir (Bray ve ark., 2018; Huang ve ark., 2018). Hedefe yönelik ilaçlar, normal hücreler üzerinde çok az etkiyle kanser hücrelerinin çoğalması ve farklılaşmasında yer alan belirli hedeflere etki ederek; seçicilik, etkinlik ve güvenlik açısından geleneksel kemoterapötik ilaçlardan daha iyi performans gösterir (Huang ve ark., 2018).

2.2. Kemoterapi

Kemoterapi, hızlı çoğalan kanser hücrelerini hedeflemesine rağmen, gastrointestinal sistem hücreleri, saç folikülleri ve kemik iliği gibi normal hücreleri de etkilemektedir. (Perez-Herrero ve Fernandez-Medarde, 2015). Tümör hücrelerinin moleküler yapısını değiştirerek etkisini gösteren yeni hedefe yönelik tedaviler geliştirilmiştir. Bunun nedeni, normal hücrelerin de tedaviden zarar görmesi, geleneksel kemoterapötik ilaçlara toksisite duyulması ve zamanla gelişen çoklu ilaç direnci gibi sorunlardır. Hedefe yönelik tedavi, belirli biyolojik transdüksiyon yollarını veya kanser

proteinlerini bloke etmeyi amaçlar. Sonuç olarak, son yıllarda kanser tedavisinin etkinliğini artırmak ve yan etkilerini minimize etmek için bu alandaki araştırmalar daha spesifik hedeflere yönelmiştir. Tirozin kinaz inhibitörleri (TKI), hormonal tedavi, bortezomib, talidomid ve monoklonal antikolar gibi bazı ilaçlar hedefe yönelik tedavileri oluşturmaktadır. TKI, hastaların yaşam süresini uzatarak kanser tedavisinde önemli bir rol oynamaktadır (Hanahan ve Weinberg, 2011).

2.2.1. Tirozin kinaz inhibitörleri

şimdiye kadar 32 reseptör olmayan tirozin kinaz (NRTK) ve en az 58 reseptör tirozin kinaz (RTK) keşfedilmiştir (Robinson ve ark., 2000). RTK'lar ve NRTK'ler, bir fosforil grubunun bir nükleosit trifosfat donöründen protein substratları üzerindeki tirozin kalıntılarının hidroksil grubuna transferini katalize ederek ve ardından sinyal aktivasyonunu tetikleyerek işlev görür (Zámečníkova, 2014). Tirozin kinazlar mutasyonlar, translokasyonlar veya amplifikasyonlar sonucunda anormal şekilde aktive olabilir ve bu da tümör gelişimi, büyümesi, invazyonu ve metastazına yol açabilir. Ek olarak, tirozin kinazlar, kanser yolaklarının aktivasyonu için kritik düğümler olarak da işlev görebilir. Bu nedenle, tirozin kinazlar, ilaç keşfi için ana hedefler olarak ortaya çıkmıştır (Drake ve ark., 2014; Jiao ve ark., 2018).

TKI amacı, hedef kinazın katalitik fosforilasyon işlevini yerine getirmesini önlemektir (Zhang ve ark., 2009). ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) 2001 yılında kronik miyeloid lösemi tedavisi için imatinib'i onayladığından beri, EGFR, ALK, ROS1, HER2, NTRK, VEGFR, RET, MET, MEK, FGFR, PDGFR ve KIT dahil olmak üzere çok sayıda güçlü ve iyi tolere edilen TKI hedefleri ortaya çıkmıştır ve kanser tedavisinde önemli ilerlemelere katkıda bulunmuştur. Tek hedefi olan TKI'lerin yanı sıra, VEGFR ile ilişkili çok hedefli TKI'ler gibi bazı TKI'ler daha geniş bir hedef aralığını engellemektedir. Bazı çok hedefli TKI'ların başlangıçta oldukça seçici olacak şekilde tasarlandıkları, ancak diğer beklenmedik hedefleri de kapsadıkları ortaya çıkmıştır (Krug ve Hilgeroth, 2008; Broekman ve ark., 2011).

Tablo 1. Tirozin Kinaz İnhibitörlerinin onay tarihleri, endikasyonları ve hedefleri.

Tirozin kinaz inhibitörleri	FDA onay tarihi	Endikasyonları	Hedefler
Afatinib (Gilotrif)	2013	Metastatik küçük hücreli olmayan akciğer kanseri	EGFR, HER2, HER4
Dasatinib (Sprycel)	2006	Kronik miyeloid lösemi, Akut lenfoblastik lösemi	BCR-ABL, SRC
Bosutinib (Bosulif)	2012	Kronik miyeloid lösemi	BCR-ABL, SRC
Erlotinib (Tarceva)	2004	Metastatik küçük hücreli olmayan akciğer kanseri,	EGFR
Krizotinib (Xalkori)	2011	Akut lenfoblastik lösemi,	ALK, RON
İbrutinib (İmbruvica)	2015	Waldenström's Makroglobulinemi	BTK
Aksitinib (Inlyta)	2012	İlerlemiş böbrek hücreli karsinom	VEGFR
Cabozantinib (Cometriq)	2012	Tiroid kanseri	RET, VEGFR-1
Gefitinib (Iressa)	2003	Metastatik küçük hücreli olmayan akciğer kanseri	EGFR
Imatinib (Gleevec)	2001	Kronik miyeloid lösemi, Gastrointestinal stromal tümör	BCR-ABL

TRKB: Tropomiyozin Reseptör Kinaz B; EGFR: Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü; FLT: FMS Benzeri Tirozin Kinaz; ALK: Anaplastik Lenfoma Kinaz; HER: İnsan Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü; VEGFR: Vasküler Endotelial Büyüme Faktör Reseptörü; RET: Transfeksiyon Sırasında Yeniden Düzenleyici; RON: Reseptör D'orijin Nantais.

Bruton tirozin kinaz (BTK) birçok önemli sinyal yolunu düzenler ve B-kökenli hücrelerin ve miyeloid hücrelerin çoğalması, hayatta kalması ve farklılaşmasında kilit bir rol oynar. BTK, hematolojik malignitelerin tedavisi için umut verici bir hedefdir. Birinci nesil BTK inhibitörü olan IBR, çeşitli B hücreli maligniteleri tedavi etmek için onaylanmıştır. IBR'nin çeşitli lenfoma ve lösemilere karşı etkileyici klinik gücü ve etkinliğine rağmen, hedef dışı toksisite ve birincil / edinilmiş ilaç direnci gibi bazı klinik dezavantajları vardır. İkinci ve üçüncü nesil BTK inhibitörleri, BTK-PROTAC'lar ve kombine tedavilerinin tümü, bu sorunlara potansiyel çözümler olarak araştırılmıştır (Ran ve ark., 2022).

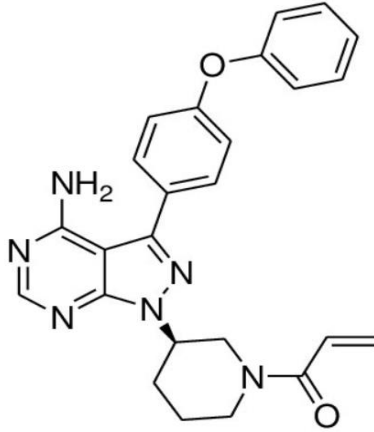
İbrutinib

IBR, Mantle hücreli lenfoma (MCL), Kronik ve küçük lenfositik lenfoma (KLL/SLL), Waldenström makroglobulinemisi (WM) ve Marjinal zon lenfoma (MZL)

için onaylanan sınıfının ilk kovalent BTK inhibitörüdür ve şu anda diğer hematolojik malignite hastaları için araştırma aşamasındadır. Başarısı, B-hücreli kanserler için kemoterapisiz tedavi fikrini doğurduğu için tarihi bir öneme sahiptir. Bununla birlikte, tedaviyle ilgili IBR'nin yan etkileri kanser tedavisindeki uygulamasını sınırlamaktadır. IBR tedavisinin yaygın yan etkileri arasında ishal, kanama, atriyal fibrilasyon, enfeksiyon, döküntü vb. yer almıştır. Zaman içinde çoğu yan etki insidansı azalma eğilimi göstermiştir, ancak ciddi advers olaylar ilacın kesilmesine yol açmış olabilir. Bazı önemli yan etkiler klinik çalışmalarda hastaların önemli bir kısmında (%9-23) tedavinin kesilmesine neden olmuştur. IBR'nin yan etkileri kısmen hedef dışı etkilerinden kaynaklanabilir. BTK'ya ek olarak IBR, EGFR ailesi kinazları (EGFR, ERBB2 ve ERBB4), SRC ailesi kinazları (BLK, HCK ve FGR), TEC ailesi kinazları (TEC, ITK, TXK ve BMX), JAK3 ve benzerleri dahil olmak üzere BTK ile benzer bir aktif bölgeyi paylaşan diğer birçok BTK dışı kinazı da bağlar (Ran ve ark., 2022).

Kimyasal yapısı

IBR'in kimyasal yapısı, farmakodinamik özellikleri Şekil 1'de ve Tablo 2'de sunulmuştur.



Şekil 1. IBR'nin kimyasal yapısı.

Tablo 2. IBR'in farmakodinamik özellikleri.

IUPAC Adı	1-((3R)-3-[4-Amino-3-(4-fenoksifenil)-1H-pirazolo[3,4-d] pirimidin-1-il] piperidin-1-il) prop-2-en-1-on
Kapalı Formül	C ₂₅ H ₂₄ N ₆ O ₂
Molekül Ağırlığı	440.507 g·mol ⁻¹
ATC Kodu	L01EL01
pKa	3.74
Erime Noktası	149-158 °C

Farmakokinetik özellikleri

IBR oral yoldan uygulanır. Plazma proteinlerine, in vitro koşullarda yüksek oranda (% 97.3) ve irreveribl olarak bağlanır. Dağılım hacmi 683 L, kararlı durumlardaki sanal Vd'si yaklaşık 10000 L, klirensi yaklaşık 2000 L/saat ve yarı ömrü 4-6 saattir (Wang ve ark., 2015).

IBR içeren ticari ürün "Imbruvica (140 mg kapsül)" 2016 yılında Sağlık Bakanlığı ruhsatı alarak ilerleyen yıllarda geri ödeme kapsamına alınmıştır.

2.3. Elektrokimya

İlk pil 219 yıl önce icat edilmiştir. Bu, pratik elektrokimyanın doğuşu olarak kabul edilir. 97 yıl önce, 2. Dünya Savaşı civarında, damlayan cıva elektrot kullanılarak voltametri yöntemi olan polarografi, elektroanalizin başlangıç noktası olan Çek kimyacı Jaroslav Heyrovsky tarafından icat edilmiştir (bunun için kimya dalında 1959 Nobel Ödülü'nü almıştır). Ayrıca klasik analiz yöntemlerinden enstrümantal analiz yöntemlerine geçiş de olmuştur. Son yüzyıl, elektroanalitik kimyanın yükselişi ve olgunlaşmasıyla aynı tarihe denk gelmiştir.

Elektrokimya, elektriksel ve kimyasal etkilerin birbiri ile ilişkisini inceleyen bilim dalıdır (Bard ve Faulkner, 2001). Başka bir deyişle elektrokimya, bir sistemin çeşitli fazları arasındaki yükseltgenme ve indirgenme süreçlerinin araştırılmasıdır (Kelter ve ark., 2000). Elektrik enerjisi, yükseltgenme ve indirgenme tepkimelerinin meydana gelmesiyle kimyasal dönüşümleri gerçekleştirir ve aynı döngüde tekrarlanan kimyasal dönüşümlerde elektrik enerjisi üretir. Bu reaksiyonların gerçekleştiği anlarda sistemde

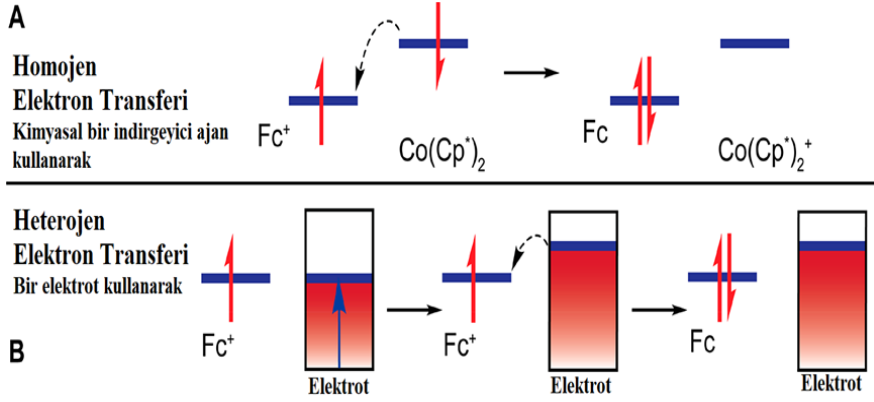
elektron geçişleri ve transferleri oluşur (Skoog ve ark., 1998).

Elektrokimya, elektron transferlerini içeren reaksiyonları incelemek için etkili bir yöntemdir. Elektrokimya, kimyasal değişlikleri elektron akışına bağlar. İnorganik kimyada, ortaya çıkan kimyasal değişim genellikle bir metal kompleksinin yükseltgenmesi veya indirgenmesidir. Kimyasal indirgeme ile elektrokimyasal indirgeme arasındaki farkı daha iyi anlamak için Fc^+ olarak kısaltılan ferrosen $[Fe(Cp)_2]^+$ ($Cp =$ siklopentadienil)'in Fc olarak kısaltılan ferrosen $[Fe(Cp)_2]$ 'e indirgenmesine ilişkin aşağıdaki örneği ele alalım:

- Kimyasal bir indirgeyici ajan aracılığıyla: $Fc^+ + [Co(Cp^*)_2] \rightleftharpoons Fc + [Co(Cp^*)_2]^+$
- Bir elektrot üzerinde: $Fc^+ + e^- \rightleftharpoons Fc$

$[Co(Cp^*)_2]$ 'nin Fc^+ ($Cp^* =$ pentametilsiklopentadienil)'yi azaltmasına ne sebep olur? Fc^+ 'nin en düşük işgal edilmemiş moleküler orbitali (LUMO), $[Co(Cp^*)_2]$ 'nin en yüksek işgal edilmiş moleküler orbitalindeki (HOMO) elektrondan daha düşük bir enerjidedir, bu da bir elektronun $[Co(Cp^*)_2]$ 'den Fc^+ 'ye nasıl hareket ettiğinin en basit açıklamasıdır. Enerji seviyelerindeki fark, reaksiyonu yönlendiren şeydir ve çözeltildeki iki molekül arasında bir elektron transferi termodinamik olarak avantajlıdır (Şekil 2A). Fc^+ bir elektrottan heterojen elektron transferi ile elektrokimyasal olarak azalır, ancak bu prosedürün arkasındaki itici güç nedir? Elektrot, elektriği ileten, genellikle camsı karbon, platin, altın veya cıvadan yapılmış bir malzemedir. Harici bir güç kaynağı (örneğin bir potansiyostat) kullanılarak elektrottaki elektronların enerjisini değiştirmek için elektroda gerilim uygulanabilir. Elektrottaki elektronların enerjisi Fc^+ 'nin LUMO'sundan daha yüksek olduğunda elektrottan bir elektron Fc^+ 'ye taşınır (Şekil 2B). Elektrot ile Fc^+ 'nin LUMO'su arasındaki enerji farkı bir kez daha bu elektrokimyasal reaksiyon için katalizördür (Elgrishi ve ark., 2018).

Kimyasal indirgemenin itici gücünü değiştirmek için indirgeyici olarak kullanılan molekülün kimliği değiştirilmelidir (Connelly ve ark., 1996). Bir reaksiyonun itici gücünün düzenlenebilmesindeki basitlik, termodinamik ve kinetik parametrelerin değerlendirilebilmesindeki kolaylık, elektrokimyanın gücünün merkezinde yer alır (Elgrishi ve ark., 2018).



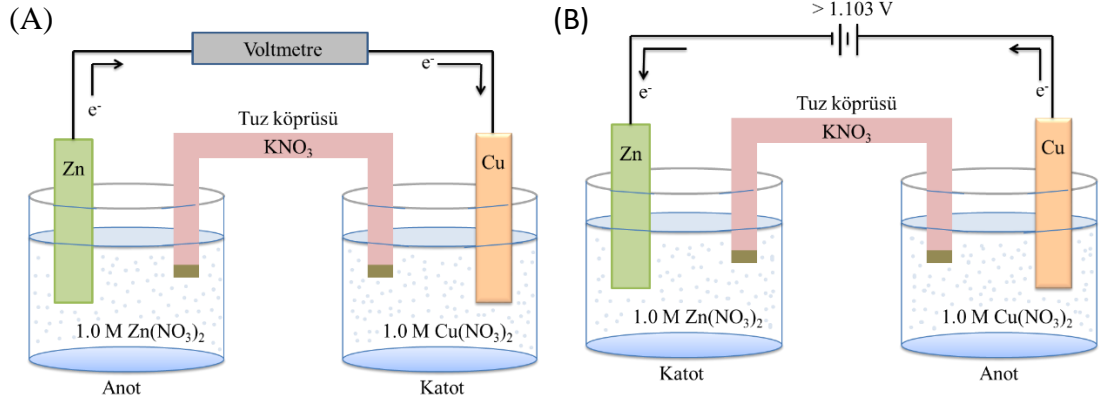
Şekil 2. Fc^{+} 'nin (A) homojen ve (B) heterojen formlarda Fc 'ye indirgenmesi. Potansiyostat elektrottaki elektronların enerjisini düzenler; elektron transferi avantajlı olana kadar enerjileri artırılabilir.

Elektrik-madde etkileşimi, elektrokimyasal hücreler denilen bir sistem düzeneği içerisinde gerçekleştirilir. Bir elektrokimyasal tepkimenin oluşması için analit, elektrot sistemi ve transistor gerekir. Analizi yapılacak maddeyi (analit) içeren bu çözelti, analitin burada kimyasal dönüşüme uğradığı elektrot sisteminin (genellikle üçlü elektrot sistemi) içerisinde gerçekleşir. Elektrotları birbirine bağlayan bir transistor (dönüştürücü sistemi) sayesinde düzenek kurulur. Çözeltideki elektriksel iletkenliği sağlamak amacıyla genellikle tampon çözelti kullanılır (Yardım, 2009).

2.3.1. Elektrokimyasal hücre

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.

Elektrokimyasal hücreler galvanik ve elektrolitiktir (Şekil 3). Galvanik hücrede kendiliğinden meydana gelen bir kimyasal tepkime sonucunda elektrik enerjisi üretilir. Elektrolitik hücre, kimyasal tepkimenin gerçekleşmesi için dışarıdan enerji alır. Analitik kimyada da bu iki çeşit elektrokimyasal hücre kullanılmaktadır. Elektrokimyasal hücrelerin çoğu, deney koşulları değiştirilerek elektrolitik ya da galvanik olarak kullanılabilir.

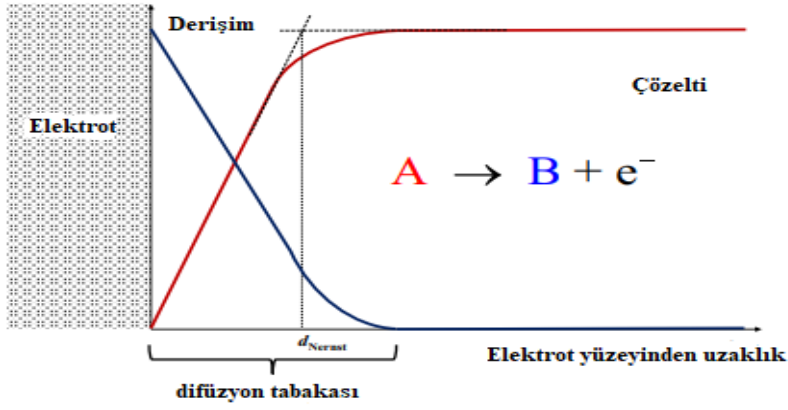


Şekil 3. Galvanik ve elektrolitik hücre sistemleri (Kaya, 2014).

Elektrokimyasal hücreler iki veya üç elektrotlu olarak ayrılmaktadır. İki elektrotlu hücrelerde bir karşılaştırma elektrodu ve bir çalışma elektrodu bulunur. Tuz köprüsü düzeneği iki elektrokimyasal yarı hücrenin birbirleriyle karışmasını önlemesine rağmen, iyonların hücreler arası geçmesine olanak sağlamaktadır (Levich ve ark., 1962). Modern sistemlerde, elektrokimyasal hücrede çalışma elektroduna ek olarak referans elektrot, yardımcı (karşıt) elektrot ve çözülmüş O_2 'yi temizlemek için N_2 gazı ile inertleme (pörç) işlemi bulunur (Şekil 5).

Faradayik ve kapasitif akımlar

Bileşiklerin konsantrasyonunu belirlemenin en iyi yolu, elektrotlarda yükseltgendiklerinde veya indirgendiklerinde ürettikleri faradayik akımları ölçmektir. Faradayik akımlar oluşturmak için moleküller veya iyonlar elektrot yüzeyine ulaşmalıdır. Bu, yalnızca elektrot yüzeyine doğru kütle aktarımı ile gerçekleştirilebilir. Onları taşıyabilen sadece üç olası mekanizma vardır. Bunlar; (a) Konsantrasyon gradyanında difüzyon, (b) elektriksel göç ve (c) konveksiyon. Madde elektrot yüzeyinde yükseltgendiğinde veya indirgendiğinde, elektrot/elektrolit arayüzünde her zaman bir konsantrasyon gradyanı gelişecektir.

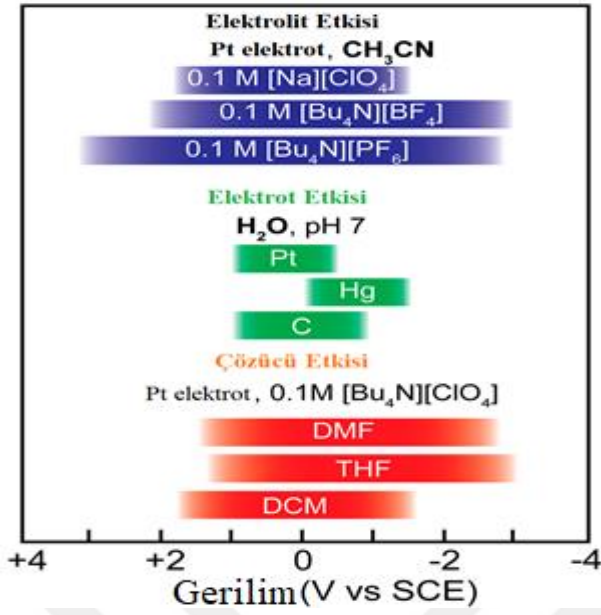


Şekil 4. Bileşik A, bileşik B'yi oluşturmak için yükseltgendiğinde bir elektrot yüzeyinde gelişen difüzyon tabakası. d_{Nernst} , Nernst difüzyon tabakası kalınlığı. Arayüzde konsantrasyon profilinin iki doğrusal kısmının kesiştiği noktaya olan mesafedir (Scholz, 2015).



Şekil 5. Elektrokimyasal hücre ve bileşenleri (Özkan ve ark., 2015).

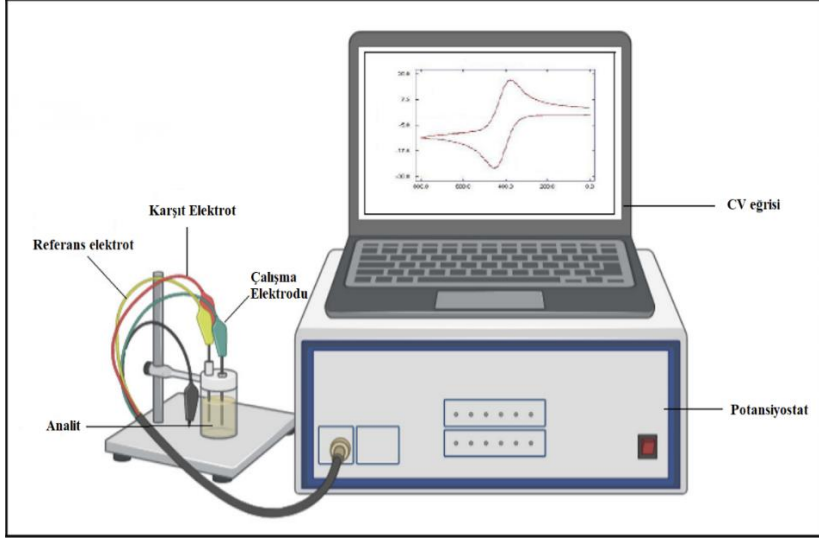
Elektrokimyasal ölçümler genellikle bir destek elektrolit içeren bir çözelti ortamında yapılır. Çözücü seçerken analitin bu ortamda çözünürlüğünün iyi olmasının önemi büyüktür. Çözücü, analitle tepkime vermemeli ve elektrot ile tepkimeye girmemelidir. Destek elektrolit olarak bilinen alkali metal tuzları, analit çözeltisine fazla miktarda ilave edilerek elektrot ile tepkimeye girmezler (Çorbacıoğlu, 2013).



Şekil 6. İnorganik elektrokimyanın bazı tipik çözücülerini için olası kararlılık pencereleri ("çözücü penceresi") (Zoski, 2006).

Kararlı bir gerilime sahip iyi tanımlanmış bir referans elektrot çalışılan çözeltinin bileşiminden bağımsız ve gerilim değeri bilinen elektrotlardır. Referans elektrot çalışma elektrotunun gerilimi ölçer ve oluşan tepkime ile hiçbir ilgisi yoktur. İkinci sınıftan metal-metal iyonu elektrotları voltametriye referans elektrot olarak kullanılır. Standart hidrojen elektrot (SHE), doygun kalomel elektrot (DKE) ve gümüş-gümüş klorür (Ag/AgCl) elektrot sıklıkla kullanılan elektrotlar arasındadır.

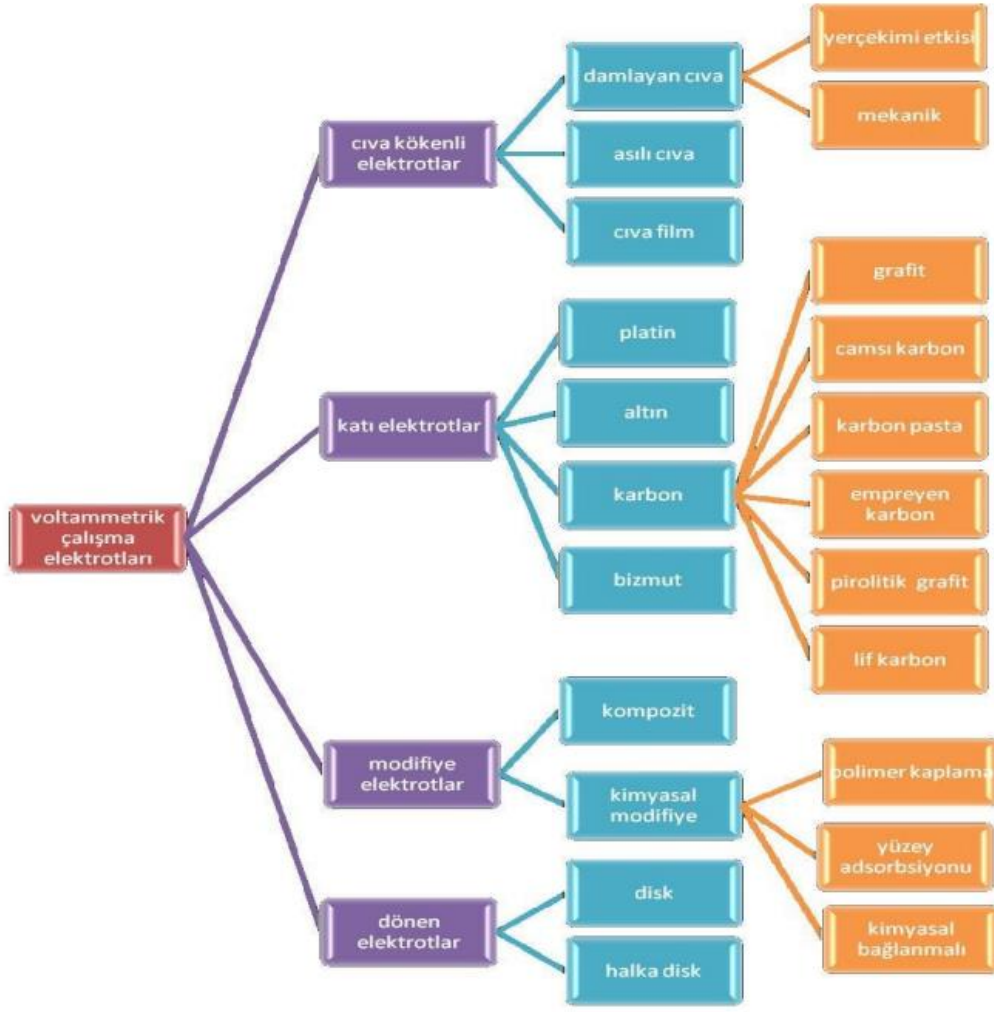
İki elektrotlu sistemlerde polarize olmayan elektrotun üzerinden yüksek akım geçtiği için polarlanabilir. Çözelti direnci yüksek olduğunda, bu direnci aşmak için gerekli olan gerilim de önemli ölçüde artar. Bundan dolayı çalışma elektrotunun polarizasyon gerilimi hatalı okunabilir. Bunun için sisteme üçüncü bir elektrot ilavesi ile bu sorun çözülebilir. Sistemden geçen akım, çalışma elektrotu ve yardımcı (karşıt) elektrot ikilisinden geçer, çalışma elektrotunun gerilimi referans elektrota karşı sıfır akım altında gözlenir. Yardımcı elektrot, elektrokimyasal hücrede akımı taşıyan ve oluşan tepkime ile ilgisi olmayan elektrotur. Yardımcı elektrotlardan akım geçtiği için soy metal yapısında olmalıdır. Dolayısıyla özellikle grafit, platin ve tungsten tel çubuklar tercih edilme sebebidir. Ayrıca, mikro hacimlerle çalışıldığından yardımcı elektrotta oluşacak ürünlerin çalışma elektrotunda girişim yapmayacağı elektrot türü seçilmelidir (Tural ve ark., 2003).



Şekil 7. Voltametri devre sistemi (Navashree ve Parthasarathy, 2022).

Elektrokimyasal olayın meydana geldiği ölçüm bölgesini oluşturan çalışma elektrotudur. Maddelerin indirgenmesinden dolayı çalışma elektrodu üzerinde oluşan akıma katodik akım derken yükseltgenmesinden dolayı oluşan akıma ise anodik akım denir.

Çalışma elektrotları genel olarak cıva kökenli elektrotlar, katı elektrotlar, dönen elektrotlar ve modifiye elektrotlar olarak sınıflandırılır.



Şekil 8. Voltammetrik çalışma elektrotlarının sınıflandırılması (Dündar, 2019).

Cıva kökenli elektrotlar

Voltametrenin ilk uygulaması, cıva bazlı elektrotların ilk örneği olan damlayan cıva elektrodu (DCE) kullanılarak yapılmıştır ve bu yöntem özellikle "polarografi" olarak adlandırılmıştır. Cıva pürüzsüz ve kolayca yenilenebilir bir yüzeye sahip olduğundan, yüzey kirliliği azalır ve bu nedenle yöntemin tekrarlanabilirliği artar. Ayrıca, cıva bazlı elektrotlar geniş bir negatif gerilim aralığına izin verdiği için, birçok metal iyonunun ve tekrarlanabilir işlevsel gruplarla organik bileşiklerin belirlenmesinde kullanılırlar. Cıva elektrotların bu avantajlarına rağmen bazı kısıtlamaları vardır. Bu elektrotun kullanımı, metalik cıvanın düşük pozitif gerilimde bile kolayca yükseltgenebilmesi nedeniyle sınırlıdır (Baycan, 2006).

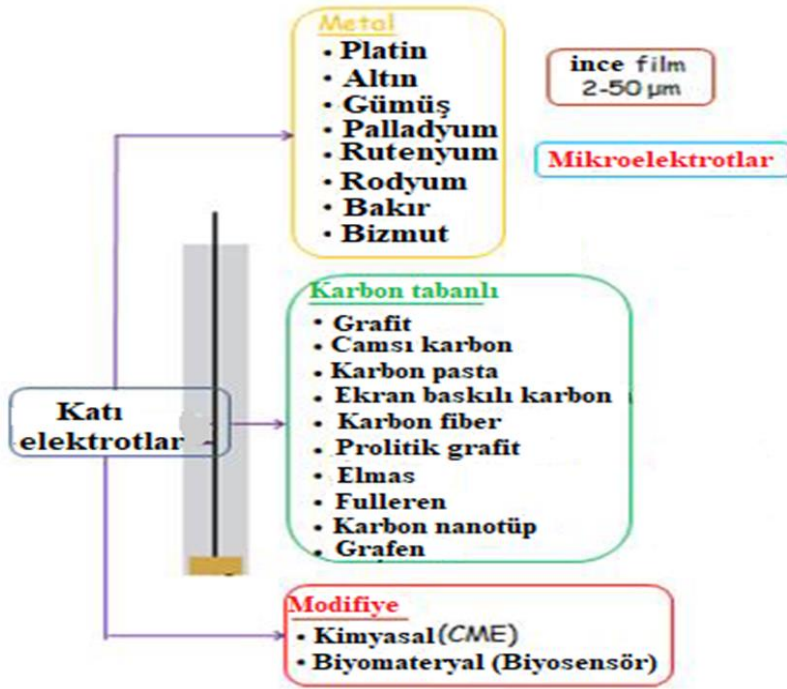
Katı elektrotlar

1940'lı yılların sonunda başlayan ve hala devam eden katı metal elektrot çalışmaları voltametriye geniş bir uygulama alanı sağladı (Adams ve ark., 1958; Skoog ve Leary, 1996).

Katı elektrot yüzeyindeki tekrarlanabilir yanıtı kontrol etme zorluğuna rağmen katı elektrotlar, mekanik güç ve kullanım kolaylığı açısından cıva bazlı elektrotlara göre daha avantajlıdır. Katı elektrotlar, analitik kullanımlarına ek olarak farmakolojik, biyolojik ve çevre açısından önemli bileşiklerin redoks özelliklerini araştırmaya ve dolayısıyla çok karmaşık yapılarını *in vivo* yükseltgenme yollarında yenilemeye olanak tanır (Kalcher ve ark., 2009).

Tel, plaka ve disk biçimindeki katı elektrotlar sabit, dönen veya titreşen türler de mevcuttur. Bu elektrotlar arasında metal elektrotlar (Pt, Au, Bi, Cu, Ni, Sn, İn) belirli elektroanalitik uygulamalar için kullanılır. Farklı karbon formlarına (karbon bazlı) dayanan elektrot malzemeleri, birçok zorlu deney için geniş bir gerilim penceresi, düşük maliyetli, zengin yüzey kimyası, düşük arka plan akımı, kimyasal inertlik ve uygunluğa sahip olduğu için elektroanalitik kimyada yaygın bir uygulama ortaya çıkarmıştır. Karbon bazlı elektrotlar bazı tekniklerde (elektrokimyasal dedektörlü HPLC) algılama uygulamaları için de uygundur. Bunlar arasında grafit, camsı karbon (GC), karbon pasta (CP), karbon nanotüp (CNT), karbon fiber (CF), BDD, ekran baskılı karbon (SPC), grafen (Gr), fulleren, kalem grafit (PG) elektrotlar. 1990'larda, ekran baskı teknolojisi tek kullanımlık elektrokimyasal sensör uygulamaları için yeni bir ufuk açtı. Katı elektrotlarda çok önemli bir gelişme 1970'lerin ortalarında başlayan kimyasal olarak değiştirilmiş elektrotların uygulanmasıdır. Uygulamaları çeşitli biyolojik olarak etkin bileşiklerin belirlenmesi için hassasiyet ve seçicilik açısından mükemmel performans sunar (Uslu ve Özkan, 2007).

IBR ilaç etkin maddesinin analizinde çalışma elektrodu olarak BDD elektrot kullanıldığı için bu elektrot ayrıca açıklanacaktır.



Şekil 9. Kati çalışma elektrotlarından bazı örnekleri

Bor katkılı elmas elektrot

20. yüzyılın sonunda, BDD, çevre dostu bir karbonlu elektrot malzemesi olarak büyük ilgi görmüştür. (Luong ve ark., 2009). BDD'nin çok az pasiflik sorunu olduğu gösterilmiştir (elmas karbon atomlarının sp³ hibridize edilmiş olması). Ayrıca, birçok analit için, yükseltgenme ürünleri tarafından adsorbe edilen reaksiyon, uygun bir elektrokimyasal ön işlem (katodik veya anodik) kullanılarak elektrot yüzeyinden kolayca uzaklaştırılır. Bu prosedürler, belirli voltametrik sinyalleri geliştirir ve analitlerinde tekrarlanabilir yanıt sağlar. Ayrıca BDD, sulu çözeltilerde (+3,5 V'a kadar) geniş kullanılabilir gerilim pencereye sahip olmak, tüm metal ve karbon elektrot malzemeleri arasında, düşük rezidüel akım, çözünmüş oksijene düşük hassasiyet gibi herhangi bir kimyasal değişikliğe gerek olmadan başka bir prestijli elektrokimyasal özelliğe ve son derece aşındırıcı ortamlarda yüksek korozyon direncine sahiptir.

Yukarıda bahsedilen elektrot malzemelerinden farklı olarak elmas, tam C-sp³ hibridizasyonu ve tetrahedral bağlanma sayesinde, kimyasal kararlılık, aşırı sertlik, termal iletkenlik, düşük sürtünme katsayıları ve yüksek yük taşıyıcı hareketliliği gibi birçok

benzersiz özellik sunar. Bununla birlikte, doğal elmas çok geniş bant aralıklı ($T = 300$ K'da $5,47$ eV'lik bir bant aralığı), son derece yüksek doğal elektrik direnci ($1016 \Omega \text{ cm}$) ile bir yarı iletken olduğu için elektrot malzemesi olarak kullanılamaz. Yük taşıyıcıların elmasa eklenmesi onu iletken hale getirebilir. Bor, karbondan bir elektron eksiktir ve küçük bir atom yarıçapına sahiptir ve bu nedenle, elmasa bir p-tipi yarı iletken özelliği sağlayan bir yük alıcı olarak elmasa kolayca dahil edilir. Bor tarafından getirilen alıcı seviyesi, değerlik bandının tepesinden 0.37 eV olarak, oldukça derindir. Böylece bor kullanımı, iletkenliği ve elektron transfer reaktivitesini arttırmış olur (Luong ve ark., 2009). 2005 yılında Ekimov ve ark. yüksek basınçta sentezlenen BDD'de süper iletkenlik keşfettiklerini belirttiler. (Yaklaşık 100.000 atmosfer) ve sıcaklık ($2500\text{--}2800$ K). Bor katkılı elmas (BDD), yarı metalik veya "metal benzeri" olarak tanımlanabilir (Macpherson, 2015).

BDD elektrotlarının elektrokimyasal tepkisini etkileyebilecek tüm faktörler arasında, muhtemelen en karmaşık olanı, BDD yüzeyinin fiziksel, kimyasal ve elektronik özellikleri üzerindeki etkisinden dolayı yüzey sonlandırmasının (H, O) etkisidir (Şekil 10).



Şekil 10. Yüzey sonlanması hakkında bazı önemli açıklamalar

Sonuç olarak, BDD elektrot yüzeyinin H, O sonlandırması hem dış küre hem de iç küre redoks işlemleri için elektrokimyasal aktiviteyi ve ayrıca uygun elektrokimyasal ön işleme değiştirilebilen yüzey ıslanabilirliğini (hidrofilik ve hidrofobik yüzey) etkiler (Sartori ve ark., 2017). BDD'nin yüzey işlemlerinin elektrokimyasal ve fotoelektrokimyasal özellikleri üzerindeki etkisini ilk dikkat çekenler arasındaydılar (Rao ve ark., 1999; Yagi ve ark., 1999). Şimdiye kadar elektrot yüzeyinin yeniden

etkinleştirilmesi, voltametrik sinyallerin iyileştirilmesi ve analitlerin tekrarlanabilir tepkileri için katodik ve anodik ön işlemler uygulanmaktadır.

Bu farklı yüzey ön işlemler genellikle redoks türlerinde farklı elektrokimyasal tepkiler üretir, bu nedenle hedef maddeleri seçici olarak saptamak için kullanılabilirler (Kasahara ve ark., 2017).

Genel olarak, katodik ön işlem (CPT) hidrojen sonlandırmasını artırır; bununla birlikte, negatif elektron afinitesi ve yüksek iletkenlik ile orijinal BDD yüzeyinin (hidrofobik yüzey) fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştirmez. Anodik ön işlem (APT) sonra, BDD yüzeyi pozitif elektron afinitesi ve düşük iletkenlik ile hidrofilik hale gelir ve nispeten negatif yüzey yüküne sahiptir (Oliveira ve Oliveira-Brett, 2010).

2.4. Elektrokimyasal Yöntemler

Bir asır önce, yükseltgenme-indirgenme süreçleri ve diğer yük transferi olayları ilk olarak elektroanalitik kimyada kullanılmıştır. Analitik kimyanın temel alt disiplinlerinden biridir. 1920'lerde Çek bilim adamı Jaroslav Heyrovsky, uygulanan gerilimin bir fonksiyonu olarak akımın ölçülmesiyle örneklerin analiz edildiği bir elektrokimya türü olan voltametriyi keşfetti. Voltametrik yöntemler, elektrokimyasal reaksiyonları incelemek (Annapoorna ve ark., 2000), elektrokimyasal olarak üretilen serbest radikalleri incelemek (Vergara ve ark., 2001), enzimatik kataliz (Li ve ark., 2004), koordinasyon kimyası (Gupta ve ark., 2006), güneş enerjisi dönüşümü (Angulo ve ark., 2009), çevresel izleme (Macchi, 1965), endüstriyel kalite kontrolü (Lencastre ve ark., 2006) ve biyolojik ve klinik önemi olan bileşiklerin eser konsantrasyonlarını belirlemek için bir araç olarak son elli yılda popülerlik kazanmıştır (Shahrokhian ve Ghalkhani, 2006).

Elektroanalitik teknikler, yüksek derecede doğruluk, kesinlik, hassasiyet ve seçicilik ile temel öneme sahip çok sayıda sorunun üstesinden gelmek için sıklıkla dikkate değer bir şekilde yeniden üretilebilir bir şekilde basitçe uygulanabilir. Bu teknikte, elektrot yüzeyinin kendisi bir analitin miktarının belirlenmesi için güçlü bir araçtır. Gerilimi kontrol ederek elektrot, elektronların değişken bir serbest enerji kaynağı olarak kullanılabilir. Buna ek olarak, elektrot-çözelti arayüzünü geçen elektronlar, akım

ölçülerek büyük bir hassasiyetle belirlenebilir (Murray ve ark., 1987).

Elektroanalitik teknikler, elektriksel niceliklerin (elektrik akımı, uygulanan gerilim ve yük) değerlendirilmesi için elektrik, kimya ve biyoelektrokimyasal süreçler arasındaki ilişkiyi ve bunların analitik bir sistemdeki kimyasal parametrelerle ilişkisini dikkate alır. Elektroanalitik teknikler potansiyometrik, voltametri ve kulometrik ölçümler olarak sınıflandırılır. Elektriksel ölçümlerin analitik amaçlarla kullanımı, çevresel izleme, endüstriyel, kalite kontrol ve biyomedikal analiz dahil olmak üzere çeşitli uygulamalar bulmuştur. Bir elektroanalitik analiz, yüksek hassasiyet, seçicilik, tekrar üretilebilirlik ve daha düşük bir algılama limiti sunar. Bu teknikler, çeşitli biyolojik yükseltgenme ve indirgenme reaksiyonlarını analiz etmek ve bir sistemdeki biyomoleküllerin doğasını ve konsantrasyonunu belirlemek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Majeed ve ark., 2022).

Bir diğer elektroanalitik yöntem olan voltametri, bu tez çalışması kapsamında ibrutinib ilaç etkin maddesinin analizinde kullanıldığı için detaylı olarak açıklanacaktır.

2.5. Voltametri

Çeşitli ilgi alanlarına sahip bileşiklerin taranmasına yönelik voltametrik yöntemler, elektrot türleri ve analitik stratejiler temelinde gözden geçirilmektedir. Geleneksel voltametrik yöntemin kapsamı, özellikle nanokompozit içeren çok sayıda modifiye elektrotun geliştirilmesi nedeniyle son yıllarda önemli ölçüde genişletilmiştir. Voltametrik yöntemler, duyarlılık, minimum tespit edilebilirlik, herhangi bir ön işlem gerektirmeden biyolojik örnekler üzerine uygulanabilirlik ve zaman tasarrufu açısından mevcut diğer yöntemlere göre belirgin avantajlara sahiptir. Bileşiklerin voltametri ile eş zamanlı tayini, imal edilen sensör üzerinde aynı anda birden fazla analitin kolayca tespit edilebilmesi nedeniyle ekonomik ve daha az zaman alıcı olma avantajlarını sunmaktadır.

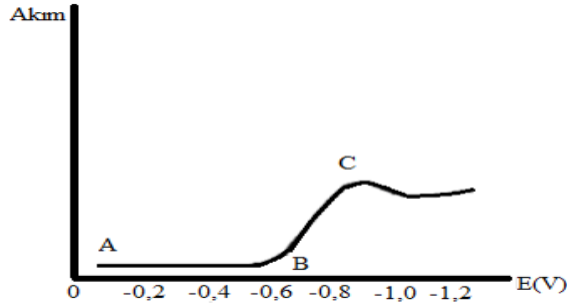
1920'lerin başında Çekoslovak kimyacı Jaroslav Heyrovsky, voltametrimin özel bir türü olan polarografiyi geliştirerek voltametriyi buldu (Karabilgin, 2012). Voltametri, çeşitli ortamlarda yüzeylerdeki adsorpsiyonu inceleyen duyarlı ve güvenilir bir yöntemdir. Bu yöntemin diğer yöntemlere göre üstün yanı, az miktardaki elementlerin, organik ve inorganik bileşiklerin bulunması ve çalışılmasına olanak sağlamasıdır. Birçok türe karşı seçiciliğinin olması voltametriyi önemli kılmaktadır (Barek ve ark., 2001).

Voltametrimin bazı avantajları bulunmaktadır;

- Türleşme ve kinetik parametreleri belirleyebilme.
- Kimyasal ve/veya elektrokimyasal reaksiyonların mekanizmalarını aydınlatabilme yeteneği.

- Geniş bir sıcaklık aralığında çalışabilme imkânı
- Birden fazla analite ile geniş bir derişim aralığında çalışma imkânı
- Eş zamanlı algılama imkânı.
- Yüksek hassasiyet
- Düşük alt tayin sınırında çalışabilme
- Hızlı analiz süreleri (birkaç saniye)
- Yüksek seçicilik

Tipik bir voltamogram Şekil 11’da gösterilmiştir.

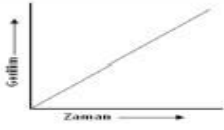


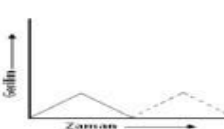


Şekil 11. Voltamogram grafiği

Şekil 11'deki voltamograma bakıldığında, başlangıçta (A noktasında) akımın neredeyse hiç olmadığı görülmektedir ya da çok düşüktür. Safsızlık ve elektrot yüzeyinin yüklenmesinden dolayı A ve B noktaları arasında geçen akım oldukça yavaşça yükselir. Buna zemin akımı denir. B noktasına gelindiğinde yükseltgenmiş türlerin indirgenme gerilim değeri gerilim değerine yaklaşır. Gerilim arttıkça elektronlar, elektrottan yükseltgenmiş türe doğru doğrusal bir artış ile göç etmeye başlar. İndirgenme hızı arttıkça hücre akımında artış başlayacaktır. Bu artış sürekli ve düzenli değildir. Şekil 11'da görüldüğü gibi C noktasında oluşan bir pik ile tamamlanır (Yılmazgüç, 2008).

2.5.1 Voltametrik yöntemler

Voltametrik yöntemler, bir elektrolitik hücrenin geriliminin negatif veya pozitif değerlere doğru değiştirildiği ve akımın ölçüldüğü bir elektroanalitik teknikler topluluğudur. Deneyin çıktısı, hücreye uygulanan gerilime karşı akımdır. Tipik hücreler referans ve karşıt elektrotlar ile bir çalışma elektrodundan oluşur. Referans elektrot sabit bir gerilime sahip olacak şekilde tasarlanmıştır ve hücreye uygulanan gerilimdeki bir değişimin çalışma elektrodunun yükseltgeyici veya indirgeyici gücünü değiştirmesi için bir potansiyostatik devre kullanılır. Uygulanan gerilim doğrusal olarak değiştirilir ve akım sürekli olarak ölçülürse, yöntem doğrusal tarama voltametri olarak adlandırılır. Hücreye artan yüksekliklerde bir dizi puls uygulanır ve her pulsun sonunda akım ölçülürse, tekniğe normal puls voltametri denir (Bard ve Faulkner, 1980).

İsmi	Dalga Şekli	Voltametri Tipi
Doğrusal Taramalı		Polarografi Hidrokinamik Voltametri
Difarensiyel Puls		Difarensiyel Puls Polarografisi
Kare Dalga		Kare-Dalga Voltametri
Üçgen		Dönüşümlü Voltametri

Şekil 12. Voltametriye sıklıkla kullanılan dört uyarma sinyali (Skoog ve ark., 1998).

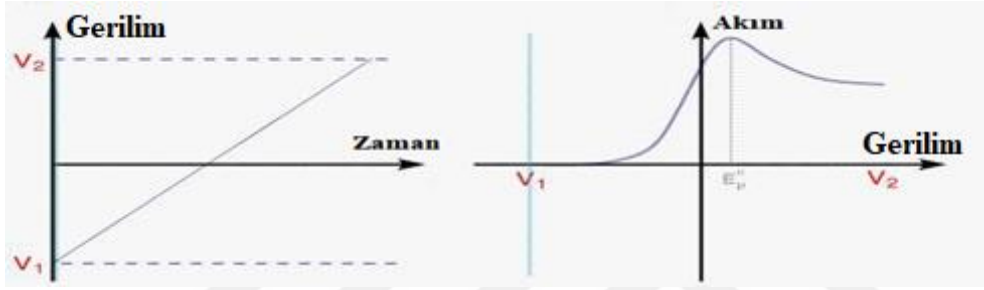
Doğrusal taramalı voltametri

Taramalı voltametri yönteminde tarama, akımın akmadığı akım/gerilim grafiğinin sol tarafından başlar. Gerilim sağa (daha indirgeyici değerlere) doğru süpürüldükçe, bir akım akmaya başlar ve sonunda bir tepe noktasına ulaşır. Bu davranışı rasyonelleştirmek için gerilimin elektrot yüzeyinde kurulan denge üzerindeki etkisini dikkate almamız gerekir. Burada elektron transfer hızı, gerilim tarama hızına kıyasla hızlıdır. Bu nedenle

elektrot yüzeyinde, termodinamik tarafından hesaplanan Nernst denklemi kurulur.

Doğrusal tarama voltametrisinde, gerilim adım ölçümlerine çok benzer şekilde sabit bir gerilim aralığı kullanılır. Ancak doğrusal taramalı voltametri de gerilim aşağıda gösterildiği gibi bir alt sınırdan bir üst sınıra doğru taranır. Doğrusal tarama voltamogramının özellikleri bir dizi faktöre bağlıdır:

- Elektron aktarım reaksiyonunun hızı
- Elektroaktif türlerin kimyasal reaktivitesi
- Gerilim tarama hızı



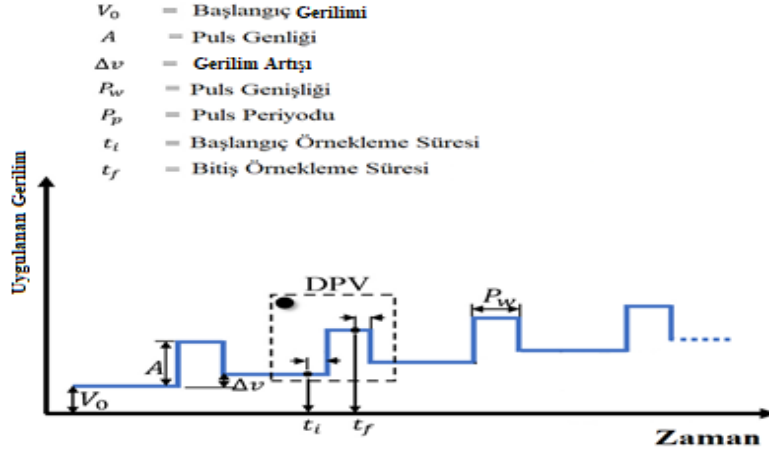
Şekil 13. Taramalı voltametri de uygulanan gerilim ve elde edilen voltamogram (Elgrishi ve ark., 2018).

Diferansiyel puls voltametrisi

Diferansiyel puls teknikleri, bir elektroaktif türün içerdiği eser miktarını belirlemek için sıklıkla kullanılır. Bu yöntemde, doğrusal bir tarama sırasında periyodik bir darbeyi kullanarak uyarma sinyali oluşturur (Şekil 14).

DPV'nin üstün hassasiyetinin ardındaki sebep, arka plan akımı (arayüz kapasitansı nedeniyle), uygulanan gerilimdeki küçük değişikliklerden minimum düzeyde etkilenir. Bu nedenle, nispeten küçük gerilim artışlardan önceki ve sonraki akımları örnekleyerek ve ikisini çıkararak, arka plan akımının etkisi en aza indirilerek faradayik akıma (kimyasal reaksiyonda elektron transferinden kaynaklanan akım) karşı daha fazla hassasiyet sağlanır. Akım, pulstan hemen önce ve pulsun sonuna doğru iki kere ölçülerek bunların farkı sinyal olarak kaydedilmektedir. Bu yöntemin önemli avantajları, yarı-dalga gerilimleri arasında yaklaşık 0.005 V fark olan maddeler için bile özgün pik maksimumunun elde edilmesidir. Tayin sınırı 10^{-7} M- 10^{-8} M arasındadır. DPV'nin yüksek

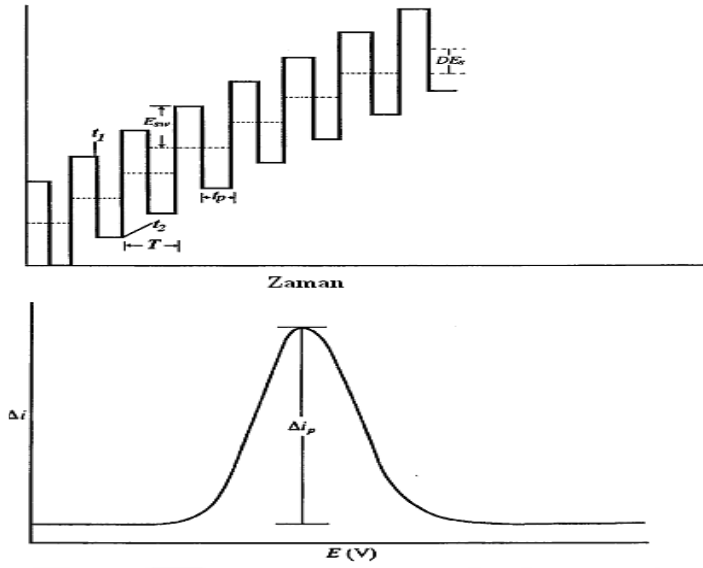
tainin duyarlılığının nedeni, en yüksek faradayik akımın ve en düşük kapasitif akımın olduğu anda ölçüm yapmasıdır (Sağlıkoğlu, 2011).



Şekil 14. Önerilen DPV tekniğinin şeması (Bhuwan ve Ratnesh, 2022).

Kare dalga voltametrisi

Barker ve Jenkins, 1952 yılında kare dalga voltametrisi olarak bilinen son derece hızlı ve duyarlı bir voltametri yöntemi geliştirdi. Hem teorik hem de cihaz geliştirme açısından bu yaklaşımı önemli ölçüde geliştirmişlerdir. Voltamogramın tamamı 10 ms'den daha kısa bir sürede yapılır. Damlayan civa elektrodu ile tarama, damla ömrünün son birkaç saniyesi içinde, yükleme akımı hemen hemen sabitken yapılır. Kare dalga voltametrisi asılı civa damla elektrodu, katı elektrotlar veya kromatografik detektörler ile kullanılabilir. Osteryoung, 1985 yılında basit elektrotlarda teorik ve pratik kare dalga voltametrisi geliştirdi. Kare dalga voltametrisinin sabit elektrotlarda gerilim-zaman dalga şekli simetrik kare dalgalarından oluşur.

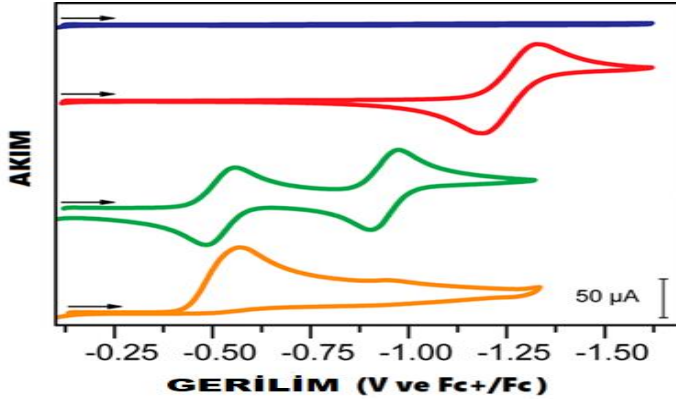


Şekil 15. Kare dalga uyarı sinyali ve voltamogramı (Öztekin, 2008).

Şekil 15'te kare dalga voltametrisinde elde edilen basamaklı sinyal görülmektedir. Uyarma sinyali, darbenin basamak sinyali üzerine bindirilmesi ile elde edilir. Basamaklı sinyalde her basamağın boy ve puls periyodu eşit olup bu yaklaşık 5 ms civarındadır (Gover, 2011). Kare dalga voltametrisinde ölçümler son derece hızlı olduğu için, birden fazla voltametrik taramanın sinyallerinin ortalaması alınarak analiz keskinliğini artırabilirsiniz. Bu metodun tayin sınırları 10^{-7} ile 10^{-8} M arasında olduğu için bu teknik en duyarlı ve hızlı elektroanalitik teknikler arasındadır.

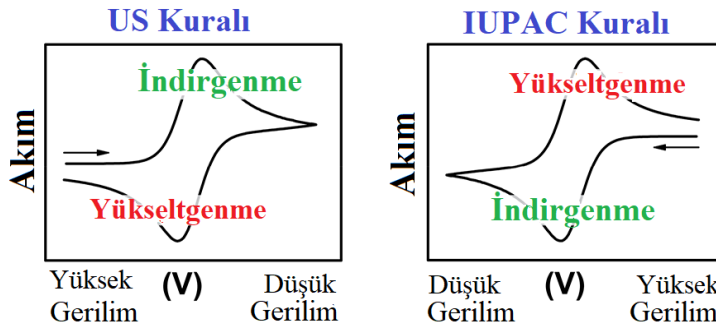
Dönüşümlü voltametri

Dönüşümlü voltametri (CV) adı verilen güçlü ve popüler elektrokimyasal teknik, moleküler türlerin nasıl indirgendiyini ve yükseltgendiyini incelemek için sıklıkla kullanılır. Kataliz gibi elektron transferini içeren kimyasal reaksiyonların incelenmesine CV büyük ölçüde yardımcı olur. İnorganik kimyacılar elektrokimyayı benimsedikçe Şekil 16 gibi şekillere literatürdeki yayınlarda sıkça rastlanmaktadır.



Şekil 16. GC elektrotun N₂ altında voltamogramları (mavi); hava altında yalın elektrot (kırmızı); [CoCp(dppe) (CH₃CN)] (PF₆)₂(dppe=difenilfosfinoetan) N₂ altında (yeşil); [CoCp(dppe) (CH₃CN)] (PF₆)₂ hava altında (turuncu). Voltamogramlar 0.25 M [NBu₄] [PF₆] CH₃CN çözeltisi içinde, 100 mV/s tarama hızında kullanılarak alınmıştır (Mabbott, 1983).

Genellikle dönüşümlü voltamogram olarak bilinen voltamogramlar, Şekil 16'daki gibidir. Uygulanan gerilim (V), x ekseninde sisteme uygulanan bir parametre olarak gösterilir ve sonuç y ekseninde geçen akımı (I) olarak gösterilir. Bazen geçerli eksenin etiketi yerine grafiğe bir ölçek çubuğu eklenir. CV verilerini raporlamak için sıklıkla kullanılan iki görüş vardır (Şekil 17), ancak verileri elde etmek ve çizmek için kullanılan işaret görüşünü açıklayan bir ifade bulmak nadirdir.

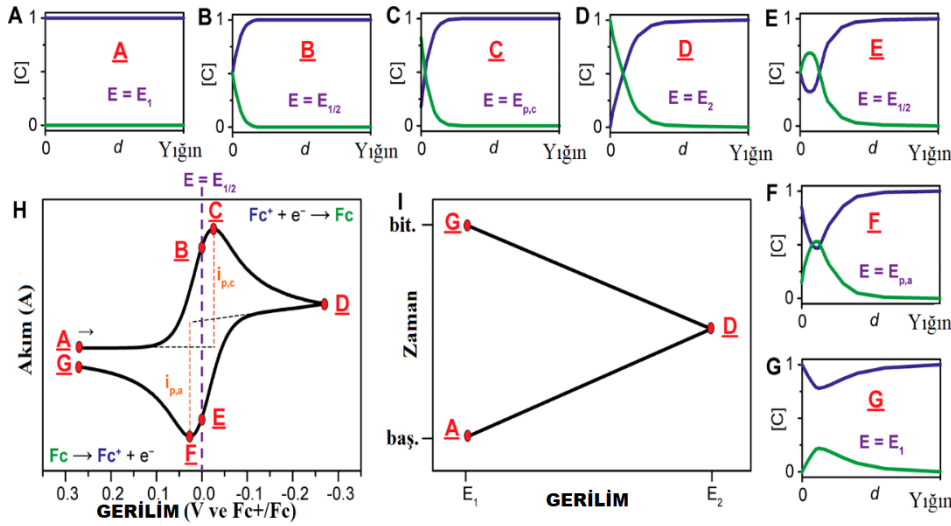


Şekil 17. CV verilerini raporlamak için sıklıkla kullanılan iki görüş.

Bununla birlikte, gerilim eksenler, Şekil 17'de açıklandığı gibi görüşler hakkında ipucu vermektedir. Her CV, verileri kaydetmek için gerilimin tarandığı yönü gösteren bir ok içerir. İlk segmentin başlangıç ve süpürme yönü okla gösterilmiş ve deneyin koşulları altyazıda belirtilmiştir. Şekil 18'nin altyazı kısmında önemli bir parametrenin "100 mV/s" olduğu belirtilmektedir. Bu değer tarama hızı (v) olarak adlandırılır. Deney sırasında

gerilimin saniyede 100 mV/s hızında doğrusal olarak değiştiğini gösterir (Elgrishi ve ark., 2018).

Şekil 18'deki H panelinde eşleşen voltamogram ile ilişkiyi görselleştirmek için gerilim eksenini x eksenini kullanarak, Şekil 18'in I paneli zaman ve uygulanan gerilim arasındaki ilişkiyi gösterir. Bu resimde gerilim, ileri tarama sırasında başlangıç gerilimi E1'den anahtarlama gerilimi E2'ye negatif olarak süpürülmektedir. Bunu tanımlamak için katodik iz terimi kullanılır. Gerilim daha sonra tarama yönü tersine çevrilerek anodik iz olarak bilinen E1'e pozitif olarak geri döndürülür (Mabbott, 1983; Kissinger ve Heineman, 1983).



Şekil 18. (A-G): Voltamogram sırasında çeşitli noktalarda elektrottan uzaklığın bir fonksiyonu olarak Fc⁺ (mavi) ve Fc (yeşil) için konsantrasyon profilleri (mM) (d, elektrot yüzeyinden yığın çözeltiliye kadar, örneğin 0.5 mm) (H): 1 mM Fc⁺ çözeltisinin 100 mV s⁻¹ tarama hızında Fc'ye tersinir indirgenmesinin voltamogramı. (I): Genel bir dönüşümlü voltametri deneyi için zamanın bir fonksiyonu olarak uygulanan gerilim, başlangıç, anahtarlama ve bitiş gerilimleri ile temsil edilir (sırasıyla A, D ve G) (Compton ve Banks, 2011).

Ferrosenyum (Fc⁺) ve ferrosen (Fc) arasındaki denge, Nernst denklemi ile tanımlanır. Nernst denklemi, dengedeki sistemde bir elektrokimyasal hücrenin gerilimi (E), bir türün standart gerilimi (E₀), yükseltgenmiş ve indirgenmiş analitlerin bağıl aktivitesi ile ilişkilidir. Nerst denklemi aşağıda verilmiştir. Denklemden F, Faraday sabitidir, R evrensel gaz sabiti, n elektron sayısı ve T sıcaklıktır.

$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{(\text{Yüks.})}{(\text{İnd.})} = E^0 + 2.3026 \frac{RT}{nF} \log_{10} \frac{(\text{Yüks.})}{(\text{İnd.})}$$

Nernst denkleminin tek elektronlu Fc^+ 'nın Fc 'ye indirgenmesiyle, aktiviteler kendi konsantrasyonları, deneysel olarak daha erişilebilir olan standart gerilimi E^0 , resmi gerilimi E^0 ile değiştirilir ve n 1'e eşit olarak ayarlanır:

$$E = E^0 + \frac{RT}{F} \ln \frac{[\text{Fc}^+]}{[\text{Fc}]} = E^0 + 2.3026 \frac{RT}{F} \log_{10} \frac{[\text{Fc}^+]}{[\text{Fc}]}$$

Deneysel olarak belirlenen $E_{1/2}$ değeri, kullanılan deneysel koşullara özgü olan resmi gerilimi tahmin etmek için sıklıkla kullanılır (Şekil 18, H panelinde F ve C noktaları arasındaki ortalama gerilim).

Nernst denklemi, bir sistemin çözeltideki türlerin konsantrasyonundaki bir değişikliğe veya elektrot gerilimindeki bir değişikliğe nasıl tepki vereceğini tahmin etmek için güçlü bir yol sağlar.

Örnek vermek gerekirse, bizim örneğimiz Nerst eşitliği ile eğer $E = E^0 \approx E_{1/2}$ 'lik bir gerilim ile Fc^+ çözeltisi $[\text{Fc}^+] = [\text{Fc}]$ olana kadar Fc 'ye indirgenir ve denge sağlanır. Alternatif olarak, CV deneyi sırasında gerilim tarandığında, elektrot yakınındaki çözeltide bulunan türlerin konsantrasyonu Nernst denklemine uygun olarak zaman içinde değişir. Bir Fc^+ çözeltisi negatif gerilim ile tarandığında, Fc^+ elektrotta lokal olarak Fc 'ye indirgenir, bu da elektrot yüzeyinde Fc^+ miktarının tükenmesine ve buna bağlı olarak bir akım ölçülmesiyle sonuçlanır. Takip eden döngüsel voltamogram ve voltamogramdaki çeşitli konumlarda Fc^+ (mavi) ve Fc (yeşil) için konsantrasyon mesafe profilleri Şekil 18'te gösterilmektedir. Daha da önemlisi, uygulanan gerilim ve türlerin elektrot yüzeyi ile yığın çözelti arasında nasıl hareket ettiği, elektrot yüzeyinden uzaklığa göre Fc^+ ile Fc konsantrasyonlarına bağlıdır.

Gerilim A noktasından D noktasına negatif (katodik) olarak tarandıkça $[\text{Fc}^+]$, Fc 'ye dönüştürüldüğünden elektrot yakınında sürekli olarak azalır (Şekil 18). Katodik pik akımının ($i_{p,c}$) gözlemlendiği C noktasında, akım, yığın çözeltiden Fc^+ 'nin difüzyon yoluyla aktarımıyla belirlenir. Tarama boyunca, elektrot yüzeyinde indirgenmiş Fc içeren bir çözelti hacmi olan difüzyon katmanı genişlemeye devam eder. Sonuç olarak, Fc^+ 'nin

elektroda toplu geçişi yavaşlar. Böylece, daha negatif gerilimlere tarandığında Fc^+ 'nin yığın çözültiden elektrot yüzeyine difüzyon hızı yavaşlar, bu da tarama devam ettikçe akımda bir azalmaya neden olur. ($C \rightarrow D$). Anahtarlama gerilimine (D) ulaşıldığında tarama yönü tersine çevrilir ve gerilim pozitif (anodik) yönde taranır. Elektrot yüzeyindeki Fc^+ konsantrasyonu azalırken, Nernst denklemi sağlanarak elektrot yüzeyindeki Fc konsantrasyonu arttı. Elektrot yüzeyinde bulunan Fc , uygulanan gerilim daha pozitif hale geldikçe Fc^+ 'ye yükseltgenir. B ve E noktalarında elektrot yüzeyindeki Fc^+ ve Fc konsantrasyonları Nernst denklemine göre eşittir, $E = E_{1/2}$. Bu, gözlemlenen iki tepe (C ve F) arasındaki yarı gerilime karşılık gelir ve yukarıda belirtildiği gibi, tersinir bir elektron transferi için E^0 'u tahmin etmek için basit bir yol sağlar. Analitin elektroda doğru difüzyonu ve elektrottan çözültiye difüzyonu iki piki birbirinden ayırır.

Anodik ve katodik pik gerilimleri arasındaki farkı ölçen pik-pik ayrımı (E_p) 25 °C'de ($2,22 RT/F$) 57 mV'dir ve indirgeme işleminin kimyasal ve elektrokimyasal olarak tersinir olduğu varsayıldığında pik noktasının ileri taramasındaki yarı maksimum genişlik 59 mV'dir. Kimyasal tersinirlik, analitin indirgeme sonrasında kararlı olup olmadığı ve daha sonra yeniden yükseltgenebilirliğini belirtmek için kullanılır. İndirgeme üzerine homojen kimyasal işlemlerde reaksiyona giren analitler (ligand kaybı veya bozunma gibi) kimyasal olarak geri dönüşümlü değildir. Elektrokimyasal tersinirlik, elektrot ve analit arasındaki elektron transfer kinetiğini ifade eder. Elektron transferine karşı düşük bir engel olduğunda (elektrokimyasal tersinirlik), uygulanan gerilimdeki herhangi bir değişiklik üzerine Nernstian dengesi hemen kurulur. Elektron transfer reaksiyonları yavaşken ve indirgenme (yükseltgenme) reaksiyonlarını gözlemlemek için daha negatif (pozitif) gerilimlere ihtiyaç duyulurken, elektron transferi için yüksek bir bariyer (elektrokimyasal tersinmezlik) olduğunda daha büyük ΔE_p sonuçları ortaya çıkar. "Nernstian" terimi, Nernst denklemine uyan hızlı elektron transferleri ile elektrokimyasal olarak tersinir süreçleri tanımlamak için sıklıkla kullanılır.

Deneyin tarama hızı, uygulanan gerilimin ne kadar hızlı tarandığını kontrol eder. Daha yüksek tarama hızları, difüzyon tabakasının boyutunu daha da düşürür; sonuç olarak, daha yüksek akımlar gözlemlenir (Bard ve Faulkner, 2001; Savéant, 2006). Randles-Sevcik denklemi, serbestçe yayılan redoks türlerini içeren elektrokimyasal olarak tersinir elektron transfer süreçleri için geçerlidir. Bu eşitlik, tepe akımı i_p 'nin (A)

tarama hızının v ($V s^{-1}$) karekökü ile doğrusal olarak nasıl arttığını açıklar; aşağıda verilen Randles-Sevcik denkleminde n , redoks olayında aktarılan elektronların sayısıdır, A (cm^2) elektrot yüzeyidir alan (genellikle geometrik yüzey alanı olarak ele alınır), D_0 ($cm^2 s^{-1}$) yükseltgenmiş analitin difüzyon katsayısıdır ve C^0 ($mol cm^{-3}$) analitin yığın konsantrasyonudur.

$$i_p = 0.44nFAC^0 \left(\frac{nFvD_0}{RT} \right)^{1/2}$$

Randles-Sevcik denklemi, bir analitin çözelti içinde serbestçe difüzyon yapıp yapmadığına dair göstergeler verebilir. Analitler bazen elektrot yüzeyine adsorbe olabildiğinden, reaktivitesini analiz etmeden önce bir analitin çözelti içinde homojen kalıp kalmadığını değerlendirmek esastır. Analitin serbestçe yayıldığını doğrulamanın yanı sıra, difüzyon katsayılarını hesaplamak için Randles-Sevcik denklemi kullanılabilir.

2.5.2. Voltametrik analizlerde yüzey aktif maddelerin uygulanması

Yüzey aktif maddeler, genellikle elektriksel çift katmanın özelliklerindeki değişikliklerle ilgili olarak kendilerini polarogramlarda gösterebilirler. Polarografi ve voltametri gelişiminin doğuşunda bile, polarografik maksimumun bastırılması için nötr organik yüzey aktif maddeler kullanılmıştır. Altı ila sekiz karbon atomuna sahip alifatik alkollerin, cıva elektrotlarındaki voltamogramlarda kapasitif pikler olarak ortaya çıkmaları nedeniyle, diferansiyel kapasitans depresyonu olarak adlandırılan belirleme yöntemlerinin geliştirilmesi için kullanılmalarını olanaklı kılmıştır (Budnikov, 1975).

Yüzey aktif madde adsorpsiyonunun etkileri sadece polarografik maksimumların bastırılmasında değil, aynı zamanda voltamogramlardaki çok elektronlu dalganın birden fazla adıma bölünmesine ve voltamogramlardaki dalga veya pik gerilimlerinin daha yüksek değerlere kaymasına neden olan sürecin elektrokimyasal adımlarının engellenmesinde de görülmüştür. Bu adsorpsiyon etkilerinin analitik uygulamaları, sınırlı bir fayda sağlar. Özellikle, sulu test numunelerinde kalan yüzey aktif maddeleri belirlemede kullanılır. Halihazırda mevcut olan yüzey aktif maddeler ve özellikleri, bu bileşik grubunun voltametredeki analitik sinyalleri kontrol etmek ve belirli bir analit için amperometrik yanıtın hassasiyetini ve seçiciliğini artırmak için kullanılmasını mümkün kılar.

Sulu çözeltilerde çeşitli biçimlerde amfifilik organik moleküllerin meydana gelebileceği bilinmektedir; bu gerçek, çok uzun zaman önce kimyacıların dikkatini çekti. Bu formlar, negatif ($-\text{SO}_3^-$, $-\text{SO}_4^-$, $-\text{COO}^-$) veya pozitif yüklü gruplar ($-\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$) veya polar oksietilen zincir $(-\text{OC}_2\text{H}_4)_n$ içeren yüzey aktif maddeler ve 8 ila 18 karbon atomuna sahip uzun bir polar olmayan hidrokarbon radikal ile ilişkilidir. Suda yüzey aktif moleküller öncelikle yüzeyi doldurarak monomoleküler bir katman oluşturur ve yüzey aktif moleküllerin agregatları (miseller), kritik bir miselle konsantrasyonuna (CMC) ulaştıktan sonra kendiliğinden oluşur. Bu nedenle, yüzey aktif maddeler kendi kendini düzenleme sistemi olarak sınıflandırılabilir. (Rebinder, 1961; Friberg ve Lindman, 1992).

Tüm yüzey aktif maddeler üç sınıfa ayrılır: anyonik, katyonik ve noniyonik yüzey aktif maddeler.

Anyonik yüzey aktif maddeler, Sodyum dodesil sülfat (SDS) ve Sodyum dodesil benzenülfonat.

Katyonik yüzey aktif maddeler, N-dodesilpiridinyum bromit, Setilpiridinyum bromit (CPB) ve Setiltrimetilamonyum bromit (CTAB).

Non-iyonik yüzey aktif maddeler, Brij 35, Triton X100 ve Tweet 20.

Yüzey aktif maddelerin fizikokimyasal özellikleri ve süreçleri daha önce ayrıntılı olarak dikkate alınmıştır (Shtykov, 2002; Shtykov ve ark., 2005).

Yüzey aktif maddeler spektroskopik teknikler (Abbasi ve ark., 2009), titrimetri, kromatografinin çeşitli versiyonları (Hadjmohammadi ve ark., 2004), ekstraksiyon, kılcallık ve jel-elektroforezi gibi organik ve inorganik maddelerin ayrılması ve belirlenmesi için diğer yöntemlerde aktif olarak kullanılmaktadır. Bazı sorunlar Shtykov tarafından ayrıntılı olarak gösterilmiştir (Shtykov, 2000). Son yıllarda, elektroanalitik tekniklerde yüzey aktif maddeler kullanılmıştır (Adamson, 1990; Franklin ve Mathew, 1989).

Biyolojik olarak aktif bileşiklere voltametrik ortamda yüzey aktif madde uygulanmaktadır. Sulu misel solüsyonları ve mikroemülsiyonlar, özellikle yüzey aktif madde bazlı kendi kendini düzenleyen sistemler, çeşitli bileşiklerin elektroanalizinde

organik solventler yerine aktif olarak kullanılmıştır (Mackay ve Texter, 1992; Weinberg ve Tilak, 1982).

Elektrokimyasal reaksiyonlarda misel solüsyonlarının kullanılması ile iki etkinin ortaya çıktığı iyi bilinmektedir (Love ve ark., 1984). Birinci etki, yüzey aktif maddeler bir elektrot reaksiyonunun mekanizmasını etkilemek için radikal iyonları ve ara ürünleri dengeleyebilir. İkinci olarak, yüzey aktif moleküllerin varlığı, ilgili proseslerin dalga veya pik gerilimlerinin değişimleriyle kanıtlandığı gibi elektriksel çift tabakanın (Rusling, 1997) yapısını ve yük transfer hız sabitini değiştirir. Bazı durumlarda bu değişiklikler analitik özellikleri geliştirir, özellikle elektrokimyasal reaksiyonun tersinirliğini ve hassasiyetini artırır (Vittal ve Gomathi, 2012).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deneyde Kullanılan Kimyasallar

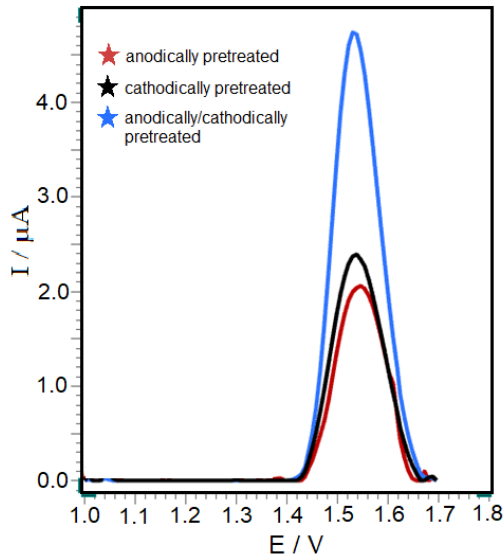
IBR, Selleck Chemicals firmasından temin edilmiştir (IBR, Katalog No, S2680; Ürün adı, PCI-32765). IBR stok çözeltisi (1.0 mg ml^{-1} , $2.3 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) metanolde (safılık > %99.9) hazırlandı ve sonra destek elektrolitinde seyreltildi. Kullanılmadığı zaman daha sonra kullanılmak üzere $2-6 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de buzdolabında saklandı. Tez kapsamında kullanılan kimyasalların fosforik asit (85 %), asetik asit (100 %), borik asit, HNO_3 (>90.0 %), H_2SO_4 (95–97 %), sodyum hidrosit, askorbik asit, dopamin ve ürik asit analitik saflığı yüksek olup Sigma-Aldrich ve Merck markalı ürünlerin satış yetkilisi firmalardan sağlandı. Tüm çözeltiler, $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$ 'den az olmayan bir dirençle Milli-Q Plus sistemi (Millipore) tarafından sağlanan deiyonize su ile hazırlanmıştır. IBR'in elektrokimyasal davranışı 0.1 mol L^{-1} Britton-Robinson (BR) tamponunda farklı pH (2-8) değerlerinde, 0.1 mol L^{-1} asetat tamponunda (pH 4.8), 0.1 mol L^{-1} fosfat tamponunda (pH 2.5) ve çeşitli inorganik asitlerde ($0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$) incelendi. Elektrokimyasal deney çalışmaları bir Autolab (Hollanda; Metrohm Autolab B.V.) cihazında gerçekleştirilmiştir. PGSTAT 101, NOVA 2.1 elektrokimyasal yazılım tarafından kontrol edilmektedir. Ölçümler üç elektrotlu voltametrik hücrede (10 mL hacminde), ticari olarak temin edilebilen bir BDD (bor katkısı seviyesi 1000 ppm , disk çapı 3 mm , Windsor Scientific Ltd., Birleşik Krallık) çalışma elektrodu olarak, yardımcı elektrot olarak platin tel (BAS, MW-1032, ABD) ve referans elektrot olarak bir Ag/AgCl ($3.0 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaCl}$, BAS, MF-2012, ABD) kullanılmıştır.

IBR'nin (Imbruvica, şirket adı, 140.0 mg IBR içeren her biri basılı sert jelatin kapsülde yazılı, Johnson and Johnson Ltd, Türkiye) ticari kapsül örnekleri yerel bir hastaneden temin edilmiştir. Beş kapsül doğru bir şekilde açıldı ve daha sonra dikkatlice boşaltılıp tartıldı. Toplanan içerikten 50 mg IBR'ye eşdeğer olan yeterli bir miktar dikkatlice tartılmış ve ardından 100 mL 'lik hacimsel bir voltametrik kaba aktarılmış ve hacim metanol ile tamamlanmıştır. Daha sonra 30 dakika boyunca sonikasyona tabi tutulmuştur. Optimize edilmiş koşullar altında uygun destek çözeltisi ile seyreltme yapılarak SWV tekniği ile analiz edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. İbrutinib Bileşiminin BDD Elektrot Yüzeyinde Elektrokimyasal Davranışı

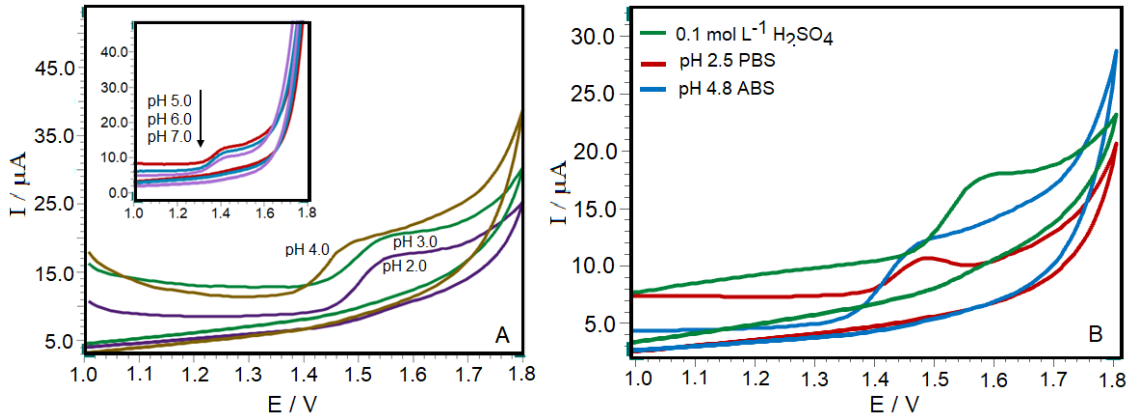
IBR'nin voltametrik ölçümünden önce, ölçümlerin tekrarlanabilirliğini ve kesinliğini değerlendirmek için BDD elektroduna üç ön işlem prosedürü uygulandı. İlk olarak, elektrot anodik olarak ön işleme tabi tutuldu (+2.0 V; 120 s). İkincisi, katodik olarak ön işleme tabi tutuldu (-2.0 V; 120 s). Son olarak, anodik olarak ön-ışlemden sonra katodik ön-ışlem uygulanarak uygun prosedür değerlendirildi. Şekil 19'de görüldüğü gibi, BDD elektrodu katodik ve anodik olarak ön işleme tabi tutulduğunda IBR'nin yükseltgenme pik akımında önemli bir değişiklik yoktur. Ayrıca, anodik ön işlem aynı zamanda ölçümün düşük tekrarlanabilirliği ile sonuçlanmıştır. Ancak, üçüncü prosedürde daha iyi tekrarlanabilir sonuçlar elde edildi. Bu nedenle, deneysel çalışmaya başlamadan önce, voltametrik ölçümler için günlük olarak anodik ön işlem ve ardından katodik ön işlem uygulanmıştır. Voltametrik yanıtların stabilitesini sağlamak için her deneyden önce elektrota basit bir cilalama da uygulandı. Bu nedenle, son ön işlem aşağıdaki voltametrik deneylerde kullanılmak üzere seçilmiştir.



Şekil 19. $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ IBR'nin $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ içinde üç farklı elektrokimyasal ön işleme tabi tutulmuş BDD elektrodu ile kaydedilen SW voltamogramları.

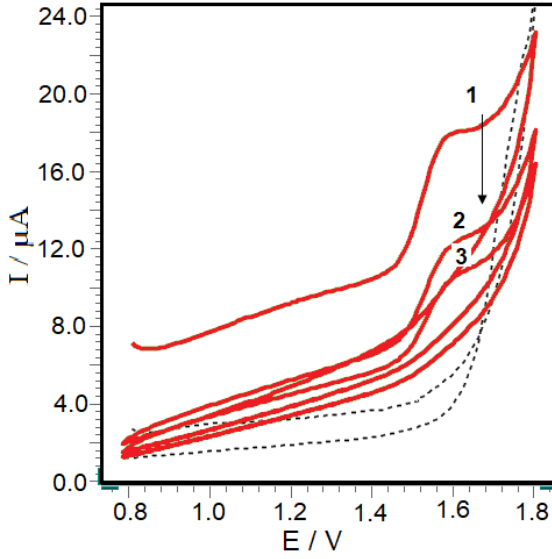
4.1.1. Dönüşümlü voltametri çalışmaları

İlk olarak, destek elektroliti ve pH etkisi $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$, pH 2.0 ile 7.0 arasında BR tamponu; pH 2.5 fosfat tamponu ve pH 4.8 asetat tamponu çözeltileri kullanılarak, IBR'nin BDD elektrot üzerinde CV tekniği ile elde edilen pik gerilimi ve akımı etkisi incelenmiştir. Şekil 20A'da IBR'nin elektrokimyasal yükseltgenme pik akımı ve gerilimi BR tamponu pH 2-4 aralığında daha belirgin iken pH 5-7 aralığında ise oldukça düşük pik akımı elde edilmiştir. Şekil 20B'de ise, farklı pH ve elektrolit çözeltileri incelendiğinde özellikle kuvvetli asidik ortamda yani $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ çözeltisinde daha belirgin ve pik şiddeti bakımında diğer elektrolit çözeltilerine göre daha iyi performans göstermiştir. Elde edilen yükseltgenme pik gerilim ve akım değeri yaklaşık $+1.54 \text{ V}$; $3.2 \mu\text{A}$ olarak elde edilmiştir.



Şekil 20. A) $30 \mu\text{g mL}^{-1}$ IBR'nin BR tamponu pH 2-7 aralığında BDD elektrodu ile alınana dönüşümlü voltamogramları ve B) $30 \mu\text{g mL}^{-1}$ IBR'nin farklı elektrolit çözeltilerinde ($0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$, 0.1 mol L^{-1} fosfat tamponu, pH 2.5; 0.1 mol L^{-1} asetat tamponu, pH 4.8) BDD elektrodu ile alınan dönüşümlü voltamogramları. Gerilim tarama hızı: 100 mV s^{-1} .

Şekil 21'deki üç taramalı dönüşümlü voltamogramda görüldüğü gibi, $30.0 \mu\text{g mL}^{-1}$ IBR molekülü $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ çözeltisi içinde $0.8 - 1.8 \text{ V}$ gerilim aralığında, BDD elektrotunun yüzeyinde oldukça yüksek pozitif gerilim değerlerinde yaklaşık olarak $+1.54 \text{ V}$ 'da tek basamakta yayvan bir pik olarak yükseltgenmektedir.



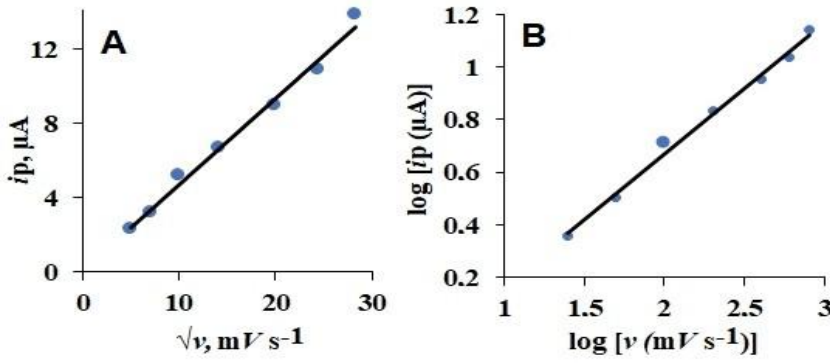
Şekil 21. $30 \mu\text{g mL}^{-1}$ IBR'nin $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ içinde BDD elektrot ile alınan üç taramalı dönüşümlü voltamogramı. Gerilim tarama hızı 100 mV s^{-1} , kesikli çizgi destek elektroliti gösterir.

CV tekniği ile elektrot reaksiyon mekanizması hakkında bilgi edinmek ve akım türünün belirlenmesi yaygın olarak kullanılmaktadır. Şekil 22'de görüldüğü gibi farklı tarama hızlarında ($25 \rightarrow 800 \text{ mV s}^{-1}$; n: 7) $30 \mu\text{g mL}^{-1}$ ($1.7 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) IBR'nin $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ içindeki elektrokimyasal yükseltgenmesi üzerine voltamogramlar kaydedilmiş ve akım değişimi incelenmiştir. Tarama hızı arttıkça, yükseltgenme pik gerilimlerinde daha pozitif gerilim değerlerine doğru hafif bir kayma gözlenmiştir. Bu gerilim kayması elektrot yüzeyinde kütle transferinin difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir. Bu sonuç, aşağıdaki denklemle de açıklanan IBR'nin yükseltgenme piki için $\log i_p$ ve $\log v$ arasında doğrusal bir ilişki olduğunu doğrulamaktadır. Bu denklemlerin olduğu ilgili grafikler Şekil 22'te gösterilmiştir. İlgili denklemler ise aşağıda verilmiştir.

$$i_p (\mu\text{A}) = 0.467 v^{1/2} (\text{mV s}^{-1}) + 0.0162, (r = 0.995)$$

$$\log i_p (\mu\text{A}) = 0.502 \log v (\text{mV s}^{-1}) - 0.3345, (r = 0.996)$$

Pik akımının logaritması ile gerilim tarama hızının logaritması arasındaki denklemin eğimi, teorik olarak bilinen değere ($0.5 \cdot e$) çok yakındır (Bard ve Faulkner, 2001). Yukarıdaki denklemler ışığında, IBR'nin elektrokimyasal yükseltgenmesi difüzyon yoluyla kontrol edilmekte olduğunu göstermektedir.



Şekil 22. 30 µg mL⁻¹ (1.7×10^{-4} mol L⁻¹) IBR'nin 0.1 mol L⁻¹ H₂SO₄ içinde 25-800 mV s⁻¹ tarama hızı aralığında elde edilen (A) $i_p - v^{1/2}$ ve (B) $\log i_p - \log v$ doğrusallık grafikleri.

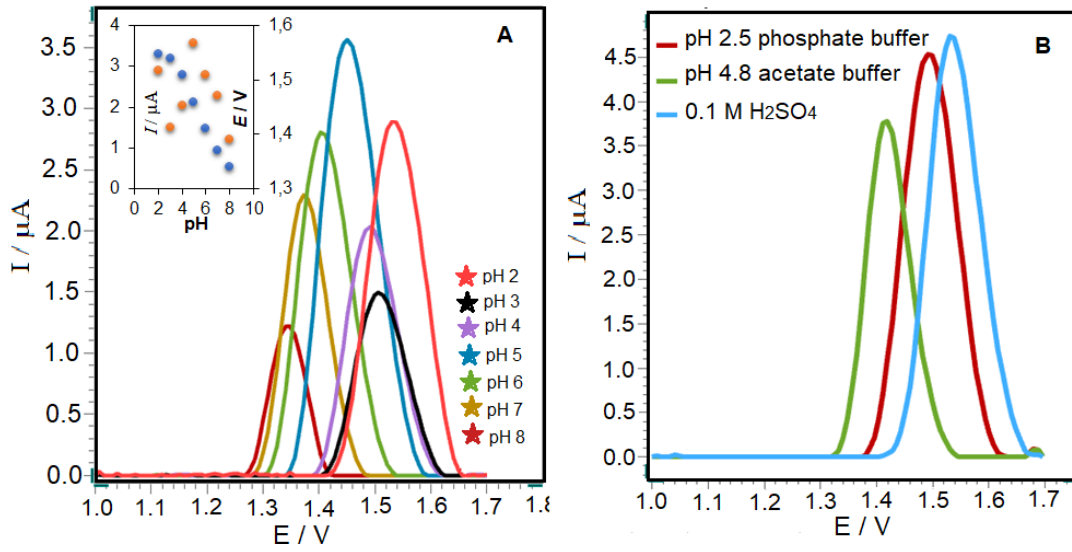
Elde edilen CV verilerine göre, elektrokimyasal tersinmez bir reaksiyonda elektron transferi sayısı aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanabilir (Bard ve Faulkner, 2001).

$$E_p - \frac{E_p}{2} = \frac{47.7}{\alpha n}$$

Burada E_p ve $E_{p/2}$ sırasıyla yükseltgenme pik gerilimi (mV) ve yarı pik gerilimi (mV); α ve n sırasıyla transfer katsayısı (tersinmez sistemler için 0.5) ve elektron sayısıdır (Bard ve Faulkner, 2001). Dönüşümlü voltamogramın 100 mV s⁻¹'deki ilk taramasında elektron transfer sayısı (n) hesaplanmıştır. Dolayısıyla IBR'nin elektrokimyasal yükseltgenme tepkimesinde yer alan elektron sayısı 2.27 (~2) olarak bulunmuştur.

4.1.2. Kare dalga voltametri çalışmaları

Geniş bir pH aralığına sahip destek elektrolit çözeltileri içerisinde IBR'nin elektrokimyasal tepkisi incelenmiştir. Şekil 23A'da 10 µg mL⁻¹ IBR'nin BR tamponu pH 2.0 - 8.0 aralığında 1.0 - 1.8 V gerilim aralığında SW voltamogramları gösterilmiştir. Bu verilerde, pH 8.0'in üzerindeki hiçbir pH değerinde yükseltgenme piki elde edilmemiştir. Şekil 23A'daki veriler ışında, IBR'nin yükseltgenme pik akımı ve gerilimi artan pH ile değişmesi, IBR'nin elektrokimyasal yükseltgenmesinin pH'ye bağımlı olduğunu göstermektedir. Şekil 23B'de 10 µg mL⁻¹ IBR'nin elektrokimyasal davranışı farklı destek elektrolitleri (0.1 mol L⁻¹ H₂SO₄, pH 2.5 fosfat tamponu, pH 4.8 asetat tamponu) içinde verilmiştir. En yüksek anodik pik akımı 0.1 mol L⁻¹ H₂SO₄ çözeltisinde elde edilmiş, ileri elektroanalitik çalışmalara bu ortam ile devam edilmiştir.



Şekil 23. 10 µg mL⁻¹ IBR'nin A) BR tamponu pH 2.0-8.0 ve B) farklı destek elektrolitleri (0.1 mol L⁻¹ H₂SO₄, pH 2.5 fosfat tamponu, pH 4.8 asetat tamponu) içinde alınana SW voltamogramları. SW değişkenleri: frekans, 50 Hz; adım gerilimi, 8 mV; amplitüd, 30 mV.

Artan pH değerlerine bağlı olarak IBR'nin yükseltgeme pikinin daha düşük gerilim değerlerine kayma durumu, IBR'nin yükseltgenmesinin pH bağımlı olduğunu açıkça göstermektedir. Aşağıdaki denklemde pH 3-8 aralığında tek eğimli bir bölge olduğunu ve pH 2-3 ve pH 3-8 doğrularının çakıştığı noktanın IBR molekülünün pKa değerine yaklaşık denk geldiği gözlenmiştir.

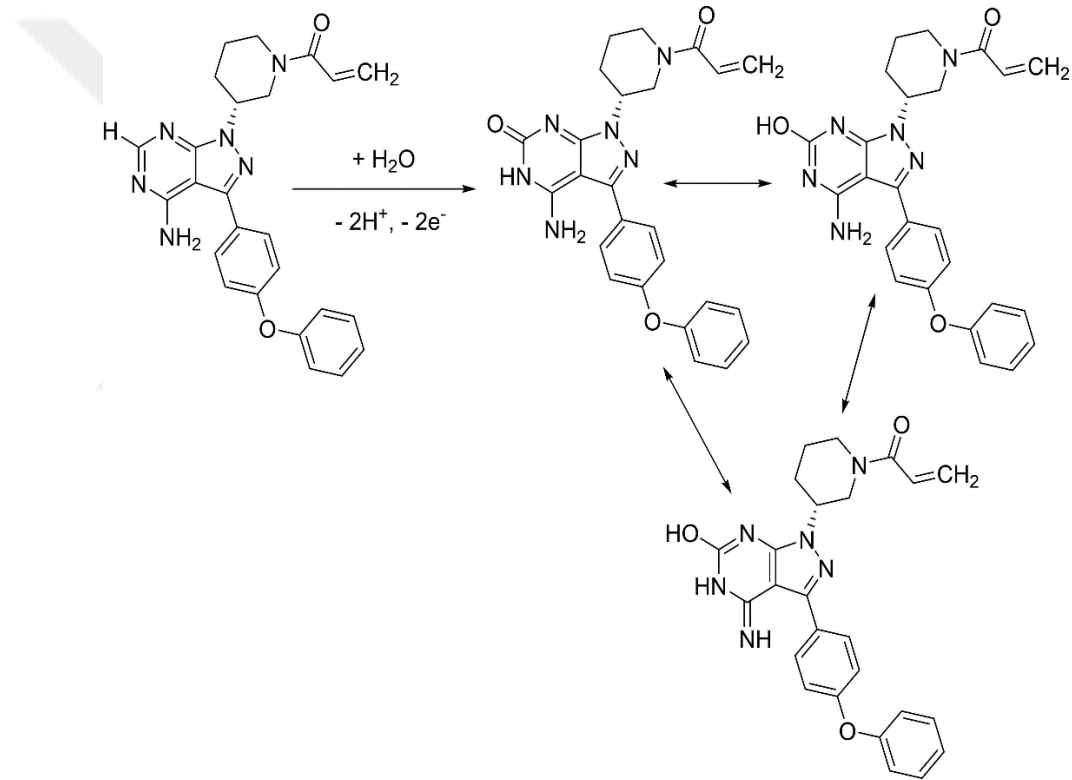
$$E_p(V) = -0.0419pH + 1.6689 \quad (r = 0.9964; \text{pH } 3 - 8)$$

IBR'nin pH 3.0-8.0 aralığındaki yükseltgenme piki için elde edilen doğrusallık denkleminde 41.9 mV/pH'lik negatif bir eğim elde edilmiştir. Bu eğim değerinin teorik değer olan 59 mV/pH'ye yakın olduğu göz önüne alındığında (Bard ve Faulkner, 2001), IBR'nin sulu bir çözeltideki yükseltgenme reaksiyon mekanizması için eşit sayıda proton ve elektrona sahip olduğunu göstermiştir.

Ayrıca, elde edilen çizgilerin kesişimi kabaca bileşiğin pKa değeriyle ilişkilidir. Bir ilacın ayrışma sabiti, pKa'sı, potansiyel iyonlaşma durumlarını belirlemek için kullanılabilir. Bu özellik ilaç geliştirmede dikkate değer öneme sahiptir. Farmasötiklerin çoğu organik zayıf asitler ve/veya bazlar olduğundan, pKa değeri geniş bir pH aralığında molekülün iyonik formu hakkında bilgi sağlar. IBR molekülünün pKa değeri 3,74 olarak bildirilmiştir (Shi ve ark., 2021). 0.1 mol L⁻¹ H₂SO₄ içinde, IBR'nin protonlanmış

(katyonik) formunun baskın olduğu, alkali ve zayıf asidik çözeltilerde yüksüz forma dönüştüğü tahmin edilmektedir.

IBR'nin CV ve SWV incelemeleri kuvvetli asidik bir ortamda gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemlerle üretilen grafiklerin eğimleri, BDD elektrot için elektrokimyasal yükseltgenme sürecinin iki elektronlu, iki protonlu bir mekanizmada gerçekleştiğini göstermiştir. IBR'nin elektrokimyasal yükseltgenme reaksiyonu IBR'nin yapısındaki elektroaktif halkaya (pirazol-pirimidin halkası) bağlı model yapılarıyla ilişkisi araştırılmıştır. Tüm bu sonuçlarla birlikte, olası yükseltgenme ve IBR'nin tautomerizasyon mekanizması Şekil 24 'te gösterilmiştir.



Şekil 24. IBR'nin elektro yükseltgenme ve tautomerizasyon için önerilen reaksiyon mekanizması.

Kare dalga değişkenlerinin etkisi

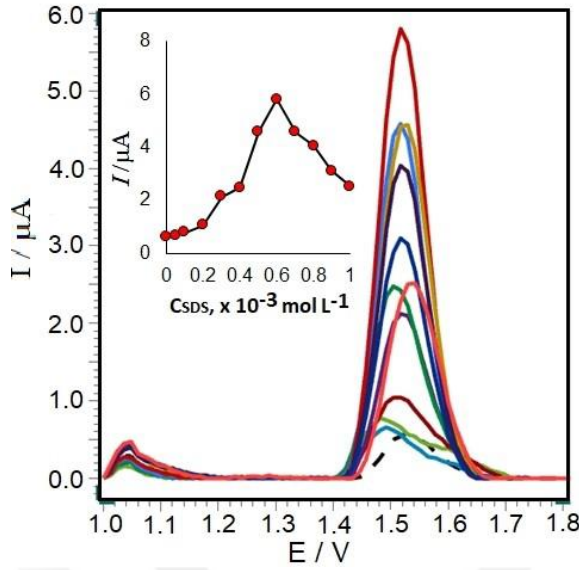
Bir sonraki çalışmada, kare dalga puls parametreleri (step gerilimi, $\Delta E_s=4-20$ mV; frekans, 15-150 Hz; amplitüd $\Delta E_{sw}=10-70$ mV) deneysel düzeneğin en uygun değerini bulmak için optimize edilmiştir. Çalışma prensibi olarak bir parametre değiştirilirken

diğer iki parametre sabit tutularak değişkenler incelenmiştir. Yükseltgenme pikinin en yüksek hassasiyetle belirlenmesi için gereken parametre değerleri ΔE_s , 12 mV; f , 125 Hz; ΔE_{sw} , 30 mV olarak belirlenmiştir. Bundan sonraki SWV tekniği ile yapılan analizlerde bu parametreler kullanılmıştır.

4.1.3. Sürfaktan etkisi

Son olarak anyonik sürfaktan (SDS, Sodyum dodesil sülfat), katyonik sürfaktan (CTAB, Setiltrimetilamonyum bromür) ve non-iyonik sürfaktan olan Tween 20'in etkisi IBR'in yükseltgenme piki üzerindeki etkisi değerlendirildi. Elektrot yüzeyi - sürfaktan-analit arasındaki elektrostatik etkileşim voltametrik yöntemin hassasiyetini artırdığı bilinmektedir. IBR'nin güçlü asidik bir ortamda katyonik formda olması anyonik sürfaktan (SDS) ile elektrostatik bir etkileşime sahip olduğunu göstermektedir. IBR'nin aynı ortamda katyonik ve non-iyonik sürfaktanlarla etkileşime girmediği; aksine bu sürfaktanların IBR'nin pik akım değerini önemli ölçüde düşürdüğü ve morfolojisini bozduğu deneysel veriler ile görülmüştür.

1.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ IBR'nin 0.1 mol L^{-1} H_2SO_4 içinde 5×10^{-5} ve 1×10^{-3} mol L^{-1} aralığında farklı konsantrasyonlarda SDS eklenmesi ile sürfaktan etkisi incelenmiştir. Şekil 25 'te SDS varlığında ve yokluğunda IBR'nin voltametrik davranışı karşılaştırılmaktadır. Ortama SDS eklendiğinde yükseltgenme pik gerilimi daha negatif gerilim değerlerine doğru hafif bir kayma göstermiştir. 6×10^{-4} mol L^{-1} SDS eklendiğinde maksimum pik akım değeri elde edilmiştir. Bu nedenle 6×10^{-4} mol L^{-1} SDS derişimi, analitik çalışmalar için seçilmiştir.



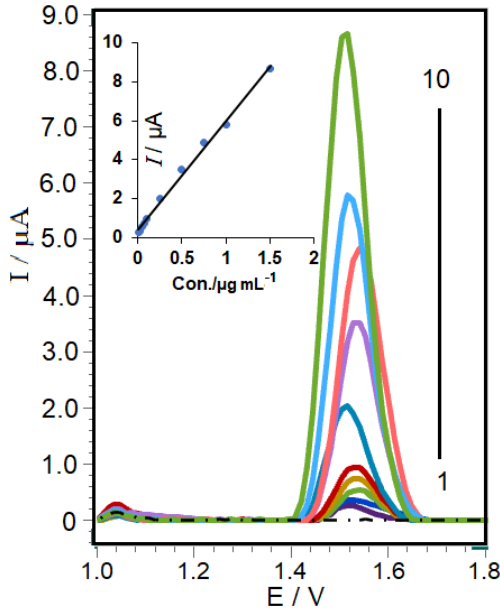
Şekil 25. $1.0 \mu\text{g mL}^{-1}$ IBR'nin $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ içinde 5×10^{-5} ve $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ aralığında farklı derişimlerde SDS eklenmesi ile elde edilen kare dalga voltamogramları. Kesikli çizgi: SDS içermeyen voltamogram. İç kısım: i_p ve C_{SDS} eğrisi. SWV değişkenleri: ΔE_s , 12 mV; f , 125 Hz; ΔE_{sw} , 30 mV.

4.2. İbrutinib'in SDS ortamında BDD Elektrot Üzerinde Tayini

Bu tez çalışması için seçilen akıllı hedefe yönelik bir antikanser ilacı olan IBR'nin SDS içeren çözeltiler içerisinde ve BDD elektrotu üzerinde redoks özelliklerinin ayrıntılı olarak incelenmesinden sonra; tezin bu bölümünde geliştirilen yöntemin gerçek örneklere analitik olarak uygulanabilirliği araştırılmıştır.

4.2.1. Geliştirilen yöntemin analitik performans özellikleri

Kare dalga voltametri tekniği, voltametrik teknikler arasında en hassas olanıdır. Uygulanan tekniğin optimizasyon deneylerinden sonra, hassasiyet, doğruluk, duyarlılık ve seçicilik parametreleri IBR'nin validasyonu için değerlendirilmiştir. Elde edilen en iyi koşullarda (yukarıda verilmiştir), $0.01\text{--}1.50 \mu\text{g mL}^{-1}$ ($2.27 \times 10^{-8} - 3.40 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) derişim aralığında yer alan IBR çözeltilerinin SW voltamogramları Şekil 26'te sunulmuştur. İlgili kalibrasyon eğrisi ise Şekil 26 içinde gösterilmiştir.



Şekil 26. IBR'nin $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ içinde $6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ SDS varlığında (1–10) 0.010 , 0.025 , 0.050 , 0.075 , 0.100 , 0.250 , 0.500 , 0.750 , 1.000 , $1.500 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ derişimlerinde elde edilen SW voltamogramları. İç kısım: IBR'nin nicel ölçümü için ilgili kalibrasyon grafiğı gösterilmektedir. SWV parametreleri: ΔE_s , 12 mV ; f , 125 Hz ; ΔE_{sw} , 30 mV .

Çalışma aralığına ilişkin analitik değışkenler Tablo 3'de özetlenmiştir.

Tablo 3. IBR'nin $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ içinde $6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ SDS varlığında BDD elektrodunda SWV tekniğı kullanılarak elde edilen analitik parametreler.

Analitik parametreler	IBR
Yükseltgenme gerilimi	+1.54 V
Çalışma aralığı (n=10)	$0.01\text{--}2.00 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ ($5.7 \times 10^{-8}\text{--} 2.3 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$)
Doğrusallık denklemi	$i_p (\mu\text{A}) = 5.612 C (\mu\text{g mL}^{-1}) + 0.382$
Korelasyon katsayısı	0.997
LOQ	$0.0102 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ ($2.27 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$)
LOD	$0.00304 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ ($6.90 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$)
Gün içi tekrarlanabilirlik (RSD%, n=5)	2.15 (pik akımı)
Günler arası tekrarlanabilirlik (RSD%, n=5)	3.76 (pik akımı)

LOD (Gözlenebilme sınırı); IBR'nin tespitinin yapıldığı fakat kantitatif sınırlar içerisine girmeyen en düşük IBR derişimidir. LOQ (Tayin alt sınırı); IBR'nin kabul edilebilir düzeyde kesin ve doğru olarak miktarının tayin edilebileceği doğrusallık sınırları içerisine girmeyen veya doğrusallığın en alt derişimini oluşturan düzeyi olup aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır (Uhrovčík, 2014).

$$LOD = \frac{3s}{m}$$

$$LOQ = \frac{10s}{m}$$

LOD ve LOQ ilgili kalibrasyon eğrisindeki en düşük konsantrasyonda beş ölçümünün standart sapmasına bağlı olarak hesaplanmıştır. Bu denklemlerde 's' standart sapma ve 'm' kalibrasyon eğrisinin eğimidir.

IBR'nin BDD elektrot ile elektrokimyasal tayini için gerçekleştirdiğimiz bu tez çalışması çok yakın tarihte yayınlanan diğer voltametrik çalışmalar ile analitik performans açısından karşılaştırılması Tablo 4'de gösterilmiştir.

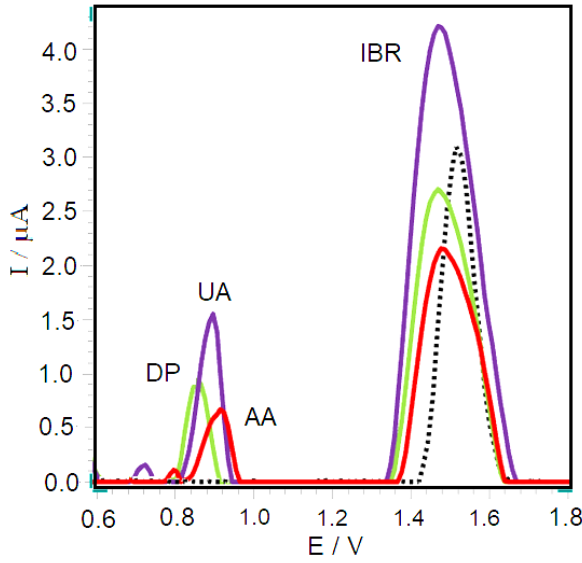
Tablo 4. IBR için BDD elektrodu ve önceki analitik performanslarının karşılaştırılması.

Elektrot	LOD mol L ⁻¹	Kaynak
GCE	2.70×10 ⁻¹⁰	(Gürbüz ve ark., 2022)
GCE- GO-NH-B(OH) ₂ @AgNPs	1.36×10 ⁻⁸	(Amudi ve ark., 2023)
BDDE	6.90×10 ⁻⁹	Bu çalışma

4.2.2. Voltametrik yöntemin seçicilik çalışmaları

Gerçek örnekleri analiz etmeden önce, geliştirilen SWV tekniğinin seçiciliği, bazı inorganik iyonlar (Na⁺, K⁺, Mg⁺², Ca⁺², Mn⁺², Cu⁺², Fe⁺³, Al⁺³, Ti⁺⁴, NO₃⁻, SO₄⁻², Cl⁻), bazı şeker bileşikleri (laktoz, fruktoz, glikoz), farmasötik formülasyonlarda ki bazı bileşikler (mısır nişastası, magnezyum stearat ve mikrokristal selüloz) ve biyolojik sıvılarda bulunan dopamine (DP), askorbik asit (AA) ve ürik asit (UA) bileşiklerinin varlığında değerlendirildi. Bazı inorganik iyonların özelliklede glikoz, fruktoz, sukroz ve laktoz gibi küçük biyomoleküllerin yanı sıra ürik asit, askorbik asit ve dopamin gibi

önemli biyokimyasalların (tipik idrara karışan bileşikler) çalışmamız üzerinde kayda değer bir etkisi olmadığı Şekil 27’de gösterilmiştir. Kuvvetli asidik ortamda (sürfaktan varlığında) ve BDD elektrodunda IBR’nin oldukça pozitif gerilimde elektrokimyasal olarak yükseltgendiği daha öncede belirtilmiştir. Dolayısıyla özellikle ürik asit, askorbik asit ve dopamin’in bu ortamda elde edilen pik gerilimlerinin IBR’nin pik gerilimi ile çakışmadığı görülmektedir.

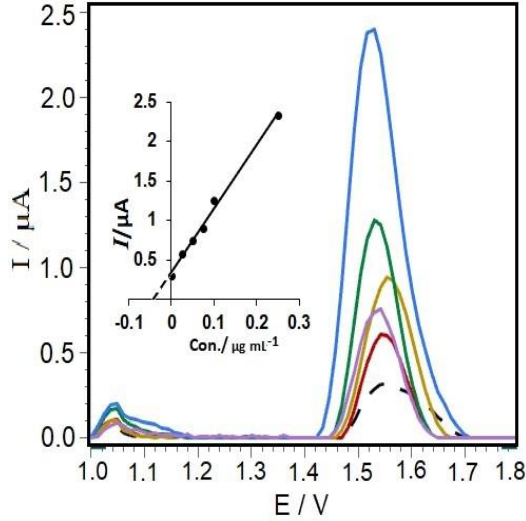


Şekil 27. $0.5 \mu\text{g mL}^{-1}$ IBR ve $1.0 \mu\text{g mL}^{-1}$ ürik asit (UA), dopamin (DP) ve askorbik asit’in (AA) $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ içinde $6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ SDS varlığında elde edilen SW voltamogramları. SWV parametreleri: ΔE_s , 12 mV; f , 125 Hz; ΔE_{sw} , 30 mV.

Seçicilik analizden sonra, önerilen yöntemin mevcut uygulanabilirliği, farmasötik kapsül formlarında ve sağlıklı insan idrar model örneklerinde araştırıldı. Kapsül numune çözeltileri, herhangi bir ekstraksiyon veya filtrasyon olmaksızın, nihai çözeltinin çalışma doğrusal aralığında hedef derişime seyreltilmesinden sonra kolayca hazırlandı. Tablo 3’de verilen kalibrasyon denklemleri kullanılarak kapsül formlarında IBR miktarı hesaplanmıştır. Ortalama IBR içeriği kapsül başına 138.00 mg (RSD %3.75) olarak hesaplanmıştır. Beyan edilen 140 mg içeriği (geri kazanım, % 98.57) ile iyi bir uyum içindedir. Son adımda, önerilen yöntem için, herhangi bir karmaşık işlem veya ayırma gerektirmeden insan model idrar numunelerinde IBR'nin tayini için de incelenmiştir. Bunun için, destek elektrolit ile basit bir seyreltme (1:100 v/v) işlemi ile model idrar örneklerinin analizi, standart katma yöntemi ile değerlendirilmiştir. $0.025 \mu\text{g mL}^{-1}$ derişiminde eklenen IBR içeren model idrar örneğinin 0.025 - $0.25 \mu\text{g mL}^{-1}$ derişim

aralığında elde edilen kalibrasyon grafiği Şekil 28’de gösterilmiştir. Voltamogramdan da görüldüğü gibi +1.54 V dolayında gözlenen pik akımı, her IBR standart eklenmesi ile orantılı bir artış göstermiştir. Bunun sonunda elde edilen doğrusal kalibrasyon grafiği aşağıda verilmiştir.

$$i_p(\mu A) = 8.051C(\mu g mL^{-1}) + 0.3557 \quad (r = 0.997)$$



Şekil 28. $6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ SDS varlığında $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ çözeltisinde $0.05 \mu\text{g mL}^{-1}$ IBR ve IBR'nin ($0.025, 0.050, 0.075, 0.10, 0.25 \mu\text{g mL}^{-1}$) standart olarak eklenmesinden sonra elde edilen SW voltamogramları. SWV parametreleri: ΔE_s , 12 mV; f , 125 Hz; ΔE_{sw} , 30 mV.

Tablo 5'te gösterildiği gibi sonuçlar, tatmin edici geri kazanım ve RSD değerleri ile insan model idrar örneklerinin analizi için oluşturulan metodolojinin uygulanabilirliğini göstermiştir.

Tablo 5. Model idrar örneğinden elde edilen geri kazanım sonuçları.

Ortam	$0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ - $6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ SDS
Eklenen ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0.050
Bulunan ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0.049
Deney sayısı	3.0
Ortalama geri kazanım (%)	98.0
Geri kazanımın %RSD'si	2.98

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tirozin kinaz inhibitörleri (TKİ'ler) bir tür hedefe yönelik tedavide kullanılan inhibitör çeşitlerinden biridir. TKİ'ler ağızdan alınan ilaçlardır. Hedefe yönelik bir terapi, normal hücrelere daha az zarar verirken belirli kanser hücrelerini tanımlar ve bunlara saldırır. Bruton tirozin kinaz (BTK), birçok B hücre malignitesinde lösemik hücrelerin çoğalması ve hayatta kalması için kritik olan onkojenik sinyalleşmede çok önemli bir rol oynayan reseptör olmayan bir kinazdır. Imbruvica markası altında satılan ibrutinib, Bruton tirozin kinaz (BTK) proteinini geri dönüşümsüz olarak bağlayarak B hücresi çoğalmasını ve hayatta kalmasını engelleyen küçük molekülü bir ilaçtır.

Bu tez kapsamında IBR ilaç etken maddesinin ilk kez BDD elektrot kullanılarak detaylı olarak elektrokimyasal özelliklerinin incelenmesi ve ilk kez elektrokimyasal mekanizması hakkında bilgi vermeyi amaçlamıştır. Ayrıca geliştirilen voltametrik yöntem ile hem model idrar örneği hem de farmasötik ilaçlar kullanılarak yöntemin uygulanabilirliği test edilmiştir.

Bu çalışmada, hem anodik hem de katodik ön işlem görmüş BDD elektrot ile SWV ve CV teknikleri kullanılarak geliştirilen elektroanalitik yöntem, İbrutinib etken maddesinin kuvvetli asidik ortam olan $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ ortamında anyonik sürfaktan olan SDS varlığında çok iyi bir hassasiyet ve seçicilikle tayin edilebileceğini göstermiştir. Elde edilen sonuçlar, pahalı ekipmanlara ihtiyaç duymayan bu yöntemin ne kadar hassas ve ucuz olduğunu göstermektedir. Yöntemin basit olması ve numune hazırlama ve analiz için çok az zaman gerektirmesi, ticari farmasötikler ve biyolojik materyallerde IBR'nin belirlenmesi için bir alternatif olarak uygunluğunu göstermektedir. Bu yöntem çevre dostudur, rutin kalite kontrol analizlerinde kolaylıkla kullanılabilir. Son olarak 2021 yılında en çok satan 20 ilaç arasında yer alan BTK inhibitörü Imbruvica'nın (ibrutinib) devam eden başarısı ile dikkat çekeceğini düşünüyoruz (Urquhart, 2022). Bu durum, araştırmacıların dikkatini çekmiştir. Bu da önümüzdeki yıllarda molekül üzerinde daha derinlemesine analizler yapılacağı anlamına geliyor.

KAYNAKLAR

- Abbasi S, Khani H, Gholivand MB, Naghipour A, Farmany A, Abbasi F. ve ark., *Spectrochim Acta A*. 2009;72(2):327.
- Adams RN, McClure JH, Morris JB. Chronopotentiometric studies at solid electrodes. *Anal Chem*. 1958;30:471-475.
- Adamson AW, *Physical Chemistry of Surfaces*. 5th ed. New York: Wiley; 1990.
- Amudi K, Yiğit A, Menges N, Pınar PT. Highly selective electrochemical sensor for new generation targeted-anticancer drug Ibrutinib using newly synthesized nanomaterial GO-NH-B(OH)₂@AgNPs modified glassy carbon electrode. *Measurement*. 2023;216:112978.
- Angulo G, Kapturkiewicz A, Palmaerts A, Lutsen L, Cleij TJ, Vanderzande D. Cyclic voltammetry studies of n-type polymers with non-alternant fluoranthene units, *Electrochim Acta*. 2009;54:1584–1588.
- Annapoorna SR, Rao MP, Sethuram B, Multiple substituent effects in the C=C reduction of phenyl styryl ketones: cyclic voltammetry as a tool. *J Electroanal Chem*. 2000;490:93–97.
- Bard AJ, Faulkner LR. *Electrochem Methods*. 2001;2:580–632.
- Bard AJ, Faulkner LR. *Electrochem Methods*. New York: Wiley; 1980.
- Bard AJ, Faulkner LR. *Electrochem Methods: Fundamental and Applications*, 2nd ed.; John Wiley & Sons: Hoboken, NJ; 2001.
- Barek J, Zima J. Eighty years of polarography–history and future. *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*. 2003;15(5-6):467–472.
- Batley GE, Florence TM. An evaluation and comparison of some techniques of anodic stripping voltammetry. *J electroanal chem interfacial electrochem*. 1974;55(1):23–43.
- Baycan F. Zopiklon'un voltametrik metotlar ile elektrokimyasal davranışının incelenmesi ve ilaçlarda kantitatif tayini [Yüksek lisans tezi]. Çanakkale: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2006.
- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(6):394–424.
- Broekman F, Giovannetti E, Peters G. Tyrosine kinase inhibitors: multi-targeted or single-targeted? *World J Clin Oncol*. 2011;2(2):80–93.
- Budnikov HC. *Printsipy i primeneniye vol'tampernoï ostsillograficheskoi polyarografii (Principles and Application of Voltammetric Oscillographic Polarography)* Kazan: Izd. Kazan. Univ; 1975.
- Compton RG, Banks CE. *Understanding voltammetry*, 2nd ed.; Imperial College Press: London; 2011.

Connelly NG, Geiger WE. Chemical Redox Agents for Organometallic Chemistry. *Chem Rev.* 1996; 96 (2): 877–910.

Çorbacıoğlu F. Kondanse 1,4-dihidropiridin türevlerinin antioksidan kapasitelerinin elektrokimyasal yöntemle incelenmesi [Yüksek lisans tezi]. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2013.

Drake JM, Lee JK, Witte ON. Clinical targeting of mutated and wild-type protein tyrosine kinases in cancer. *Mol Cell Biol.* 2014;34(10):1722–32.

Dündar E. Nörotransmitterlerin tayini için GC, CPE ve PGE elektrotların sensör elektrot olarak kullanılabilirliklerinin incelenmesi [Doktora Tezi]. Konya: Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2019.

Franklin TC, Mathew S. Surfactants in solution, V. 10. Mittal K.L., Ed., New York: Plenum; 1989.

Friberg SE, Lindman B. Organised solutions: Surfactant in science and technology, Eds., New York:Marcell Dekker. 1992; p. 38.

Gupta VK, Singh AK, Gupta B. A cerium(III) selective polyvinyl chloride membrane sensor based on a Schiff base complex of N, N-bis[2-(salicylideneamino)ethyl]ethane-1,2-diamine, *Anal. Chim. Acta.* 2006;575:198–204.

Güney S. Modifiye elektrotların geliştirilmesi ve voltametrik tayinlerde kullanılmalarının incelenmesi [Doktora Tezi]. İstanbul: İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2010.

Gürbüz M, Dogan B, Topal EB, Atici S, Ozkan A. *J Electrochem Soc.* 2022; 69:116509.

Hadjmohammadi MR, Momenbeik F, Khorasani JH, *Ann Chim.* 2004;94(11):857.

Haloua MH, Krekel NM, Winters H, Rietveld DH, Meijer S, Bloemers FW ve ark. A systematic review of oncoplastic breast-conserving surgery: current weaknesses and future prospects, *Ann Surg.* 2013;257:609-20.

Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *J Cell.* 2011; 144(5):646-74.

Hoshyar SA, Barzani HAH, Yardım Y, Sentürk Z. The effect of CTAB, a cationic surfactant, on the adsorption ability of the boron-doped diamond electrode: application for voltammetric sensing of Bisphenol A and Hydroquinone in water samples. *Colloids Surf A: Physicochem Eng Asp.* 2021; 610:125916

Huang L, Jiang S, Shi Y. Tyrosine kinase inhibitors for solid tumors in the past 20 years (2001–2020). *J Hematol Oncol.* 2020;13:143.

Jiao Q, Bi L, Ren Y, et al. Advances in studies of tyrosine kinase inhibitors and their acquired resistance. *Mol Cancer.* 2018;17(1):36.

Kalcher K, Svancara I, Buzuk M, Vytras K, Walcarius W. Electrochemical sensors and biosensors based on heterogeneous carbon materials. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly.* 2009;140:861-889.

Karabilgin EE. Camsı karbon elektrot yüzeyinde 4-nitro-1-naftilaminin elektrokimyasal oksidasyonu ile yeni bir modifiye elektrot hazırlanması [Yüksek Lisans tezi]. Konya: Selçuk Üniversitesi; 2012.

- Kasahara S, Natsui K, Watanabe T, Yokota Y, Kim Y, Iizuka S ve ark. *Anal Chem.* 2017;89:11341–11347.
- Kaya B. Antipsikotik ilaç ketiapin fumaratın karbon nanotüp modifiyeli camı karbon elektrot ile elektrokimyasal analizi [Yüksek lisans tezi]. Trabzon: Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2014.
- Kelter P, Mosher M, Scott A. *Chemistry the practical science.* (Ed.). Houghton Mifflin Company; 2000.
- Kissinger PT, Heineman WR. Cyclic voltammetry. *J Chem Educ.* 1983; 60: 702–706.
- Krug M, Hilgeroth A. Recent advances in the development of multi-kinase inhibitors. *Mini Rev Med Chem.* 2008;8(13):1312–27.
- Lencastre LP, Matos CD, Garridov J, Borges F, Garrido EM. Voltammetric quantification of fluoxetine: application to quality control and quality assurance processes, *J Food Drug Anal.* 2006;14:242–251.
- Levich VG. *Physicochemical hydrodynamics.* Englewood Cliffs. New Jersey, USA; 1962.
- Li XT, YY Zuo, GH Tang, Y Wang, YQ Zhou, XY Wang T. Discovery of a series of 2,5-Diaminopyrimidine covalent irreversible inhibitors of bruton's tyrosine kinase with in vivo antitumor activity, *J Med Chem.* 2014; 57: 5112-28.
- Li YM, Chen XT, Li J, Liu HH. Direct voltammetry and catalysis of hemoenzymes in methyl cellulose film. *Electrochim Acta.* 2004;49:3195–3200.
- Love LJC, Habarta JG, Dorsey JG. *Anal Chem.* 1984;56(11):1132.
- Luong JH, Male KB, Glennon JD. *Analyst.* 2009;134:1965–1979.
- Mabbott GA. An introduction to cyclic voltammetry. *J Chem Educ.* 1983;60(9):697–702.
- Macchi G. The determination of ionic zinc in sea-water by anodic stripping voltammetry using ordinary capillary electrodes, *J Electroanal Chem.* 1965;9:290–298.
- Mackay RA, Texter J. *Electrochemistry in colloids and dispersions,* Weinheim: Wiley, 1992; 546.
- Macpherson JV. *Chem Phys,* 2015;17:2935– 2949.
- Majeed S, Naqvi STZ, Haq MN, Ashiq MN. *Electroanalytical techniques in biosciences: conductometry, coulometry, voltammetry, and electrochemical sensors. Analytical Techniques in Biosciences.* 2022;157-178.
- Murray RW, Ewing AG, Durst RA, *Chemically modified electrodes- molecular design for electroanalysis,* *Anal Chem.* 1987;59:379A–390A.
- Navashree N ve Parthasarathy P. A comparative study on electrochemical behaviour of various electrolytes by cyclic voltammetry: GCE as electrode material, 2022;1-5.
- Oliveira SCB, Oliveira-Brett AM. *Electrochim Acta,* 2010;55:4599–4605.
- Özkan SA, Kauffmann JM, Zuman P. *Electroanalysis in biomedical and pharmaceutical sciences voltammetry, amperometry, biosensors, applications.* Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2015.

- Özkan SA, Uslu B. Electroanalytical application of carbon based electrodes to the pharmaceuticals. 2007;40(5):817-853.
- Öztekin Y. Camsı karbon elektrot yüzeyine çeşitli fenantrolin türevlerinin modifikasyonu, elektrokimyasal ve spektroskopik özelliklerinin incelenmesi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü; 2008.
- Perez-Herrero E, Fernandez-Medarde A. Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy. Eur J Pharm Biopharm. 2015;93:52-79.
- Ran F, Liu Y, Wang C, Xu Z, Zhang Y, Liu Y ve ark. Review of the development of BTK inhibitors in overcoming the clinical limitations of ibrutinib. Eur J Med Chem. 2022;229:114009.
- Rao TN, Tryk DA, Hashimoto K, Fujishima A. J Electrochem Soc., 1999;146:680–684.
- Rebinder PA. Poverkhnostnoaktivnye veshchestva(Surfactants), Moscow: Znanie; 1961.
- Robinson DR, Wu YM, Lin SF. The protein tyrosine kinase family of the human genome. Oncogene. 2000;19(49):5548–57.
- Rusling JF, Colloids Surf. A. 1997; 123–124: 81.
- Sağlıkoğlu G. Nitroimidazol türevi antibakteriyel etkili ilaç aktif maddelerinin dozaj formlarından modifiye ve modifiye edilmemiş elektrotlarda voltametrik teknikler ile kantitatif analizi [Doktora Tezi]. Çanakkale: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü; 2011.18-99.
- Savéant JM. Elements of Molecular and Biomolecular Electrochemistry. John Wiley & Sons. Hoboken, NJ; 2006.
- Scholz F. Voltammetric techniques of analysis: the essentials. ChemTexts. 2015;1-17.
- Shahrokhian S, Ghalkhani M, Simultaneous voltammetric detection of ascorbic acid and uric acid at a carbon-paste modified electrode incorporating thionine– nafion ion-pair as an electron mediator, Electrochim. Acta. 2006;51:2599–2606.
- Shi X, Wang C, Chen Q, Shen S, Song S, Zhou X. J Drug Delivery Sci. Technol. 2021;63:102554.
- Shtykov SN, Izv Saratov. Univ., Ser. Khimiya. Biologiya. Ekologiya. 2005;5(1):47.
- Shtykov SN, J Anal Chem. 2002;57(10):859.
- Shtykov SN. J Anal Chem. 2000;55(7):608.
- Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics. Cancer J Clin. 2016;66:7-30.
- Skoog DA, Holler FJ, Nieman TA. Principles of instrumental analysis. 5th edition. Orlando-Florida; 1998.
- Skoog DA, Leary JJ. Principles of instrumental analysis. 4th ed. Saunders College Publishing; 1996, 538.
- Technique of Electroorganic Synthesis, Part III, Weinberg N.L. and Tilak B.V., Eds., New York: WileyInterscience; 1982, 81.
- Tural H, Gökçel Hİ, Ertuş FN. Enstrümental analiz I elektroanalitik yöntemler. Birinci baskı. İzmir: Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları; 2003. No.186, 131.

- Uhrovčík J. Strategy for determination of LOD and LOQ values -Some basic aspects. *Talanta*. 2014;119:178-180.
- Urquhart L. Top companies and drugs by sales in 2021. *Nat Rev Drug Discov*. 2022;21:251.
- Vergara L J N, Farias D, Bollo S, Squella J A. An electrochemical evidence of free radicals formation from flutamide and its reactivity with endo/xenobiotics of pharmacological relevance, *Bioelectrochemistry*. 2001;53:103–110.
- Vittal R, Gomathi H, *J Phys Chem. B*. 2012;106(39):10135.
- Wang ML, Blum KA, Martin P ve ark. Long-term follow-up of MCL patients treated with single-agent ibrutinib: updated safety and efficacy results. *Blood* 2015; 126(6):739-745.
- Yagi I, Notsu H, Kondo T, Tryk DA, Fujishima A. *J Electroanal Chem*. 1999;473:173–178.
- Yardımlı Y. Elektrokimyasal dna biyosensörlerin bazı kullanım alanlarının guanin ya da adenin sinyali üzerinden incelenmesi [Doktora tezi]. Van: Yüzüncü Yıl Üniversitesi; 2009.
- Yılmazgüç B. Telmisartan'ın Elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi ve voltametrik yöntemle tayini [Yüksek Lisans Tezi]. Erzurum: Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı Atatürk Üniversitesi; 2008.
- Zámečníková A. Novel approaches to the development of tyrosine kinase inhibitors and their role in the fight against cancer. *Expert Opin Drug Discov*. 2014;9(1):77–92.
- Zhang J, Yang PL, Gray NS. Targeting cancer with small molecule kinase inhibitors. *Nat Rev Cancer*. 2009;9(1):28–39.
- Zoski CG, Ed. *Handbook of electrochemistry*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands; 2006.

ÖZGEÇMİŞ



EKLER

Ek 1. Tez Orijinallik Raporu.

