



T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü



**PEPTİD TEMELLİ ELEKTROKİMYASAL  
BİYOSENSÖR GELİŞTİRİLMESİ VE  
UYGULAMALARI**

**Yüksek Lisans Tezi**

Pelin SAYAR

Biyomedikal Teknolojiler Anabilim Dalı

İzmir

2024



T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü

**PEPTİD TEMELLİ ELEKTROKİMYASAL  
BİYOSENSÖR GELİŞTİRİLMESİ VE  
UYGULAMALARI**

Pelin SAYAR

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Kadriye Arzum ERDEM GÜRSAN

Biyomedikal Teknolojiler Anabilim Dalı  
Biyomedikal Teknolojiler Yüksek Lisans Programı

İzmir  
2024



**Pelin SAYAR** tarafından **yüksek lisans** tezi olarak sunulan “**Peptid Temelli Elektrokimyasal Biyosensör Geliştirilmesi ve Uygulamaları**” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve **05.01.2024** tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday **oybirliği/oyçokluğu** ile **başarılı** bulunmuştur.

**Jüri Üyeleri:**

**İmza**

**Jüri Başkanı** : Prof. Dr. Kadriye Arzum ERDEM GÜRSAN

**Raportör Üye** : Prof. Dr. Vildan ALPTÜZÜN

**Üye** : Doç. Dr. Ece EKŞİN ÇERKEZOĞLU



# EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

## ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum **“Peptid Temelli Elektrokimyasal Biyosensör Geliştirilmesi ve Uygulamaları”** başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

30 / 01 / 2024

Pelin SAYAR



**ÖZET****PEPTİD TEMELLİ ELEKTROKİMYASAL BİYOSENSÖR  
GELİŞTİRİLMESİ VE UYGULAMALARI**

SAYAR, Pelin

Yüksek Lisans Tezi, Biyomedikal Teknolojiler Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Kadriye Arzum ERDEM GÜRSAN

Ocak 2024, 75 sayfa

Tez çalışmasında öncelikle tek kullanımlık kalem grafit elektrot (PGE) yüzeyine dönüşümlü voltametri (CV) tekniği kullanılarak elektropolimerizasyonla kurkumin (Kur) modifikasyonu gerçekleştirilmiştir. PGE yüzeyinde elektropolimerize kurkumininin Alüminyum (Al), Nikel (Ni) ve Bakır (Cu) metalleri ile etkileşimi diferansiyel puls voltametrisi (DPV) tekniği kullanılarak voltametrik incelenmiştir. Elde edilen sinyaller kıyaslandığında kurkumin-metal kompleksleri arasında en fazla etkileşimin Cu(II) varlığında gerçekleştiği görülmüştür. Poli(Kur)-Cu(II)/PGE'nin elektrokimyasal karakterizasyonu elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) ve CV ölçümleri ile gerçekleştirilmiştir. Kurkumin ve bakırın farklı konsantrasyon oranlarında etkileşimleri impedimetrik yöntemle incelenmiştir.

Alzheimer Hastalığı (AH) biyobelirteci olarak bilinen Amiloid beta (A $\beta$ ) (1-42) peptidinin PGE yüzeyine immobilizasyonu aşamasında sıcaklık ve konsantrasyondaki değişimin elektrot yanıtına etkisi impedimetrik yöntemle dayalı incelenmiş olup deneysel koşulların optimizasyonu gerçekleştirilmiştir.

Tez çalışması kapsamında, poli(Kur)-Cu(II)/PGE elektrotların yanısıra kontrol deneyleri sadece kurkumin ve sadece Cu(II) içeren örneklerle hazırlanmış elektrotlar varlığında gerçekleştirilmiş olup elektrotların yüzeyine A $\beta$  (1-42) peptidinin immobilizasyonu sonrasında EIS tekniğine dayalı analizler yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, A $\beta$  (1-42) peptidinin en fazla poli(Kur)-Cu(II)/PGE elektrot yüzeyine bağlandığı sonucuna varılmıştır.

**Anahtar sözcükler:** A $\beta$  (1-42), kurkumin, kurkumin-metal kompleksi, elektrokimyasal empedans spektroskopisi



**ABSTRACT****DEVELOPMENT OF PEPTIDE BASED ELECTROCHEMICAL  
BIOSENSOR AND ITS APPLICATIONS**

SAYAR, Pelin

MSc in Biomedical Technologies

Supervisor: Prof. Dr. Kadriye Arzum ERDEM GÜRSAN

January 2024, 75 pages

In this study, curcumin (Cur) modification was firstly carried out by electropolymerization on the surface of disposable pencil graphite electrode (PGE) using cyclic voltammetry (CV) technique. The interaction of electropolymerized curcumin with Aluminum (Al), Nickel (Ni) and Copper (Cu) metals on the PGE surface was investigated voltammetrically using differential pulse voltammetry (DPV) technique. In contrast to the signals observed in this experiment, the highest interaction between curcumin-metal complexes was occurred in the presence of Cu(II). Electrochemical characterization of poly(Cur)-Cu(II)/PGE was carried out by electrochemical impedance spectroscopy (EIS) and CV. The interaction of curcumin with Cu(II) at different concentration ratios was performed and accordingly, the impedimetric measurement was done.

Amyloid  $\beta$  ( $A\beta$ ) (1-42) is known as the biomarker of Alzheimer's Disease (AD). The effect of  $A\beta$  (1-42) concentration and temperature upon to the electrode response was investigated impedimetrically, and the experimental conditions were optimized.

Under the scope of this study, both poly(Cur)-Cu(II)/PGE electrodes and the control experiments were carried out using the electrodes prepared with samples containing only curcumin and only Cu(II). After immobilization of  $A\beta$  (1-42) peptide on the electrode surface, impedimetric analysis was performed.

According to these results, it was concluded that A $\beta$  (1-42) peptide interacts and binds as the most to the surface modified with poly(Cur)-Cu(II)/PGE.

**Keywords:** A $\beta$  (1-42), curcumin, curcumin-metal complex, electrochemical impedance spectroscopy



## ÖNSÖZ

Lisans stajımdan beri ilgim olan elektrokimyasal biyosensörler alanında hastalık tespitine yönelik elektrokimyasal peptid temelli biyosensörlerin geliştirilmesi kapsamında tez çalışmamı tamamlamış olmak bundan sonrası için de bu alanda çalışmalar yapma motivasyonumu arttırmıştır. Bunu gerçekleştirme noktasında, yüksek lisans eğitimim boyunca tez çalışmamda desteklerini esirgemeyen, bana sunduğu bilgi ve tecrübelerin ışığında yolumu aydınlatan değerli danışman hocam Prof. Dr. Kadriye Arzum ERDEM GÜRSAN'a katkılarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

İZMİR

30 / 01 / 2024

Pelin SAYAR



## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET .....	vii
ABSTRACT .....	ix
ÖNSÖZ.....	xi
İÇİNDEKİLER .....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xvii
TABLolar DİZİNİ.....	xix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xxi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Elektrokimya.....	3
2.1.1. Elektrokimyasal tabakalar .....	4
2.1.2. Elektrokimyasal olaylarda kütle aktarım yolları.....	5
2.1.3. Elektroanalitik yöntemler .....	7
2.1.4. Voltametri ve esasları .....	8
2.1.5. Voltametrik ölçümlerde kullanılan cihazlar .....	9
2.1.6. Voltametrik yöntemler.....	11
2.2. Biyosensörler .....	15
2.2.1. Biyosensör çeşitleri.....	15
2.3. Peptidler.....	16
2.4. Alzheimer Hastalığı .....	17
2.5. Amiloid Yapılar .....	18
2.6. Peptid Tayinine Yönelik Elektrokimyasal Biyosensörler ve Uygulamaları...21	
2.7. A $\beta$ ve Metal İyonları Arasındaki İlişki.....	23
2.8. Kurkumin.....	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
3.1. Kullanılan Cihazlar .....	29
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	29
3.2.1. A $\beta$ (1-42) peptidinin aminoasit dizisi .....	30
3.2.2. Kullanılan çözeltilerin hazırlanışı.....	31
3.2.3. PGE yüzey modifikasyonunda kullanılan çözeltilerin hazırlanışı.....	32

## İÇİNDEKİLER (devam)

### Sayfa

3.2.4. A $\beta$ (1-42) çözeltilisinin hazırlanışı.....	32
3.3. Kullanılan Yöntem.....	32
3.3.1. Kalem grafit elektrotların (PGE) hazırlanışı.....	33
3.3.2. PGE yüzeyinde kurkuminin elektropolimerizasyonu (poli(Kur)/PGE).....	33
3.3.3. PGE yüzeyinde kurkumin-bakır kompleksinin elektropolimerizasyonu.....	34
3.3.4. Kurkumin-bakır kompleks elektropolimerize PGE yüzeyine A $\beta$ (1-42) immobilizasyonu.....	34
3.4. Voltametik Ölçümler.....	34
3.5 Empedans Ölçümleri.....	34
4. BULGULAR.....	35
4.1. PGE Yüzeyinde A $\beta$ (1-42) Tayinine Yönelik Bulgular.....	35
4.2. Elektrot Yüzeyine A $\beta$ (1-42) İmmobilizasyonun Sıcaklık ile İlişkinde Yönelik Bulgular.....	37
4.3. PGE Yüzeyine Kurkumin Elektropolimerizasyonunun Elektrokimyasal Karakterizasyonuna Yönelik Bulgular.....	38
4.4. Kurkumin ve Metal Kompleksinin Etkileşimine Yönelik Bulgular.....	40
4.5. Poli(Kur)-Cu(II)/PGE Yüzeyinde A $\beta$ (1-42)'nin İmpedimetrik Tayinine Yönelik Bulgular.....	43
4.6. Farklı Konsantrasyonlarda Kurkumin-Bakır Etkileşimlerine Yönelik Bulgular.....	44
4.7. Poli(Kur)-Cu(II)/PGE Yüzeyinde Farklı Sıcaklıklarda A $\beta$ (1-42) İmmobilizasyonun İncelenmesine Yönelik Bulgular.....	47
4.8. Poli(Kur)-Cu(II) Kompleksinin A $\beta$ (1-42) ile Etkileşimine Yönelik Bulgular.....	48
5. TARTIŞMA.....	51
5.1. PGE Yüzeyinde A $\beta$ (1-42) Tayinine Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma.....	51
5.2. Elektrot Yüzeyine A $\beta$ (1-42) İmmobilizasyonun Sıcaklık ile İlişkinde Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma.....	52
5.3. PGE Yüzeyine Kurkumin Elektropolimerizasyonunun Elektrokimyasal Karakterizasyonuna Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma.....	53

**İÇİNDEKİLER (devam)**Sayfa

5.4. Kurkumin ve Metal Kompleksinin Etkileşimine Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma .....	54
5.5. Poli(Kur)-Cu(II)/PGE Yüzeyinde A $\beta$ (1-42)'nin İmpedimetrik Tayinine Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma .....	54
5.6. Farklı Konsantrasyonlarda Kurkumin-Bakır Etkileşimlerine Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma .....	55
5.7. Poli(Kur)-Cu(II)/PGE Yüzeyinde Farklı Sıcaklıklarda A $\beta$ (1-42) İmmobilizasyonun İncelenmesine Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma .....	56
5.8. Poli(Kur)-Cu(II) Kompleksinin A $\beta$ (1-42) ile Etkileşimlerine Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma .....	56
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	59
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	63
TEŞEKKÜRLER.....	74
ÖZGEÇMİŞ.....	75



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2. 1. Üçlü elektrot sistemi.....	4
Şekil 2. 2. Elektrot yüzeyinde oluşan tabakaların şematik olarak gösterimi.....	5
Şekil 2. 3. Elektrokimyasal yöntemlerin sınıflandırılması. ....	8
Şekil 2. 4. (A) Dönüşümlü voltametri çalışmada çalışma elektroduna uygulanan üçgen dalga potansiyelin zamana karşı grafiği. (B) CV voltamogramı; “E <sub>pa</sub> ” anodik pik potansiyeli, “I <sub>pa</sub> ” anodik pik akım, “E <sub>pc</sub> ” katodik pik potansiyeli, “I <sub>pc</sub> ” katodik pik akımı. ....	12
Şekil 2. 5. Diferansiyel puls voltametri voltamogramı.....	13
Şekil 2. 6. Bir elektrokimyasal hücrede EIS ölçümü sonrasında oluşan Nyquist eğrisi. ....	14
Şekil 2. 7. Biyosensör bileşenleri ve çalışma şeklinin şematik gösterimi.....	16
Şekil 2. 8. Kurkuminin kimyasal yapısı. ....	25
Şekil 3. 1. Elektrokimyasal Aβ (1-42) tayinine yönelik geliştirilen peptid temelli impedimetrik biyosensöre ait deneysel prosedürü özetleyen şema. ....	33
Şekil 4. 1. (A) PGE yüzeyinde farklı konsantrasyonlarda Aβ (1-42) immobilizasyonu sonrası EIS ölçümlerinden elde edilen Niquist diyagramları. (B) PGE yüzeyinde farklı konsantrasyonlarda Aβ (1-42) immobilizasyonu sonrasında yapılan EIS ölçümlerinden elde edilen Rct değerlerine dayalı çizgi grafiği. <b>İç şekil:</b> Empedans verilerini düzenlemede kullanılan eşdeğer devre modeli. R <sub>s</sub> , çözelti direnci; R <sub>ct</sub> , elektrot/elektrolit ara yüzeyindeki yük transfer direnci; Sabit faz element W, elektrot yüzeyinde kütle transferinden kaynaklanan Warburg empedansı.....	35
Şekil 4. 2. (A) PGE yüzeyinde farklı konsantrasyonlarda Aβ (1-42) immobilizasyonu sonrası ölçümlerden elde edilen Niquist diyagramları. (B) PGE yüzeyinde 1 ila 20 µM arasında değişen farklı konsantrasyon seviyelerinde Aβ (1-42) immobilizasyonu sonrası ölçümlerden elde edilen Rct değerini temsil eden kalibrasyon grafiği.....	36
Şekil 4. 3. Aβ (1-42)'nin farklı sıcaklık değerlerinde elektrot yüzeyine immobilizasyonunu gösteren Niquist diyagramları. (A) 4°C (a) PGE (b) Aβ (1-42)/PGE. (B) 37°C (a) PGE, (b) Aβ (1-42)/PGE. ....	37

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Şekil

Sayfa

- Şekil 4. 4.** (A) (a) PGE (b) 5 mM poli(Kur)/PGE'ye ait döngüsel voltammogramlar. (B) (a) PGE (b) 5 mM poli(Kur)/PGE'yi temsil eden Niquist diyagramları. ....38
- Şekil 4. 5.** (a) PGE (b) Poli(Kur)/PGE 2,5 mM redoks prob çözeltisinde elde edilen CV ölçümlerine ait voltammogramlar. ....39
- Şekil 4. 6.** (A) (a) PGE (b) Al(III)/PGE (c) Poli(Kur)/PGE (d) Poli(Kur)-Al(III)/PGE. (B) (a) PGE (b) Cu(II)/PGE (c) Poli(Kur)/PGE (d) Poli(Kur)-Cu(II)/PGE. (C) (a) PGE (b) Ni(II)/PGE (c) Poli(Kur)/PGE (d) Poli(Kur)-Ni(II)/PGE sinyallerine ait voltammogramlar. ....41
- Şekil 4. 7.** (a) PGE (b) 5 mM Cu(II) varlığında elektropolimerize edilen PGE (c) 5 mM kurkumin varlığında elektropolimerize edilen PGE (d) 5 mM:5mM oranında hazırlanan poli(Kur)-Cu(II) elektropolimerize PGE'ye ait elde edilen Niquist diyagramları. ....43
- Şekil 4. 8.** (a) PGE (b) 10 mM Cu(II) varlığında elektropolimerize edilen PGE (c) 10 mM kurkumin varlığında elektropolimerize edilen PGE (d) 10 mM:10 mM poli(Kur)-Cu(II) elektropolimerize PGE 2,5 mM redoks probu içinde elde edilen Niquist diyagramları. ....45
- Şekil 4. 9.** (a) PGE (b) Poli(Kur)-Cu(II)/PGE (c) 4°C'de 5 µM Aβ (1-42) immobilize poli(Kur)-Cu(II)/PGE (d) 37°C'de 5 µM Aβ (1-42) immobilize poli(Kur)-Cu(II)/PGE 2,5 mM redoks probu içinde elde edilen Niquist diyagramları. ....47
- Şekil 4. 10.** (A) (a) PGE (b) Cu(II)/PGE (c) 5 µM Aβ (1-42) immobilize Cu(II)/PGE. (B) (a) PGE (b) Poli(Kur)/PGE (c) 5 µM Aβ (1-42) immobilize poli(Kur)/PGE. (C) (a) PGE (b) Poli(Kur)-Cu(II)/PGE (c) 5 µM Aβ (1-42) immobilize poli(Kur)-Cu(II)/PGE 2,5 mM redoks probu içinde elde edilen Niquist diyagramları. ....49

## TABLOLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
<b>Tablo 2. 1.</b> A $\beta$ peptid temelli elektrokimyasal biyosensör çalışmaları.....	22
<b>Tablo 2. 2.</b> A $\beta$ peptidleri ve metal iyonları etkileşimine yönelik elektrokimyasal biyosensör çalışmaları. ....	24
<b>Tablo 3. 1.</b> A $\beta$ (1-42) peptidinin aminoasit dizisi.....	31
<b>Tablo 4. 1.</b> PGE ve poli(Kur)/PGE ile ölçülen anodik pik akımı (I <sub>a</sub> ) ve katodik pik akımı (I <sub>c</sub> ) ile anodik bağıl yük (Q <sub>a</sub> ) ve katodik bağıl yükün (Q <sub>c</sub> ) ortalama değerleri (n=3) ve yüzey alanları (cm <sup>2</sup> ). ....	39
<b>Tablo 4. 2.</b> Kurkumin, metal ve kurkumin-metal etkileşimleri sonrası ölçülen pik potansiyelleri, ortalama akım değerleri (n=3) ve % değişimleri. ....	42
<b>Tablo 4. 3.</b> PGE, Poli(Kur)/PGE, Cu(II)/PGE ve Poli(Kur)-Cu(II)/PGE ile ölçülen ortalama R <sub>ct</sub> değerleri (n=3) ve % değişimleri.....	44
<b>Tablo 4. 4.</b> Farklı konsantrasyonlarda kurkumin ile Cu(II) etkileşimleri sonrası ölçülen ortalama R <sub>ct</sub> değerleri (n=2) ve % değişimleri.....	46
<b>Tablo 4. 5.</b> Poli(Kur)-Cu(II)/PGE yüzeyinde 4°C ve 37°C sıcaklıklarında A $\beta$ (1-42) immobilizasyonu sonrası ölçülen ortalama R <sub>ct</sub> değerleri (n=2) ve % değişimleri. ....	48
<b>Tablo 4. 6.</b> Poli(Kur)/PGE, Cu(II)/PGE ve poli(Kur)-Cu(II)/PGE yüzeylerinde A $\beta$ (1-42) ile etkileşimi öncesi ve sonrası ölçülen ortalama R <sub>ct</sub> değerleri (n=2), % değişimleri ve görünür kısmi kaplama değerleri. ....	50



**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
V	Potansiyel
I <sub>a</sub>	Anodik akım
I <sub>c</sub>	Katodik akım
Q <sub>a</sub>	Anodik yük
Q <sub>c</sub>	Katodik yük
A	Yüzey alanı
Z	İmpedans
R <sub>ct</sub>	Yük transfer direnci
R <sub>s</sub>	Çözelti direnci
W	Warburg impedansı
C	Çift tabaka kapasitansı
μM	Mikromolar
mM	Milimolar

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)**

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
PGE	Kalem grafit elektrot
ABS	Asetat tampon çözeltisi
PBS	Fosfat tampon çözeltisi
DPV	Diferansiyel puls voltametri
CV	Dönüşümlü voltametri
EIS	Elektrokimyasal empedans spektroskopisi

## 1. GİRİŞ

Biyosensörler genellikle, iki ana bileşen olan biyokimyasal bir mekanizmanın kullanıldığı tanıma sistemine sahip biyolojik algılayıcı eleman (reseptör, biyoaktif materyal) ve bir fiziko-kimyasal dönüştürücünün (detektör) iç içe geçmesiyle oluşan küçültülmüş cihazlardır. Biyolojik algılayıcı eleman diğer bir deyişle reseptör, yüksek bir seçiciliğe sahiptir ve analiz edilecek maddeyle (analit) etkileşime girerek analitin tanınmasını sağlar (Thevenot et al., 1999).

Biyoreseptör ile analitin etkileşim sonucu meydana gelen biyolojik reaksiyonu ölçülebilir elektriksel sinyallere çeviren biyosensörler elektrokimyasal biyosensörler olarak adlandırılır. Biyoreseptör olarak peptidlerin kullanıldığı biyosensörlerde, analit olarak proteinler, nükleik asit, bakteriler, metalik iyonları, enzimler ve antikorlar gibi çeşitli biyolojik bileşenler kullanılabilir. Spesifik sekanslara sahip yapay peptidlerin kolay modifikasyon, yüksek stabilite, çok yönlü kimyasal özellik ve hedef analitle yüksek afinite göstermek gibi birçok avantaja sahip olmaları arzu edilen moleküler biyosensörü geliştirme fırsatı sunmaktadır (Zhang et al., 2023).

Alzheimer Hastalığı'nın (AH) patogenizinde, beyinde hücre dışında biriken amiloid (senil) plakların ana bileşeni olan ve yanlış katlanan proteinlerin bir sınıfını temsil eden Amiloid beta ( $A\beta$ ) peptidi kritik bir rol oynamaktadır (Hilbich et al., 1991). AH, 40 aminoasit kalıntısına sahip  $A\beta$  (1-40) ve 42 aminoasit kalıntısına sahip  $A\beta$  (1-42) peptidlerinin amiloid plaklarda toplanması ve kümeleşmesi ile karakterize edilir (Chiti et al., 2006; Hardy et al., 2002).

Bilişsel işlev ve hafıza bozuklukları ile karakterize edilen AH, günümüzde dünya çapında milyonlarca insanın muzdarip olduğu bir nörodejeneratif bozukluktur (Anand et al., 2007). Dolayısıyla, AH'ye yol açan  $A\beta$  (1-42) agregasyonunun erken evrelerinin izlenmesinde ve tayininde  $A\beta$  temelli elektrokimyasal biyosensörlerin geliştirilmesi yüksek hassasiyeti, tespit hızı, uygun maliyeti, kararlılığı, düşük tespit limitleri gibi avantajları nedeniyle güçlü bir araç olarak büyük önem kazanmıştır (Veloşo et al., 2013).

Yapılan araştırmalarda, A $\beta$  agregatların içeriğinde yüksek konsantrasyonlarda Bakır (Cu), inko (Zn), ve Alüminyum (Al) gibi bir takım geçiş metallerrinin varlığına rastlanmıştır (Breydo et al., 2011, Yu et al., 2018). Bu geçiş metal iyonları, A $\beta$  peptidi ile yüksek afinite göstererek A $\beta$ -metal koordinasyonunu oluşturduğu bildirilmiştir (Bush, 2008; Jiang et al., 2013).

Kurkumin, zerdeçal bitkisinin sarı pigmentinden doğal yollarla üretilen farmakolojik olarak aktif bir molekdr (Ramsewak et al., 2000). Kurkuminin anti-amiloid özelliği sayesinde A $\beta$  agregasyonunu inhibe etme yeteneği ileri sürülerek AH üzerinde yararlı etkilerini ortaya koyan çalışmalar mevcuttur (Benilova et al., 2012; Caesar et al., 2012; Ruby et al., 1995). Ayrıca, elektroaktif özelliğe sahip kurkuminin geçiş metal iyonları ile kolayca şelatlanarak kompleksler oluşturması sonucunda modifiye edildiği elektrotların elektrokimyasal performansını arttırdığı rapor edilmiştir (Ciszewski et al., 2003; Devadas et al., 2014; Qin et al., 2018; Khorasani et al., 2019; Majdi et al., 2007).

A $\beta$  peptidi, kurkumin ve metal iyon üçlüsünün her birinin birbirine olan afinitesi göz önüne alındığında A $\beta$  (1-42) tespiti için kurkumin-bakır kompleks modifiyeli elektrot geliştirilmesine yönelik çalışmaların yapılması tez çalışmasında hedeflenmiştir. Tez kapsamında, poli(Kur)-Cu(II) kompleksinin elektropolimerizasyonu tek kullanımlık kalem grafit elektrot (PGE) yüzeyinde dönüşümlü voltametri (CV) yöntemi ile gerçekleştirilmesi hedeflenmiştir. Poli(Kur)-Cu(II)/PGE'nin elektrokimyasal karakterizasyonu CV ve EIS teknikleri ile araştırılması planlanmıştır.

A $\beta$  (1-42) peptidinin poli(Kur)-Cu(II)/PGE ile etkileşimi sayesinde AH'nin erken evrede tayinini mümkün kılabilcek peptid temelli elektrokimyasal biyosensör geliştirilmesi hedeflenmiştir.

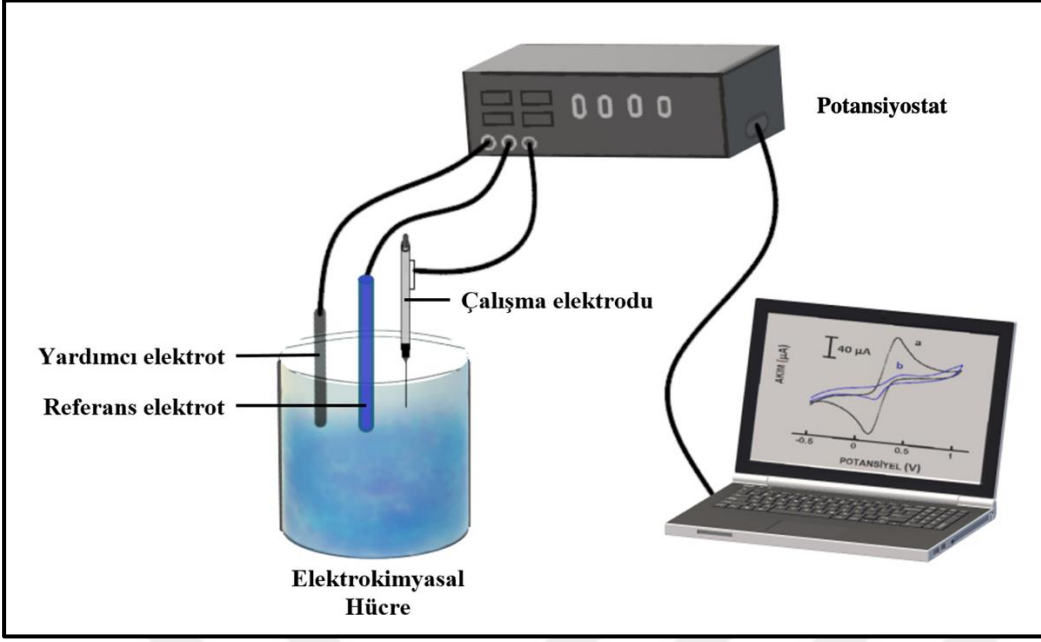
## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Elektrokimya

Elektrokimya, kimyasal tepkimeler sonucu elektron transferi aracılığıyla elektrik enerjisi üretimini ya da bunun tam tersi olarak elektriksel enerjinin kimyasal enerjiye dönüşümünü inceler. Elektron transferi, bir çözelti içerisinde elektrot adı verilen katı bir maddenin yüzey molekülleri arasındaki etkileşimi ile oluşan kimyasal tepkimeler sonucu meydana gelir. Kimyasal tepkimeler sonucu meydana gelen yükseltgenme-indirgenme (redoks) reaksiyonları bir arada gerçekleşir ve en genel tanımıyla elektrokimyasal reaksiyonlar olarak adlandırılır (Bard et al., 2001).

Yükseltgenme-indirgenme tepkimeleri elektrokimyasal hücre adı verilen bir düzenek içerisinde gerçekleşir ve elektrokimyasal reaksiyonlar sırasında yük aktarımları sonucu fiziksel değişimler meydana gelir. Elektrokimyasal hücreler; harici bir kaynaktan aldığı elektriksel enerjiyi tüketip kimyasal enerjiye dönüştüren elektrolitik hücreler ve tam tersi olarak kimyasal enerjiyi kullanarak elektrik enerjisi üreten galvanik hücreler olarak sınıflandırılabilir (Wang, 2006). Elektrokimyasal bir hücre içerisinde, elektrokimyasal bir reaksiyon meydana gelebilmesi için analiz edilmek istenen maddeyi (analit) içeren tampon çözelti, çözeltinin içerisine daldırılmış elektrot sistemi ve dışarıdan elektrotları birbirine bağlayan çevirici bir sistem (transdüser) olması gerekmektedir.

Elektrot sistemi ikili veya üçlü elektrottan oluşabileceği gibi genellikle üçlü elektrot sistemi yaygın olarak kullanılmaktadır. Şekil 2.1’de gösterildiği gibi üçlü elektrot sistemi; çalışma elektrodu, referans elektrot ve yardımcı (karşıt) elektrot olmak üzere üç elektrot türünden oluşmaktadır.



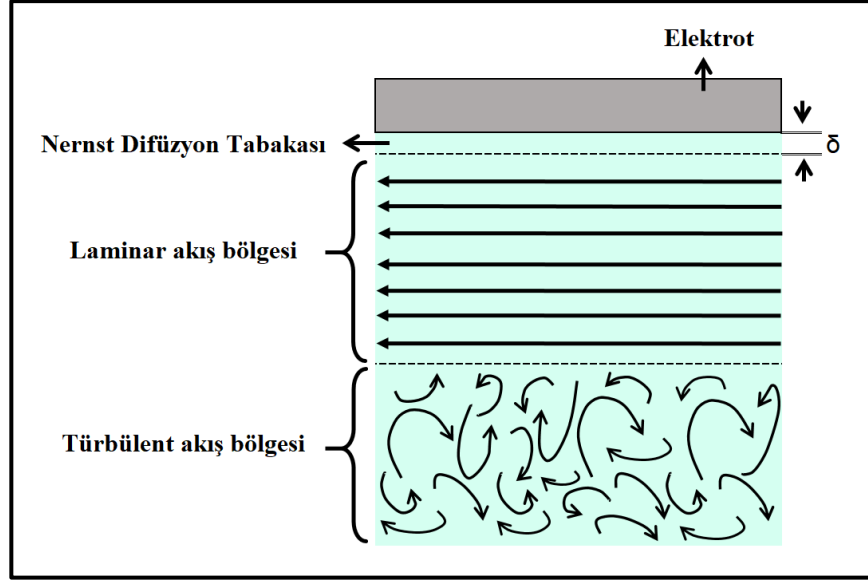
Şekil 2. 1. Üçlü elektrot sistemi.

### 2.1.1. Elektrokimyasal tabakalar

Elektron transfer reaksiyonları çalışma elektrodu ile çözelti arasında ara yüzey bölgesinde elektron yüzeyine yakın bir yerde gerçekleşir. Redoks tepkimeleri elektrolit içerisinde homojen olarak veya elektrot yüzeyinde heterojen olarak meydana gelir ve yük transferine yol açar.

Şekil 2.2’de gösterildiği gibi elektrot ve çözelti ara yüzünde elektrotun yüzeyindeki elektrik yükünden ve aynı zamanda elektrot yüzeyine yakın bir mesafede bulunan iyonların yükünden elektriksel çift tabaka sistemi oluşur (Zoski, 2007).

Elektriksel çift tabaka sisteminde, potansiyel fark sonucu konsantrasyon/uzaklık ilişkisine bağlı olarak çeşitli tabaka bileşimleri meydana gelir (Skoog et al., 1996).



Şekil 2. 2. Elektrot yüzeyinde oluşan tabakaların şematik olarak gösterimi.

- i. **Türbülent Akış Tabakası:** Elektrot yüzeyinden en uzak çözelti yığnında oluşur ve oldukça düzensiz bir akış modelidir.
- ii. **Laminer Akış Tabakası:** Elektrot yüzeyine daha yakın bir bölgede, akışkanın katmanlar halinde ve elektrot yüzeyine paralel bir doğrultuda birbiri üzerine kayarak hareket ettiği modeldir.
- iii. **Nernst Difüzyon Tabakası:** Elektrot yüzeyinden yaklaşık  $\delta$  cm uzaklıktaki mesafelerde gözlemlenen, redoks reaksiyonu hızı ile kütle taşıma hızının eşit olduğu ya da iyon konsantrasyonunun eğiminin sabit olduğu varsayımsal bir modeldir. Elektrot-elektrolit ara yüzünde ince durgun bir çözelti tabakası meydana gelir. Tabakanın kalınlığı “iyon konsantrasyonuna karşı elektrot yüzeyinden uzaklık” grafiğiyle ölçülebilir ve elektrolitin viskozitesine ve konveksiyonun yoğunluğuna bağlı olarak 0,1-0,001 mm aralığında değişiklik gösterebilir.

### 2.1.2. Elektrokimyasal olaylarda kütle aktarım yolları

Çift tabaka sisteminde, zıt yüklü parçacıklar birbirini çekerek göç etme eğilimi ve her bir maddenin yüzeyinde toplanma gösterir. Elektrolit içerisindeki elektrik yüklü zıt iyonların elektrot yüzeyinde hizalanması yük etkileşimine neden olur ve bunun neticesinde elektrostatik bir çekim meydana gelir. Ters ve ayrı iki

yük arasındaki elektrostatik çekim, iki maddenin sınırı boyunca bir elektrik alanının oluşmasına neden olur. Hücre ortamında, elektriksel alanın etkisiyle elektrot yüzeyine maddeler üç farklı aktarım yolu ile taşınabilir (Brett et al., 1992; Yıldız ve Genç, 1993).

- i. Elektriksel Göç (Migrasyon):** İyon içeren bir hücrede elektroda dışarıdan potansiyel bir güç uygulandığında anyon ve katyon gibi yüklü parçacıklar etkilenir, bunların anoda ve katoda doğru hareketi elektrostatik bir alan yaratır. Elektrostatik çekim kuvveti ile çözeltideki iyonlar itme ve çekme etkisiyle elektrot yüzeyine taşınır.
- ii. Karıştırma (Konveksiyon):** Karıştırma, titreştirme, sarsma veya sıcaklık gibi mekanik bir dış kuvvetin uygulanması sonucunda gerçekleşen kütle aktarım çeşididir.
- iii. Difüzyon:** Bir sistemde konsantrasyon farkından dolayı kendiliğinden gerçekleşen kütle aktarım çeşididir. Elektrokimyasal reaksiyonlar süresince elektrot yüzeyinde derişimin artmasıyla elektrot aktif türler derişimin daha az olduğu yığın çözeltiliye taşınır veya tam tersi olarak da gerçekleşebilir. Difüzyonun amacı konsantrasyon farkını en aza indirmektedir dolayısıyla derişim dengeye ulaşana kadar devam eder ve derişim farkı ne kadar fazlaysa difüzyon hızı da o kadar fazladır.

Potansiyel uygulanan bir elektrot sisteminde meydana gelen iki akım çeşidi faradayik olmayan (kapasitif) akım ( $I_c$ ) ve faradayik akım ( $I_f$ ) olarak tanımlanır.

Çözeltiye daldırılan katı bir elektrota bir potansiyel uygulandığında, çözeltideki iyonların elektrota doğru göçü sonucu meydana gelen gerilim farkından dolayı elektrot yüzeyinde elektriksel çift tabaka oluşur. Oluşan bu çift tabaka sisteminde zıt yüklerin arasında kalan bölge kapasitör görevi görerek yükseltgenecek ve indirgenecek maddenin varlığından bağımsız olarak ortamda meydana gelen akım kapasitif akımdır. Kapasitif akım, elektrot yüzeyinde meydana gelen reaksiyonlardan etkilenmez ve doğru bir ölçüm yapılabilmesi için bu akım değerinin olabildiğince düşük olması gerekmektedir (Skoog et al., 1996).

Faradayik akım ise elektrot ara yüzünde analitin konsantrasyonuna bağlı olarak meydana gelen yük transferi sonucu oluşan yükseltgenme ve indirgenme tepkimelerinden kaynaklanan akımdır. İdeal olarak bir elektrot sisteminde faradayik akımın yüksek, kapasitif akımın ise düşük olması istenmektedir.

### 2.1.3. Elektroanalitik yöntemler

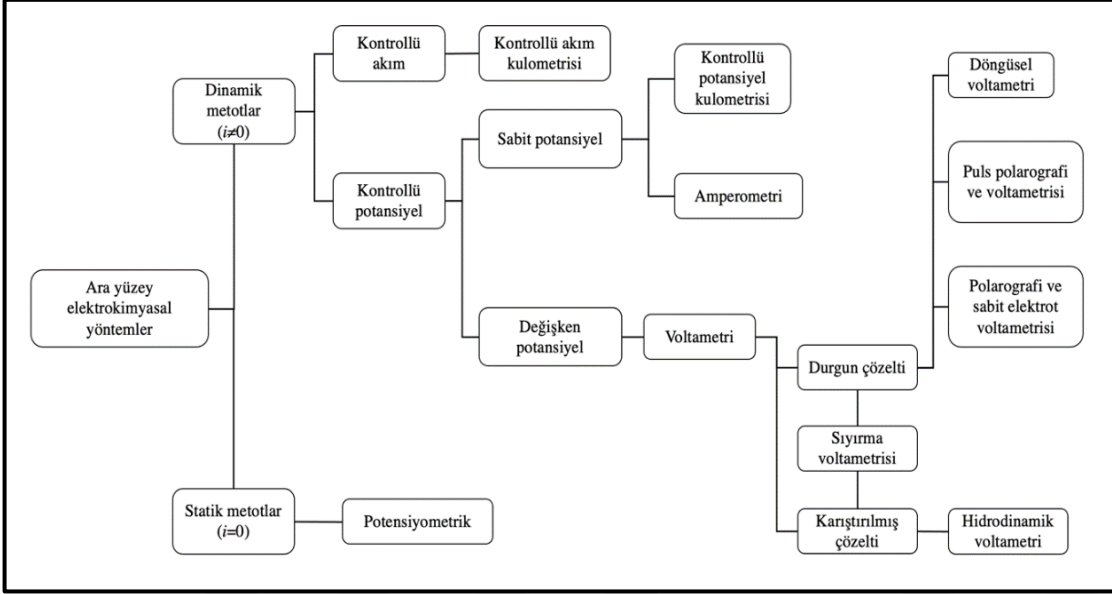
Elektroanalitik teknikler, akım, potansiyel veya yük gibi elektriksel büyüklük ölçümleri ile kimyasal parametrelerin arasındaki ilişkiye dayalıdır. Elektriksel ölçümler, analitik amaçlar için biyomedikal analiz, çevresel izleme, endüstriyel kalite kontrol gibi çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadır (Wang, 2006).

Elektroanalitik ölçümler temel olarak potansiyometrik ve potansiyostatik iki prensibe dayanmaktadır. Bir elektrokimyasal hücreyi oluşturan elektrolit çözeltisi ve çözelti içerisine daldırılmış en az iki adet elektrot sistemi iki tip teknik için de ortaktır. Bir çözeltideki numune kompozisyonuna ait protonların veya kalsiyum, florür ve potasyum iyonları gibi iyonik türlerin doğrudan ölçülmesi potansiyometrik bir tekniktir (Bard et al., 2001).

Potansiyostatik teknikler, potansiyelin kontrollü olduğu ve elektrot-çözelti ara yüzünde meydana gelen yük aktarım süreçlerinin izlenmesiyle ilgilidir. Ayrıca, akımın sıfırdan farklı olduğu dinamik durumlarda çalışma elektrodu ile referans elektrodu arasındaki voltaj farkının kontrol edildiği durumlara dayanmaktadır. Bu tekniğin amacı, elektrot potansiyeli sonucu elde edilen elektron transfer reaksiyonun açığa çıkarttığı akımın ölçülmesidir. Ortaya çıkan akım, elektronların elektrot ve elektrolit ara yüzü boyunca hareket etme hızını yansıtmaktadır (Brett et al., 1992).

Elektrokimyasal bir hücrede potansiyelin kontrollü bir şekilde olduğu dinamik sistemlerde ölçülen elektriksel parametrelere göre kullanılan metotlar; voltametri, amperometri, kulometri ve elektrogravimetri olmak üzere sınıflandırılabilir.

Sonuç olarak bu yöntemler, elektroaktif herhangi bir kimyasal türün redoks tepkimesine bağlı olarak bir bileşikteki fonksiyonel grubun reaktivitesi ve elektroaktivitesi hakkında bilgi sağlar. Ayrıca, elektroaktif türlere karşı seçicilik, geniş bir doğrusal aralık, yüksek hassasiyet, düşük maliyet, taşınabilirlik ve çok küçük numune hacimlerinde tespit olanağı gibi birçok avantaja sahiptir (Wang, 2006).



Şekil 2. 3. Elektrokimyasal yöntemlerin sınıflandırılması.

#### 2.1.4. Voltametri ve esasları

Elektroanalitik bir yöntem olan voltametri; elektrokimyasal hücrede, çalışma elektrotuna değişken bir potansiyelin uygulandığı ve potansiyelin bir fonksiyonu olarak sistem tarafından üretilen akımın karakteristiğine bağlı olarak analit hakkında bilgi elde edilmesine dayanır. Uygulanan potansiyele karşı ölçülen akım değerine bağlı olarak ortaya çıkan eğriye voltamogram denir. Bu ölçümler genellikle elektronik bir cihaz olan potansiyostat ile gerçekleştirilir. Potansiyostatın çalışma prensibi, çalışma elektrotunun referans elektrota karşı zamanla doğrusal olarak değişen gerilim farkını büyük bir hassasiyet ile kontrol etmektedir (Skoog et al., 1996).

Voltametri; kimya, biyokimya, mühendislik, malzeme ve çevre bilimi gibi birçok alanda oksidasyon ve indirgeme tepkimeleri, yüzeylerdeki adsorpsiyon işlemleri ve kimyasal olarak değiştirilmiş elektrot yüzeylerindeki elektron transfer mekanizmaları ile ilgili çeşitli alanlarda uygulamalar yapmak için oldukça tercih edilmektedir.

Kullanılacak çalışma elektrotunun çeşidi, elektrotun yüzey alanı, elektroda uygulanacak potansiyel aralığının sınırları ve elektrolit türü gibi birçok değişkenin seçimi, kalitatif ve kantitatif analizlerin yapılabilmesi için analitin elektrokimyasal davranışını inceleme konusunda önemli etkilere sahiptir.

### **2.1.5. Voltametik ölçümlerde kullanılan cihazlar**

Voltametik ölçümler; elektrot sisteminin, elektriksel iletkenliği sağlayan ve hedef analiti içeren tampon çözeltiliye daldırıldığı elektrokimyasal hücrelerde gerçekleşir. Üçlü elektrot sistemi; çalışma (mikroelektrot) elektrotu, referans (karşılaştırma) elektrot ve yardımcı (karşıt) elektrot olmak üzere üç farklı elektrottan oluşur.

Elektrotların iletkenlik ve kimyasal özellikleri bakımından stabil olmaları önemlidir. Bu nedenle elektrot materyali olarak genellikle; platin, altın gibi katı metaller; cıva, amalgam gibi sıvı metaller; karbon (grafit), indiyum-kalay oksit veya silisyum gibi yarı iletkenler kullanılmaktadır. Sıklıkla kullanılan sıvı elektrolitler ise sodyum, hidrojen ve klor iyonlarını içeren çözeltilerdir (Bard et al., 2001; Evans, 1991).

#### **i. Çalışma elektrotu**

Analitin yükseltgenme ve indirgenme reaksiyonları çalışma elektrodu üzerinde gerçekleşir. İdeal olarak çalışma elektrotunun direncinin düşük, iletkenliğinin yüksek olması, potansiyel sınırlarının geniş olması ve ayrıca tekrarlanabilir yanıtlar sağlaması gerekmektedir. Polarizasyonun daha verimli sağlanabilmesi için elektrotun küçük boyutta olması tercih edilir. Çalışma elektrotunun malzemesi, voltametik ölçümlerin performansı açısından kritik

öneme sahiptir. En çok tercih edilen çalışma elektrotlarının materyaline göre sınıflandırılması aşağıdaki gibidir (Compton et al., 2014; Wang, 2006).

Civa elektrotlar: Disk elektrot, damlayan civa elektrot, asılı civa damla elektrot ve durgun civa damla elektrodu gibi elektrot çeşitleri civa elektrotlara örnek olarak verilebilir.

Metal elektrotlar: Platin ve altın gibi inert ve iletken metallere yapılmış elektrotlardır.

Karbon elektrotlar: Camsı karbon elektrot (GCE), perde baskılı karbon elektrot (SPCE), karbon pasta elektrodu (CPE) ve kalem grafit elektrot (PGE) gibi türleri mevcuttur.

## ii. Referans elektrot

Çalışma elektrodu potansiyelinin kontrollü regülasyonu için sabit bir potansiyel sağlaması amacıyla deney süresi boyunca değişmeden etkili bir şekilde stabil kalmalıdır. Referans elektrotun potansiyeli, akım akışından veya dış ortamdan bağımsızdır (Zoski, 2007).

Gümüş-Gümüş Klorür Elektrot ( $\text{Ag}/\text{AgCl}$ )

Standart Hidrojen Elektrot (SHE)

Doygun Kalomel Elektrot ( $\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{Cl}_2$ )

## iii. Yardımcı elektrot

Elektrokimyasal hücrede, uygulanan gerilimin çalışma elektrotuna iletilmesini sağlayarak çalışma elektrotuna elektron sunar ve ara yüzde meydana gelen reaksiyonları dengeler. Ölçülen akım üzerinde etkisi yoktur sadece hücre direncinin yarattığı hataları en aza indirmek amacıyla kullanılır. Üretiminde genellikle, inert bir malzeme olan platin (Pt) tel tercih edilir.

### **2.1.6. Voltametrik yöntemler**

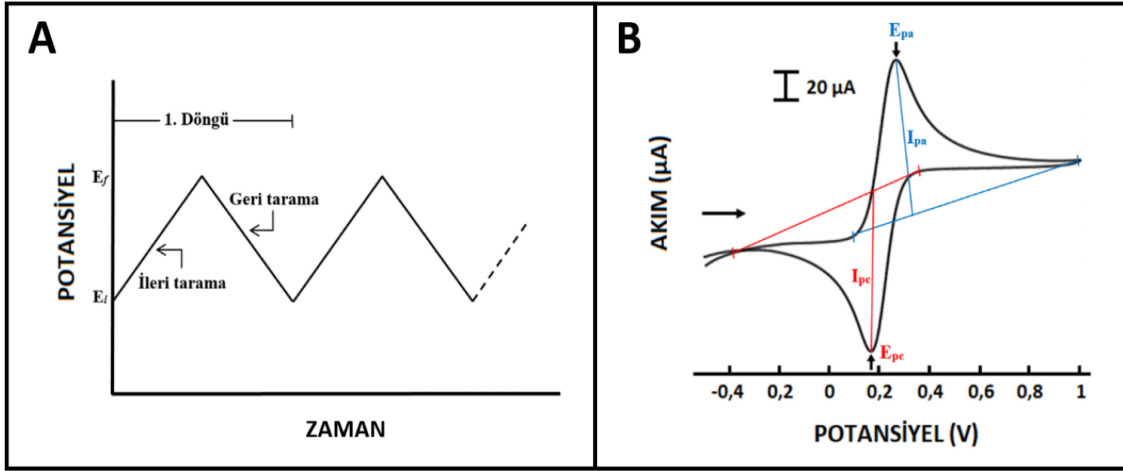
Voltametrizde, çalışma elektrotuna uygulanan değişken bir potansiyel uyarma sinyali, ölçülebilir bir miktarda bir akım tepkisi üretir. Voltametrizde kullanılan çeşitli uyarı sinyalleri mevcuttur. Farklı voltametrik yöntemler farklı voltaj profillerini içerir. En yaygın olarak kullanılan uyarı sinyallerine ait voltametrik teknikler; doğrusal tarama voltametrisi (LSV), diferansiyel puls/darbe voltametrisi (DPV), kare dalga voltametrisi (SWV) ve döngüsel/dönüşümlü voltametri (CV) olarak sıralanabilir (Skoog et al., 1996).

#### **2.1.6.1. Döngüsel voltametri**

Döngüsel voltametri (CV), diğer voltametrik tekniklerden farklı olarak analit hakkında kantitatif bilgiden ziyade daha çok kalitatif bilgi elde etmek için oldukça yaygın kullanılan bir tekniktir. Tekniğin en büyük avantajları; sistemde meydana gelen heterojen elektron transfer reaksiyonlarının kinetiği, elektrot yüzeyinde gerçekleşen absorpsiyon olayları ve ayrıca redoks tepkimelerinin süreci ve termodinamiği hakkında hızlı ve duyarlı bilgi sağlayabilmesidir. (Skoog et al., 1996; Wang, 2006).

CV'de, sabit bir çalışma elektrotuna zamanın bir fonksiyonu olarak üçgen bir potansiyel dalga doğrusal olarak uygulanır. Üçgen uyarma sinyalinde, potansiyel maksimuma kadar ileri taranır ve tarama yönü aynı eğimde ve hızda tersine çevrilerek geri taranır ve bu sırada potansiyele bağlı meydana gelen akım ölçülür (Elgrishi et al., 2017). Birbirini tekrar eden üçgen uyarma sinyalleri, akımı sürekli değişen potansiyelin bir fonksiyonu olarak kaydedilip grafiğe geçirilirse döngüsel voltammogram elde edilir (Şekil 2.4.).

CV'de anodik bölgede ölçülen anodik pik potansiyeli ve anodik pik akımı, katotik bölgede ölçülen katotik pik potansiyeli ve katotik pik akımı voltammogramın parametreleridir.

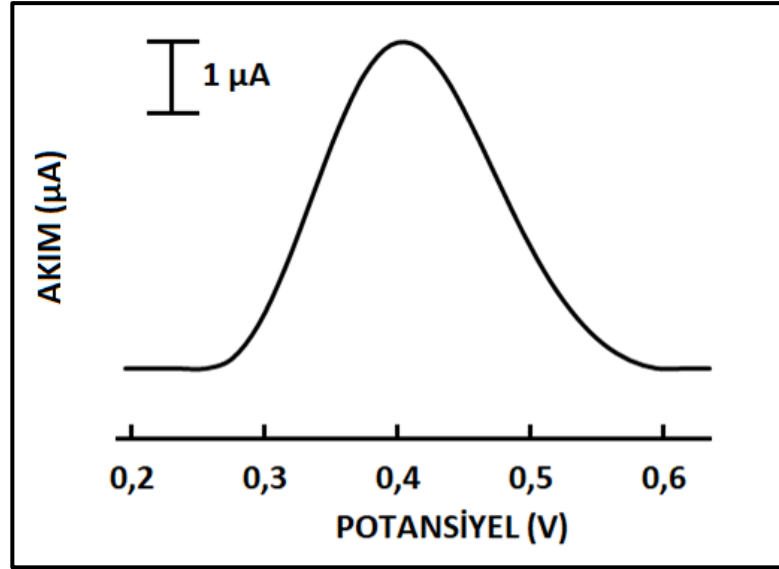


**Şekil 2. 4.** (A) Dönüşümlü voltametrde çalışma elektroduna uygulanan üçgen dalga potansiyelin zamana karşı grafiği. (B) CV voltamogramı; “E<sub>pa</sub>” anodik pik potansiyeli, “I<sub>pa</sub>” anodik pik akım, “E<sub>pc</sub>” katodik pik potansiyeli, “I<sub>pc</sub>” katodik pik akımı.

### 2.1.6.2. Diferansiyel puls voltametrisi

Diferansiyel puls voltametrisi (DPV), organik ve inorganik türlerin eser miktarlarını ölçebilen oldukça kullanışlı bir yöntemdir. Klasik voltametrlere göre tespit limiti 2-3 kat daha düşüktür ve  $10^{-7}$ - $10^{-8}$  M aralığında oldukça hassas ve duyarlı ölçüm yapma kapasitesine sahiptir (Wang, 2006).

DPV’de, çalışma elektroduna doğrusal potansiyel artışı gösteren sabit genlikli pulslar bindirilir. Pulsun düşüşünün bitiminden hemen önce çalışma elektrotuna tekrar aynı büyüklükte bir puls uygulanır. Akım, puls uygulamasından hemen önce ve pulsun ömrünün bitimine yakın bir noktada tekrar ölçülür. Ölçülen iki akım değerinin farkı alınır ve akım farkı ( $\Delta i$ ) doğrusal olarak artan uyarma voltajının bir fonksiyonu olarak kaydedilir ve voltamogram grafiği elde edilir (Şekil 2.5.). Elde edilen diferansiyel eğrinin tepe noktasının yüksekliği analitin konsantrasyonuyla doğrudan orantılıdır (Skoog et al., 1996).



Şekil 2. 5. Diferansiyel puls voltametri voltamogramı.

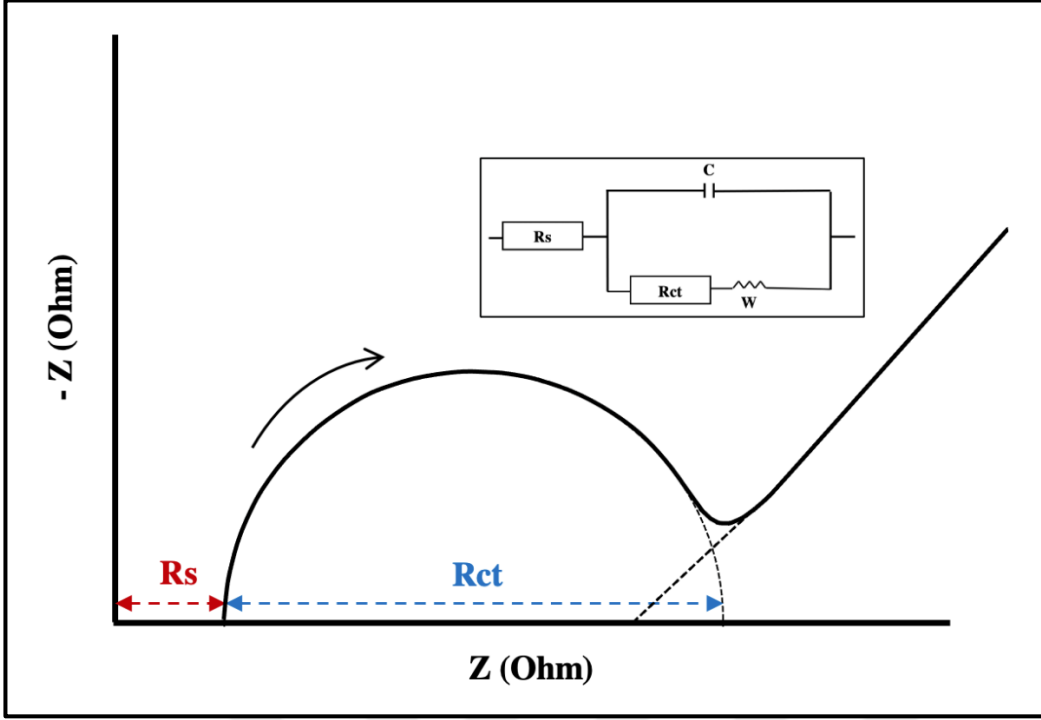
### 2.1.7. Elektrokimyasal empedans spektroskopisi

Elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS), elektrot malzemelerinin elektriksel özelliklerin karakterizasyonu, elektrot ile çözelti ara yüzey özellikleriyle ilgili değişikliklerin izlenmesi ve böylece iletken elektrot yüzeyiyle ilişkili elektrokimyasal dönüşüm ve süreçlerin aydınlatılması amacıyla kullanılan ve oldukça tercih edilen impedimetrik bir yöntemdir (Brett, 2022).

Yük transfer kinetiği ve difüzyon özelliklerine bağlı olarak empedansta meydana gelen değişiklikler gibi ara yüzeyde gerçekleşen olaylar hakkında bilgi elde etmek için EIS tekniği kullanılmaktadır. Empedans, potansiyel-zaman fonksiyonunun  $V(t)$ , akım-zaman  $I(t)$  fonksiyonuna oranı olarak hesaplanır ve gerçek ( $Z'$ ) ve hayali ( $Z''$ ) olmak üzere iki bileşenden oluşur (Chakraborty et al., 2019).

$$Z = Z' - jZ'' \quad (2.1)$$

Denklem (2.1)'de  $Z$  empedansı,  $Z'$  gerçek empedansı,  $Z''$  hayali empedansı ve  $j$  ise  $\sqrt{-1}$ 'i ifade etmektedir. Gerçek empedans ve hayali empedans arasındaki ilişkiyi Niquist eğrisi vermektedir. Şekil 2.6'da Niquist eğrisine örnek verilmiştir.



Şekil 2. 6. Bir elektrokimyasal hücrede EIS ölçümü sonrasında oluşan Nyquist eğrisi.

Empedans, bir devredeki toplam direncin ölçüsü olarak tanımlanır ve Randles eşdeğer devre modeli ile ifade edilir. Randles devresini oluşturan bileşenler elektriksel akıma karşı gösterilen direncin ölçüsü olup bu bileşenler sırasıyla; “ $R_s$ ” çözelti direnci, “ $R_{ct}$ ” transfer edilen yüke karşı oluşan direnç, “ $C$ ” çift katmanlı kapasitans ve “ $W$ ” Warburg empedansından oluşur (Wang, 2006; Lvovich et al., 2007; Orazem et al., 2008).

Nyquist eğrisinde yarım dairenin çapı transfer edilen yüke karşı oluşan dirence eşittir. Warburg empedansını temsil eden lineer bölge ise düşük frekans aralığının karakteristiğidir ve difüzyonla sınırlı işlemi temsil eder. Sistemin yük depolama özelliği ise kapasitansdır. Bu teknik kullanılarak önceden belirlenmiş bir frekans aralığında empedans taraması yapılır.  $R_{ct}$  değerindeki değişimler incelenerek elektrot yüzeyinde meydana gelen etkileşimler yorumlanır.

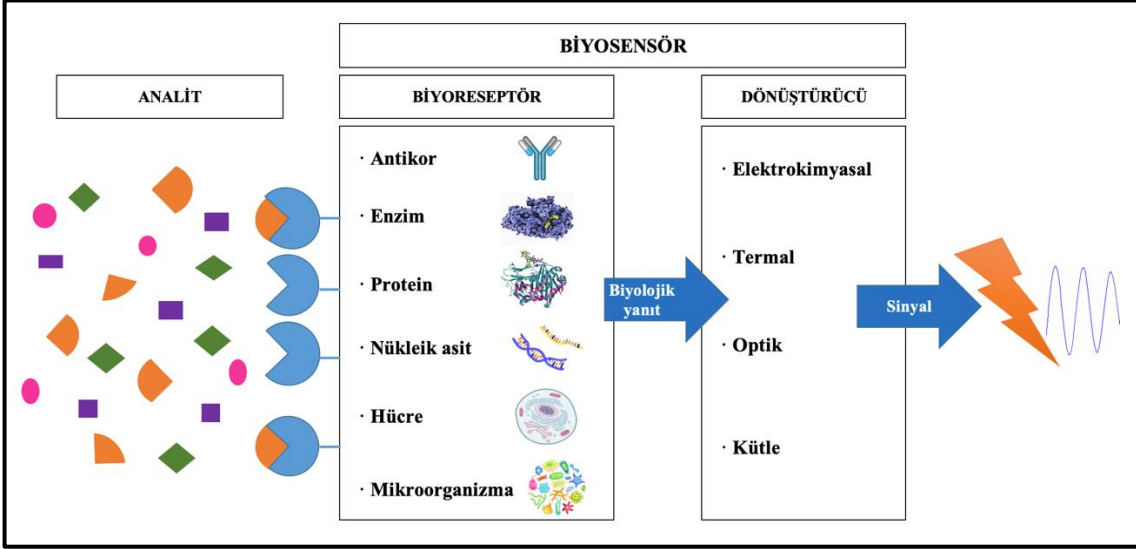
## 2.2. Biyosensörler

Biyosensörler genellikle, iki ana bileşen olan biyokimyasal bir mekanizmanın kullanıldığı tanıma sistemine sahip biyolojik algılayıcı eleman (reseptör, biyoaktif materyal) ve bir fiziko-kimyasal dönüştürücünün (dedektör) iç içe geçmesiyle oluşan küçültülmüş cihazlardır. Biyolojik algılayıcı eleman diğer bir deyişle reseptör, yüksek bir seçiciliğe sahiptir ve analiz edilecek maddeyle (analit) etkileşime girer ve onun tanınmasını sağlar. Seçici olarak etkileşimde bulunan fizikokimyasal dönüştürücüler ise tanıma olayı sonucu meydana gelen biyolojik yanıtların optik, ısı, elektrik gibi sinyallere dönüştürülerek elde edilen verinin okunabilir/ölçülebilir sayısal bir değere dönüşmesini sağlar (Thevenot et al., 1999).

Rutin ve eski yöntemlerin düşük duyarlılık ve düşük seçicilik gibi çeşitli dezavantajları ve sınırlamaları karşısında biyosensörler, kullanım kolaylığı sağlaması, düşük maliyete ve yüksek hassasiyete sahip olması, tekrarlanabilirlik özelliklerinin yüksek olması, minyatürleştirme imkânı, işlem basamak sayısının az olması ve gerçek zamanlı olup hızlı cevap vermesi birçok hastalık için yeni tanı yaklaşımı açmaktadır. Bu nedenle, biyosensörler, son otuz yılda muazzam miktarda faaliyete ışık tutan ve büyük çaplı gelişmelerin kaydedildiği umut vadeden bir araştırma alanı haline gelmeyi başarmıştır (Wang, 2006).

### 2.2.1. Biyosensör çeşitleri

Biyosensörler, biyolojik algılayıcı elamanına ve transduserine göre birçok farklı madde ve sistem içerebilir. Biyoreseptör yapılar, antikor, enzim, protein ve nükleik asit gibi biyolojik moleküllerden veya hücre, organel, doku ve mikroorganizma gibi canlı biyolojik sistemlerden oluşabilir. Fizikokimyasal dönüştürücüler ise sinyal ölçüm sistemlerine göre elektrokimyasal esaslı, optik esaslı, kalorimetrik esaslı, manyetik esaslı ve piezoelektrik esaslı biyosensörler olarak sınıflandırılabilir (Şekil 2.7.).



Şekil 2. 7. Biyosensör bileşenleri ve çalışma şeklinin şematik gösterimi.

Analizi yapılacak biyolojik madde ile etkileşime girecek reseptörün tepkimesi göz önüne alınarak uygun dönüştürücü sisteminin seçimi yapılır. Biyotanıma elemanı ile hedef analitin etkileşim sonucu meydana gelen biyolojik reaksiyonu ölçülebilir elektriksel sinyallere çeviren biyosensörler elektrokimyasal biyosensörler olarak adlandırılır. Elektrokimyasal biyosensörlerin çalışma prensibi, hedef analitin konsantrasyonu ile doğru orantılı olacak şekilde elektrik sinyali üretme üzerine kuruludur (Monosik et al., 2012; Thevenot et al., 1999; Zhang et al., 2003).

### 2.3. Peptidler

Peptidler, canlı organizmalardaki metabolik ve fizyolojik süreçlerde kritik bir rol oynayan proteinlerin yapıtaşısıdır. Peptid, iki veya daha fazla amino asitin peptid bağları ile birbirine bağlanmasıyla oluşan kısa bir amino asit zincir yapısıdır. Peptid bağları, bir amino asidin karboksil grubunun bir diğer amino asitin amino grubuna kovalent bağ ile bağlanmasıyla oluşur ve meydana gelen peptid bağları yüksek sıcaklık gibi proteinlerin yapısını bozacak koşullarda direnç gösterir. Bir peptid zincirinin 10 ile 20 amino asitin bir araya gelmesiyle oluşan yapısına oligopeptid, 20'den fazla amino asitin bir araya gelmesiyle oluşan dallanmış zincir yapısına ise polipeptid denilir (Friedberg et al., 1947).

## 2.4. Alzheimer Hastalığı

Alzheimer Hastalığı (AH), Alman bir nörolog olan Alois Alzheimer tarafından 1907 yılında ilk kez tanımlanmıştır. AH, kognitif (bilişsel) bir hastalık olup beyin hücrelerinin ve nöronların ölmesi sonucu beynin küçülmesine (atrofi) neden olan nörodejeneratif bir bozukluktur. AH, klinik olarak hafıza kaybı ve bilişsel işlev bozuklukları ile karakterize edilen demansın (bunama) en yaygın nedenidir ve yaşlılık hastalığı olduğu için yaşlılarda demans vakalarının %80'inden fazlasını oluşturmaktadır (Anand et al., 2014). Hafıza kaybı ve kognitif bozukluğun yanı sıra dil işlevinde azalma ve sanrılı bozukluklar (paranoya) da hastalığın başka belirtileridir.

Damarsal hastalıklar, pozitif aile öyküsü, kafa travması, metabolik bozukluklar, depresyon geçmişi, kronik stres, tiroit hastalığı, hareketsiz yaşam tarzı, alkol ve benzer toksik maddelerin tüketimi demansın birçok nedenlerinden bazılarıdır. AH, günümüzde dünya çapında 35 milyon kişiyi etkilemekte olup her 20 yılda bir iki katına çıkarak 2030'da 66 milyon ve 2050'de 115 milyon kişiyi etkileyeceği tahmin edilmektedir (Alzheimer's Disease International, 2021; Mishra et al., 2008).

AH, patolojik olarak nöronal dejenerasyon ile karakterize edilir. AH, beynin belirli bölgelerinde, esas olarak, dejenere olan dendrit ve akson gibi nöronal yapılar (distrofik nöritik), hücre içinde nörofibriler yumaklar (NFY) ile çevrili Amiloid-beta ( $A\beta$ ) içeren senil plakların hücre dışında çok fazla birikmesi ile ilişkilidir (Kirschner et al., 1987, Murphy et al., 2021).

Dejenerasyon, beynin hafıza ile ilgili bölümleri olan hipokampus ve entorinal kortekste başlar ve daha sonra dil, akıl yürütme ve sosyal davranışlardan sorumlu olan alanları etkileyerek serebral korteksin geniş alanlarına ulaşarak nöronları ve bağlantılarını yok eder ve beynin birçok bölümü hasar görür (Selkoe, 2000). Hafif hafıza kaybıyla başlayan ve konuşmayı sürdürme ve çevreye yanıt verme yeteneğinin kaybı ile hastanın günlük yaşamını engelleyen bu davranışlar, kişilik ve fonksiyonel kapasitede değişikliklere yol açar. Hastanın, bağımsız olarak yaşama ve işlev görme yeteneği zamanla yavaş yavaş kaybolur. AH'nin kesin

olarak bilinen bir nedeni olmamakla birlikte hastalığı tek başına teşhis edebilecek bir test de bulunmamaktadır. Dolayısıyla belirli bir tedavi yöntemi de bulunmamaktadır. AH'de meydana gelen nöropatolojik ve nörokimyasal olayları anlamadaki önemli ilerlemelere rağmen, yaşlanma ile ilişkili ilerleyici ve bilişsel işlev bozukluğunun patogenezi büyük ölçüde belirsizliğini korumaktadır (Budimir, 2011).

Beyinde hücre dışında biriken senil plakların ana bileşeni olan A $\beta$ , AH'nin patogenezinde kritik bir rol oynar (Hilbich et al., 1991; Morgan et al., 2004; Zhang et al., 2013). Proteinler, hücresel işlev, yapı ve tanıma gibi meydana gelen tüm metabolik reaksiyonlar, canlı organizmalardaki yaşamsal veya biyolojik faaliyetlerin yürütülmesinde hayati önem taşıyan olaylardan sorumludurlar. Çok sayıda biyokimyasal süreç, yüksek dereceli protein yapılarının kararlı ve iyi düzenlenmiş yapılara birleştirilmesine bağlıdır. Bu nedenle, yanlış katlanma ve agregasyonla sonuçlanan protein yapısının düzensizliği, hücresel fonksiyonlarda büyük ölçekli hasara neden olabilir. Kontrolsüz protein agregasyonu nörodejeneratif bozuklukların en büyük nedenidir. Yanlış katlanma ile hastalık başlangıcı arasında net bir bağlantı henüz belirlenmemiştir fakat bu proteinlerin hastalığın ilerlemesine olan etkisi, çeşitli sitotoksik biyokimyasal süreçlerde yer alan zararlı protein agregatların serebral birikiminde açıkça görülmektedir (Chiti et al., 2006).

## 2.5. Amiloid Yapılar

Amiloid, yanlış katlanan proteinlerin bir sınıfıdır. Amiloid terimi, çapraz  $\beta$ -tabaka bakımından zengin yapılar içeren anormal şekilde kümelenen çok çeşitli proteinleri kapsayan ve sitotoksik etkilere neden olan çok daha geniş bir tanıma sahiptir (Veloso et al., 2013). AH, Parkinson Hastalığı, Huntington Hastalığı ve tip II diyabet gibi hastalıklar, A $\beta$  peptidinin, zararlı fibriller agregatlara dönüşmesi ve kendi kendine birleşebilen spesifik proteinlerin düzensizliği ile yakından ilişkilidir (Bucciantini et al., 2004; Kaye et al., 2003).

Normal şartlarda çözünür bir formda bulunan amiloid,  $\beta$ -tabaka alt birimleri arasında anti-paralel olarak  $\pi$ - $\pi$  istiflenmesiyle hızlı ve kendiliğinden birleşerek

konformasyonel değişikliklere uğrar ve yüksek derecede çözünmeyen düzenli fibriler kümeler oluşturur. Ayrıca, bu nörodejeneratif hastalıklar, beyinde fibrillerinin birikmesinin yanı sıra mitokondriyal disfonksiyon, oksidatif hasar, anormal sinyal iletimi, iyon ve metal dishomeostazisi ve hücre ölümü gibi olaylara neden olur (Hardy et al., 2002).

A $\beta$  ile ilişkili nörodejeneratif hastalıklar, hücre içi yumaklar veya hücre dışı amiloid fibril birikintileri olarak ortaya çıkan hastalıklı dokuların yapısal olarak incelenmesiyle (histopatolojik oluşumlarla) teşhis edilir. A $\beta$ , farklı nörodejeneratif hastalıklarda farklı sekanslara sahip olmasına rağmen ara agrega türlerinin, benzer patogenezi mekanizmalarına sebep olan ve  $\beta$ -tabaka bakımından zengin bir hidrofobik çekirdek ve fibril morfolojisi olmak üzere ortak yapısal motiflere sahip olduğu görülmektedir (Bucciantini et al., 2004; Glabe, 2006; Kaye et al., 2003).

AH'nin patogenezi, 40 aminoasit kalıntısına sahip A $\beta$  (1-40) ve 42 aminoasit kalıntısına sahip A $\beta$  (1-42) olan iki ana A $\beta$  peptidinin, amiloid (senil) plaklarda toplanması ve kümeleşmesi ile karakterize edilir. A $\beta$  (1-40) ve A $\beta$  (1-42), amiloid plakların %90'ından fazlasını oluşturduğu bilinmektedir (Chiorcea-Paquim et al., 2018). A $\beta$ , transmembran amiloid öncü proteininin (APP)  $\beta$  ve  $\gamma$  sekretazları tarafından hidrolitik bölünmesiyle normal olarak salgılanan kısa ve yaklaşık 4-kDa olan küçük bir peptiddir. A $\beta$  (1-40) izoformu insan biyolojik sıvılarında A $\beta$  (1-42)'ye göre 9 kat daha fazla bulunur ve baskın olarak çözünen türdür. A $\beta$  (1-40) vücut sıvılarında nispeten bol olsa da A $\beta$  (1-42)'nin C-terminal bölgesinde fazladan bulunan 2 hidrofobik kalıntı (Ile-Ala) bu peptidin hücre dışı plaklarında birikme yatkınlığını çarpıcı biçimde artırır. Dolayısıyla, agregasyona ve fibrillogeneze yüksek eğilime sahip olan A $\beta$  (1-42), daha patojenik olduğu gerçeğini yansıtır (Budimir, 2011; Hou et al., 2004).

Monomerik olan endojen doğal A $\beta$ , çapraz ikincil  $\beta$ -tabaka bakımından zengin yapıların kendi kendine birleşme (self-assembly) sürecinin vasıtasıyla yüksek düzeyde düzenli ve çözünmez kümelere yeniden düzenlenebilir. A $\beta$ 'nin monomerik, çözünür rastgele bobin ve  $\beta$ -sarmal konformasyonundan fibriller

agregatlara dönüşme işlemi, küresel oligomerler ve protofibriller dahil olmak üzere çok sayıda moleküler ağırlığı düşük yapıların (örneğin dimerler, trimerler ve tetramerler) ara ürün olarak oluşumunu kapsar (Chiorcea-Paquim et al., 2018).

Yapılan son çalışmalar, fibril oluşum sürecindeki ara ürünleri temsil eden çözünür amiloid oligomerlerinin, büyük kümeler halinde biriken olgun fibrillerden ziyade AH'nin patogenezinde birincil olarak sorumlu olabileceğini ileri sürmüştür. (Bucciantini et al., 2004; Glabe, 2006). Bazı araştırmalar gerçekten de geçici ve kararsız olan oligomerik ara ürünlerin; fibrillerden 10 kat, monomerlerden ise 40 kat daha toksik olduğunu kanıtlamıştır. Diğer çalışmalarda, A $\beta$ 'nin çözünür oligomerik formların/türlerin (pre-fibriller), daha çok kümelenmiş olgun fibrillerden veya protofibrillerden ziyade en toksik türler olduğunu göstermiştir (Budimir, 2011). Bu yüzden, oligomerlerin oluştuğu erken kümelenme aşamalarının karakterizasyonu AH'nin erken aşama tespitinde çok kritiktir.

Pre-fibriller evrelerdeki değişikliklerin saptanması için son derece hassas, uygun maliyetli yöntemlerin geliştirilmesi, özellikle potansiyel bir terapötik strateji olarak bu evreleri inhibe edebilecek bileşiklerin tanımlanması için yararlı olacaktır. Ayrıca, oligomerik ara maddelerin, çoğunlukla düşük kararlı durumdaki konsantrasyonları ve bu geçici türlerin kararsızlığı, tespit edilmesinde büyük sınırlamalar teşkil etmektedir ve bu durum AH için klinik tedavilerin geliştirilmesi için önemli bir hedef haline gelmiştir.

Son yıllarda, A $\beta$  peptidini tespit etmek ve fibriler polimerik agregatlara geçişini izlemek için çeşitli yöntemler kullanılmıştır. Gelişmiş ekipmanlar, yüksek uzmanlık ihtiyacı, karmaşık işlemler ve düşük tespit limitinin zorluğu nedeniyle, nörogörüntüleme, spektroskopik yöntemler (CD, Raman ve FTIR) (Schweitzer-Stenner, 2007; Yu et al., 2018), tioflavin T gibi optik olarak aktif problemler (Maezawa et al., 2008; Wolfe et al., 2010) yüzey karakterizasyonu sağlayan cihazlar (DLS, AFM ve TEM) (Harper et al., 1997), enzim bağlantılı immünosorbent tahlili (ELISA) (Englund et al., 2007) ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi kullanılan geleneksel yöntemler A $\beta$ 'yi tespit etse de

sürecinin izlenmesinde yeterli değildir ve henüz hasta başı tanı cihazları uygulamaya sokulamamıştır.

Diğer bir taraftan, AH'ye yol açan amiloid agregasyonunun erken evrelerinin izlenmesinde ve tespitinde A $\beta$  temelli elektrokimyasal biyosensörlerin geliştirilmesi; yüksek hassasiyeti, tayin süresi, uygun maliyeti, kararlılığı, düşük tespit limitleri gibi avantajlarından dolayı önem arz etmektedir.

## **2.6. Peptid Tayinine Yönelik Elektrokimyasal Biyosensörler ve Uygulamaları**

Son on beş yılda AH'nin klinik tanı ve tedavisi için yapılan çalışmalar büyük ilgi görmektedir ve gün geçtikçe artmaktadır. Literatürde farklı stratejiler kullanılarak yapılan birçok A $\beta$  peptid temelli elektrokimyasal biyosensör çalışması mevcut olup Tablo 2.1'de yapılan çalışmalardan bazıları özetlenmiştir.

42 amino asitten meydana gelen insan A $\beta$  (1-42) peptidinin içerdiği beş potansiyel elektroaktif (redoks-aktif) amino asit kalıntısının doğrudan saptanması elektrokimyasal analizine yönelik bir yöntemdir. Bu elektroaktif beş amino asit kalıntısı arasında Tirozin (Tyr) en yüksek yükseltgenme tepe akımına sahiptir (Suprun et al., 2015). Chikae ve arkadaşlarının 2008 yılında yaptığı bir çalışmada (Chikae et al., 2008), altın nano parçacık modifiye perde baskılı grafen elektrota sakkarit türevlerinin immobilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Hedef analit olarak A $\beta$  (1-40) ve A $\beta$  (1-42) peptidlerinin geliştirilen biyosensör ile etkileşimi, DPV kullanılarak Tyr oksidasyon sinyali üzerinden incelenmiştir. Yapılan bu çalışmada, Tyr aminoasidi A $\beta$  agregasyonuna duyarlı bir elektroaktif etiket görevi göstermiştir. 2014 yılında yapılan başka bir çalışmada Rushworth ve arkadaşları (Rushworth et al., 2014), hücrel prion protein modifiye altın perde baskılı elektrot ile A $\beta$  (1-42) oligomerlerinin hassas tayinini gerçekleştirebilen impedimetrik biyosensör rapor etmişlerdir.

**Tablo 2. 1.** A $\beta$  peptid temelli elektrokimyasal biyosensör çalışmaları.

Peptid	Elektrot	Modifikasyon	Ölçüm Yöntemi	Tayin Sınırı (LOD)	Kaynaklar
A $\beta$ (1-42)	SPGE	pDAN	CV SWV DPV	1,4 pg mL <sup>-1</sup>	Abbasi et al., 2021
A $\beta$ (1-42)	Altın elektrot	AuNP/MPA	SWV	5,2 pg/mL	Carneiro et al., 2017
A $\beta$ (1-40) A $\beta$ (1-42)	SPCE	AuNP/Sakkarit	CV DPV	-	Chikae et al., 2008
A $\beta$ (1-40)	GCE	-	SWV	-	Geng et al., 2008
A $\beta$ (1-42) A $\beta$ (1-16)	CPE	CNT	SWV	-	Hung et al., 2012
A $\beta$ O	CFP	AuPt	CV DPV	0,16 pg/mL	Liu et al., 2021
A $\beta$ (1-42)	Au disk elektrot	MGN	DPV	0,2 pg/mL	Negahdary et al., 2019
A $\beta$ O	Ni köpük elektrot	poli(kurkumin-Ni)	CV EIS	0,001 nM	Qin et al., 2018
$\beta$ A peptidi	GCE	CS-aCNT-AuNP	CV DPV	0,87 pg mL <sup>-1</sup>	Ranjan et al., 2022
A $\beta$ O	Au SPE	POPA	CV	~0,5 pM	Rushworth et al., 2014

			EIS		
A $\beta$ (1-16) rA $\beta$ (1-16)	SPCE	-	CV SWV	0,5 $\mu$ M	Suprun et al., 2015
A $\beta$ (1-16)	SPCE	-	SWV	-	Suprun et al., 2016
A $\beta$ (1-40) A $\beta$ (1-42)	SPCE	-	CV DPV	-	Veloso et al., 2009
A $\beta$ (1-42)	SPCE	-	SWV	-	Veloso et al., 2013
A $\beta$ (1-40) A $\beta$ (1-42)	GCE	-	CV DPV SWV	0,7 $\mu$ g/mL	Vestergaard et al., 2005

**Kısaltmalar:** Peptid: A $\beta$ O:  $\beta$ -amiloid oligomer,  $\beta$ A: beta amiloid, rA $\beta$ : sıçan  $\beta$ -amiloidi. Elektrot çeşitleri: SPE: perde baskılı elektrot, CFP: karbon fiber kâğıt, SPGE: perde baskılı grafen elektrot, GCE: camsı karbon elektrot, SPCE: perde baskılı karbon elektrot, CPE: karbon pastası elektrot. Modifikasyonda kullanılan malzemeler: MGN: mikro gözenekli altın nano yapı, PrPC: hücrel prion proteini, poli(kurkumin-Ni): kurkumin-nikel polimerizasyonu, AuPt: Altın-platin alaşımı, AuNP: altın nanoparçacık, MPA: merkaptopropiyonik asit, pDAN: elektropolimerize 1,5-diaminonaftalen, CS: kitosan, aCNT: hizalanmış karbon nanotüp, CNT: karbon nanotüp, POPA: politiramin/3-(4-hidroksifenil) propiyonik asit. Ölçüm yöntemi: DPV: diferansiyel puls voltametri, CV: dönüşümlü voltametri, EIS: elektrokimyasal empedans spektroskopisi, SWV: kara dalga voltametri.

## 2.7. A $\beta$ ve Metal İyonları Arasındaki İlişki

İleri evre Alzheimer hastalarının amiloid plakları incelendiğinde agregatların içeriğinde yüksek konsantrasyonlarda Bakır (Cu), Çinko (Zn), Alüminyum (Al) ve Demir (Fe) gibi bir takım geçiş metallerinin varlığına rastlanmıştır. Bu nedenle, AH'nin patolojisinde değişen metal homeostazının kritik bir rolü oynayabileceğine dair güçlü kanıtlar vardır. Çünkü, metal iyonları beyinde, oksidatif strese aracılık ederek protein katlanma süreçlerini hızlandırıp

amiloid agregat konformasyonlarının oluşmasına neden olarak toksisiteye ve nörodejenerasyonun ilerlemesine aracılık ederler (Breydo et al., 2011; Jiang et al., 2012). Oksidatif strese neden olan reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi, Cu(II) veya Zn(II) gibi redoks aktif metallerinin arasında meydana gelen reaksiyonlar sonucu gerçekleşir.

Geçiş metal iyonları, A $\beta$  (1-42) peptidinde bulunan üç adet Histidin amino asidi ile yüksek afinite göstererek metal-A $\beta$  (1-42) koordinasyonunu gerçekleştirir (Bush, 2008). Bu nedenle, klinik tanı ve tedavi için metal kaynaklı amiloid agregasyon kinetiği ve toksik oligomer oluşumunun ayrıca bunların AH ile ilişkisini hızlı, düşük maliyetli ve hassas bir şekilde saptanmasına yönelik çalışmalar ilgi çekicidir. Tablo 2.2’de literatürde A $\beta$  peptidleri ve metal iyonları etkileşimine yönelik yapılan elektrokimyasal biyosensör çalışmalar özetlenmiştir.

**Tablo 2. 2.** A $\beta$  peptidleri ve metal iyonları etkileşimine yönelik elektrokimyasal biyosensör çalışmaları.

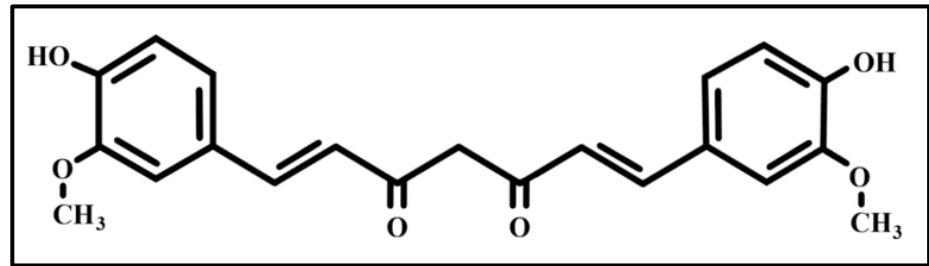
Peptid	Elektrot	Ölçüm Yöntemi	Metal	Tayin Sınırı (LOD)	Kaynaklar
A $\beta$ (1-40)	GCE	SWV	Zn(II), Cu(II)	-	Geng et al., 2008
A $\beta$ (1-42) A $\beta$ (1-16)	CPE	SWV	Cu(II), Zn(II), Fe(II)	-	Hung et al., 2012
A $\beta$ (1-16) rA $\beta$ (1-16)	SPCE	CV SWV	Zn(II), Cu(II), Mg(II), Ca(II)	0,5 $\mu$ M	Suprun et al., 2015
A $\beta$ (1-16)	SPCE	SWV	Zn(II)	-	Suprun et al., 2016
A $\beta$ (1-40) A $\beta$ (1-42)	GCE	CV DPV SWV	Zn(II), Cu(II), Fe(II)	0,7 $\mu$ g/mL	Vestergaard et al., 2005

**Kısaltmalar:** Peptid: rA $\beta$ : sıçan  $\beta$ -amiloidi. Elektrot çeşitleri: SPCE: perde baskılı karbon elektrot, GCE: camlı karbon elektrot, CPE: karbon pastası elektrot. Ölçüm yöntemi: CV: dönüşümlü voltametri, SWV: kare dalga voltametri, DPV: diferansiyel puls voltametri. Metaller: Zn(II): çinko, Cu(II): bakır, Mg(II): magnezyum, Fe(II): demir.

## 2.8. Kurkumin

Kurkumin, zerdeçal bitkisinin sarı pigmentinden doğal yollarla üretilen bir polifenoldür. Hindistan'ın geleneksel tıp tekniği Ayurveda'da "vücut temizleyici" olarak yüzyıllardır birçok alanda yaygın olarak kullanıldığı bilinmektedir (Hatcher et al., 2008). Kurkumin, günümüzde de anti-kanser, anti-oksidan, antimikrobiyal, anti-amiloid, anti-trombotik, anti-inflamatuar, anti-diyabetik, anti-biyotik, yara iyileştirme, anti-inflamatuar ve anti-viral dahil olmak üzere birçok farmakolojik özelliğe sahip terapötik bir ajan olması nedeniyle ilgi görmektedir (Anand et al., 2007; Lim et al., 2011; Menon et al., 2007; Ramsewak et al., 2000; Ruby et al., 1995).

Son on yılda yapılan çalışmalarda, kurkuminin farmakolojik aktif bileşenlere sahip bir molekül olarak proteinler dahil çeşitli biyomoleküllere bağlanabilme yeteneği ortaya çıkmıştır. Özellikle, yapılan *in-vitro* çalışmalarda kurkuminin anti-amiloid özelliği sayesinde A $\beta$  agregasyonunu inhibe etme yeteneği ileri sürülerek AH üzerinde yararlı etkileri raporlanmıştır (Caesar et al., 2012; Mishra et al., 2008; Ringman et al., 2005; Thapa et al., 2016; Yanagisawa et al., 2021; Yang et al., 2005).



Şekil 2. 8. Kurkuminin kimyasal yapısı.

Kurkuminin kimyasal yapısında bulunan benzen halkaları üzerindeki simetrik iki fenolik ve metoksi gruplarının Van der Waals kuvvetleri ve  $\pi$ - $\pi$  istifleme gibi hidrofobik etkileşimleri sayesinde A $\beta$  peptidindeki aromatik kalıntılar ile etkileşime girdiği bilinmektedir. Bu etkileşimler, amiloid  $\beta$  tabakalarının yapısının bozulmasına neden olarak amiloid agregasyonun bloke

edilmesini, plak gelişiminin bozulmasını ve toksisitesinin azaltılmasını sağlayabilmektedir (Kumaraswamy et al., 2013; Ono et al., 2004).

Literatürde kurkuminle yapılan çalışmalar, kurkumindeki 1,3-diketon yapısı sayesinde kurkuminin  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  gibi geçiş metal iyonları ile kolayca şelatlanarak kompleksler oluşturabildiğini göstermektedir (Ferrari et al., 2014; Dinesh et al., 2017; Khorasani et al., 2019). Kurkumin, keto-enol tautomerleşmesini sağlayan 1,3-diketon yapısı sayesinde ve geçiş metal iyonlarıyla kompleks oluşturmak için enolik hidroksil gruplarının deprotonasyonu nedeniyle iyi bir ligand özelliği gösterdiği bildirilmiştir (Borsari et al., 2002). Elektrot modifikasyonunda kullanılan kurkumin-bakır kompleksinin elektron transferini kolaylaştırdığı rapor edilmiştir (Bard, 2010). Kurkuminin bu benzersiz yapısal özellikleri onu koordinasyon kimyası ve metal iyonu algılamada çeşitli uygulamalar için cazip bir aday haline getirmektedir. Örneğin, elektroaktif bir özelliğe sahip olan kurkumin iki metoksi fenol grubu ve keton grubu içemesi alkali koşullar altında serbest radikaller aracılığıyla elektrot yüzeyine polimerize olarak elektrot verimliliğini arttırabilmektedir. Kurkuminin metal iyonlarına olan afinitesi göz önüne alınarak metaller ile kompleksinin elektrot yüzeyine kaplanması, modifiye edildiği elektrotların elektrokimyasal performansını arttırdığı rapor edilmiştir (Ciszewski et al., 2003; Devadas et al., 2014; Khorasani et al., 2019; Majdi et al., 2007; Qin et al., 2018). Ayrıca, polimer-metal modifiye elektrotların hazırlanmasının kolay olduğu ve daha tekrarlanabilir sonuçlar verdiği de bildirilmiştir.

Ciszewski ve arkadaşları 2003 yılında yaptıkları bir çalışmada döngüsel voltametri tekniğini kullanarak kurkumin-nikel bazlı kimyasal olarak modifiye edilmiş döner disk elektrodun (poli-Ni(II)kurkumin) karakterizasyonunu göstermiştir (Ciszewski et al., 2003). 2017 yılında, Dinesh ve arkadaşları Cu(II)-kurkumin modifiye camı karbon elektrot (Cu-kurkumin/GCE) kullanarak 4-nitrofenolün elektrokimyasal tayinini gerçekleştirmiştir. Cu-kurkumin/GCE'nin karakterizasyonu döngüsel voltametri ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi ile gösterilmiştir (Dinesh et al., 2017). 2014 yılında Devadas ve arkadaşları, polikurkumin modifiye camı karbon elektrot kullanarak epinefrin ve *p*-asetoaminofenol tayini için elektrokimyasal yöntem tabanlı voltametrik bir

teknik rapor etmiştir (Devadas et al., 2014). Çeşitli amino asitlerin (alanin, *L*-arginin, *L*-fenilalanin, *L*-lizin ve glisin) elektrokatalitik oksidasyonu, Majdi ve arkadaşları tarafından geliştirilen döngüsel voltametri, kronoamperometri ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi teknikleri kullanılarak camsı karbon elektrot yüzeyine modifiye edilmiş bir poli-Ni(II)-kurkumin filmi kullanılarak araştırılmıştır (Majdi et al., 2007).

Literatürde amino asitler, proteinler ve peptidler gibi biyomoleküllerin tayini için geliştirilmiş çeşitli elektrokimyasal çalışmalar bulunmaktadır (Qin et al., 2018; Majdi et al., 2007; Yaralı et al., 2020; Erdem et al., 2014). Kurkuminin elektroaktif yapısı ve A $\beta$ 'ye olan afinitesi göz önüne alınarak A $\beta$  tayininde kullanılmak üzere kurkumin-metal kompleks bazlı elektrokimyasal sensör uygulamaları AH'nin erken evre teşhisinde umut vaat etmektedir. Qin ve arkadaşlarının 2018 yılında yaptıkları bir çalışmada, amiloid  $\beta$  oligomerinin belirlenmesi için Ni köpük substrat üzerinde kurkumin-Nikel elektropolimerize poli(kurkumin-Ni) elektrot ile impedimetrik yöntemle dayalı bir elektrokimyasal biyosensör geliştirmiştir. Poli(kurkumin-Ni) bazlı elektrot kullanılarak yapılan impedimetrik ölçümler sonucunda 0,001-5 nM aralığında A $\beta$ O konsantrasyonları ile orantılı değişen bir empedans yanıtı gözlenmiştir. (Qin et al., 2018).

A $\beta$ , kurkumin ve metal iyon üçlüsünün herbirinin birbirine olan afinitesi göz önüne alındığında A $\beta$  tayininde kullanılmak üzere kurkumin-metal kompleks modifiye elektrot geliştirilmesi AH'nin tayinine uygulanabilme potansiyeline sahiptir. Tez çalışmasında, kurkumin-bakır kompleksinin elektropolimerizasyonu, döngüsel voltametri (CV) kullanılarak bir kalem grafit elektrot (PGE) üzerinde gerçekleştirilmiş ve ardından A $\beta$  (1-42)'nin poli(Kur)-Cu(II) kompleksi ile etkileşmesi, elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) tekniği kullanılarak araştırılmıştır.



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Kullanılan Cihazlar

Tez çalışması kapsamında yapılan deneylerde kullanılan cihazlar, ekipmanlar ve yazılımlar aşağıda verilmiştir.

Potansiyostat (AUTOLAB- PGSTAT 204, FRA 2 modülü, NOVA 1.11 programı; Eco Chemie, Hollanda)

Çalışma elektrodu (Kalem grafit elektrot; Kalem: Rotring; kalem ucu: Tombow 0,5 HB)

Referans elektrot (Ag/AgCl, BAS, Model RE-5B, W. Lafayette, ABD)

Yardımcı elektrot (Platin tel)

Faraday kafesi

Terazi (Mettler Toledo AB204-S)

pH metre (Orion 420A)

Vorteks (Biosan V1)

Termal karıştırıcı ( Biosan TS 100)

Manyetik karıştırıcı (Biosan MS 3000)

#### 3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Amiloid  $\beta$  Proteini (A $\beta$ ) (1-42), Bachem, Almanya

Bakır (II) klorür dihidrat (CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O), Merck

Nikel (II) klorür hegzahidrat ( $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), Merck

Alüminyum (III) klorür hegzahidrat ( $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), Merck

Kurkumin, Sigma-Aldrich

Potasyum hegzasiyanoferrat (II) trihidrat, Sigma

Potasyum hegzasiyanoferrat (III), Sigma

Sodyum klorür ( $\text{NaCl}$ ), Sigma

Potasyum klorür ( $\text{KCl}$ ), Sigma

Sodyum Hidroksit ( $\text{NaOH}$ ), Sigma

Asetik Asit (%99-100), Merck

Hidroklorik asit (%37), Merck

Ultrasaf su

### **3.2.1. A $\beta$ (1-42) peptidinin aminoasit dizisi**

A $\beta$  (1-42) peptidi, Bachem (Almanya) firmasından satın alınmıştır. İlgili firma tarafından A $\beta$  (1-42) hakkında verilen bilgiler Tablo 3.1'de yer almaktadır.

**Tablo 3. 1.** A $\beta$  (1-42) peptidinin aminoasit dizisi.

<b>A<math>\beta</math> (1-42) Aminoasit Dizisi</b>	ASP, ALA, GLU, PHE, ARG, HIS, ASP, SER, GLY, TYR, GLU, VAL, HIS, HIS, GLN, LYN, LEU, VAL, PHE, PHE, ALA, GLU, ASP, VAL, GLY, SER, ASN, LYS, GLY, ALA, ILE, GLY, LEU, MET, VAL, GLY, GLY, VAL, VAL, ILE, ALA
<b>A<math>\beta</math> (1-42) Aminoasit Dizi Kısaltması</b>	DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA
<b>A<math>\beta</math> (1-42) Peptidinin Moleküler Formülü</b>	C <sub>203</sub> H <sub>311</sub> N <sub>55</sub> O <sub>60</sub> S <sub>1</sub>

### 3.2.2. Kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

Tampon çözeltiler ultra saf su kullanılarak hazırlanmıştır. Cam şişeler içerisinde muhafaza edilerek buzdolabında +4°C’de saklanmıştır.

#### 0,50 M asetat tampon (ABS) çözeltisinin hazırlanışı (pH: 4,8)

0,5 M asetat tampon çözeltisinin hazırlanması için 1 litre saf su içerisinde 28,9 mL asetik asit ve 1,168 g NaCl (0,02 mol) çözüldü. Çözeltinin pH'sinin 4,8 değerine ulaşması için 0,1 M HCl ve/veya 0,1 M NaOH ilave edilerek pH metre ölçümü ile ayarlanmıştır.

#### 0,05 M fosfat tampon (PBS) çözeltisinin hazırlanışı (pH: 7,4)

0,05 M fosfat tampon çözeltisinin hazırlanması için 1 litre ultra saf su içerisinde 1,36 g (0,01 mol) KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 6,96 g (0,04 mol) K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ve 1,168 g NaCl (0,02 mol) çözüldü. Çözeltinin pH'sinin 7,4 değerine ulaşması için 0,1 M HCl ve/veya 0,1 M NaOH ilave edilerek pH metre ölçümü ile ayarlanmıştır.

### **2,5 mM redoks probu çözeltisinin hazırlanışı**

CV ve EIS ölçümlerinde kullanılacak redoks probu, 200 mL saf su içerisinde 2,5 mM  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$  ve 0,1 M KCl içerecek şekilde hazırlanmıştır.

### **3.2.3. PGE yüzey modifikasyonunda kullanılan çözeltilerin hazırlanışı**

#### **3.2.3.1. Kurkumin çözeltisinin hazırlanışı**

10 mM Kurkumin, 0,1 M NaOH çözeltisi içerisinde karıştırılarak hazırlanmıştır.

#### **3.2.3.2. Metal çözeltilerinin hazırlanışı**

Bakır klorür dihidrat, nikel klorür heksahidrat ve alüminyum klorür heksahidrat ultrasaf su içerisinde karıştırılarak hazırlanmıştır.

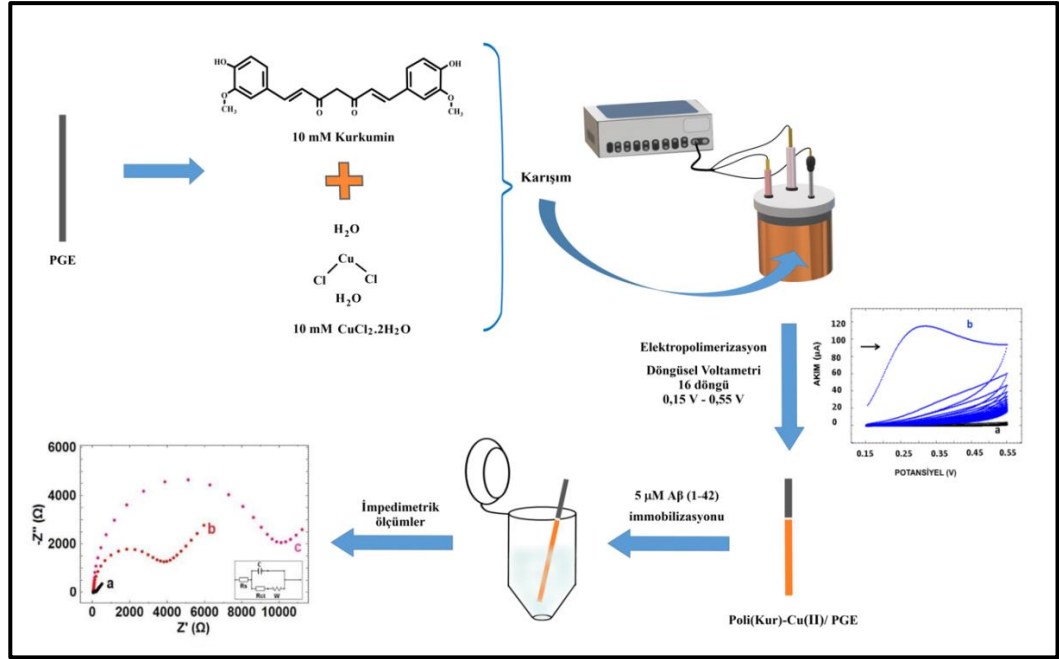
#### **3.2.4. A $\beta$ (1-42) çözeltisinin hazırlanışı**

A $\beta$  (1-42) çözeltisi 1 mM konsantrasyonda DMSO içerisinde sonike edilerek hazırlanmıştır ve -20°C'de dondurularak saklanmıştır. Stok çözeltilerden yapılan seyreltmeler PBS kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

### **3.3. Kullanılan Yöntem**

Deneysel prosedürün uygulaması Şekil 3.1'de verilmiştir.

- i.** PGE'nin elektrokimyasal aktivasyonu
- ii.** PGE üzerinde kurkumin-metal kompleksinin elektropolimerizasyonu
- iii.** Kurkumin-metal kompleks modifiye edilmiş PGE yüzeyinde A $\beta$  (1-42) immobilizasyonu



**Şekil 3. 1.** Elektrokimyasal Aβ (1-42) tayinine yönelik geliştirilen peptid temelli impedimetrik biyosensöre ait deneysel prosedürü özetleyen şema.

### 3.3.1. Kalem grafit elektrotların (PGE) hazırlanışı

Çalışma boyunca kullanılan tek kullanımlık kalem grafit elektrotlar (PGE), Tombow kalem uçlarının 3,0 cm olarak kesilmesi ile kullanıma uygun hale getirilmiştir.

Kalem grafit elektrotların aktivasyonu, ABS tamponu (pH: 4,8) içerisinde 30 saniye süresince +1,4 V potansiyel uygulanarak gerçekleştirilmiştir.

### 3.3.2. PGE yüzeyinde kurkuminin elektropolimerizasyonu (poli(Kur)/PGE)

Kurkumin elektropolimerizasyonu, CV tekniği kullanılarak +0,15 V ile +0,55 V potansiyel aralığında, 100 mV/s tarama hızıyla, 16 döngüde gerçekleştirilmiştir (Devadas et al., 2014). Kurkumin ile modifiye edilmiş kalem grafit elektrot (PGE) 10 dakika boyunca kurumaya bırakılmıştır.

### 3.3.3. PGE yüzeyinde kurkumin-bakır kompleksinin elektropolimerizasyonu

Kurkumin-Cu(II) kompleksinin elektropolimerizasyonu, CV tekniği kullanılarak +0,15 V ile +0,55 V potansiyel aralığında, 100 mV/s tarama hızıyla, 16 döngüde gerçekleştirilmiştir.

### 3.3.4. Kurkumin-bakır kompleks elektropolimerize PGE yüzeyine A $\beta$ (1-42) immobilizasyonu

Kurkumin-Cu(II) kompleksi elektropolimerize PGE (poli(Kur)-Cu(II)/PGE) 5  $\mu$ M konsantrasyonda A $\beta$  (1-42) çözeltisine daldırılmıştır ve 30 dakika boyunca bekletilerek immobilizasyonu gerçekleştirilmiştir.

## 3.4. Voltametrik Ölçümler

Elektrotların elektrokimyasal karakterizasyonu, 0,1 M KCl içeren 2,5 mM Fe(CN) $_6^{3-}$ /Fe(CN) $_6^{4-}$  redoks prob çözeltisinde döngüsel voltametri (CV) tekniği kullanılarak incelenmiştir. CV, 50 mV'luk bir puls genliğinde -0,5 V ile +1 V potansiyel aralığında 50 mV/s'lik tarama hızında gerçekleştirilmiştir.

Ayrıca, diferansiyel puls voltametri (DPV) 50 mM PBS (pH: 7,40) içinde, 50 mV puls genliğinde 0,00 V ile +1,45 V potansiyel aralığında 50 mV/s tarama hızıyla gerçekleştirilmiştir.

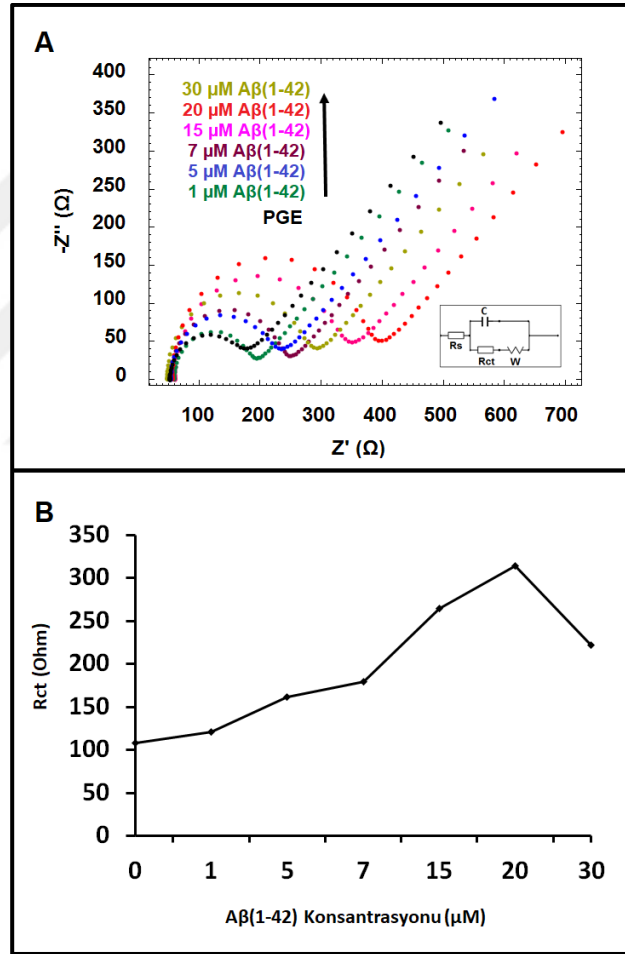
## 3.5 Empedans Ölçümleri

Poli(Kur)-Cu(II)/PGE'nin elektrokimyasal karakterizasyonu elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) tekniği ile gerçekleştirilmiştir. Bu ölçümler 0,1 M KCl içeren 2,5 mM Fe(CN) $_6^{3-}$ /Fe(CN) $_6^{4-}$  redoks prob çözeltisinde gerçekleştirilmiştir. Randles devresi içindeki elementlerin değerleri NOVA fitting programı (sürüm 1.11, EcoChemie, Hollanda) kullanılarak belirlenmiştir. İlgili yarım dairenin çapı transfer edilen yüke karşı oluşan direnci (R<sub>ct</sub>) temsil etmektedir.

## 4. BULGULAR

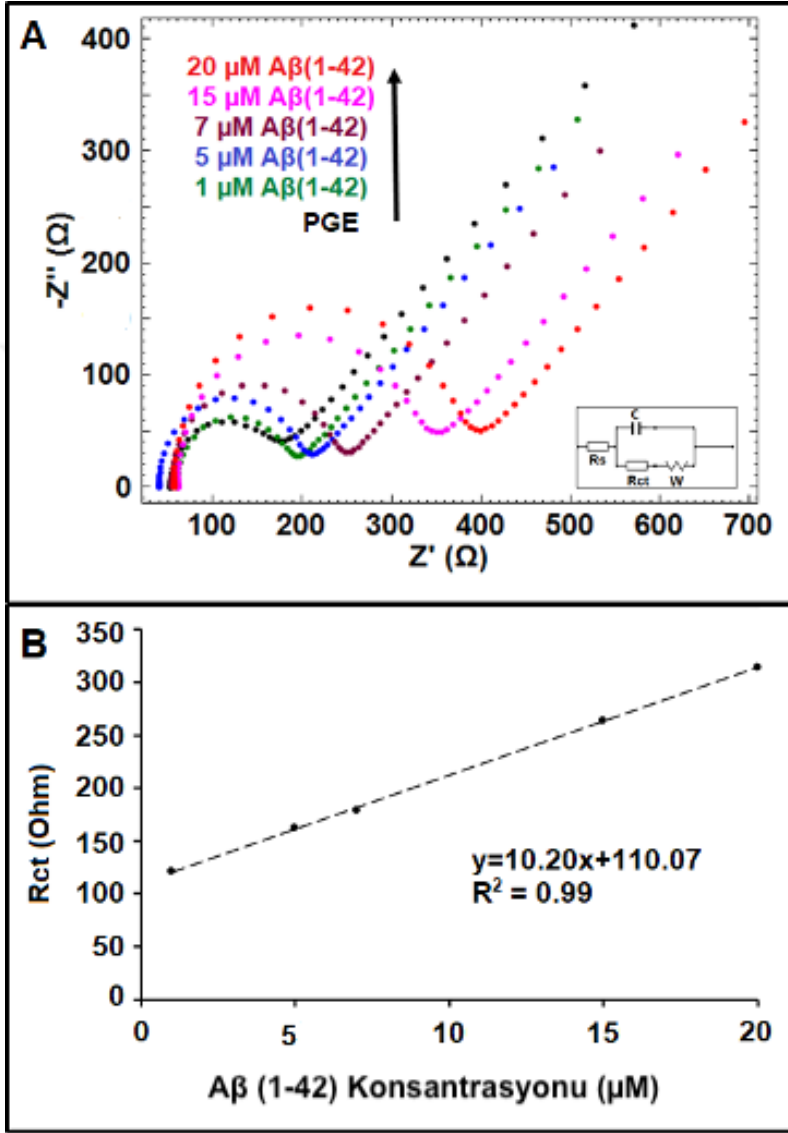
### 4.1. PGE Yüzeyinde A $\beta$ (1-42) Tayinine Yönelik Bulgular

1 ile 30  $\mu$ M konsantrasyon aralığında değişen A $\beta$  (1-42)'nin PGE yüzeyine immobilizasyonu gerçekleştirilmiştir. A $\beta$  (1-42)'nin elektrotta immobilizasyonu sonrasında elektrotlar ile redoks probu çözeltisinde EIS tekniği ile gerçekleştirilen ölçümlerden elde edilen Niquist eğrileri ve elde edilen Rct değerleri ile oluşturulmuş çizgi grafiği Şekil 4.1'de verilmiştir.



**Şekil 4. 1.** (A) PGE yüzeyinde farklı konsantrasyonlarda A $\beta$  (1-42) immobilizasyonu sonrası EIS ölçümlerinden elde edilen Niquist diyagramları. (B) PGE yüzeyinde farklı konsantrasyonlarda A $\beta$  (1-42) immobilizasyonu sonrasında yapılan EIS ölçümlerinden elde edilen Rct değerlerine dayalı çizgi grafiği. **İç şekil:** Empedans verilerini düzenlemede kullanılan eşdeğer devre modeli. Rs, çözelti direnci; Rct, elektrot/elektrolit ara yüzeyindeki yük transfer direnci; Sabit faz element W, elektrot yüzeyinde kütle transferinden kaynaklanan Warburg empedansı.

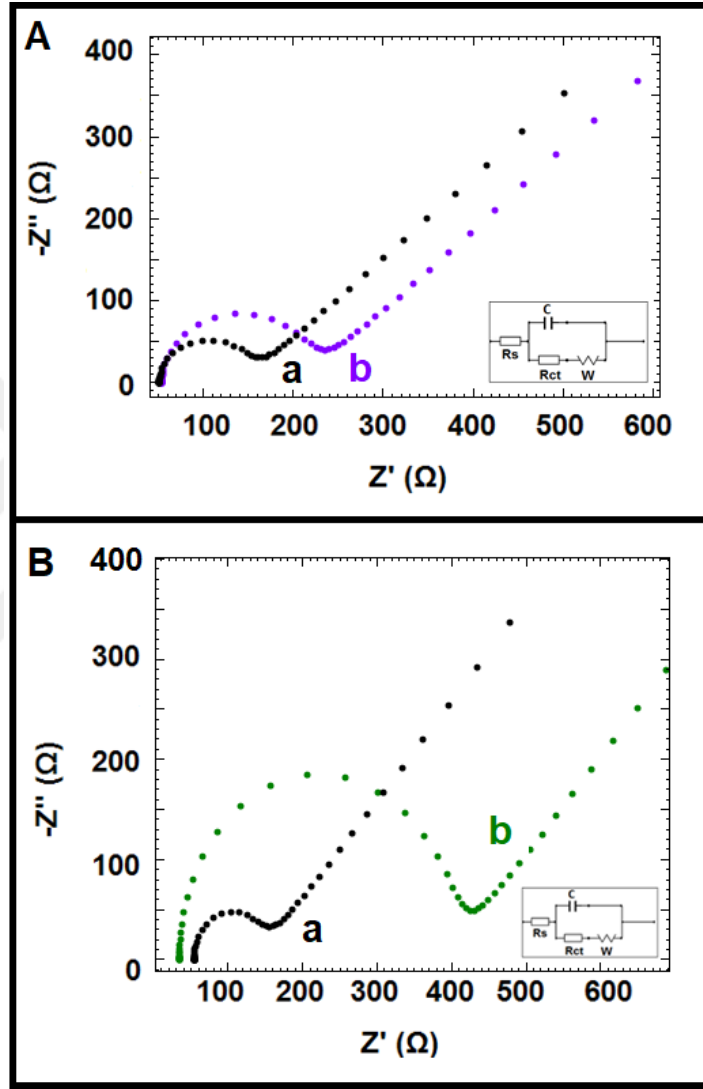
A $\beta$  (1-42)'nin 1  $\mu$ M, 5  $\mu$ M, 7  $\mu$ M, 15  $\mu$ M ve 20  $\mu$ M konsantrasyonlarında PGE yüzeyine immobilizasyonu sonrasında impedimetrik ölçümlere ait Niquist diyagramları ve ölçülen Rct değerini temsil eden kalibrasyon grafiği Şekil 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4. 2. (A) PGE yüzeyinde farklı konsantrasyonlarda A $\beta$  (1-42) immobilizasyonu sonrası ölçümlerden elde edilen Niquist diyagramları. (B) PGE yüzeyinde 1 ila 20  $\mu$ M arasında değişen farklı konsantrasyon seviyelerinde A $\beta$  (1-42) immobilizasyonu sonrası ölçümlerden elde edilen Rct değerini temsil eden kalibrasyon grafiği.

## 4.2. Elektrot Yüzeyine A $\beta$ (1-42) İmmobilizasyonunun Sıcaklık ile İlişisine Yönelik Bulgular

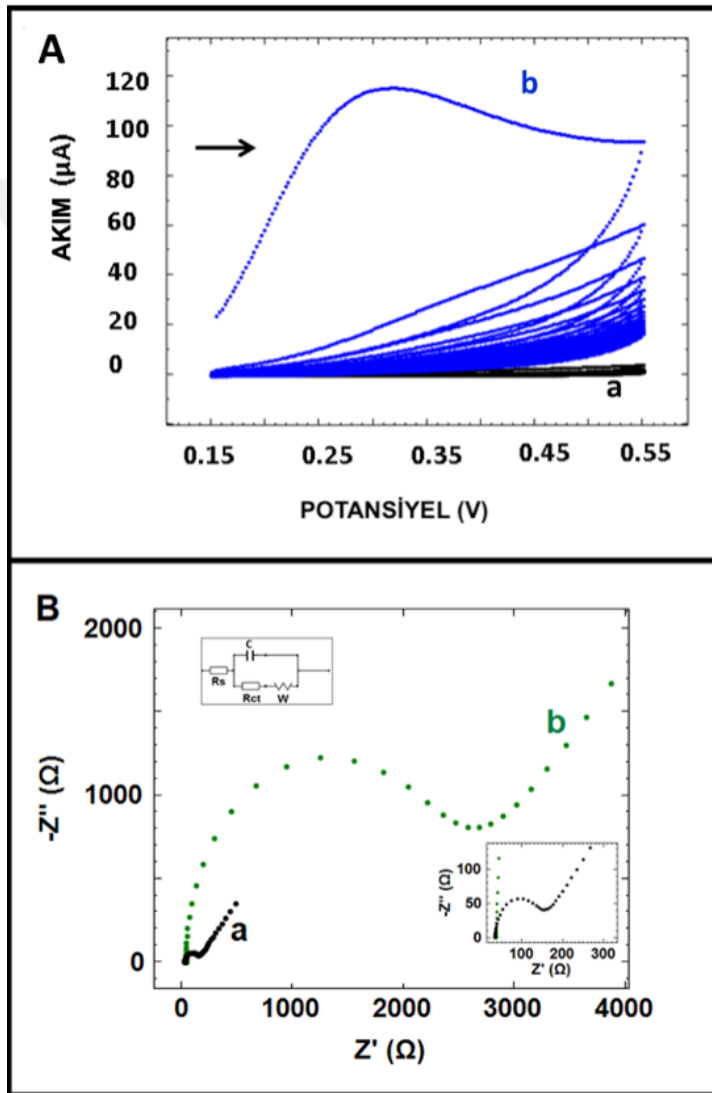
A $\beta$  (1-42)'nin PGE yüzeyindeki immobilizasyonu 4°C ve 37°C sıcaklık koşulları altında incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.3'te gösterilmiştir.



Şekil 4. 3. A $\beta$  (1-42)'nin farklı sıcaklık değerlerinde elektrot yüzeyine immobilizasyonunu gösteren Niquist diyagramları. (A) 4°C (a) PGE (b) A $\beta$  (1-42)/PGE. (B) 37°C (a) PGE, (b) A $\beta$  (1-42)/PGE.

### 4.3. PGE Yüzeyine Kurkumin Elektropolimerizasyonunun Elektrokimyasal Karakterizasyonuna Yönelik Bulgular

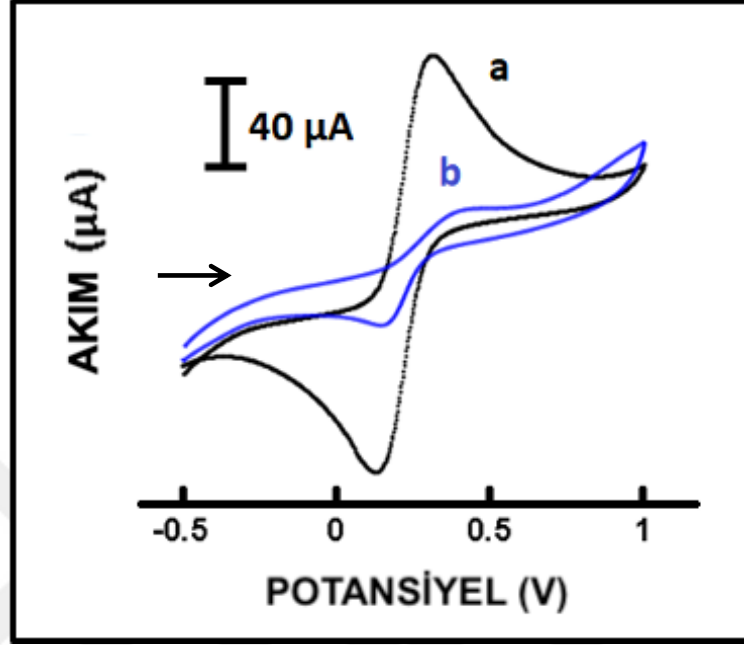
Yöntem 3.3.2’de anlatıldığı gibi, kurkuminin PGE yüzeyine modifikasyonu, CV tekniği kullanılarak elektropolimerizasyon işlemi ile gerçekleştirilmiştir. PGE yüzeyine kurkuminin elektropolimerizasyonu sonrası elde edilen sonuçlar Şekil 4.4’te verilmiştir.



Şekil 4. 4. (A) (a) PGE (b) 5 mM poli(Kur)/PGE’ye ait döngüsel voltammogramlar. (B) (a) PGE (b) 5 mM poli(Kur)/PGE’yi temsil eden Niquist diyagramları.

CV yöntemi ile gerçekleştirilen kurkuminin elektrot yüzeyine polimerizasyonunun elektrokimyasal karakterizasyonu Şekil 4.5’te gösterilmiştir.

PGE ve poli(Kur)/PGE elektrotlarına ait anodik ( $I_a$ ) ve katodik ( $I_c$ ) pik akımı ile anodik bağıl yük ( $Q_a$ ) ve katodik bağıl yükün ( $Q_c$ ) ortalama değerleri ve hesaplanan yüzey alanı ( $A$ ) değerleri Tablo 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4. 5. (a) PGE (b) Poli(Kur)/PGE 2,5 mM redoks prob çözeltisinde elde edilen CV ölçümlerine ait voltammogramlar.

**Tablo 4. 1.** PGE ve poli(Kur)/PGE ile ölçülen anodik pik akımı ( $I_a$ ) ve katodik pik akımı ( $I_c$ ) ile anodik bağıl yük ( $Q_a$ ) ve katodik bağıl yükün ( $Q_c$ ) ortalama değerleri ( $n=3$ ) ve yüzey alanları ( $\text{cm}^2$ ).

Elektrotlar	$I_a$ ( $\mu\text{A}$ ); % RSD	$I_c$ ( $\mu\text{A}$ ); % RSD	$Q_a$ (mC); % RSD	$Q_c$ (mC); % RSD	Yüzey Alanı ( $\text{cm}^2$ )
PGE	$104,35 \pm 3,32$ ; % 3,18	$99,61 \pm 3,72$ ; % 3,74	$1,36 \pm 0,07$ ; % 5,20	$1,34 \pm 0,07$ ; % 5,28	0,253
Poli(Kur)/PGE	$10,60 \pm 2,75$ ; % 25,92	$18,52 \pm 9,58$ ; % 51,76	$0,45 \pm 0,02$ ; % 4,44	$0,30 \pm 0,02$ ; % 5,15	0,026

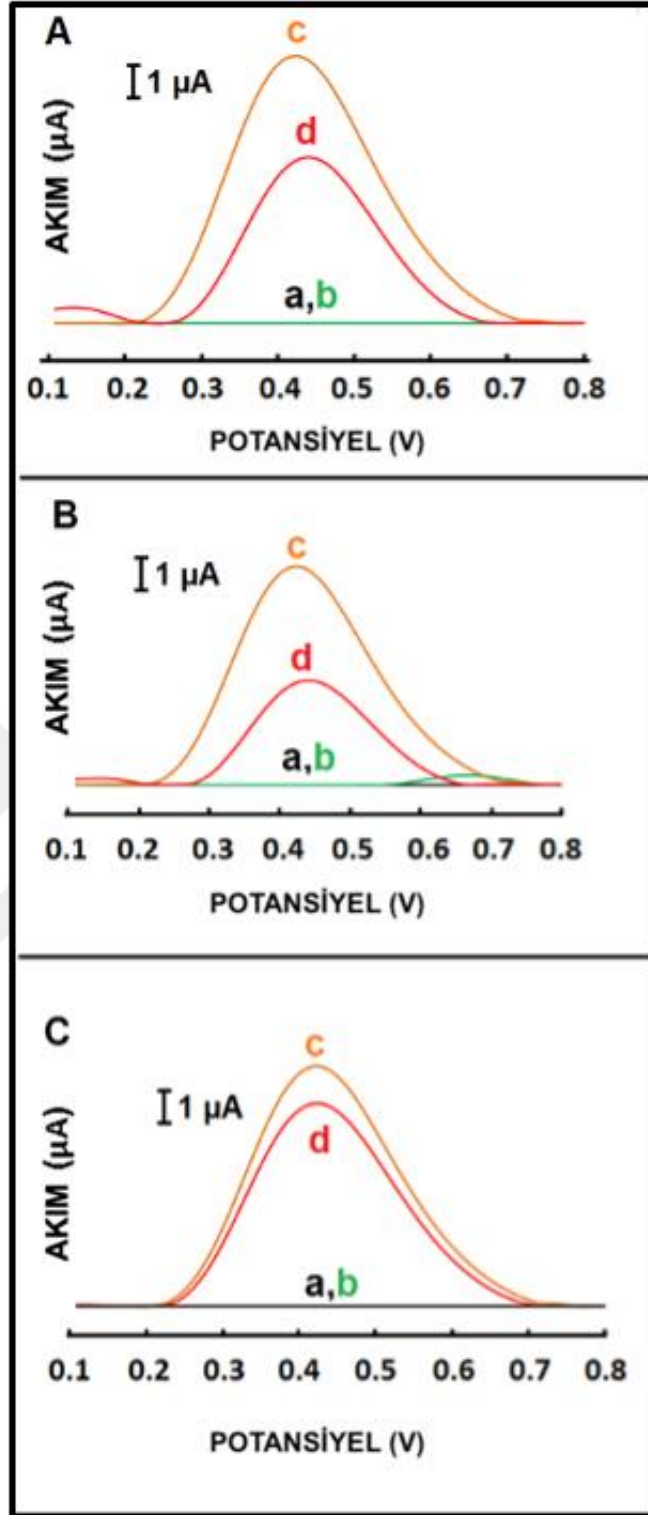
#### 4.4. Kurkumin ve Metal Kompleksinin Etkileşimine Yönelik Bulgular

3 farklı metal ( $\text{AlCl}_3$ ,  $\text{CuCl}_2$ ,  $\text{NiCl}_2$ ) ve kurkumin arasındaki etkileşim elektrokimyasal yöntemle dayalı incelenmiştir. 5 mM kurkumin ve 5 mM metal 1:1 oranında karıştırılarak hazırlanmıştır. PGE üzerine kurkumin-metal kompleksinin elektropolimerizasyonu sonrası DPV tekniği ile PBS tamponunda ölçümler alınmıştır. Kurkumin-Al(III), kurkumin-Cu(II) ve kurkumin-Ni(II) kompleks yapılarının PGE yüzeyinde elektropolimerizasyonu sonrasında elde edilen sonuçlar Şekil 4.6 ve Tablo 4.2'de verilmiştir.

Poli(Kur)/PGE'ye kıyasla kurkumin ile her bir metal arasındaki etkileşim sonrası % değişim değerleri, Denklem (4.1)'e göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Değişim} = \frac{I_x - I_y}{I_x} \times 100 \quad (4.1)$$

Denklem (4.1)'de  $I_x$  poli(Kur) elektropolimerize PGE'nin ölçüm sonrasında elde edilen ortalama akım değerini,  $I_y$  ise poli(Kur) ile metal arasındaki etkileşim sonrasında elde edilen ortalama akım değerini temsil etmektedir.



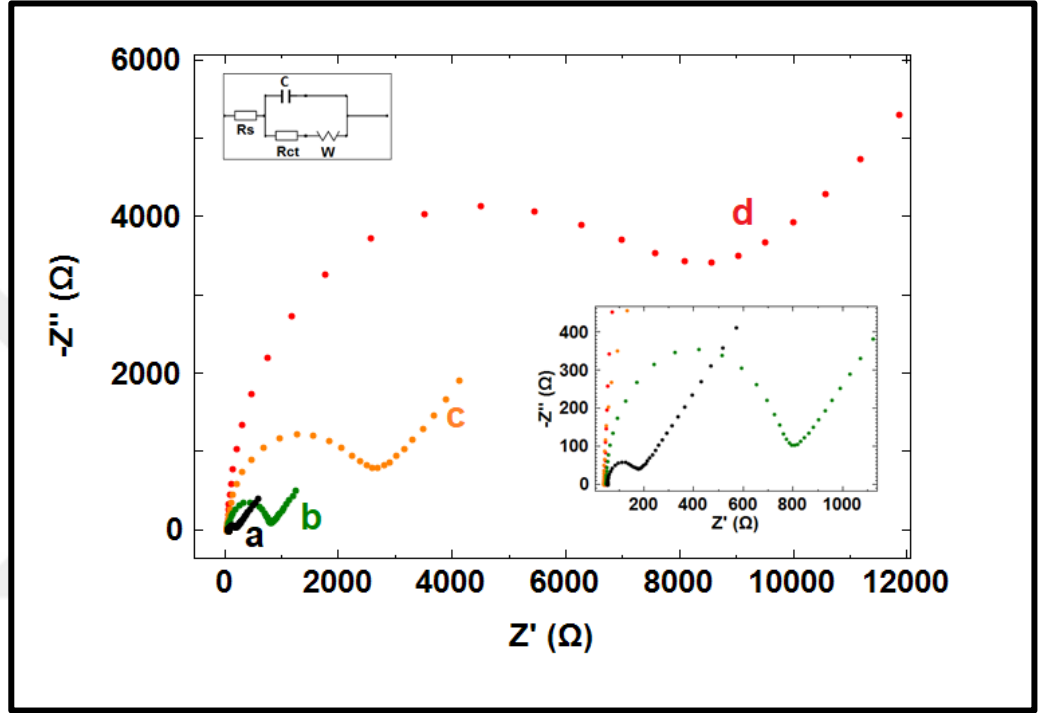
**Şekil 4. 6.** (A) (a) PGE (b) Al(III)/PGE (c) Poli(Kur)/PGE (d) Poli(Kur)-Al(III)/PGE. (B) (a) PGE (b) Cu(II)/PGE (c) Poli(Kur)/PGE (d) Poli(Kur)-Cu(II)/PGE. (C) (a) PGE (b) Ni(II)/PGE (c) Poli(Kur)/PGE (d) Poli(Kur)-Ni(II)/PGE sinyallerine ait voltammogramlar.

**Tablo 4. 2.** Kurkumin, metal ve kurkumin-metal etkileşimleri sonrası ölçülen pik potansiyelleri, ortalama akım değerleri (n=3) ve % değişimleri.

<b>Elektrotlar</b>	<b>Pik Potansiyeli (V)</b>	<b>Ortalama akım değeri (nA); % RSD</b>	<b>Değişim (%)</b>
<b>PGE</b>	+ 0,63 V	Sinyal yok	
<b>Poli(Kur)/PGE</b>	+ 0,45 V	7103,67 ± 226,73; % 3,19	
<b>Al(III)/PGE</b>	+ 0,63 V	382,67 ± 86,26; % 22,54	
<b>Poli(Kur)-Al(III)/PGE</b>	+ 0,43 V	4234,67 ± 528,95; % 12,49	% 40,38 azalış (0,6 kat)
<b>Cu(II)/PGE</b>	+ 0,66 V	294,33 ± 47,08; % 15,99	
<b>Poli(Kur)-Cu(II)/PGE</b>	+ 0,43 V	3338,33 ± 170,94; % 5,12	% 53,01 azalış (2,1 kat)
<b>Ni(II)/PGE</b>	+ 0,63 V	88,67 ± 28,50; % 32,14	
<b>Poli(Kur)-Ni(II)/PGE</b>	+ 0,43 V	6838,33 ± 673,55; % 9,85	% 3,74 azalış (0,96 kat)

#### 4.5. Poli(Kur)-Cu(II)/PGE Yüzeyinde A $\beta$ (1-42)'nin İmpedimetrik Tayinine Yönelik Bulgular

5 mM kurkumin-Cu(II) kompleksinin elektropolimerizasyonu PGE yüzeyinde gerçekleştirilmiş ve EIS ölçümü alınmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.7 ve Tablo 4.3'te sunulmuştur.



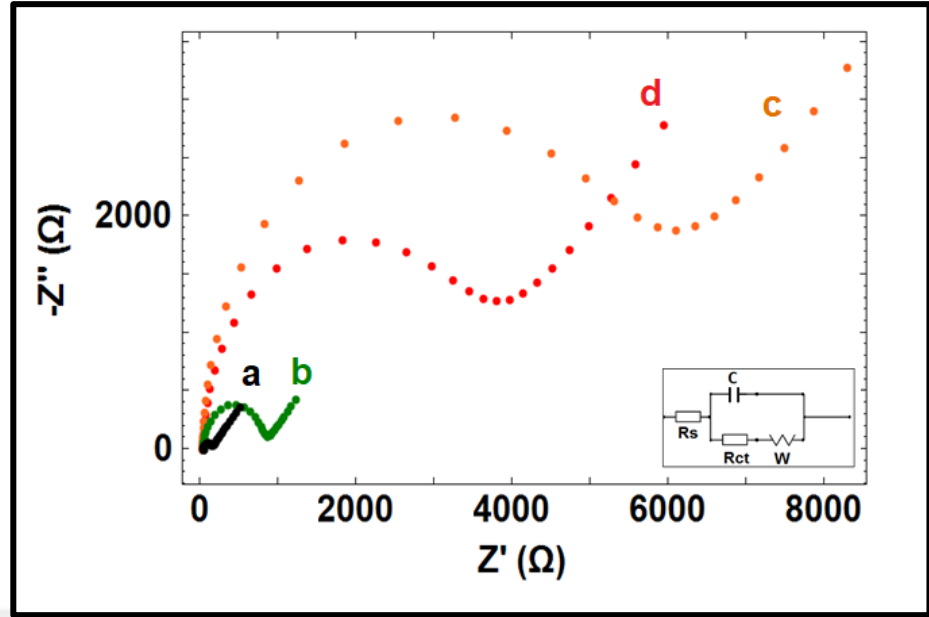
Şekil 4. 7. (a) PGE (b) 5 mM Cu(II) varlığında elektropolimerize edilen PGE (c) 5 mM kurkumin varlığında elektropolimerize edilen PGE (d) 5 mM:5mM oranında hazırlanan poli(Kur)-Cu(II) elektropolimerize PGE'ye ait elde edilen Niquist diyagramları.

**Tablo 4. 3.** PGE, Poli(Kur)/PGE, Cu(II)/PGE ve Poli(Kur)-Cu(II)/PGE ile ölçülen ortalama Rct değerleri (n=3) ve % değişimleri.

<b>Elektrotlar</b>	<b>Ortalama Rct değeri (Ohm); % RSD</b>
<b>PGE</b>	81,37 ± 15,71; % 19,30
<b>Poli(Kur)/PGE</b>	2085,00 ± 261,63; % 12,55
<b>Cu(II)/PGE</b>	729,00 ± 46,67; % 6,40
<b>Poli(Kur)-Cu(II)/PGE</b>	8565,00 ± 1788,98; % 20,89

#### **4.6. Farklı Konsantrasyonlarda Kurkumin-Bakır Etkileşimlerine Yönelik Bulgular**

Kurkumin ve Cu(II) arasındaki etkileşim çalışmaları farklı konsantrasyon oranlarında (5:5, 5:10, 10:5 ve 10:10 mM:mM) gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.8 ve Tablo 4.4'te sunulmuştur.



Şekil 4. 8. (a) PGE (b) 10 mM Cu(II) varlığında elektropolimerize edilen PGE (c) 10 mM kurkumin varlığında elektropolimerize edilen PGE (d) 10 mM:10 mM poli(Kur)-Cu(II) elektropolimerize PGE 2,5 mM redoks probu içinde elde edilen Niquist diyagramları.

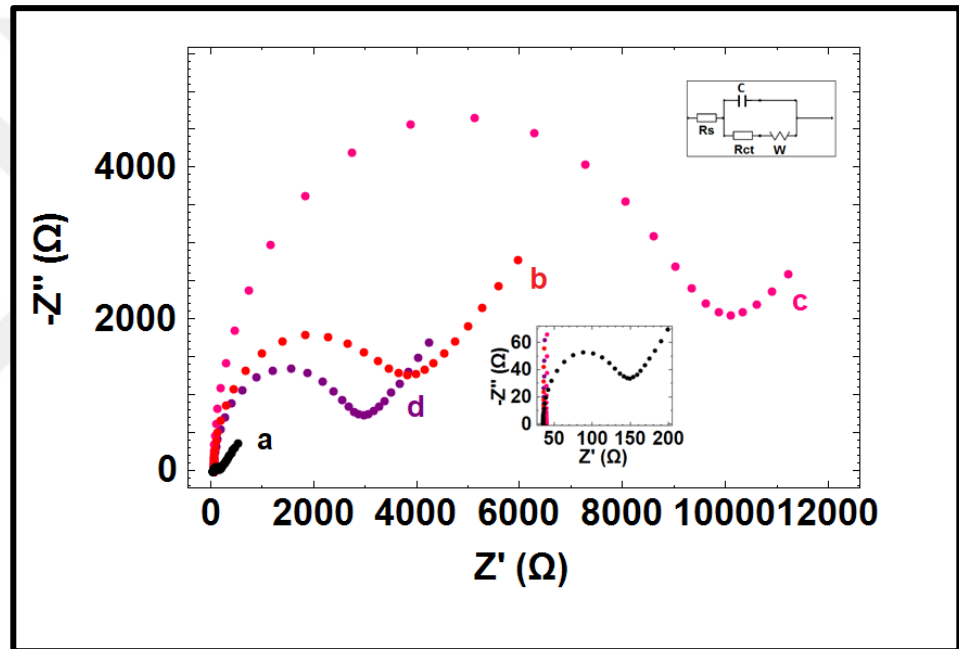
**Tablo 4. 4.** Farklı konsantrasyonlarda kurkumin ile Cu(II) etkileşimleri sonrası ölçülen ortalama Rct değerleri, % RSD (n=2) ve % değişimleri.

<b>Kurkumin:Cu(II)</b>	<b>PGE</b>	<b>Poli(Kur)/ PGE</b>	<b>Cu(II)/ PGE</b>	<b>Poli(Kur)- Cu(II)/PGE</b>	<b>Poli(Kur)/ PGE ile karşılaştırıl dığıında % değişim</b>	<b>Cu(II)/PGE ile karşılaştırıldı ğında % değişim</b>
<b>5 mM:5mM</b>	81,37 ± 15,71; % 19,30	2085,00 ± 261,63; % 12,55	729,00 ± 46,67; % 6,40	8565,00 ± 1788,98; % 20,89	% 310,79 artış (4,10 kat)	% 1074,90 artış (11 kat)
<b>5mM:10mM</b>	81,37 ± 15,71; % 19,30	2085,00 ± 261,63; % 12,55	640,50 ± 205,77; % 32,13	1790,00 ± 28,28; % 1,58	% 14,15 azalış (0,86 kat)	% 179,47 artış (2,8 kat)
<b>10mM:5mM</b>	81,37 ± 15,71; % 19,30	5875,00 ± 841,46; % 14,32	729,00 ± 46,67; % 6,40	3460,00 ± 2630,44; % 76,02	% 41,11 azalış (0,6 kat)	% 374,62 artış (4,7 kat)
<b>10mM:10mM</b>	81,37 ± 15,71; % 19,30	5875,00 ± 841,46; % 14,32	640,50 ± 205,77; % 32,13	2845,00 ± 629,33; % 22,12	% 51,57 azalış (0,5 kat)	% 344,18 artış (4,4 kat)

#### 4.7. Poli(Kur)-Cu(II)/PGE Yüzeyinde Farklı Sıcaklıklarda A $\beta$ (1-42) İmmobilizasyonun İncelenmesine Yönelik Bulgular

10 mM:10 mM konsantrasyon oranındaki kurkumin-Cu(II) elektropolimerize PGE yüzeyine 5  $\mu$ M A $\beta$  (1-42) immobilizasyonu 4°C ve 37°C olmak üzere farklı sıcaklıklarda 30 dakika süreyle gerçekleştirilmiştir. Farklı sıcaklıklarda yapılan

A $\beta$  (1-42) immobilizasyonu çalışmaları sonrasında elde edilen sonuçlar Şekil 4.9 ve Tablo 4.5'te verilmiştir.



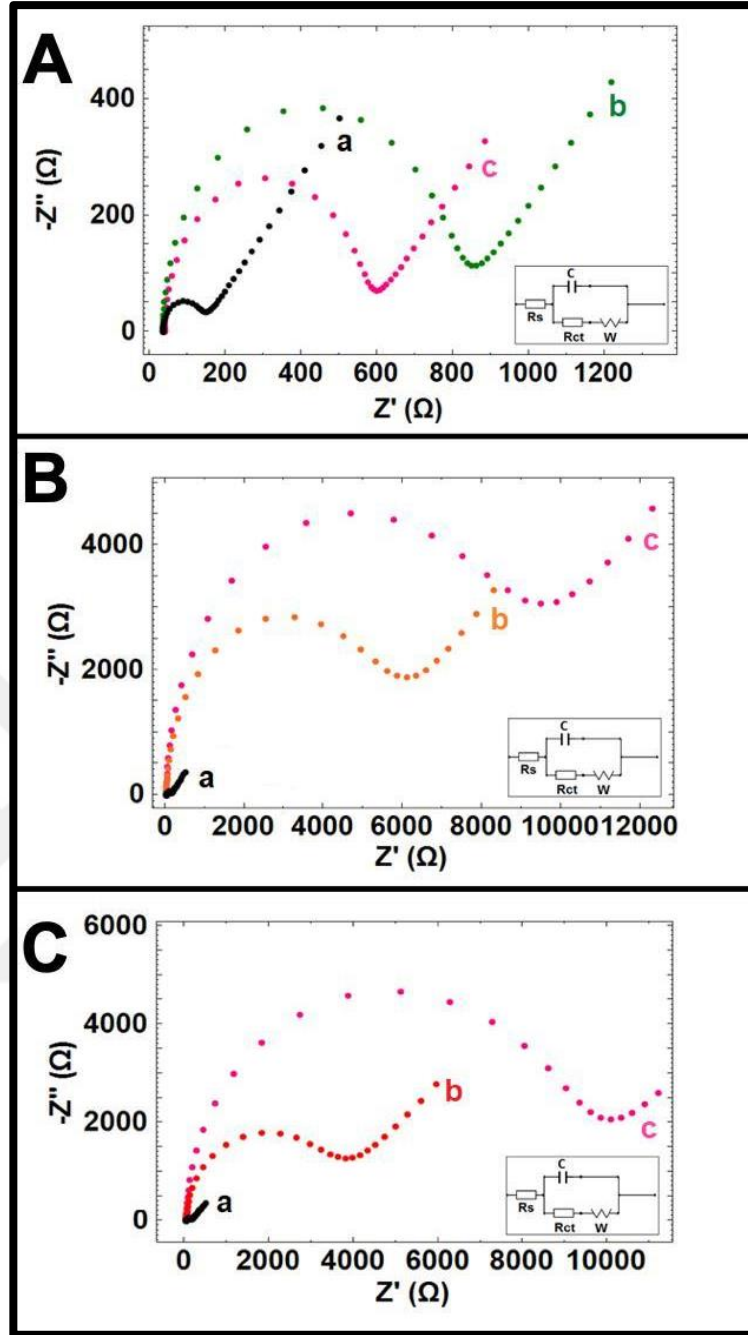
Şekil 4. 9. (a) PGE (b) Poli(Kur)-Cu(II)/PGE (c) 4°C'de 5  $\mu$ M A $\beta$  (1-42) immobilize poli(Kur)-Cu(II)/PGE (d) 37°C'de 5  $\mu$ M A $\beta$  (1-42) immobilize poli(Kur)-Cu(II)/PGE 2,5 mM redoks probu içinde elde edilen Niquist diyagramları.

**Tablo 4. 5.** Poli(Kur)-Cu(II)/PGE yüzeyinde 4°C ve 37°C sıcaklıklarında A $\beta$  (1-42) immobilizasyonu sonrası ölçülen ortalama Rct değerleri (n=2) ve % değişimleri.

Elektrotlar	Ortalama Rct değeri (Ohm); % RSD	5 $\mu$ M A $\beta$ (1-42) immobilizasyonu sonrası % değişimi
Poli(Kur)-Cu(II)/PGE	2845,00 $\pm$ 629,33; % 22,12	
4°C'de 5 $\mu$ M A $\beta$ (1-42) immobilize poli(Kur)- Cu(II)/PGE	7745,00 $\pm$ 1746,55; % 22,55	% 172,23 artış (2,7 kat)
37°C'de 5 $\mu$ M A $\beta$ (1-42) immobilize poli(Kur)- Cu(II)/PGE	2125,00 $\pm$ 615,18; % 28,95	% 25,31 azalış (0,7 kat)

#### 4.8. Poli(Kur)-Cu(II) Kompleksinin A $\beta$ (1-42) ile Etkileşimine Yönelik Bulgular

A $\beta$  (1-42)'nin Cu(II)/PGE, poli(Kur)/PGE ve poli(Kur)-Cu(II)/PGE yüzeylerine immobilizasyonu sonrası biyosensör yanıtı impedimetrik yöntemle incelenmiştir. 5  $\mu$ M A $\beta$  (1-42), elektrot yüzeylerine 4°C'de 30 dakika boyunca immobilize edilmiştir. Elektrot yüzeyine 5  $\mu$ M A $\beta$  (1-42) immobilizasyonu sonrasında elde edilen Niquist diyagramları Şekil 4.10'da gösterilmiştir. Görünür kısmi kaplama ( $\theta_{IS}^R$ ) (Janek et al., 1998) A $\beta$  (1-42) immobilize edilmiş poli(Kur)/PGE ve poli(Kur)-Cu(II)/PGE için ayrı ayrı hesaplanmıştır . Elde edilen sonuçlar Tablo 4.6'da verilmiştir.



**Şekil 4. 10.** (A) (a) PGE (b) Cu(II)/PGE (c) 5  $\mu\text{M}$  A $\beta$  (1-42) immobilize Cu(II)/PGE. (B) (a) PGE (b) Poli(Kur)/PGE (c) 5  $\mu\text{M}$  A $\beta$  (1-42) immobilize poli(Kur)/PGE. (C) (a) PGE (b) Poli(Kur)-Cu(II)/PGE (c) 5  $\mu\text{M}$  A $\beta$  (1-42) immobilize poli(Kur)-Cu(II)/PGE 2,5 mM redoks probu içinde elde edilen Niquist diyagramları.

**Tablo 4. 6.** Poli(Kur)/PGE, Cu(II)/PGE ve poli(Kur)-Cu(II)/PGE yüzeylerinde A $\beta$  (1-42) ile etkileşimi öncesi ve sonrası ölçülen ortalama Rct değerleri (n=2), % değişimleri ve görünür kısmi kaplama değerleri.

Elektrotlar	Ortalama Rct değeri (Ohm); %RSD	A $\beta$ (1-42) immobilizasyonu sonrası ortalama Rct değeri (Ohm); %RSD	A $\beta$ (1-42) immobilizasyonu sonrası % değişim	Görünür kısmi kaplama ( $\theta_{IS}^R$ )
PGE	81,37 $\pm$ 15,71; % 19,30			
Poli(Kur)/PGE	5875,00 $\pm$ 841,46; % 14,32	7095,00 $\pm$ 1689,99; % 23,82	% 20,77 artış (1,22 kat)	0,17
Cu(II)/PGE	640,50 $\pm$ 205,77; % 32,13	535,50 $\pm$ 37,48; % 7,00	% 16,39 azalış (0,8 kat)	*
Poli(Kur)-Cu(II)/PGE	2845,00 $\pm$ 629,33; % 22,12	7745,00 $\pm$ 1746,55; % 22,55	% 172,23 artış (2,7 kat)	0,63

\* Cu(II)/PGE yüzeyinde A $\beta$  (1-42) immobilizasyonu sonrası Rct değerinde artış olmadığı için görünür kısmi kaplama ( $\theta_{IS}^R$ ) hesaplanamamıştır.

## 5. TARTIŞMA

### 5.1. PGE Yüzeyinde A $\beta$ (1-42) Tayinine Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma

A $\beta$  (1-42)'nin PGE yüzeyine immobilizasyonu için 1  $\mu$ M ile 30  $\mu$ M aralığında A $\beta$  (1-42) konsantrasyonlarında impedimetrik tayin gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler Şekil 4.1'de verilmiştir.

1 ile 20  $\mu$ M aralığında A $\beta$  1-42'nin PGE yüzeyine immobilizasyonundan sonra Rct değerlerinde artış gözlenmiştir. 30  $\mu$ M A $\beta$  (1-42) konsantrasyonunda Rct değerinde bir azalış gözlenmiştir.

A $\beta$  (1-42)'nin 1  $\mu$ M, 5  $\mu$ M, 7  $\mu$ M, 15  $\mu$ M ve 20  $\mu$ M konsantrasyonlarında PGE yüzeyine immobilizasyonu sonrasında Rct değerlerinde değişimi gösteren kalibrasyon grafiği Şekil 4.2'de verilmiştir. Elde edilen kalibrasyon grafiğine göre, tayin sınırının hesaplanmasında  $y = 10,20 x + 110,07$  ( $R^2 = 0,99$ ) denklemi kullanılmıştır. Tayin sınırı (Miller et al., 2010), 1-20  $\mu$ M lineer konsantrasyon aralığında hesaplanarak 0,425  $\mu$ M olarak bulunmuştur.

A $\beta$  (1-42) immobilizasyonundan sonra PGE yüzeyinde farklı konsantrasyonlarda kurkumin-Cu(II) etkileşimlerini incelemek için spesifik bir A $\beta$  (1-42) konsantrasyonu belirlenmiştir. PGE yüzeyine 5  $\mu$ M A $\beta$  (1-42) immobilizasyonu üç tekrarlı ölçümü gerçekleştirilmiş ve ortalama Rct değeri  $166,00 \pm 12,49$  Ohm (% RSD = % 7,52; n=3) olarak elde edilmiştir.

A $\beta$  (1-42)'nin 5  $\mu$ M konsantrasyonunda elde edilen tekrarlanabilir sonuçlar nedeniyle, A $\beta$  (1-42)'nin kurkumin-Cu(II) kompleksi ile farklı oranlarda etkileşimini araştırmak adına bu konsantrasyon optimum olarak belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuç literatürde rapor edilen benzer çalışmaların (Chikae et al., 2008) sonuçları ile uyumludur.

## 5.2. Elektrot Yüzeyine A $\beta$ (1-42) İmmobilizasyonun Sıcaklık ile İlişisine Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma

A $\beta$  (1-42)'nin 4°C ve 37°C sıcaklık koşulları altında PGE yüzeyine gerçekleştirilen immobilizasyonuna ait EIS ölçümleri incelenmiştir (Şekil 4.3).

4°C sıcaklık değerinde 30 dakikalık A $\beta$  (1-42) immobilizasyonundan sonra, ortalama Rct değeri  $166,00 \pm 12,49$  Ohm (% RSD = % 7,52; n=3) olarak elde edilmiştir. Buna karşılık, 37°C sıcaklık değerinde A $\beta$  (1-42) immobilizasyonunu sonrası, ortalama Rct değeri  $460,67 \pm 170,42$  Ohm (% RSD = % 36,99; n=3) ile olarak elde edilmiştir. PGE yüzeyine A $\beta$  (1-42) immobilizasyonu sonrasında ölçülen Rct değerlerindeki bu artış, A $\beta$  (1-42)'nin elektrot yüzey tabakasında kütle ve elektron transferini zorlaştırması sürecinde transfer edilen yüke karşı oluşan direncin artması şeklinde yorumlanabilir (Qin et al., 2018).

PGE'nin ortalama Rct değeri  $99,55 \pm 27,37$  Ohm (% RSD = % 27,49; n=3) ile karşılaştırıldığında, 37°C'de immobilizasyondan sonra Rct değerindeki artış 4°C'de ölçülen Rct değerinden 2,8 kat daha yüksek olarak gözlenmiştir.

Peptidin fizyolojik koşullar altında 37 °C'de inkübasyonu ile agregasyonun artması sonucunda peptidin yapısında meydana gelen konformasyonel değişiklikler transfer edilen yüke karşı direncin artması ile sonuçlanmıştır. Elde edilen bu sonuç sıcaklığın peptid üzerinde etkisinin incelendiği çalışmaların (Vestergaard et al., 2005; Veloso et al., 2013) sonuçları ile paraleldir. Ayrıca, 4°C'de daha tekrarlanabilir sonuçlar elde edildiği için bu deneysel koşullarda A $\beta$  (1-42) immobilizasyonu gerçekleştirilmesine karar verilmiştir. Elde edilen sonuçların, Qin ve arkadaşlarının 2018'de raporladığı sonuçlarla (Qin et al., 2018) uyumlu olduğu görülmüştür.

### **5.3. PGE Yüzeyine Kurkumin Elektropolimerizasyonunun Elektrokimyasal Karakterizasyonuna Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma**

Kurkuminin PGE yüzeyine elektropolimerizasyon işlemi CV tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.4-A). Kurkuminin PGE yüzeyine elektropolimerizasyonu öncesinde ve sonrasında EIS tekniği ile ölçümleri alınmıştır (Şekil 4.4-B).

Kurkuminin elektrot yüzeyine polimerizasyonunun elektrokimyasal karakterizasyonu CV yöntemi ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.5). PGE yüzeyine kurkumin elektropolimerizasyonu öncesi ve sonrasında elektrotlar ile redoks probu çözeltisinde yapılan ölçümlerde elde edilen sinyaller ve yük geçişindeki değişimler incelenmiştir (Tablo 4.1).

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, daha önce bildirildiği gibi (Devadas et al., 2014; Dinesh et al., 2017; Qin et al., 2018; Zheng et al., 2009) polimerizasyonun ilk döngüsünde +0,3-0,4 V potansiyel aralığında kurkuminin yükseltgenme sinyali ölçülmüştür. Döngü sayısı arttıkça, anodik akım yoğunluğu önemli ölçüde azalırken, literatürdeki çalışmalarda (Devadas et al., 2014; Zheng et al., 2009) raporlandığı gibi 16 döngünün sonunda anodik sinyalin tamamen kaybolduğu görülmüştür. Elde edilen bu sonuç, PGE yüzeyine kurkuminin elektropolimerizasyon tekniği ile başarılı bir şekilde modifiye edildiğini göstermektedir.

Kurkumin polimerizasyonundan sonra, ölçülen akım değerinde PGE kontrolünün akım değerine kıyasla sinyalde azalma gözlenmiştir. Poli(Kur)/PGE ile elde edilen CV ve EIS sonuçları incelendiği zaman sonuçların birbirini destekler nitelikte olduğu görülmüştür. Elde edilen sonuçlar, PGE yüzeyinde kurkumin elektropolimerizasyonunun başarıyla gerçekleştiğini ve hedef moleküle spesifik poli(Kur)/PGE elektrodun başarıyla hazırlanabildiğini göstermektedir.

#### 5.4. Kurkumin ve Metal Kompleksinin Etkileşimine Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma

5 mM kurkumin ile 5 mM Al(III), 5 mM Cu(II) ve 5 mM Ni(II) metallerinin 1:1 konsantrasyon oranında etkileşimleri sonucu elde edilen poli(Kur)-Al(III), poli(Kur)-Cu(II) ve poli(Kur)-Ni(II) kompleks yapılarının PGE yüzeyine elektropolimerizasyonu sonrası DPV ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ortalama sinyal değerleri dikkate alınarak poli(Kur)/PGE'den poli(Kur)-metal/PGE'ye % değişimler incelenmiştir (Şekil 4.6 ve Tablo 4.2).

Kurkuminin PGE yüzeyinde Al(III), Cu(II) ve Ni(II) metalleri ile elektropolimerizasyonu sonrasında +0,63 V'de metallere ait sinyal gözlenmezken, +0,45 V potansiyelinde kurkumine ait sinyalde azalma gözlenmiştir. 5 mM poli(Kur)/PGE ile yapılan ölçümler sonrasında +0,45 V'de  $7103,67 \pm 226,73$  nA (% RSD = % 3,199; n=3) ortalama akım değeri elde edilmiştir. Üç farklı metal için kurkumin ile etkileşim sonrası değişim yüzdesi hesaplandığında, kurkumin sinyalindeki en belirgin azalma (% 53,01) diğerleri arasında Cu(II) metali ile etkileşim sonrası (poli(Kur)-Cu(II)/PGE) gözlenmiştir.

Literatüdeki çalışmalar incelendiğinde, A $\beta$  (1-42)'nin sinyali, elektroaktif Tyr-10 amino asit kalıntısının yükseltgenme sinyaline bağlı olarak yaklaşık 0,7 V'de ölçülmüştür (Zhang et al., 2023). Çalışmada, Al(III), Cu(II) ve Ni(II)'ye ait yükseltgenme sinyalleri +0,6V - +0,7 V aralığında ölçülmüştür (Tablo 4.2). A $\beta$  (1-42) ve Cu(II) sinyallerinin aynı pik potansiyelinde ölçülmesi nedeniyle, A $\beta$  (1-42)'nin kurkumin-Cu(II) ile etkileşiminin tayini impedimetrik yöntemle dayalı gerçekleştirilmiştir.

#### 5.5. Poli(Kur)-Cu(II)/PGE Yüzeyinde A $\beta$ (1-42)'nin İmpedimetrik Tayinine Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma

PGE yüzeyinde kurkumin-Cu(II) kompleksinin 5 mM konsantrasyonda elektropolimerizasyonu sonrası EIS tekniği ile ölçümleri alınmış ve elektrot yüzeyine elektropolimerizasyon öncesi ve sonrasına ait Rct değerlerindeki % değişim incelenmiştir (Şekil 4.7 ve Tablo 4.3).

Poli(Kur)/PGE ile yapılan ölçümlerde elde edilen ortalama Rct değeri, kurkumin ile Cu(II) etkileşimi sonrasında hazırlanan poli(Kur)-Cu(II)/PGE ile yapılan ölçümlerde elde edilen ortalama Rct değeri ile kıyaslandığında % 310,79 oranında (4,10 kat) artış gözlemlendiği saptanmıştır. Kurkuminin Cu(II) ile etkileşiminden sonra ortalama Rct değeri ( $8565,00 \pm 1788,98$  Ohm; % RSD=% 20,89; n=3), poli(Kur)/PGE ile ölçülen Rct değerine ( $2085,00 \pm 261,63$  Ohm; % RSD=% 12,55; n=3) kıyasla daha yüksek gelmesi nedeniyle farklı kurkumin:Cu(II) konsantrasyonları çalışılmıştır.

### 5.6. Farklı Konsantrasyonlarda Kurkumin-Bakır Etkileşimlerine Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma

Kurkumin ve Cu(II)'nin 5:5 mM:mM, 5:10 mM:mM, 10:5 mM:mM ve 10:10 mM:mM olmak üzere farklı konsantrasyonlarda etkileşimleri sonrası elde edilen Niquist eğrileri ve etkileşim öncesi/sonrası Rct değerlerindeki değişimler incelenmiştir (Şekil 4.8 ve Tablo 4.4). Elde edilen sonuçlara göre, 5 mM ve 10 mM konsantrasyonlarındaki poli(Kur)/PGE ile ölçülen ortalama Rct değerleri sırasıyla  $2085,00 \pm 261,63$  Ohm (n=2) ve  $5875,00 \pm 841,46$  Ohm (n=2) olarak ölçülmüştür. Bu durumda elektropolimerize elektrotun kurkumin konsantrasyonu artışı ile Rct değerlerinde de artış gözlemlendiği görülmüştür.

Diğer bir taraftan, 5 mM ve 10 mM konsantrasyonlarındaki Cu(II)/PGE ile ölçülen Rct değerleri ortalama sırasıyla  $729,00 \pm 46,67$  Ohm ve  $640,50 \pm 205,77$  Ohm (n=2) olarak ölçülmüştür. Cu(II) konsantrasyonu iki katına çıkarıldığında Rct değerinde bir düşüş gözlenmiştir, bu durum Cu(II) iletken özelliğine bağlı olarak konsantrasyon değerindeki artış nedeniyle Rct değerinde azalış olarak açıklanabilir.

Kurkumin-Cu(II) etkileşimleri farklı konsantrasyonlarda incelendiğinde, poli(Kur)/PGE'ye kıyasla en belirgin azalışı gösteren konsantrasyon değerinin % 51,57 azalış ile 10 mM:10 mM olduğu görülmüştür.

### **5.7. Poli(Kur)-Cu(II)/PGE Yüzeyinde Farklı Sıcaklıklarda A $\beta$ (1-42) İmmobilizasyonun İncelenmesine Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma**

10 mM:10 mM konsantrasyon oranındaki kurkumin-Cu(II) elektropolimerize PGE yüzeyine 5  $\mu$ M A $\beta$  (1-42) immobilizasyonu 4°C ve 37°C olmak üzere farklı sıcaklıklarda 30 dakika süreyle gerçekleştirilmiştir. Elde edilen Niquist diyagramları ve immobilizasyon öncesi/sonrası Rct değerlerindeki değişimler incelenmiştir (Şekil 4.9 ve Tablo 4.5).

Farklı sıcaklıklarda poli(Kur)-Cu(II)/PGE yüzeyinde immobilize edilen A $\beta$  (1-42), 37°C'de edilen sonuçlara kıyasla 4°C'de daha tekrarlanabilir sonuçların elde edilmesi ve bu koşullarda daha yüksek peptid bağlanma oranının elde edilmesi nedeniyle çalışmalar 4°C'de gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bu sonuç, Qin ve arkadaşları (Qin et al., 2018) tarafından rapor edilen sonuçlar ile uyumludur.

### **5.8. Poli(Kur)-Cu(II) Kompleksinin A $\beta$ (1-42) ile Etkileşimlerine Yönelik Bulgular ile İlgili Tartışma**

A $\beta$  (1-42)'nin Cu(II)/PGE, poli(Kur)/PGE ve poli(Kur)-Cu(II)/PGE yüzeylerinde immobilizasyonu sonrası biyosensör yanıtı impedimetrik yöntemle incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.10 ve Tablo 4.6'da verilmiştir. 5  $\mu$ M A $\beta$  (1-42), elektrot yüzeylerinde 4°C'de 30 dakika boyunca immobilize edilmiştir. İmmobilizasyon öncesi ve sonrası ölçülen ortalama Rct değerindeki değişimler incelenmiştir.

Poli(Kur)/PGE'nin ortalama Rct değeri  $5875,00 \pm 841,46$  Ohm (n=2) iken elektroda A $\beta$  (1-42) immobilizasyonu sonrası ortalama Rct değerinde ( $7095,00 \pm 1689,99$  Ohm; n=2) %20,77 artış gözlenmiştir. Cu(II)/PGE'nin ortalama Rct değeri  $640,50 \pm 205,77$  Ohm (n=2) iken elektroda A $\beta$  (1-42) immobilizasyonu sonrası ortalama Rct değeri %16,39 azalış göstererek  $535,50 \pm 37,48$  Ohm (n=2) olarak ölçülmüştür.

Poli(Kur)-Cu(II)/PGE'nin ortalama  $R_{ct}$  değeri  $2845,00 \pm 629,33$  Ohm ( $n=2$ ) iken elektroda A $\beta$  (1-42) immobilizasyonu sonrası ortalama  $R_{ct}$  değeri %172,23 artış göstererek  $7745,00 \pm 1746,55$  Ohm ( $n=2$ ) olarak ölçülmüştür. A $\beta$  (1-42) immobilizasyonu sonrası ölçülen  $R_{ct}$  değerlerindeki en yüksek artış % 172,23 ile poli(Kur)-Cu(II) modifiyeli elektrotta gözlenmiştir.

Görünür kısmi kaplama değeri ( $\theta_{IS}^R$ ) Janek ve arkadaşları (Janek et al., 1998) tarafından açıklanan formüle göre hesaplanmıştır. Poli(Kur)/PGE ve poli(Kur)-Cu(II)/PGE için görünür kısmi kaplama değerleri Denklem (5.1)'e göre hesaplanmıştır.

$$\theta_{IS}^R = 1 - \frac{R_{CT}^a}{R_{CT}^b} \quad (5.1)$$

Denklem (5.1)'de  $R_{CT}^a$ , A $\beta$  (1-42) immobilizasyonundan önceki transfer edilen yüke karşı direnci ve  $R_{CT}^b$  ise A $\beta$  (1-42) immobilizasyonundan sonraki transfer edilen yüke karşı direnci ifade etmektedir.  $R_{ct}$  değerindeki artış, poli(Kur)/PGE ve poli(Kur)-Cu(II)/PGE olmak üzere iki elektrotun yüzeylerine A $\beta$  (1-42) immobilizasyonunun ardından elde edilmiştir. Cu(II)/PGE yüzeyine A $\beta$  (1-42) immobilizasyonu sonrası sonrası  $R_{ct}$  değerinde artış olmadığı için görünür kısmi kaplama değeri hesaplanamamıştır. Ayrıca, 5  $\mu$ M A $\beta$  (1-42) immobilizasyonu varlığında poli(Kur)-Cu(II)/PGE'de meydana gelen  $R_{ct}$  değerindeki artışın, poli(Kur)/PGE ile gözlenen artışa kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır.

Görünür kısmi kaplama ( $\theta_{IS}^R$ ) değerleri poli(Kur)/PGE ve poli(Kur)-Cu(II)/PGE için sırasıyla 0.17 ve 0.63 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.6). Poli(Kur)-Cu(II)/PGE ile kaydedilen görünür kısmi kaplama değeri poli(Kur)/PGE ile elde edilenden daha yüksektir. Bu sonuç, A $\beta$  (1-42)'nin en yüksek etkileşimi poli(Kur)-Cu(II) kompleksi varlığında gösterdiğini desteklemektedir.

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, poli(Kur)-Cu(II)/PGE yüzeyine A $\beta$  (1-42)'nin immobilizasyonu sonrası ortalama  $R_{ct}$  değerindeki artış, literatürde (Qin et al., 2018) rapor edildiği gibi A $\beta$  (1-42)'nin elektrot yüzeyine

immobilizasyonu sonrasında kütle ve elektron transferini zorlaştırdığı ve buna bağlı transfer edilen yüke karşı oluşan direncin arttırdığı şeklinde yorumlanmaktadır.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Alzheimer Hastalığı (AH) son yıllarda sıklıkla karşılaşılan bir hastalık olup 2050 yılında 115 milyon kişiyi etkileyeceği tahmin edilmektedir. AH oluşumunda, ana bileşini Amiloid beta ( $A\beta$ ) peptidi olan plakların beyinde birikerek kümeleşmesinin kritik bir rol oynadığı bilinmektedir (Hilbich et al., 1991). Amiloid plakların iki ana bileşeninden birisi olan ve yüksek derece plaklarda birikme yatkınlığı bulunan 42 aminoasit kalıntısına sahip  $A\beta$  (1-42) peptididir. Dolayısıyla, AH'ye yol açan amiloid agregasyonunun erken evrelerinin izlenmesi ve tespiti AH'ye yönelik klinik tedavilerin geliştirilmesi için önemli bir hedef haline gelmektedir.

İleri evre Alzheimer hastalarının amiloid plaklarda agregatların içeriğinde yüksek konsantrasyonlarda Bakır (Cu), Çinko (Zn), Alüminyum (Al) ve Demir (Fe) gibi bazı geçiş metallerinin bulunduğu raporlanmıştır. Geçiş metal iyonları,  $A\beta$  (1-42) peptidine yüksek afinite göstererek  $A\beta$  (1-42)-metal koordinasyonunu oluşturmaktadır.

Zerdeçal bitkisinin aktif bir bileşeni olan kurkumin birçok farmakolojik özelliğe sahiptir. Özellikle anti-amiloid özelliği ile  $A\beta$  agregasyonunu inhibe etme özelliğine bağlı olarak AH üzerinde yararlı etkileri raporlanmıştır (Caesar et al., 2012; Mishra et al., 2008; Ringman et al., 2005; Thapa et al., 2016; Yanagisawa et al., 2021; Yang et al., 2005). Ayrıca, kurkumin  $Cu^{2+}$ ,  $Al^{+3}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  gibi geçiş metal iyonları ile kolayca şelatlanarak kompleks oluşturabilme yeteneğine sahiptir. Elektroaktif özelliğe sahip kurkuminin metal iyonlarına olan afinitesi göz önüne alınarak metaller ile kompleksinin elektot yüzeyine modifikasyonunun elektrotların verimliliğini arttırdığı yapılan çalışmalarda (Ciszewski et al., 2003; Devadas et al., 2014; Khorasani et al., 2019; Majdi et al., 2007) rapor edilmiştir.

$A\beta$  (1-42) peptidi AH için önemli bir biyobelirteç olarak kabul edilmektedir. Elektrokimyasal teknikler, beyin omurilik sıvısı veya kan serumu gibi biyolojik örneklerde birçok biyobelirteç seviyelerini güvenilir bir şekilde ölçmek ve izlemek imkanı sağlayabilmektedir.

Tez çalışması kapsamında öncelikle tek kullanımlık kalem grafit elektrot (PGE) yüzeyine kurkumin elektropolimerizasyonu CV tekniği kullanılarak başarıyla gerçekleştirilmiştir. PGE yüzeyinde elektropolimerize kurkumininin Al(III), Ni(II) ve Cu(II) metalleri ile etkileşimi diferansiyel puls voltametri (DPV) tekniği kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen voltametrik sonuçlara bakıldığında, kurkumin-metal kompleksleri arasında en fazla etkileşimin Cu(II) varlığında gerçekleştiği sonucuna varılmıştır.

Poli(Kur)-Cu(II)/PGE'nin elektrokimyasal karakterizasyonu elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) ve CV ölçümleri ile gerçekleştirilmiştir. Kurkumin ve bakırın farklı konsantrasyon oranlarında etkileşimleri impedimetrik yöntemle incelenmiştir. Poli(Kur)-Cu(II)/PGE elektrotların yanısıra kontrol deneyleri sadece kurkumin ve sadece Cu(II) içeren örneklerle hazırlanmış elektrotlar varlığında gerçekleştirilmiş olup elektrotların yüzeyine A $\beta$  (1-42) peptidinin immobilizasyonu sonrasında EIS tekniğine dayalı analizler yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, A $\beta$  (1-42) peptidinin en fazla poli(Kur)-Cu(II)/PGE elektrot yüzeyine bağlandığı sonucuna varılmıştır. A $\beta$  (1-42)'nin 1-20  $\mu$ M lineer konsantrasyon aralığında tayin sınırı hesaplanarak 0,425  $\mu$ M olarak bulunmuştur.

A $\beta$  (1-42) peptidinin elektrot yüzeyine immobilizasyonu poli(Kur)/PGE, Cu(II)/PGE ve poli(Kur)-Cu(II)/PGE ile impedimetrik yöntemle dayalı incelenmiştir. A $\beta$  (1-42) immobilizasyonundan sonra poli(Kur)-Cu(II) modifiye elektrot yüzeyinde en yüksek R<sub>ct</sub> değeri elde edilmiştir. Poli(Kur)-Cu(II)/PGE yüzeyine A $\beta$  (1-42)'nin immobilizasyonu sonrası ortalama R<sub>ct</sub> değerindeki bu artış, literatürde (Qin et al., 2018) rapor edildiği gibi, A $\beta$  (1-42)'nin elektrot yüzeyine immobilizasyonu sonrasında kütle ve elektron transferini zorlaştırdığı ve bu durumun yüzey direncini arttırdığı şeklinde yorumlanmaktadır.

Literatürde PGE yüzeyine poli(Kur)-Cu(II) kompleksinin elektropolimerizasyonu sonrasında geliştirilen elektroda dayalı A $\beta$  (1-42) tayinine yönelik bir impedimetrik çalışma mevcut değildir. Cu(II)/PGE, poli(Kur)/PGE ve poli(Kur)-Cu(II)/PGE elektrotlarının elektrokimyasal karakterizasyonu EIS tekniği kullanılarak ilk kez tez çalışmasında gösterilmiştir.

Tez çalışmasında A $\beta$  (1-42) tayini için geliştirilen tek kullanımlık biyosensör 10  $\mu$ L gibi az örnek hacminde uygulanabilirlik avantajına sahiptir. A $\beta$  (1-42) tayinine yönelik geliştirilen impedimetrik biyosensör sadece A $\beta$  (1-42) tayini için değil, aynı zamanda AH'ye yönelik potansiyel ilaçların etkinliğinin değerlendirilmesi açısından yenilikçi bir yöntem olarak umut vericidir.

Sonuç olarak, A $\beta$  (1-42) peptidinin poli(Kur)-Cu(II) ile etkileşiminin impedimetrik yöntemle dayalı tayini, AH'nin teşhisine yönelik gelecekte farklı yaklaşımların ve tedavisine yönelik yeni moleküllerin geliştirilmesi bakımından katkı sağlayacak niteliktedir.





**KAYNAKLAR DİZİNİ**

- Abbasi, H. Y., Tehrani, Z., Devadoss, A., Ali, M. M., Moradi-Bachiller, S., Albani, D. and Guy, O. J.,** 2021, Graphene based electrochemical immunosensor for the ultra-sensitive label free detection of alzheimer's beta amyloid peptides A $\beta$  (1-42), *Nanoscale Advances*, 3(8), 2295–2304pp.
- Alzheimer's Disease International,** “About Alzheimer’s & Dementia”, <https://www.alzint.org/about/> (Erişim tarihi: 30 Kasım 2021).
- Anand, P., Kunnumakkara, A. B., Newman, R. A. and Aggarwal, B. B.,** 2007, Bioavailability of curcumin: problems and promises, *Molecular Pharmaceutics*, 4(6), 807–818pp.
- Anand, R., Gill, K. D. and Mahdi, A. A.,** 2014, Therapeutics of alzheimer’s disease: past, present and future, *Neuropharmacology*, 76(A), 27–50pp.
- Bard, A. and Faulkner, L.,** 2001, *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, John Wiley & Sons, New York, 156-305pp.
- Bard, J.A.,** 2010, Inner-sphere heterogeneous electrode reactions. electrocatalysis and photocatalysis: the challenge, *Journal of the American Chemical Society*, 132(22), 7559-7567pp.
- Borsari, M., Ferrari, E., Grandi, Romano. and Saladini, Monica.,** 2002, Curcuminoids as potential new iron-chelating agents: spectroscopic, polarographic and potentiometric study on their Fe(III) complexing ability, *Inorganica Chimica Acta*, 328(1), 61-68pp.
- Brett, C.M.A. and Brett, A.M.O.,** 1992, *Electrochemistry*, Oxford University Press, New York, 411p.
- Brett, C.M.A.,** 2022, Electrochemical Impedance Spectroscopy in the Characterisation and Application of Modified Electrodes for Electrochemical Sensors and Biosensors, *Molecules*, 27(5), 1497.
- Breydo, L. and Uversky, V. N.,** 2011, Role of metal ions in aggregation of intrinsically disordered proteins in neurodegenerative diseases, *Metallomics*, 3(11), 1163–1180pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Bucciantini, M., Calloni, G., Chiti, F., Formigli, L., Nosi, D., Dobson, C. M. and Stefani, M.,** 2004, Prefibrillar amyloid protein aggregates share common features of cytotoxicity, *The Journal of biological chemistry*, 279(30), 31374–31382pp.
- Budimir, A.,** 2011, Metal ions, Alzheimer's disease and chelation therapy, *Acta Pharmaceutica*, 61(1), 1–14pp.
- Bush, A. I. and Tanzi, R. E.,** 2008, Therapeutics for Alzheimer's disease based on the metal hypothesis, *Neurotherapeutics: the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 5(3), 421–432.
- Bush, A. I.,** 2008, Drug development based on the metals hypothesis of alzheimer's disease, *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*, 15(2), 223–240pp.
- Caesar, I., Jonson, M., Nilsson, K. P., Thor, S. and Hammarström, P.,** 2012, Curcumin promotes a-beta fibrillation and reduces neurotoxicity in transgenic drosophila, *PloS One*, 7(2), e31424.
- Carneiro, P., Loureiro, J., Delerue-Matos, C., Morais, S. and do Carmo Pereira, M.,** 2017, Alzheimer's disease: development of a sensitive label-free electrochemical immunosensor for detection of amyloid beta peptide, *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 239, 157–165pp.
- Chakraborty, A., Tibarewala, D. N. and Barui, A.** 2019, Impedance-based biosensors, *Bioelectronics and Medical Devices*, 7-122pp.
- Chikae, M., Fukuda, T., Kerman, K., Idegami, K., Miura, Y. and Tamiya, E.,** 2008, Amyloid-beta detection with saccharide immobilized gold nanoparticle on carbon electrode, *Bioelectrochemistry*, 74(1), 118–123pp.
- Chiorcea-Paquim, A. M., Enache, T. A. and Oliveira-Brett, A. M.,** 2018, Electrochemistry of Alzheimer disease amyloid beta peptides, *Current Medicinal Chemistry*, 25(33), 4066–4083pp.
- Chiti, F. and Dobson, C. M.,** 2006, Protein misfolding, functional amyloid, and human disease, *Annual Review of Biochemistry*, 75, 333–366pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Ciszewski, A., Milczarek, G., Lewandowska, B. and Krutowski, K.,** 2003, Electrocatalytic properties of electropolymerized Ni(II)curcumin complex, *Electroanalysis*, 15, 518-523pp.
- Compton, R.G., Laborda, E. and Ward, K.R.,** 2014, *Understanding Voltammetry: Simulation of Electrode Processes*, Imperial College Press, Singapore, 1-23pp.
- Devadas, B., Rajkumar, M. and Chen, S. M.,** 2014, Electropolymerization of curcumin on glassy carbon electrode and its electrocatalytic application for the voltammetric determination of epinephrine and p-acetoaminophenol, *Colloids and Surfaces. B: Biointerfaces*, 116, 674–680pp.
- Dinesh, B. and Saraswathi, R.,** 2017, Electrochemical synthesis of nanostructured copper-curcumin complex and its electrocatalytic application towards reduction of 4-nitrophenol, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 253, 502-512pp.
- Elgrishi, N., Rountree, K.J., McCarthy, B.D., Rountree, E.S., Eisenhart, T.T. and Dempsey, J.L.,** 2018, A practical beginner's guide to cyclic voltammetry, *Journal of Chemical Education*, 95(2), 197-206pp.
- Englund, H., Sehlin, D., Johansson, A. S., Nilsson, L. N., Gellerfors, P., Paulie, S., Lannfelt, L. and Pettersson, F. E.,** 2007, Sensitive ELISA detection of amyloid-beta protofibrils in biological samples, *Journal of Neurochemistry*, 103(1), 334–345pp.
- Erdem, A. and Congur, G.,** 2014, Dendrimer enriched single-use aptasensor for impedimetric detection of activated protein C, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 117, 338–345pp.
- Evans, A.,** 1991, *Potentiometry and ISE*, ACOL, London, 106-198pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Ferrari, E., Benassi, R., Sacchi, S., Pignedoli, F., Asti, M. and Saladini, M.,** 2014, Curcumin derivatives as metal-chelating agents with potential multifunctional activity for pharmaceutical applications, *Journal of inorganic biochemistry*, 139, 38–48pp.
- Friedberg, F., Winnick, T. and Greenberg, D.M.,** 1947, Peptide synthesis in vivo, *Journal of Biological Chemistry*, 169(3),763p.
- Geng, J., Yu, H., Ren, J. and Qu, X.,** 2008, Rapid label-free detection of metal-induced alzheimer's amyloid  $\beta$  peptide aggregation by electrochemical method, *Electrochemistry Communications*, 10(11), 1797–1800pp.
- Glabe C. G.,** 2006, Common mechanisms of amyloid oligomer pathogenesis in degenerative disease, *Neurobiology of Aging*, 27(4), 570–575pp.
- Hardy, J. and Selkoe, D. J.,** 2002, The amyloid hypothesis of alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics, *Science*, 297(5580), 353–356pp.
- Harper, J. D., Wong, S. S., Lieber, C. M., and Lansbury, P. T.,** 1997, Observation of metastable A $\beta$  amyloid protofibrils by atomic force microscopy, *Chemistry & Biology*, 4(2), 119–125pp.
- Hatcher, H., Planalp, R., Cho, J., Torti, F. M. and Torti, S. V.,** 2008, Curcumin: from ancient medicine to current clinical trials, *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, 65(11), 1631–1652pp.
- Hilbich, C., Kisters-Woike, B., Reed, J., Masters, C. L. and Beyreuther, K.,** 1991, Aggregation and secondary structure of synthetic amyloid beta A4 peptides of alzheimer's disease, *Journal of Molecular Biology*, 218(1), 149–163pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Hou, L., Shao, H., Zhang, Y., Li, H., Menon, N. K., Neuhaus, E. B., Brewer, J. M., Byeon, I. J., Ray, D. G., Vitek, M. P., Iwashita, T., Makula, R. A., Przybyla, A. B. and Zagorski, M. G.,** 2004, Solution NMR studies of the A beta(1-40) and A beta(1-42) peptides establish that the Met35 oxidation state affects the mechanism of amyloid formation, *Journal of the American Chemical Society*, 126(7), 1992–2005pp.
- Hung, V. W. S., Masoom, H. and Kerman, K.,** 2012, Label-free electrochemical detection of amyloid beta aggregation in the presence of iron, copper and zinc, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 681, 89–95pp.
- Janek, R.P., Fawcett, W.R. and Ulman, A.,** 1998, Impedance spectroscopy of self-assembled monolayers on Au (111): sodium ferrocyanide charge transfer at modified electrodes, *Langmuir*, 14(11), 3011-3018pp.
- Jiang, D., Zhang, L., Grant, G. P., Dudzik, C. G., Chen, S., Patel, S., Hao, Y., Millhauser, G. L. and Zhou, F.,** 2013, The elevated copper binding strength of amyloid- $\beta$  aggregates allows the sequestration of copper from albumin: a pathway to accumulation of copper in senile plaques, *Biochemistry*, 52(3), 547–556pp.
- Kayed, R., Head, E., Thompson, J. L., McIntire, T. M., Milton, S. C., Cotman, C. W. and Glabe, C. G.,** 2003, Common structure of soluble amyloid oligomers implies common mechanism of pathogenesis, *Science*, 300(5618), 486–489pp.
- Khorasani, M. Y., Langari, H., Sany, S. B. T., Rezayi, M. and Sahebkar, A.,** 2019, The role of curcumin and its derivatives in sensory applications, *Materials Science and Engineering: C*, 103, 109792.
- Kirschner, D. A., Inouye, H., Duffy, L. K., Sinclair, A., Lind, M. and Selkoe, D. J.,** 1987, Synthetic peptide homologous to beta protein from alzheimer disease forms amyloid-like fibrils in vitro, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 84(19), 6953–6957pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Kumaraswamy, P., Sethuraman, S. and Krishnan, U. M.,** 2013, Mechanistic insights of curcumin interactions with the core-recognition motif of  $\beta$ -amyloid peptide, *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(13), 3278–3285pp.
- Leung, M. H., Harada, T. and Kee, T. W.,** 2013, Delivery of curcumin and medicinal effects of the copper(II)-curcumin complexes, *Current Pharmaceutical Design*, 19(11), 2070–2083pp.
- Lim, K. J., Bisht, S., Bar, E. E., Maitra, A. and Eberhart, C. G.,** 2011, A polymeric nanoparticle formulation of curcumin inhibits growth, clonogenicity and stem-like fraction in malignant brain tumors, *Cancer Biology & Therapy*, 11(5), 464–473pp.
- Liu, Y., Xu, Q., Zhang, Y., Ren, B., Huang, L., Cai, H., Xu, T., Liu, Q. and Zhang, X.,** 2021, An electrochemical aptasensor based on AuPt alloy nanoparticles for ultrasensitive detection of amyloid- $\beta$  oligomers, *Talanta*, 231, 122360.
- Lvovich, V.F.,** 2012, *Fundamentals of Electrochemical Impedance Spectroscopy*, John Wiley & Sons, New York.
- Maezawa, I., Hong, H. S., Liu, R., Wu, C. Y., Cheng, R. H., Kung, M. P., Kung, H. F., Lam, K. S., Oddo, S., Laferla, F. M. and Jin, L. W.,** 2008, Congo red and thioflavin-T analogs detect Abeta oligomers, *Journal of Neurochemistry*, 104(2), 457–468pp.
- Majdi, S., Jabbari, A., Heli, H. and Moosavi-Movahedi, A.A.,** 2007, Electrocatalytic oxidation of some amino acids on a nickel–curcumin complex modified glassy carbon electrode, *Electrochimica Acta*, 52(14), 4622–4629pp.
- Menon, V. P. and Sudheer, A. R.,** 2007, Antioxidant and anti-inflammatory properties of curcumin, *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 595, 105–125pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Miller, J. N. and Miller, J. C.,** 2010, *Statistics And Chemometrics For Analytical Chemistry*, Pearson Education, Essex, 271pp.
- Mishra, S. and Palanivelu, K.,** 2008, The effect of curcumin (turmeric) on Alzheimer's disease: An overview, *Annals of Indian Academy of Neurology*, 11(1), 13–19pp.
- Monosik, R., Stredánsky, M. and Sturdik, E.,** 2012, Biosensors-classification, characterization and new trends, *Acta Chimica Slovaca*, 5(1), 109-120pp.
- Morgan, C., Colombres, M., Nuñez, M. T. and Inestrosa, N. C.,** 2004, Structure and function of amyloid in Alzheimer's disease, *Progress in Neurobiology*, 74(6), 323–349pp.
- Murphy, M. P. and LeVine, H.,** 2010, Alzheimer's disease and the amyloid-beta peptide, *Journal of Alzheimer's disease:JAD*, 19(1), 311–323pp.
- Negahdary, M. and Heli, H.,** 2019, An electrochemical peptide-based biosensor for the Alzheimer biomarker amyloid- $\beta$ (1-42) using a microporous gold nanostructure, *Mikrochimica Acta*, 186(12), 766pp.
- Ono, K., Hasegawa, K., Naiki, H. and Yamada, M.,** 2004, Curcumin has potent anti-amyloidogenic effects for Alzheimer's beta-amyloid fibrils in vitro, *Journal of Neuroscience Research*, 75(6), 742–750pp.
- Orazem, M.E. and Tribollet B.,** 2008, *Electrochemical Impedance Spectroscopy*, John Wiley & Sons, New Jersey, 73-76pp.
- Qin, J., Park, J.S., Jo, D.G., Cho, M. and Lee, Y.,** 2018, Curcumin-based electrochemical sensor of amyloid- $\beta$  oligomer for the early detection of Alzheimer's disease, *Sensors Actuators B: Chemical*, 273,1593–1599pp.
- Ramsewak, R. S., DeWitt, D. L. and Nair, M. G.,** 2000, Cytotoxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of curcumins I-III from *curcuma longa*, *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 7(4), 303–308pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Ranjan, P. and Khan, R.,** 2022, Electrochemical immunosensor for early detection of  $\beta$ -amyloid alzheimer's disease biomarker based on aligned carbon nanotubes gold nanocomposites, *Biosensors*, 12(11), 1059pp.
- Ringman, J. M., Frautschy, S. A., Cole, G. M., Masterman, D. L. and Cummings, J. L.,** 2005, A potential role of the curry spice curcumin in Alzheimer's disease, *Current Alzheimer Research*, 2(2), 131–136pp.
- Ruby, A. J., Kuttan, G., Babu, K. D., Rajasekharan, K. N. and Kuttan, R.,** 1995, Anti-tumour and antioxidant activity of natural curcuminoids, *Cancer Letters*, 94(1), 79–83pp.
- Rushworth, J. V., Ahmed, A., Griffiths, H. H., Pollock, N. M., Hooper, N. M. and Millner, P. A.,** 2014, A label-free electrical impedimetric biosensor for the specific detection of alzheimer's amyloid-beta oligomers, *Biosensors & Bioelectronics*, 56, 83–90pp.
- Schweitzer-Stenner, R., Measey, T., Kakalis, L., Jordan, F., Pizzanelli, S., Forte, C. and Griebenow, K.,** 2007, Conformations of alanine-based peptides in water probed by FTIR, Raman, vibrational circular dichroism, electronic circular dichroism, and NMR spectroscopy, *Biochemistry*, 46(6), 1587–1596pp.
- Selkoe D. J.,** 2000, The origins of Alzheimer disease: a is for amyloid, *JAMA*, 283(12), 1615–1617pp.
- Shakeri, A., Panahi, Y., Johnston, T. P. and Sahebkar, A.,** 2019, Biological properties of metal complexes of curcumin, *BioFactors*, 45(3), 304–317.
- Skoog, D.A., West, D.A., Holler, F.J. and Crouch, S.R.,** 2022, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, Cengage, 10th edition, Boston, 406-616pp.
- Suprun, V.E., Khmeleva, S.A., Radko, S.P., Archakov, A.I. and Shumyantseva, V.S.,** 2016, Electrochemical analysis of amyloid- $\beta$  domain 1-16 isoforms and their complexes with Zn(II) ions, *Electrochimica Acta*, 187, 677-683pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Suprun, V.E., Zaryanov, N.V., Radko, S.P., Kulikova, A.A., Kozin, S.A., Makarov, A.A., Archakov, A.I. and Shumyantseva, V.V.**, 2015, Tyrosine based electrochemical analysis of amyloid- $\beta$  fragment (1-16) binding to metal(II) ions, *Electrochimica Acta*, 179, 93–99pp.
- Thapa, A., Jett, S. D. and Chi, E. Y.**, 2016, Curcumin attenuates amyloid- $\beta$  aggregate toxicity and modulates amyloid- $\beta$  aggregation pathway, *ACS Chemical Neuroscience*, 7(1), 56–68pp.
- Thevenot, D.R., Toth, K., Durst, R.A. and Wilson, G.S.**, 1999, Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification, *Pure and Applied Chemistry*, 71(12), 2333-2348pp.
- Tural, H., Gökçel, İ. ve Ertaş, N.**, 2006, Enstrümental Analiz I Elektroanalitik Yöntemler, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, 186, İzmir, 131-206s.
- Veloso, A. and Kerman, K.**, 2013, Advances in electrochemical detection for study of neurodegenerative disorders, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405(17), 5725–5741pp.
- Veloso, A. J., Hung, V. W., Sindhu, G., Constantino, A. and Kerman, K.**, 2009, Electrochemical oxidation of benzothiazole dyes for monitoring amyloid formation related to the Alzheimer's disease, *Analytical Chemistry*, 81(22), 9410–9415pp.
- Vestergaard, M., Kerman, K., Saito, M., Nagatani, N., Takamura, Y. and Tamiya, E.**, 2005, A rapid label-free electrochemical detection and kinetic study of alzheimer's amyloid beta aggregation, *Journal of the American Chemical Society*, 127(34), 11892–11893pp.
- Wang, J.**, 2006, *Analytical Electrochemistry*, John Wiley & Sons, New Jersey.
- Wolfe, L. S., Calabrese, M. F., Nath, A., Blaho, D. V., Miranker, A. D. and Xiong, Y.**, 2010, Protein-induced photophysical changes to the amyloid indicator dye thioflavin T, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(39), 16863–16868pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Yanagisawa, D., Kato, T., Taguchi, H., Shirai, N., Hirao, K., Sogabe, T., Tomiyama, T., Gamo, K., Hirahara, Y., Kitada, M. and Tooyama, I.,** 2021, Keto form of curcumin derivatives strongly binds to A $\beta$  oligomers but not fibrils, *Biomaterials*, 270, 120686.
- Yang, F., Lim, G. P., Begum, A. N., Ubeda, O. J., Simmons, M. R., Ambegaokar, S. S., Chen, P. P., Kaye, R., Glabe, C. G., Frautschi, S. A. and Cole, G. M.,** 2005, Curcumin inhibits formation of amyloid beta oligomers and fibrils, binds plaques, and reduces amyloid in vivo, *The Journal of Biological Chemistry*, 280(7), 5892–5901pp.
- Yaralı, E. and Erdem, A.,** 2020, Voltammetric detection of globulin with ionic liquid modified electrodes, *Microchemical Journal*, 153, 104331.
- Yıldız, A. ve Genç, Ö.,** 1993, *Enstrümental Analiz*, Hacettepe Yayınları, A-64, 289-384pp.
- Yu, X., Hayden, E. Y., Xia, M., Liang, O., Cheah, L., Teplow, D. B. and Xie, Y. H.,** 2018, Surface enhanced Raman spectroscopy distinguishes amyloid  $\beta$ -protein isoforms and conformational states, *Protein Science: a Publication of the Protein Society*, 27(8), 1427–1438pp.
- Zhang, B., Zhu, T., Liu, L. and Yuan, L.,** 2023, In vitro electrochemical detection of the degradation of amyloid- $\beta$  oligomers, *Journal of Colloid and Interface Science*, 629(Pt B), 156–165pp.
- Zhang, L., Guo, W., Lv, C., Liu, X., Yang, M., Guo, M. and Fu, Q.,** 2003, Electrochemical biosensors represent promising detection tools in medical field, *Advanced Sensor and Energy Materials*, 2(4), 100081.
- Zhang, Y., Chen, H., Li, R., Sterling, K. and Song, W.,** 2023, Amyloid  $\beta$ -based therapy for Alzheimer's disease: challenges, successes and future, *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8(1), 248pp.
- Zheng, L. and Song, J.,** 2009, Curcumin multi-wall carbon nanotubes modified glassy carbon electrode and its electrocatalytic activity towards oxidation of hydrazine, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 135(2), 650-655pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Zoski, G.C.**, 2007, Handbook of Electrochemistry, Elsevier Science, Amsterdam,  
3-29pp.



## TEŞEKKÜRLER

Yüksek lisans eğitimim süresince bana yol gösteren, her konuda rehberlik yapan, desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve tecrübeleriyle bana katkıda bulunan, öğrencisi olduğum için şanslı olduğum değerli danışman hocam **Prof. Dr. Kadriye Arzum ERDEM GÜRSAN'a**,

Çalışmalarım sırasında beni destekleyen ve yardımcı olan ekip arkadaşlarıma ve her zaman yanımda olan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

30/01/2024

Pelin SAYAR

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı:** Pelin SAYAR

### EĞİTİM

**Lise Eğitimi:** Cihat Kora Anadolu Lisesi (2012-2014)

Bornova Anadolu Lisesi (2014-2016)

**Üniversite Eğitimi:** İzmir Ekonomi Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi,  
Biyomedikal Mühendisliği (2016-2020)

**Yüksek Lisans Eğitimi:** Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomedikal  
Teknolojiler Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Programı (2020-2024)

### STAJ DENEYİMİ

SolarBioteknoloji (Haziran 2019-Temmuz 2019)

### İŞ DENEYİMİ

Santemol Medikal (Ocak 2022-Mart 2022)

Bonegraft Biyomalzeme (Nisan 2022-Şubat 2023)

Şanlılar Tıbbi Cihazlar (Nisan 2023-Devam)

### YER ALDIĞI PROJELER

2209/A no'lu TÜBİTAK projesi bursiyeri (Şubat 2020-Haziran 2020)

119Z078 no'lu TÜBİTAK projesi bursiyeri (15.10.2019 – 26.12.2019)

### SERTİFİKALAR

ISO 13485 Tıbbi Cihaz Yönetim Sistemi İç Denetçi Eğitimi, KİWA  
Satış ve Tanıtım Elemanı Belgesi, TCESIS

Temel İş Sağlığı ve Güvenliği Eğitimi, İzmir Ekonomi Üniversitesi

### KATILIMCI

IV. EMBS Türkiye Eğitim Kampı, Bahçeşehir Üniversitesi, 2018

BIOMEDTALKS'21 (Çevrimiçi seminer), 2021

Diagnostik Yaklaşımlar ve Güncel Gelişmeler, Ege Üniversitesi, TÜBİTAK  
(Çevrimiçi kurs), 2021