



T.C.

**BATMAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**KANSER TEDAVİSİNDE KULLANILAN VE
PROTEİN KİNAZ İNHİBİTÖR GRUBUNDAN
OLAN RİBOSİKLİNİN
ELEKTROKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ**

Yaşar ASLAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalı

**Ocak-2024
BATMAN
Her Hakkı Saklıdır**

TEZ KABUL VE ONAYI

Yaşar ASLAN tarafından hazırlanan “Kanser Tedavisinde Kullanılan ve Protein Kinaz İnhibitör Grubundan Olan Ribosiklibin Elektrokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi” adlı tez çalışması .../.../... tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof. Dr. Yavuz YARDIM

.....

Danışman

Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT

.....

Üye

Prof. Dr. Tarık ARAL

.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr.

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Yaşar ASLAN

Tarih:

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KANSER TEDAVİSİNDE KULLANILAN VE PROTEİN KİNAZ İNHİBİTÖR GRUBUNDAN OLAN RİBOSİKLİBİN ELEKTROKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Yaşar ASLAN

Batman Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT

2024, 49 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Yavuz YARDIM
Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT
Prof. Dr. Tarık ARAL

Bu tez çalışmasında, ribosiklib adlı kanser karşıtı bileşiğinin kolay, çabuk, hassas bir voltametrik yöntemle elektrokimyasal özellikleri araştırılmıştır. Çalışma elektrotu olan bor katkılı elmas elektrot 0.5 M H₂SO₄ ortamında anodik yönde aktive edilerek kullanılmıştır. Bu çalışma elektrotu üzerinde ribosiklib 0.5 M H₂SO₄ ortamında dönüşümlü voltametri tekniği ile yükseltgenme yönünde yaklaşık +0.859 V'ta tersinmez ve +0.105 V/+0.393 V civarlarında tersinir dalgalarda vermiştir. Kare dalga voltametri tekniği kullanılarak 0.5 M H₂SO₄ ortamında 1.58-11.06 µM derişim aralığında +0.85 V'ta analitik sinyal ile derişim arasında iyi bir ilişki elde edilmiştir. Bu tez çalışmasında geliştirilen elektroanalitik yöntemin farmasötik ilaç ve idrar numunelerinde uygulanabilirliği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bor Katkılı Elmas Elektrot, Kanser, Ribosiklib, Voltametri

ABSTRACT

MS THESIS

**INVESTIGATION OF THE ELECTROCHEMICAL PROPERTIES OF
RIBOCYCLINE, A PROTEIN KINASE INHIBITOR USED IN CANCER
TREATMENT**

Yaşar ASLAN

**BATMAN UNIVERSITY GRADUATE SCHOOL OF EDUCATION
DEPARTMENT OF CHEMISTRY**

Advisor: Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT

2024, 49 Pages

Jury
Prof. Dr. Yavuz YARDIM
Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT
Prof. Dr. Tarık ARAL

In this thesis, the electrochemical properties of the anti-cancer compound Ribociclib were investigated by a simple, fast and sensitive voltammetric method. The working electrode, boron doped diamond electrode, was activated in anodic direction in 0.5 M H₂SO₄ medium. On this working electrode, Ribociclib gave irreversible waves at about +0.859 V in the oxidation direction and reversible waves around +0.105 V/+0.393 V in the oxidation direction by alternating voltammetry technique in 0.5 M H₂SO₄ medium. A good correlation between the analytical signal and concentration was obtained at +0.85 V in the concentration range of 1.58-11.06 µM in 0.5 M H₂SO₄ medium using the square wave voltammetry technique. The applicability of the electroanalytical method developed in this thesis was demonstrated in pharmaceutical drug and urine samples.

Keywords: Boron Doped Diamond Electrode, Cancer, Ribociclib, Voltammetry

ÖNSÖZ

Tez çalışmam boyunca, her daim desteklerini ve bilgi birikimini eksik etmeyen, bize kazandırdığı düzen, disiplin, öğrenme isteği ve araştırma azmi için tez danışmanım Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT'e derin şükranlarımı sunarım.

Dr. Mehmet ASLAN'a disiplinli çalışma anlayışıyla bize örnek olması ve bilgisini hiçbir zaman esirgememesi sebebiyle, tez çalışmam süresince edindiğim değerli bilgiler için hocama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bana bu süreçte destek olan yeğenlerim Rotında YILDIZ ve Arjin ASLAN'a ve çalışmalarında bilgisini esirgemeyen kardeşim Nursel ASLAN'a ayrıca her zaman yanımda olan ve kararlarımı alırken danıştığım eşim Ebru ŞANLI ASLAN, oğullarım Robar ASLAN ve Lavvin ASLAN'a sonsuz teşekkür ederim.

Yaşar ASLAN
BATMAN-2024

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLER VE ÇİZELGELER.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Elektrokimya	1
1.2. Polarografi	3
1.3. Dönüşümlü Voltametri	3
1.4. Puls Voltametik Teknikler	5
1.4.2. Diferansiyel Puls Voltametri.....	6
1.4.3. Kare Dalga Voltametri.....	7
1.5. Sıyırma Voltametri.....	8
1.5.1. Anodik Sıyırma Voltametri.....	9
1.5.2. Adsorptif Sıyırma Voltametri	10
1.5.3. Katodik Sıyırma Voltametri.....	11
1.6. Elektrokimyasal Sistemler.....	11
1.7. Voltametri de Kullanılan Çalışma Elektrotları	13
1.7.1. Bor Katkılı Elmas Elektrot	14
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	17
2.1. Protein Kinaz İnhibitörler.....	18
2.2. Ribosiklib Üzerinde Yapılan Bilimsel Çalışmalar	20
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	24
3.1. Materyal	24
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	25
3.3. Çözeltilerin Hazırlanması.....	25
3.3.1. Stok çözeltilerin hazırlanması	25
3.3.2. Destek elektroliti çözeltilerinin hazırlanması	26
3.3.3. Girişim.....	26
3.4. Elektrokimyasal Ölçümler.....	26
3.4.1. Voltametik yöntem	27
3.5. Gerçek Numunelerin Analize Hazırlanması.....	27

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA	28
4.1. Ribosiklib'in BDD Elektrot Üzerindeki Elektrokimyasal Davranışın İncelenmesi	28
4.1.1. Dönüşümlü voltametri.....	28
4.1.2. Gerilim tarama hızının etkisi	29
4.1.3. Destek Elektroliti ve pH Etkisi	32
4.1.4. Biriktirme/Sıyırma Koşullarının Etkisi	35
4.1.5. Kare-Dalga Değişkenlerinin Etkisi	35
4.1.6. Analitik Çalışma Koşulları	36
4.1.7. Gerçek Numune Analizleri.....	38
4.1.8. Girişim.....	39
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	40
KAYNAKÇA	41
ÖZGEÇMİŞ.....	46

ŞEKİLER VE ÇİZELGELER

Şekil listesi

Şekil 1.1. Sıklıkla kullanılan elektroanalitik metotların tablo halinde gösterimi	2
Şekil 1.2. Dönüşümlü voltametri de elektrota verilen gerilim zaman grafiği	4
Şekil 1.3. Döngüsel voltametri de akım -gerilim eğrisi	5
Şekil 1.4. Diferansiyel puls voltmetrisi elektrolitik cihazlarda uyarma sinyali grafiği	6
Şekil 1.5. Diferansiyel Puls Voltogramı	7
Şekil 1.6. Oluşturulan bir voltamogram(b) ve kare dalga voltametrisinde uyarma sinyali(a)	8
Şekil 1.7. Oluşan voltamogramla beraber zaman dalga-potansiyel şekli: Anodik sıyırma voltametri si	9
Şekil 1.8. AdSV	10
Şekil 1.9. Voltamogram, akım potansiyel eğrileri	12
Şekil 1.10. İlaç etken maddesinin elektrokimyasal aktarımını göstermektedir	13
Şekil 1.10 Potansiyostatik sistemin üç elektrotlu şeması	14
Şekil 1.12. Grafit örgüsü ve elmas örgüsü farklılıkları	15
Şekil 1.13. BDD elektrot	17
Şekil 3.1. Deneysel çalışmalarda kullanılan malzemeler	25
Şekil 4.1. RBS'ye ait üç döngülü voltamogram 0.5 M H ₂ SO ₄ tamponu içinde çizilmiştir	29
Şekil 4.2. RBS'de elde edilen CV voltamogramları	30
Şekil 4.3. (log <i>v</i> /log <i>I_p</i>), tarama hızı/akım (\sqrt{v}/I_p) ve (<i>v</i> / <i>I_p</i>) grafikleri	31
Şekil 4.4. 8.3x10 ⁻⁴ RBS'nin 0.5 M H ₂ SO ₄ , ABS (pH 4.8) ve PBS (pH 2.0, 3.0 ve 7.4) çözeltileri içinde BDDE kullanarak elde edilmiş eğriler	32
Şekil 4.5. 8.3x10 ⁻⁴ M RBS'in 0.5M H ₂ SO ₄ ortamında ve BR (pH 3.0-10.0) tamponu BDDE kullanılarak elde edilmiş, SW eğrileri	33
Şekil 4.6. RBS'nin pik akımı (<i>I_p</i>) ve pik gerilimi (<i>E_p</i>) üzerindeki pH etkisinin grafikleri	34
Şekil 4.7. 0.5 M H ₂ SO ₄ ortamında SW voltogramları (A) 0.1 V- 0.6 V aralığında biriktirme potansiyeli (B) 30 s- 180 s aralığında biriktirme süresi	35
Şekil 4.8. RBS'nin farklı derişimlerinin 0.5 M H ₂ SO ₄ çözeltisi içerisinde kaydedilen SW voltamogramları ve kalibrasyon grafiği.	37
Şekil 4.9. İdrar örneğinin 0.5 M H ₂ SO ₄ çözeltisi içerisinde kaydedilen SW voltammogramları	39

Çizelge listesi

Çizelge 2.1. Ribosiklib'in fiziksel ve kimyasal özellikleri	20
Çizelge 2.2. Ribosiklibe ait analiz yöntemleri	20
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan malzemeler	24
Çizelge 3.2. Deneysel harcanan kimyasal maddeler	25
Çizelge 4.1. Oksidasyon pik akımı ve pik gerilim değerleri	30
Çizelge 4.2. RBS voltammogramlarında pH'in pik voltajı (<i>E_p</i>) ve pik akımı (<i>I_p</i>) üzerindeki etkisi	34
Çizelge 4.3. RBS etken maddesi için kullanılan voltmetrik yöntemin çözümlenmesi sonucu geliştirilen optimum parametreler	36
Çizelge 4.4. BDD elektrot kullanılarak RBS'nin idrar numunelerinde analizi için elde edilen voltammetrik sonuçları	38

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

ΔE_{sw}	Puls amplitüdü
T	Mutlak sıcaklık (298 K)
Hz	Hertz
n	Redoks reaksiyonunda transfer edilen elektron sayısı
ΔE_s	Gerilim adımı
α	Yük aktarım katsayısı
Dak	Dakika
mA	Miliamper
R	İdeal gaz sabiti (8.314 J K ⁻¹ mol ⁻¹)
V	Volt
$\mu\text{g mL}^{-1}$	Mikrogram mililitre ⁻¹
mV s^{-1}	Milivolt saniye ⁻¹
mM	Milimolar
mV	Milivolt
mL	Mililitre
Mg	Miligram
μg	Mikrogram
M	Molarite
g L^{-1}	Gram litre ⁻¹
A	Amper
M	Molarite
E_{pa}	Anodik pik gerilimi
F	Faraday Sabiti (96485, kulon/eşdeğergram)
m	Eğim
E_p	Pik gerilimi
i_{pa}	Anodik pik akımı
E	Gerilim
μM	Mikromolar
E_{pc}	Katodik pik gerilimi
i_p	Pik akımı
s	Saniye
ss	Standart sapma
i_{pc}	Katodik pik akımı
v	Gerilim tarama hızı
dk	Dakika

Kısaltmalar

LOQ	Tayin alt sınırı
UV	Ultraviyole
LOD	Gözlenebilirlik sınırı
DKE	Doygun kalomel elektrot
DPV	Diferansiyel puls voltametri
CPE	Karbon pasta elektrot
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
SWV	Kare dalga voltametri

ESI	Elektrosprey iyonisasyon
GCE	Camsı karbon elektrot
RBS	Ribosiklib
PGE	Kalem grafit elektrot
BDDE	Bor katkılı elmas elektrot
BR	Britton-Robinson
EIS	Elektro impedans spektrometresi
SV	Sıyırma voltametri
LC	Sıvı kromatografisi
MS	Kütle spektrometresi
CV	Dönüşümlü voltametri
AdSV	Adsorptif Sıyırma Voltametri



1. GİRİŞ

Analitik kimya, kimyanın temel bilimleri arasında yer alan bir alt disiplindir. Bu alan, temel stratejik bilgileri ve teknikleri kullanarak yeni teknolojiler geliştiren ve bu teknolojilerin çeşitli uygulama alanlarını araştıran aktif bir bilim dalıdır. Analitik kimya, incelediği maddeyi detaylı bir şekilde anlamakla beraber, bu maddenin analizini gerçekleştirmek amacıyla çeşitli analitik teknikleri kullanır. Bu analitik yöntemler arasında öne çıkan elektrokimyasal teknikler, biyolojik ve kimyasal örneklerin detaylı karakterizasyonunu sağlayarak, çeşitli alanlarda uygulama alanı bulmaktadır. Bu yöntemler, moleküler düzeydeki değişimleri izleme, hastalıkların teşhisi, ilaç etkileşim mekanizmalarının anlaşılması ve maddelerin özel analizleri gibi konularda değerli bilgiler sağlamaktadır. Bu teknikler; standardizasyon, numune analizi, kısa süreli analizler ve tarama hızı gibi özellikleriyle kaynakça içinde sağlam bir konuma sahiptir.

Sunulan bu tez çalışmasında, kanser tedavisinde kullanılan ribosiklib etken maddesinin elektrokimyasal özellikleri, elektrokimyasal bir teknik olan voltametri tekniği kullanılarak gerçekleştirilecektir. Mevcut literatür araştırmasında, ribosiklib'e yönelik çeşitli metotlarla yapılmış çalışmalar bulunmasına karşın, elektrokimyasal özelliklerini değerlendiren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu tez kapsamında, meme kanseri tedavisinde kullanılan ribosiklib'in elektrokimyasal özellikleri ve miktar tayini için çalışma elektrotu olarak ilk defa bor katkılı elmas elektrot (BDDE) kullanılacaktır.

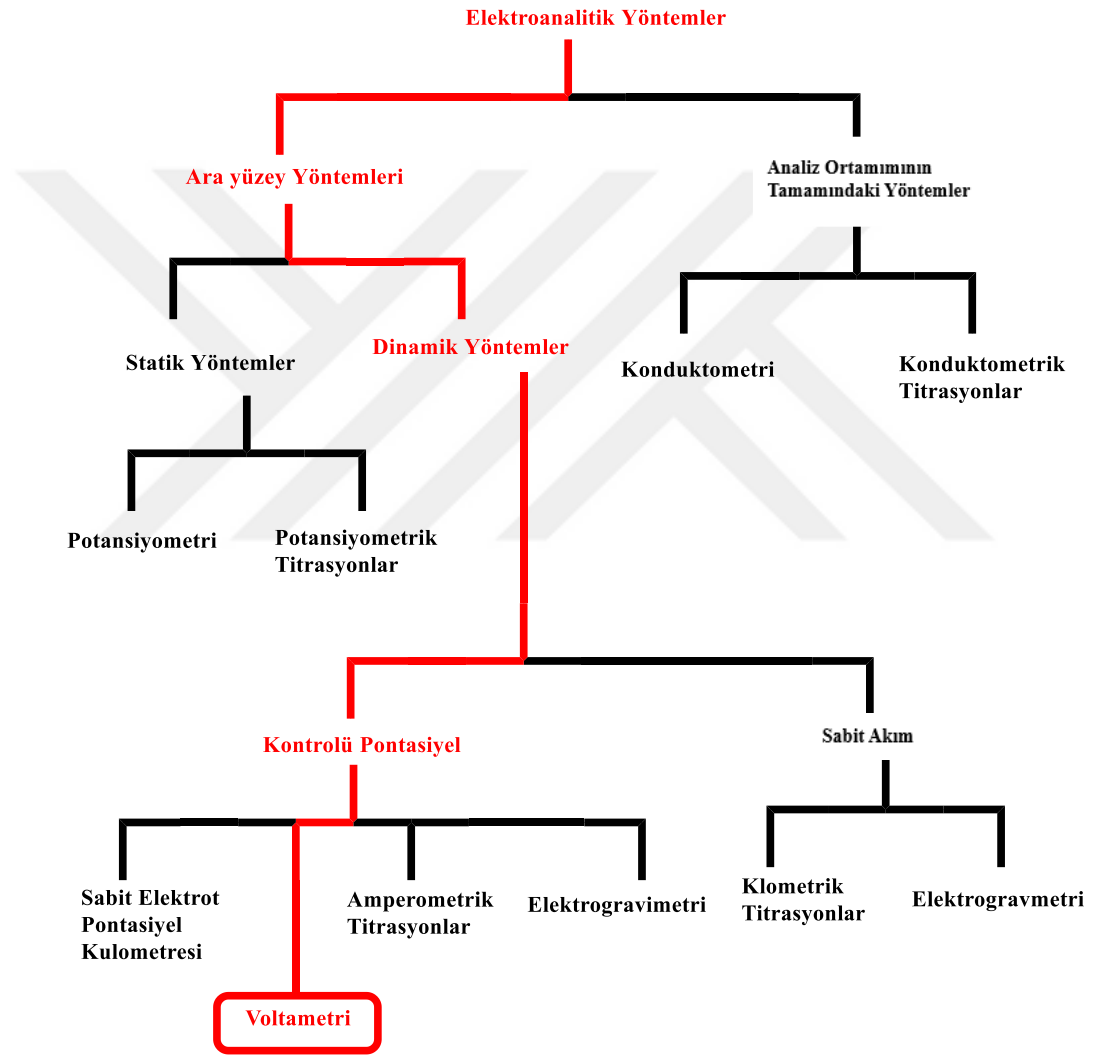
BDD elektrotu üzerinde, ribosiklib'in elektrokimyasal davranışının detaylı analizi, farklı destek elektrolit çözeltilerinde pH aralığını kapsayan geniş bir yelpazede gerçekleştirilecektir. Bu analiz, ribosiklib'in elektrokimyasal özelliklerini anlamak, potansiyel reaksiyon mekanizmalarını belirlemek ve çeşitli çözeltiler ve pH koşullarında nasıl tepkiler verdiğini anlamak için tasarlanmıştır. Elde edilecek veriler, bu bileşiğin elektrokimyasal özelliklerinin detaylı bir haritasını çıkararak, biyokimyasal ve farmasötik uygulamalarda potansiyel kullanımını değerlendirmeye olanak tanıyacaktır.

1.1. Elektrokimya

Elektroaktif maddelerin elektrokimyasal özelliklerinden faydalanılarak nitel ve nicel çözümlenmelerin gerçekleştirildiği tekniklerdir. Bu yöntemler, çeşitli redoks durumlarındaki türlerin kolayca tanımlanabilmesi, kromatografik ve spektrofotometrik

yöntemlere kıyasla daha ekonomik olması gibi avantajlar taşır. Genellikle, bu yöntemler kimyasal bileşiklerin yoğunluklarından daha çok faaliyetleri hakkında bilgi sağlarlar (Henden ve ark., 2001).

Elektroanalitik yöntemler, ara yüzeyde ve çözeltinin tamamında gerçekleşen iki temel kategoriye ayrılmaktadır (Şekil 1.1). Bu kategoriler arasında, elektrot yüzeyinde ve ara yüzeyde bulunan bileşik ince bir çözelti katmanı arasında gerçekleşen ve ara yüzeyde gerçekleşen durumu içeren yöntemler ile yüzeyde gerçekleşen yöntemler bulunmaktadır (Asıladağ, 2006).



Şekil 1. 1. Sıklıkla kullanılan elektroanalitik metotların tablo halinde gösterimi (Aslan, 2019) değiştirilmiştir.

Ara yüzey yöntemleri, elektrokimyasal akımın kullanılma ve kullanılmaması durumlarında dinamik ve statik metotlar olarak ayrılmaktadır. Statik metotlar, hız ve seçicilik açısından önemlidir. Dinamik arayüz metotları, bir hücrenin potansiyelini

düzenleme konusunda tuttuğu, mikro litre ve nano litre seviyesindeki numune miktarları ile çalışabilen, geniş bir duyarlılık aralığına sahip yöntemlerdir (Yıldız ve ark., 1997; Skoog ve ark., 1998; Wang, 1996).

Elektroanalitik yöntemler, diğer analitik metotlarla kıyaslandığında çeşitli avantajlara sahiptir ve bunlar aşağıda belirtilmiştir:

1. Elektroanalitik metotlarla genel olarak bir madde veya iyonun yalnızca bir redoks özelliği belirlenebilir.
2. Elektroanalitik metotlarda kullanılan aletler genellikle basit ve ekonomiktir.
3. Elektroanalitik metotlar kimyasal çeşitlerin konsantrasyonundan ziyade faaliyetleriyle ilgili bilgi verir (Skoog ve ark. 1998)

1.2. Polarografi

Polarografi, elektroanalitik bir tekniktir ve akım-gerilim eğrilerine dayanmaktadır. Bu teknikte, damlayan cıva elektrotu indikatör elektrot olarak kullanılır. Polarografi tekniği, 1922 yılında Heyrovsky tarafından geliştirilmiş ve bu başarı, 1959 yılında Nobel Kimya Ödülü'ne layık görülmüştür (Kissinger ve ark. 2018).

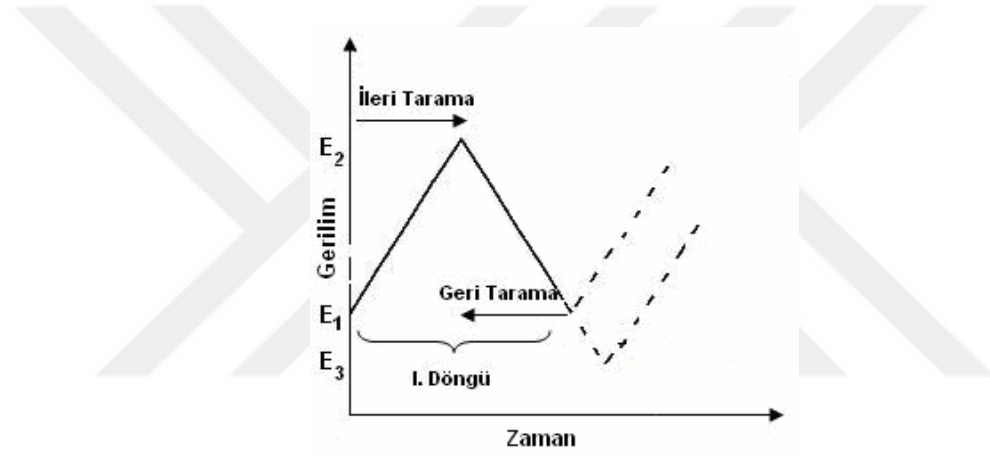
Analitik kimyaya katkılarına göre, polarografi tarihinde şu dönemleri yaşamıştır: 1950'den 1970'e kadar olan dönemde en sık kullanılan beş analitik teknikten biri olmuştur. Bu yöntem, diğer voltametrik tekniklerden farklı olarak konveksiyonun engellenmiş olması ve damlayan cıva elektrotunun kullanılması ile öne çıkar. Polarografi, dünya çapında organik analizlerde sıkça tercih edilen bir teknik olmuştur. Ancak, damlayan cıva elektrodunun potansiyel zararlı etkilerinden dolayı, farklı çalışma elektrotlarına yönelme söz konusudur. Bu sayede teknik, zaman içinde geliştirilmiş ve çeşitli modifikasyonlarla kullanım alanını genişletmiştir.

1.3. Dönüşümlü Voltametri

Dönüşümlü voltametri (CV) tekniği, gerilimin başlangıçta belli değere doğru arttığı, ardından başlangıç değerine doğrusal olarak geri döndüğü bir tekniktir (Şekil 1.2). Voltametrik teknik, voltaj taraması E1 ve E2 voltajları arasında gerçekleşiyorsa "doğrusal voltametri" olarak adlandırılır; E2 voltajını aynı tarama hızında ancak ters yönde takip eden voltametrik yöntem "dönüşümlü voltametri" denir. Ters tarama sırasında başlangıç

voltajına (E1) dönebilir veya farklı bir voltaja (E3) geçebilirsiniz. Belirli bir gerilim aralığı içinde sürekli değişen gerilim değerlerine karşı akımdaki değişimi gösteren bir grafik olan "dönüşümlü voltamogram" elde edilir (Şekil 1.5). CV yöntemi, karıştırılmamış (sabit) sistemlerde ve üçlü elektrot sistemlerinde çalışır. Hız difüzyonu CV'de belirleyici bir faktördür ve analit elektron alışverişini voltamogram üzerinde izlemeye olanak tanır. Başta gerilim taramasının yönlendirilme şekli, analiz örneğinin bileşimine bağlı olarak olumlu veya olumsuz olabilir.

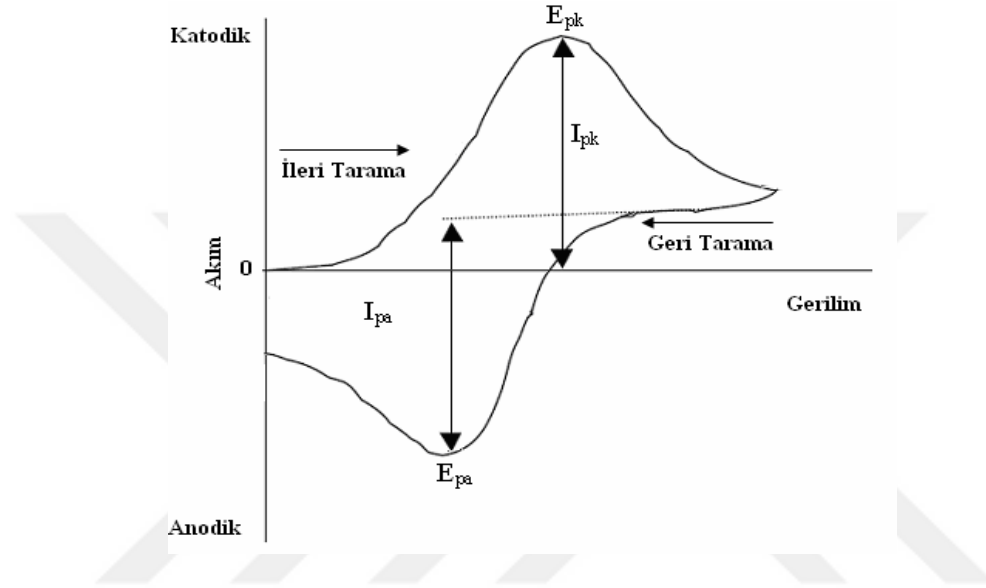
Dönüşüm voltamogramında belirlenen gerilim aralığına ek olarak, tercih edilen tarama hızı da taramanın ne kadar tekrarlandığını etkileyen bir faktördür. Tarama hızı artırılabilir, fakat büyük tarama hızları durumunda IR düşmesi ve iki katman yüklenmesinden kaynaklı olumsuzluklarla karşılaşma olasılığı bulunmaktadır.



Şekil 1.2. Dönüşümlü voltametri elektrotta verilen gerilim zaman grafiği

Hassaslığın 10^{-5} M ile sınırlı olan metot, oran tayinine dayalı bir metot olmasa da esasen organik ve metal-organik sistemlerde oksidasyon/indirgeme işlemleri hız ve mekanizması üzerine sunulan bilgiler önemlidir. Tarama hızının pik akımındaki değişim araştırılarak adsorpsiyon, difüzyon ve heterojen elektrot etkileşimlerinin özelliği fark edilebilir; ters taramada ise elektrot reaksiyon düzeneği ve devinimsel bilgiler elde edilebilir.

CV'li elektrot sistemine bakıldığında; CV'de elde edilen voltamogramların taramadaki farklılığı ve çözeltinin elektrot üstünde meydana getirdiği etkilerle ilgili mühim bilgilendirme sağlar. Elektrokimyasal tepkimenin başlamasında ve süreç içinde kimyasal olarak bir durumun meydana gelip gelmediğini, elektron transfer reaksiyonunun oluşup oluşmadığını çeşitli reaksiyon hızlarındaki voltamogramlardan bulabiliriz.



Şekil 1.3. Döngüsel voltametri akım -gerilim eğrisi.

Şekil 1.3'teki grafikte, dönüşümlü voltamogramın verilerinde olduğu gibi; katodik pik akımı (I_{pk}), katodik pik gerilimi (E_{pk}), anodik pik akımı (I_{pa}) ve anodik pik gerilimi (E_{pa}) şeklinde kullanılacaktır.

Elektron transferi basamağından öncesinde ve sonrasında kimyasal reaksiyonun oluşmasının, voltamogramların şekillerini belirlemede önemli bir rolü vardır. Dönüşümlü voltametri karışım içi moleküller veya iyonlar, elektrot üstünde tutunabilir ve bu süreçte farklı reaksiyonlar olabilir. Etkileşimler, elektrostatik çekim kuvvetlerinden cılız etkileşimlere kadar çeşitli olabilir (Bard ve Faulkner, 2001; Gosser 1994).

1.4. Puls Voltametik Teknikler

Puls voltmetrik teknikleri, voltmetrik ölçümün konsantrasyon sınırlarını azaltacak seviyelere düşürmeyi hedeflemektedir. Bu yöntemlerle faradayik olmayan ve

Faradayik akımlar arasındaki ilişkiyi fazlaştırmış ve 10^{-8} M hassaslık civarına düşmüştür. Bu yöntemlerde, elektrota 50 ms'ye yakın zamanlamalarla üst üste gerilim uygulanır. Aralıklarla gerilim verilmesinin sonucunda, kapasitif akım çabucak düşerek ihmal edilebilecek bir durum oluşur; bu sırada faradayik akımdaki düşme küçüktür. Bu sayede küçük tayin sınırları elde edilebilir.

Puls voltametik teknikler üç başlıkta oluşabilir: "normal puls", "kare dalga" ve "diferansiyel puls" voltametik teknikleri. Yöntemlerden SW (kare dalga) ve diferansiyel puls (DP), voltmetrik yöntemler içinde çok geniş kullanım alanına sahiptir.

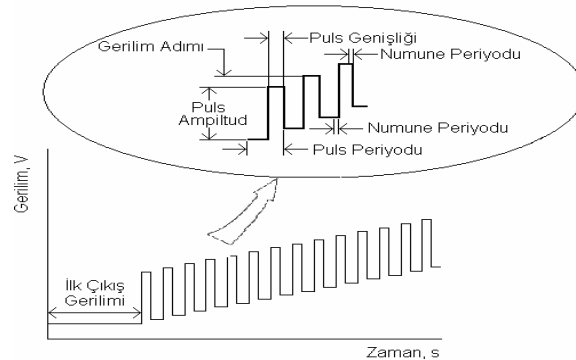
1.4.1. Normal Puls Voltametri

Normal puls tekniği (NPT), DME ile kullanılmak üzere 1958 yılında Barker tarafından geliştirilmiştir. NP tekniğinde, katı elektrotların uygulanmasında yeterli süre bırakılması önemlidir. Başlangıç koşullarını elektrot yüzeyinde eski haline getirmek için bir önceki ve bir sonraki darbe arasında yaklaşık 0,1-5 saniye ayarlanır.

Genellikle elektrot sabit bir başlangıç potansiyelinde, E_i , analitin reaksiyona girmedeği darbeler meydana gelir. Her bir darbenin süresi, yani darbe genişliği, t ($1/4\tau - \tau'$ burada τ' aralıktır), darbeler arasındaki süre genellikle 20 ile 50 ms arasında değişir ve her bir ardışık darbe arasındaki darbe yüksekliği, ΔE , 2-20 mV arasında değişebilir.

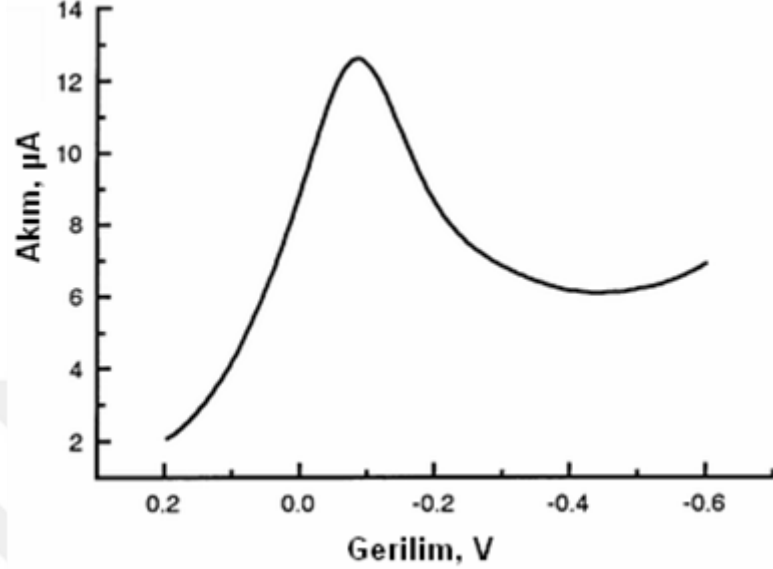
1.4.2. Diferansiyel Puls Voltametri

DP voltametri, organik olmayan ve organik olan çeşitlerin çözümlemelerinde sıkça uygulanan bir yöntemdir. Bu teknikte, çalışma elektrotuna değişmez irilikteki devirli darbeler halinde lineer gerilim basamakları uygulanır.



Şekil 1.4. Diferansiyel puls voltmetrisi elektrolik cihazlarda uyarma sinyali grafiği.

Puls uygulamasından önce ölçülen bir akımla puls uygulamasının sonunda belirli bir süredeki akımların farkı ($\Delta i = i(t_1) - i(t_2)$), gerilimin doğrusal bir fonksiyonu olarak kabul edilir.

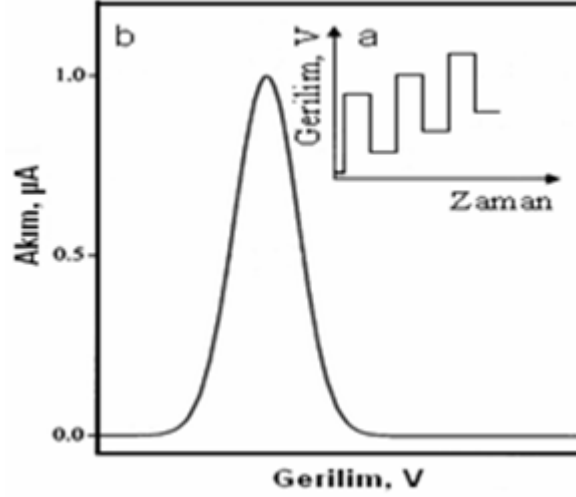


Şekil 1.5. Diferansiyel Puls Voltogramı

Uygulanan gerilime tepki olarak oluşturulan akım farkı grafiği, pik diferansiyel eğri biçiminde oluşur (Şekil 1.4). Analit derişiminin alçaklıkla ters orantılı olduğu gözlenir. Pik gerilimi (E_p), oluşturulan voltamogramda tür tanımlarının yapılması için uygulanabilir; bu değer, yarı dalga geriliminin yakınında bir değerdir. Faradayik olmayan yükleme akımının az, faradayik akımınsa fazla olduğu durumda, yani uyarı/gürültü oranının arttığı durumlarda hassasiyet artar. DP voltametri yöntemi, 10-8 M'dan daha az olan derişimlerde ölçüm yapma olanağı sağlayan hassas bir tekniktir (Wang, 2000; Skoog ve ark.1998).

1.4.3. Kare Dalga Voltametri

SW kare dalga voltmetrisi, kademeli voltaj çalışma taramasında elektrotta kare bir sw formu iletir. Aynı zamanda uygulanan diferansiyel bir yöntemdir. Darbelerin tüm basamakları, aynı darbe periyodu ve süresine sahip olmakla birlikte, bu süre 5 ms'dir. Ölçme anında, akım darbe uygulanmadan biraz evvel ve biraz sonra iki kez ölçüm yapılır. Ardından, bu iki ölçümün akım farkı, uygulanan gerilime karşı çizilir.



Şekil 1.6. Oluşturulan bir voltamogram(b) ve kare dalga voltametrisinde uyarma sinyali(a).(Skoog ve ark. 1998)

Şekil 1.6'da kare dalga voltametrisinin uyarıcı sinyal oluşmasında bulunan akım farkı (Δi), ilk gerilimdeki akım değerinin öbür gerilimdeki akım değerinden çıkarılmasıyla hesaplanılır (Wang, 2000; Skoog ve ark. 1998).

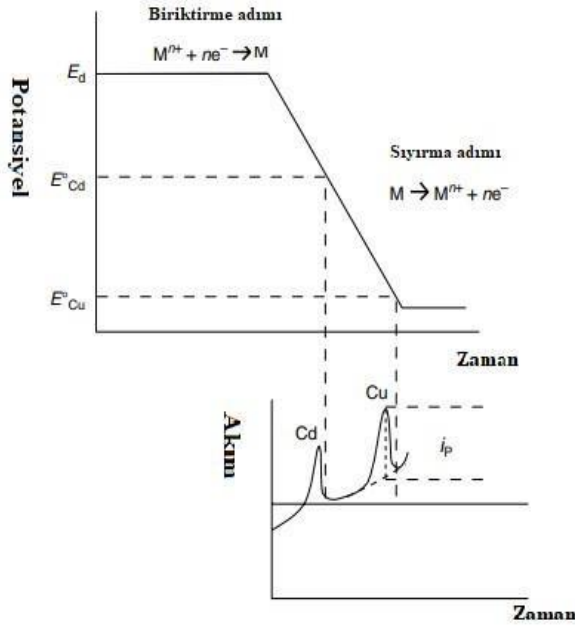
1.5. Sıyırma Voltametri

Sıyırma analizi, eser değerdeki metallerin ölçülmesi için önemli düzeyde hassas bir elektrokimyasal tekniktir. Bu aşırı hassasiyet, etkin bir ön konsantrasyon basamağı ve ileri düzey ölçüm prosedürleri ile üretilen uygun bir sinyal arka plan oranına atfedilir. Metaller, elektrotta önceden 100-1000 kat yoğunlaştırıldığından, aktarım sınırları çözelti fazlı voltametrik ölçümlere karşın iki veya üç büyüklüğe dek düşürülebilir. Bu sebeple, biraz daha değersiz enstrümantasyon uygulanarak 10^{-10} M'a kadar olan yoğunluk seviyelerinde dört veya altı metal eş zamanlı olarak çeşitli matrislerde hesaplanabilir. Bu şekil düşük aktarma limitlerini oluşturma kabiliyeti, fazla miktarda kontaminasyonun en düşük seviyeye getirilebilme derecesiyle orantılıdır. Temel olarak, sıyırma analizi aşamalı olarak uygulanan iki adımdan oluşan tekniklerdendir. İlk aşama olan toplama, metal iyonlarının cıva elektroduna elektrolitik olarak tutunmasını kapsar, tutunma da metalleri yoğunlaştırmak için kullanılır. Bunu takiben, sıyırma evresi veya ölçüm evresi, biriktirme evresinde toplanan metallerin çözülmesini içerir. Toplamanın niteliği ve ölçüm adımı şeklinde sıyırma analizi biçimleri mevcuttur. (Bond ve ark. 1997).

1.5.1. Anodik Sıyırma Voltametrisi

Anodik sıyırma voltametrisi (ASV), sıyırma çözümlemesinin yaygın uygulanan biçimidir. Elektrot kullanılarak hacmi azaltılmış cıva elektrodu oluşturmak için metaller yoğunlaştırılır. Yoğunlaştırma, kontrol edilen zaman diliminde ve potansiyel olarak katodik toplamayla gerçekleştirilir (Zoski, 2006).

Toplanma süresinin ardından zorlanmış konveksiyon durur ve potansiyel, anodik bir şekilde, lineer olarak veya daha hassas bir potansiyel-zaman salınım şeklinde taranarak şarj geri plan akımına karşı ayrışır (diferansiyel puls rampaları veya çoğunlukla kare dalga). Tarayışımızı anodik yaptığımızda, tekrar yükseltgenen metaller, elektrottan ayrılır (metallerin normal olarak sahip olduğu bir işlev olarak hareket eder) ve yükseltgenme akımı (sıyırma) oluşur.



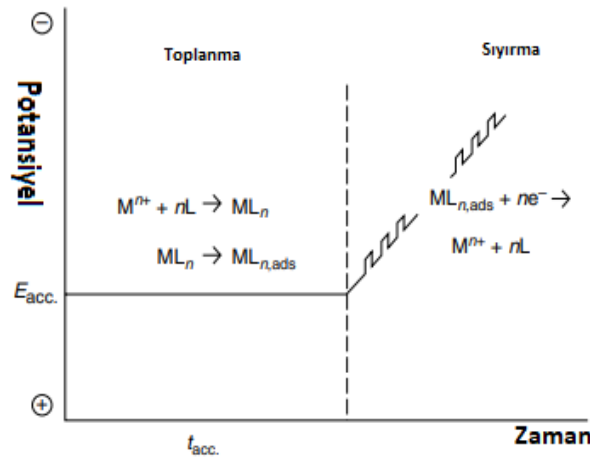
Şekil 1.7. Oluşan voltamogramla (aşağıda) beraber zamandalga- potansiyel şekli (yukarıda):Anodik sıyırma voltametrisi (Wang, 2006)

ASV çalışmalarındaki tekrarlar da sonuç olarak potansiyelde (kullanılan cıva elektrotları + 0,1 V) küçük bir “elektrokimyasal temizleme” döngüsüne ilişkin iyi bir tekrarlanabilirlik gözlemlenebilir. Anodik sıyırma voltametrisinde çalışılan zaman dizisi- potansiyel, oluşturulan SV voltammogramıyla Şekil 1.7’de gösterilmektedir.

Voltametik zirve yeri, potansiyel tarama esnasında cıva elektrodundaki metalin bu süreye bağlı yoğunluk gradyanını gösterir. Bu zirve potansiyelleri, örnekteki metallerin tanımlanmasına yardımcı olur (Wang, 2006). Pik potansiyelleri, voltametik deneyler sırasında belirli bir metalin elektrot yüzeyindeki olayların başlangıcını gösterir ve bu nedenle analit türünü belirlemede kullanılır.

1.5.2. Adsorptif Sıyırma Voltametrisi

AdSV, sıyırma değerlerini kapsayan bir dizi eser elemente yönelik önemli bir şekilde genişleten göreceli olarak modern bir stratejidir. Bu yöntem, metalin yüzey aktif kompleksinin oluşumu, adsorpsiyon birikimi ve indirgenmesini içerir. İlgili stratejiyi açıklamak için Şekil 1.8'e bakabilirsiniz (Keskin, 2009).



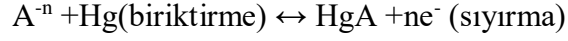
Şekil 1.8. AdSV (bir metal iyonunun(Mⁿ⁺) uygun bir şelat ajanı (L) varlığında adsorpsiyonlu sıyırma ölçümlerinde sıyırma ve biriktirme adımları) (Wang, 2006)

Kısa adsorpsiyon zamanları (1-5 dk), son derece efektif olan arayüzey birikimini elde eder. Ayrıca, redüksiyon aşaması, biriktirilen bileşiğin tamamının eksiltildiği için oldukça kazançlıdır.

Eser metallerin beraberinde adsorpsiyonlu sıyırma voltametrisi, yüzey etkin özelliklere sahip organik komplekslerin (Vitaminler veya pestisitler, kalp veya antikanser ilaçları, nükleik asitler) ölçümünü fazlasıyla elverişli bir yöntem olarak göstermiştir (Moraes, 2019).

1.5.3. Katodik Sıyırma Voltametrisi

(KSV), Anodik Sıyırma Voltametrisi'nin (ASV) yansımasıdır. Bu yöntem, analitin anodik çökeltmesini içerir ve sonrasında olumsuz bir potansiyel tarama sırasında sıyırma işlemi gerçekleştirilir:



Meydana gelen redüksiyon zirve akımı, istenilen kantatif bilgiyi edinir. Katodik sıyırma voltametrisinden, cıva ile çözünmeyen tuzlar meydana getirebilecek farklı organik ile organik olmayan kompleksleri ölçme amacıyla faydalanılır. Bu bileşikler arasında farklı tiyoller, penisilinler, halojenür iyonları, siyanür ve sülfür vardır. Böylelikle önemli seviyede duyarlı ölçümler gerçekleştirilebilir (Wildgoose, 2006).

1.6. Elektrokimyasal Sistemler

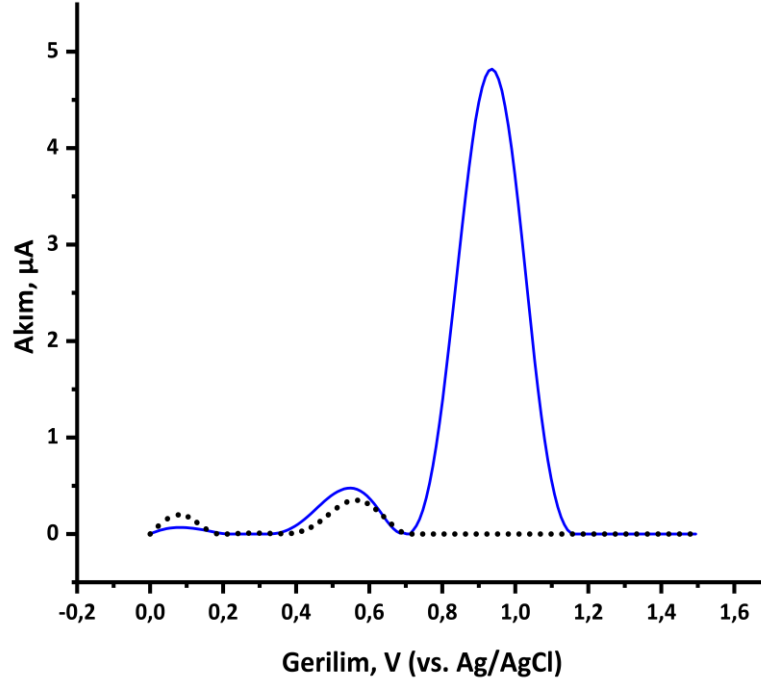
Voltametri tekniği, elektro-aktif organik ve organik olmayan maddeleri incelemeye alma amacıyla kullanılan bir elektroanalitik yöntemdir. Voltametrde, polarize olan çalışma elektrodunun elektrokimyasal hücreye uygulanan akım ve potansiyel bu uygulanan potansiyelin fonksiyonu şeklinde değerlendirilir. (Choudhary ve ark. 2017). Voltmetrik teknikler, çalışma yöntemi olarak basit, doğruluk, duyarlılık şeklinde birçok avantaja sahiptir.

Voltametrik tekniklerin bu avantajları nedeniyle, redoks tepkimelerinin çalışmalarında ve farklı çalışma elektrotlarından yararlanılmasıyla organik ve organik olmayan maddelerin incelenmesinde sıklıkla kullanılmaktadır.

Voltametrik değerlendirmeler, çalışma elektrodunun tamamen polarize olduğu şartlarda yapılabilir. Bu nedenle voltametrik değerlendirmelerde, yüzey alanı üç dört mm² yi aşmayan mini elektrotlar tercih edilir. Voltmetrik hücre mini elektrot bulunan hücreye çeşitli potansiyellerde uyarıcı sinyali verilir. Şekil 1.9'da gösterildiği üzere, bu metodu temel alan karakteristik akım cevabını verir (Skoog ve ark. 1996).

Voltametrde, faradaik akım ve elektrot gerilimi süre içinde değişime uğrar (Yaacob, 2006). Uygulanmış olan gerilimin bir işlevi olarak oluşturulan akım eğrilerine "voltamogram" adı verilir. Voltamogram eğrisi, elektriksel açıdan aktif çeşitlerin

yoğunluğuyla bağlantılı şekilde oluşturulan redüksiyon, yükseltgenme ya da her ikisine ilişkin niteliksel ve niceliksel bilgi verir.

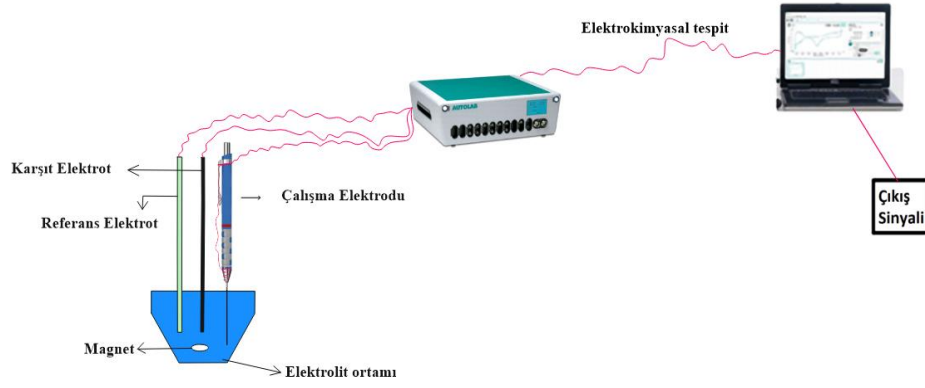


Şekil 1. 9. Voltamogram, akım potansiyel eğrileri

Voltmetrik yöntem, yüzey adsorpsiyonu, elektron aktarım sistemleri, elektrik akımına ve redoks eylemlerine bağımlı bir şekilde çeşitli yerlerde oluşan durumlar gibi birçok çalışma alanında yaygın olarak tercih edilmektedir (Skoog ve ark. 1998).

Elektrotların çeşitli biçimleri, son tasarlanan ve üretimi yapılan tasarımlarla çeşitli pikomolar yoğunluk düzeylerinde çalışmasına müsaade edilerek, voltametrik yöntemleri değerli kılmıştır. Boyutlandırma çalışmaları, aktif elektrot ile yeni teknikle "katı elektrot ölçümü" oluşturularak bu tekniklerin kullanım alanını genişletmiştir (Czae ve Wang, 1999; Barek ve ark. 2001).

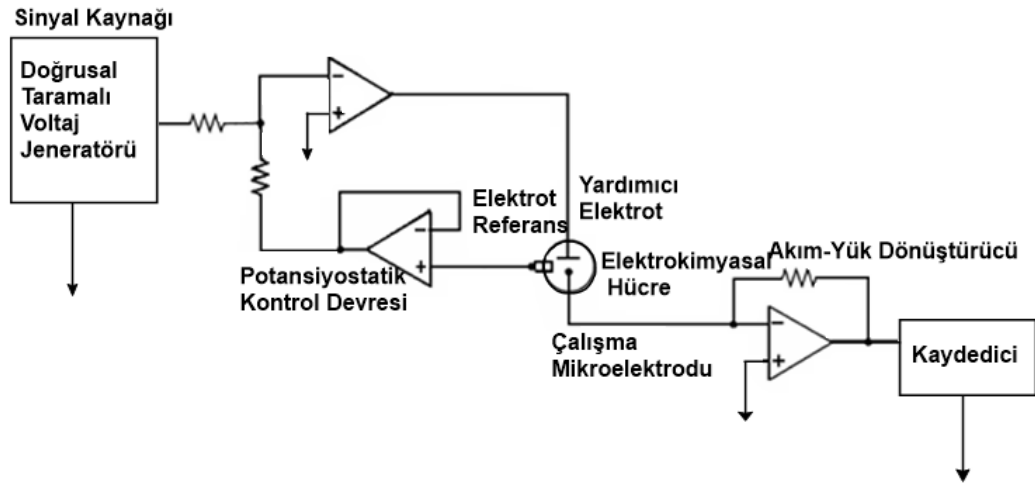
Elektrokimyasal olarak elektroaktif bir analitin laboratuvarında incelenmesi, çoğunlukla elektron iletkeni (elektrot) ve bir iyonik iletken (elektrolit) bulunduran elektrolitik hücre üzerinden gerçekleştirilir (Şekil 1.10). Hücrenin potansiyeli, elektrolitin ve elektrotun arayüzünde hesaplanır. İyonlar sulu çözeltilerinde, elektrolit olarak işlev görerek hücre içinde elektron veya iyon akışını sağlarlar. Hücrelerde oluşan kimyasal tepkimeler, kimyasal gücün elektrik gücüne döndürülmesine katkı verir (Choudhary ve ark. 2017).



Şekil 1. 10. Hazırlanan deney düzeneği ilaç etken maddesinin elektrokimyasal aktarımını göstermektedir.

1.7. Voltametricde Kullanılan Çalışma Elektrotları

Çözeltilerde çözelti direnci az olduğunda, RE içeren çift elektrotlu hücre ile WE elektrotun potansiyelini ölçme amacıyla tercih edilmektedir. Fakat daha fazla çözelti direnci olan ve aşırı az iletkenliği olan elektrokimyasal deneylerde, RE, WE ve CE zıt elektrot içeren üç elektrotlu hücre düzeneği kullanılmaktadır (Şekil 1.10). Bu elektrotlar, elektro-aktif bileşenlerin incelenmesinde kullanıldığından, kolay ve portatif olmaları nedeniyle bu tekniğin verimli bir biçimde uygulanmasını sağlar. Bu yöntemde, WE ve CE arasındaki gerilim seviyesi süreç içerisinde değişirken, WE ve CE arasındaki akım hesaplanmaktadır (Şekil 1.11). Voltametric çalışmalarda platin, civa, altın, grafit, bizmut, modifiye elektrotlar, lif karbon camımsı karbon ve pirolitik karbon çalışma elektrodu şeklinde kullanılmaktadır. Voltametric tekniklerde, çalışma elektrotlarında polarlanmanın oluşması için yüzey alanları az olan elektrotların olması gerekir. Buna, mikro elektrot adı verilir. Elektrokimyasal reaksiyona örnek verilen elektroaktif türlerin küçük bir azınlığı, mikro elektrotların uygulanması sonucu reaksiyona girer. Böylece analiz numunesinin bileşimi çoğunlukla sabit kalır. Bu sayede aynı numuneden çok kez voltamogram oluşturulabilir.



Şekil 1. 11. Voltametrik yöntemlerde kullanılan potansiyostatik sistemin üç elektrotlu şeması (Reinke ve Simon, 2002'den modifiye edilmiştir).

1.7.1. Bor Katkılı Elmas Elektrot

BDD elektrot, aşırı derecede istikrarlı olan büyük bir potansiyel aralıkta ve az akımda çalışabilen, karbon elektrotlara göreceli olarak yeni bir elektrot türüdür. Bozulmaya karşı, bu elektrotlar dayanıklı ve dirençlidir. Benzen üzerinde uygulanan yöntemlerde, GC elektrodunun bor katkılı elmas elektrotuna oranla daha az dirençli olduğu gözlemlenmiştir (Oliveira ve ark. 2007).

BDD elektrot ayrıyeten ihtiyaç duyulan elektriksel iletkenliği temin eder ve atıksu rafınajı, su sterilizasyonu ve dezenfeksiyon gibi alanlarda anodik oksidasyon amacıyla kullanılır. BDD elektrodu, fazla O₂ gerilimine sahip olduğu için elektroliz anında yüksek miktarda OH⁻ radikalleri üretir ve organik moleküllerin parçalanmasına olanak tanır.

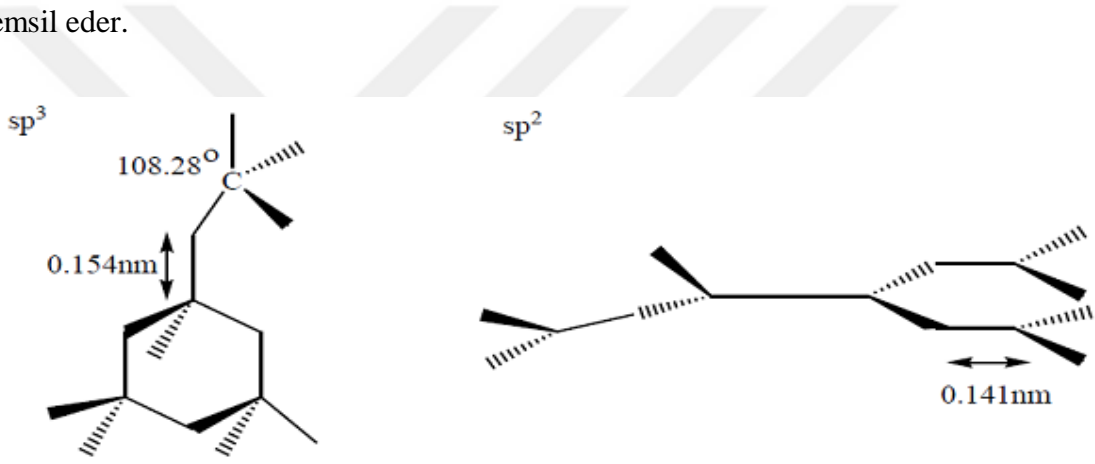
BDD elektrot, geleneksel karbon elektrotlarına (grafit veya camısı karbon) kıyasla daha iyi niteliklere sahip olan elektrot türüdür. Voltmetrik işlemlerde BDD elektrot ve GC kullanılarak 1,3,5 trimetil benzen ve 2,6-dimetoksifenol tarzı bileşiklerin farklı yerlerde CV'leri elde edilmiştir. Deneyler, BDD elektrodunun GC elektrotuna oranla daha az akıma ve daha fazla potansiyel aralığa sahip olduğunu göstermektedir (Suryanarayanan ve ark. 2010).

Elmas elektrotların ana nitelikleri yüksek potansiyel aralığında çalışabilme, düşük kapasitans ve kararlılık gösterme yeteneğidir. Ayrıyeten elmas filmler,

hidrojen/oksijen çıkışıyla alkalı gerilim aralığını yaklaşık 4.0 V'ta ulaşan genişletme imkânı sunar. BDD elektrot, platin elektrotla karşılaştırıldığında gerilim aralığının platin elektrotta göre yaklaşık 2 V fazla olduğu görülmüştür (Kapalka ve ark. 2008). Asit ağırlıklı bir çözeltinin elektrokimyasal oksijen çıkışının birinci aşamasının çoğunlukla suyun ayrışması ile meydana gelen hidroksil radikali olduğu kabul edilmektedir.



BDD elektrotları, kimyasal istim toplama tekniği ile yüksek sıcaklıklarda oluşturulmuş polikristal elmaslardan oluşturulmuş bir elektrot türüdür. Bu teknik, bir yüzey üzerinde gaz halinden elmasın oluşturulması amacıyla uygulanan bir tekniktir. Şekil 1.12'de gözlenen tetrahedral örgü kristal yapısı, elmasın her bir karbon atomunun komşularına sp^3 hibritleşmesi yaparak kovalent bağlarla birbirine bağlandığı bir yapıyı temsil eder.



Şekil 1.12. Grafite örgüsü ve elmas örgüsü farklılıkları

BDD elektrotları çözeltide, organik olmayan ve organik bileşiklerin oksidasyonu için elektrokimyasal nitelik sağlayan dayanıklı elektrotlardır (Şekil 1.13). Bozunmaya karşı dirençli olan bu elektrotlar gerekli olan elektriksel iletkenliği sağlarlar. Ayrıca su arıtımı, su dezenfeksiyonu ve sterilizasyon gibi işlemler için anodik oksidasyona uygun hale getirilmişlerdir. Doğada pasif özellik gösterip organik kirleticilerle reaksiyon vermezler ve kirleticilerin oksidasyonunu katalizlemezler. BDD elektrotları, hidroksil radikalleri dahil büyük bir skalada oksitleyici çeşitler üretebilirler.

Bor katkılı elmas elektrodunun kolaylıkları arasında büyük organik bileşiğin sulu elektrolit içinde oksidasyonunu onaylama potansiyeli önemli bir yer tutar. BDD elektrotları, hidroksil radikallerinin elektrot potansiyel değerlerinin oluşturulmasını

sağlar, bu radikallerin güçlü oksitleyici çeşitlerin anot vazifesinde kullanılmasına olanak tanır (Kısacık, 2010).

Asit ağırlıklı çözeltide, BDD elektrodunun yüksek anodik kararlılığı nedeniyle güçlü oksidasyon ürünleri üretebildiği bilinmektedir. BDD elektrodunun en önemli niteliklerinden biri, büyük anodik potansiyelerde hidroksil radikallerini elektriksel biçimde üretebilmesidir. Elmas elektrotların temel uygulama alanları arasında elektrosentez, organik kirliliklerin elektrokimyasal temizliği, elektroanaliz ve ağır metallerin tekrardan kazanımı bulunmaktadır (Comninellis ve ark. 2005).

BDD elektrotlar, tungsten, silikon, tantal ve niyobyum içeren veya sert seyreltik levhalar halinde geçerli substratlar üstüne kaplanmış şekilde kullanılabilir (Kısacık, 2010).

BDD elektrodunun işlem göreceği yüzeyinin temiz olması büyük bir öneme sahiptir; çünkü küçük bir kir, pik akımında azalmaya ve pik potansiyelinde kaymalara yol açabilir. Bu nedenle, her kullanımdan önce elektrot yüzeyi süspansiyon çözeltilisinden alınır, hemen öncesinden temizlenmiş BDD elektrot yüzüne damlatılır ve oda koşullarında kurumaması amacıyla bırakılır. Tamamen kurumaması tamamlandığında, saf suyla yıkanıp işleme hazır olmuş olur. Ayrıca, belirli sürelerle madde ve Al_2O_3 (Alümina) ile temizlenip parlatılarak ya da çeşitli zamanlarda H_2SO_4 ve yardımcı çözeltili ile aktif hale getirilir. BDD elektrodun temizlenmesi ve aktif hale getirilmesi literatürde farklı çözeltilerde anodik gerilim verilerek gerçekleştirilebilir. Anodik (Zhao, 2007; Şentürk ve ark., 2014; Levent, 2012; Carlos, 2006; Simon, 2007; Kiliç ve ark. 2024; Pınar ve ark. 2023; Ali, H. S. ve ark. 2023) ve katodik (Levent, 2017; Avaca ve ark. 2004; Coldibeli ve ark. 2024; Ali, H. S. ve ark. 2023; Mete, C. Ve ark. 2023 Mariano ve ark. 2024)



Şekil 1.13. BDD elektrot

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

CDK4/6 inhibitörleri (engelleycileri), kadınlık hormonuyla doğrudan etkileşime geçmeyen ancak meme kanserinde hücre döngüsüne bağlı olarak anti-kanser etkisi yapan ilaçlardır. Bu inhibitörler, hormon pozitif meme kanserinin tedavi edilmesine yenilikçi bir yaklaşım sunmuş ve hücre döngüsü üzerinden anti-kanser etkinlik sağlamıştır. Son yarım yüzyılda, meme kanseri, metastatik (4. evre) hormon pozitif tedavisinde önemli bir ilerleme kaydedilmiştir. Bu başarı, CDK4/6 inhibitörleri olarak bilinen siklin bağımlı kinaz inhibitörlerinin keşfi ve geliştirilmesi ile elde edilmiştir. Alışılmış hormonal tedaviyle CDK4/6 inhibitörlerinin birleştirilmesi, tedavi başarısını neredeyse tüm hastalarda ilk tercih olarak kemoterapi ihtiyacını ortadan kaldırmıştır. Bu gelişme, yüksek seviye hormon reseptörü pozitif meme kanserli hastalarda kemoterapinin komple kullanılmadığı söylenememekle birlikte, dünya genelinde kullanılabilirliğini önemli ölçüde azaltmıştır. Birinci teşhis esnasında yaygın hastalığı bulunan ve visseral krize yatkın olan hastalarda, hızlı bir cevap bulmak amacıyla kemoterapi birinci tercih olabilir; fakat bu hasta topluluğunun çok az görüldüğü akılda tutulmalıdır.

2.1. Protein Kinaz İnhibitörler

Protein kinazlar, öteki proteinlere kimyasal açıdan fosfat grupları katılarak (fosforilasyon yaparak) proteinleri farklılaştıran bir tür enzimdir. Bu işlem genellikle amaçlanan proteinde (substrat) işlevsel bir farklılaşmaya neden olur. Bu değişiklikler, enzim faaliyetinde değişiklik, hücre içinde yer değiştirme veya diğer proteinlerle etkileşim şeklinde ortaya çıkabilir. Tüm proteinlerin yaklaşık %30'u, kinazlar tarafından etkilenebilir. Kinazlar, özellikle hücreler arasında uyarı aktarımında ayarlayıcı bir görev aldığı bilinmektedir. CDK4/6 inhibitörleri, mitoz (hücre bölünme) döngüsünü engelleyerek çalışan modern anti-kanser ajanlardır. Bu grupta, yakın etki sistemine sahip olan dünya geneli onaylanmış üç ilaç bulunmaktadır: palbociclib (Reampla), ribociclib (Valamor) ve abemaciclib.

Palbosiklib (Reampla): Reampla (palbociclib), özellikle hormon reseptör pozitif (HR+), insan epidermal gelişme etkeni reseptör 2 negatif (HER2-) tipi ileri seviye ya da metastatik meme kanseri bulunan kadın hastalarda kullanılan bir ilaçtır. Palbociclib, CDK4 ve CDK6 adlı proteinleri hedefleyerek kanser hücrelerinin artmasını ve gelişmesini kontrol altında tutmaya destek olur. Meme kanserinin belli başlı çeşitlerinde hormon reseptörlerine bağlı olan hücrelerde etki gösterebilir. Reampla, endokrin tedavi ile beraber ya da daha sonra kullanılarak kanserin büyümesini durdurmaya ya da kontrolde tutmaya destek sağlayabilir. Bu tür tedaviler, özellikle hormon reseptör pozitif meme kanseri tedavisinde önemli bir rol oynar.

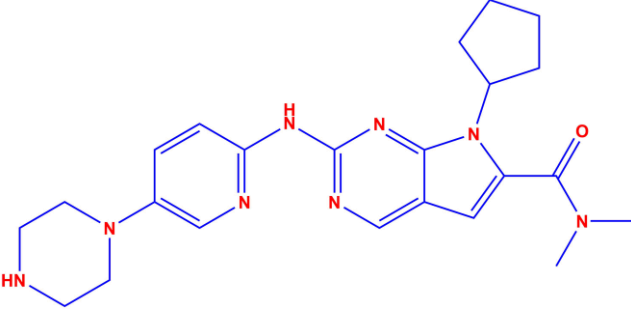
Abemasiklib: Abemaciclib (LY2835219), klinik çalışmalarda (HR+) metastatik meme kanseri tedavi süresince sadece bir ajan şeklinde etkin olan bir ilaçtır. CDK6 ve CDK4 için titiz, kompetitif- ATP ve yeniden kullanılabilir bir kinaz inhibitörüdür (Torres-Guzman ve ark., 2017). Bu özellikleri, hücre döngüsünü kontrol eden proteinlere spesifik olarak etki ederek kanser hücrelerinin büyümesini engellemeye yardımcı olur. Abemaciclib, CDK4/6 inhibitörleri sınıfına aittir ve meme kanseri tedavisinde kullanılan önemli bir ilaçtır. Abemaciclibin klinik açıdan FDA tarafından kabul edilmiş diğer CDK4/6 inhibitörleriyle kıyaslandığında daha fazla tek-ajan aktivitesi bulunduğu tespit edilmiştir (O'Brien ve ark. 2018). Bu, özellikle önceden tedavi edilmiş (HR⁺), HER2- negatif meme kanseri için abemaciclibin tek ajan olacak şekilde onaylanmasını sağlamıştır, öteki inhibitörler ise endokrin ajanları ile onay almıştır (Liu ve ark. 2020).

Ayrıca, abemaciclibin yüksek derecede kan-beyin engelini geçebilme potansiyeli nedeniyle, meme kanseri olanların ortalama %30'unda gelişen beyin yayılmalarını tedavi etmek için engelleyici olduğu düşünülmektedir (Dyhl-Polk, Mohamud, Tan, Nur Husna ve Wong, 2018).

Ribosiklib: Ribociclib (Şekil 11), LEE011 şifresiyle bilinen ER pozitif / HER2 negatif meme kanseri tedavisi için Mart 2017'de FDA tarafından onaylanmıştır. Ayrıca ribociclibin manto hücreli lenfoma, liposarkom, melanom, akciğer kanseri ve pankreas kanseri tedavisi için devam eden faz çalışmalarında değerlendirilmektedir. Ribociclib ve 3-fosfoinositid bağımlı protein kinaz 1 (PDK1) inhibitörü GSK2334470'in kombinasyonu, meme kanseri hücre sınırlarında kuvvetli bir şekilde proliferasyonu baskıladığı görülmüştür. Ayrıca, akciğer karsinomu hücre sınırları ve primer tümör numunelerinde ribociclibin CDK4/6'ya karşı daha selektif olduğu bulunmuştur, özellikle palbociclibe kıyasla.



Çizelge 2.1. Ribosiklib'in fiziksel ve kimyasal özellikleri

Moleküler yapısı	Genel özellikleri
	Molar kütle: 434.548 g/mol Kaynama noktası: 730.8 °C Çözünürlük: DMSO pKa: 4.21 Görünüş: Beyaz kristal lipofilik toz Saklama koşulları: 2-8 °C Kimyasal formülü: C ₂₃ H ₃₀ N ₈ O

2.2 Ribosiklib Üzerinde Yapılan Bilimsel Çalışmalar

Ribosiklib ile ilgili yapılan en iyi literatür çalışmasında genelde kromatografik ve spektrometrik çalışmaların olduğu görülmüştür. Hiçbir elektrokimyasal çalışmaya rastlanılmaması bu çalışmayı elektrokimyasal olarak özgün hale getirmektedir. Ribosiklib ile ilgili bazı kromatografik ve spektrometrik çalışmalar çizelge 2.2'deki gibi listelenmiştir:

Çizelge 2.2. Ribosiklibe ait analiz yöntemleri

Analit	Teknik	Dedektör	LOD(ng/mL)	Matris	Kaynak
Ribosiklib	LC-MS	MS	0.98	İlaç	Turković ve ark., 2022
Ribosiklib	LC-MS	MS	6.9	Plazma	Kala ve ark., 2017
Ribosiklib	NMR	MS	-	İlaç	Sahu ve ark., 2021
Ribosiklib	HPLC	UV	10	Plazma	Shelke ve ark., 2023
Ribosiklib	LC-MS	MS	5	Plazma	Alshogran ve ark., 2023
Ribosiklib	LC	ESI	-	karaciğer	Liu ve ark., 2020
Ribosiklib	LC-MS	MS	10	Plazma	Braal ve ark., 2021
Ribosiklib	LC-MS	MS	-	Serum	Habler ve ark., 2023
Ribosiklib	LC-MS	MS	-	Plazma	Burke ve ark., 2023

Teknik: LC; sıvı kromatografisi, HPLC; Yüksek performanslı sıvı kromatografisi NMR; Nükleer Magnetik Rezonans. **Dedektör:** UV; MS; kütle spektrometresi ultra viyole ESI; Elektrosprey iyonizasyon,

İnsan plazmasında ribociclib'in HPLC-UV ile miktar tayini için ultraviyole/görünür ışık dedeksiyonu (HPLC-UV) kullanan hassas ve doğru bir yüksek performanslı sıvı kromatografi yöntemi geliştirilmiş ve doğrulanmıştır (Shelke ve ark. 2023).

Ribociclib, LC-MS/MS yöntemleri kullanılarak fare plazmasında ve Ringer çözeltilisinde etkili bir şekilde ölçülmüştür. Plazma için katı faz ekstraksiyonu ve C18 kolonları kullanılırken, Ringer numunelerinde ekstraksiyon yapılmadan C8-A kolonları kullanılmıştır (Kala, A. ve ark. 2017).

RBS üzerinde hidrolitik, oksidatif, fotolitik ve termolitik koşullar altında ICH tarafından önerilen kapsamlı bir stres çalışması gerçekleştirilmiştir (Sahu, A. K. ve ark. 2021).

Ribociclib-D6 kullanarak ve basit bir asetonitril protein çökeltme prosedürüyle gerçekleştirilen yöntem, mükemmel doğrusalılık sergilemiş ve ihmal edilebilir matriks etkisiyle tam ekstraksiyon geri kazanımı elde etmiştir. ribociclib çeşitli koşullar altında stabilite davranış göstermiştir. Bu basit, hassas, doğru ve kesin yöntem, sıçanlarda ribociclib miktarının belirlenmesinde başarıyla uygulanmış, süspansiyon ve nanopartikül formülasyonlarını içeren bir farmakokinetik çalışmada kullanılmıştır. (Alshogran, O. Y. ve ark. 2023).

HR+, HER2- meme kanseri tedavisinde kullanımlarının pazarlama sonrası gözetim aşamasında palbociclib, ribociclib, abemaciclib, anastrozol, letrozol ve fulvestrantın insan plazmasındaki miktarını belirlemek için yeni bir LC-ESI-MS/MS yöntemi geliştirilmiştir. Yöntemde bir Kinetex bifenil kolon kullanılmış ve basit bir protein çökeltme işleminin ardından numune hazırlama için çözücü buharlaştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Kromatografik analiz, aromataz inhibitörlerinin yakın elüe olan piklerini etkili bir şekilde çözmüştür. (Turković, L. ve ark. 2022).

Bu çalışmada, spesifik bir CDK4/6 inhibitörü olan ribociclib'in metabolik profilleri sıçan ve insan karaciğer mikrozomları kullanılarak araştırılmıştır. Pozitif iyon modunda sıvı kromatografi elektrosprey iyonizasyon yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi metabolitlerin yapısal tanımlanmasını kolaylaştırmıştır. Toplam 10 metabolit tespit edilmiş ve doğru kütleler, MS2 spektrumları ve alıkonma süreleri ile karakterize edilmiştir. İnsana özgü hiçbir metabolit bulunmamıştır. Metabolik yollar oksijenasyon, demetilasyon ve dealkilasyonu içeriyordu. Özellikle, GSH ile güçlendirilmiş insan karaciğer mikrozomlarında iki glutatyon (GSH) eklentisi tespit edilmiştir. Bu eklentilerin oluşumunun, elektronca zengin 1,4-benzendiaminin 1,4-

diiminoquinone ara ürününe oksidasyonu yoluyla gerçekleştiği ve bunun da kararlı metabolitler oluşturmak üzere GSH ile reaksiyona girdiği varsayılmıştır. Bu çalışma, ribociclib'in vitro metabolik profillerine ilişkin değerli bilgiler sunarak ilacın etkinliğinin ve toksisitesinin anlaşılmasına yardımcı olmaktadır (Liu, N. ve ark. 2020).

İleri evre meme kanseri hastalarından alınan kurutulmuş kan lekesi (DBS) ve potasyum EDTA plazma örneklerinde ribociclib'in doğru bir şekilde belirlenmesi için güvenilir bir tandem kütle spektrometrisi- sıvı kromatografisi (MS/MS-LC) yöntemi geliştirilmiştir. DBS numuneleri plazma ile eş zamanlı olarak toplanmış ve ekstraksiyon için 6 mm'lik bir disk delinmiştir. Dahili standart olarak ribociclib-d6 ile sıvı-sıvı ekstraksiyonu kullanılmıştır. FDA yönergelerine göre doğrulanan yöntem yüksek seçicilik, hassasiyet, kesinlik göstermiştir. Hematokrit varyasyonu doğrulama parametreleri üzerinde bir etki göstermemiştir. Regresyon analizi ve Bland-Altman grafikleri DBS ve plazma konsantrasyonları arasında güçlü bir korelasyon olduğunu doğrulamıştır. Sonuç olarak, validasyon standartlarını karşılayan geliştirilen test, ileri evre meme kanseri hastalarında ribociclib eğilimini incelemek için başarıyla uygulanmıştır (Braul, C. L. ve ark. 2021).

Bu çalışma, CDK4/6 inhibitörlerinin (abemaciclib, aktif metabolitleri (abemaciclib M20 ve M2), palbociclib ve ribociclib) insan serumunda eş zamanlı olarak ölçülmesi için yarı otomatik tandem kütle spektrometresi bir sıvı kromatografi (MS/MS-LC) yöntemi oluşturmayı amaçlamıştır. Ribociclib'in ayrıştırılması, bu kapsamlı yöntemin geliştirilmesini kolaylaştırmış ve ilgili konsantrasyon aralıklarında eş zamanlı kantifikasyona izin vermiştir. İzotop seyreltme LC-MS/MS ile yarı otomatik numune hazırlama yöntemi kullanılmış ve FDA yönergelerine göre doğrulanmıştır. Matriks faktörleri ve proses verimliliği, analitler arasında önemli bir matriks etkisi olmadığını göstermiştir. Gerçek numuneler başarıyla analiz edilerek bu yarı otomatik LC-MS/MS yönteminin uygulanabilirliği gösterilmiştir. Kapsamlı yaklaşım, FDA onaylı tüm CDK4/6 inhibitörlerini ve bunların insan serumundaki farmakolojik olarak aktif metabolitlerini kapsamakta ve kişiselleştirilmiş tedaviyi, hasta güvenliğini ve tedavi başarısını artırmak için potansiyel rutin analiz için değerli bir araç sağlamaktadır (Habler, K, ve ark. 2023).

CDK4/6 inhibitörleri olan palbociclib, ribociclib ve abemaciclib ile abemaciclib'in ana aktif metaboliti M2'nin insan plazmasında eş zamanlı kantitasyonu için bir sıvı kromatografi (LC-MS/MS) ile entegre tandem kütle spektrometrisi testi geliştirilmiştir. Bu test, hormon insan epidermal büyüme faktörü reseptörü, reseptörü

pozitif 2-negatif meme kanseri metastatik olan hastalarda, CDK4/6 inhibitörlerinin standart bakım ajanları olarak kullanılmasına bağlı terapötik ilaç izleme ve klinik farmakokinetik çalışmaları desteklemeyi amaçlamaktadır. (Burke, S. M. ve ark. 2023).



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu araştırmada yararlanılan malzeme ve cihazların özellikleri Şekil 3.1 ve Çizelge 3.1' de özetlenmiştir.

Çizelge 3. 2. Őalıřmada kullanılan malzemeler

a) Őeřitli ölçülerde cam malzemeler (pyrex®)	Farklı hacimlerde tampon çözeltili Őişeleri, balonjoje, pipet, mezür, deney tüpleri, beher, erlen ve cam tüpler.
b) Santrifüj	Soğutmalı Hettich ROTINA 380R
c) Elektrotlar	Őalıřma elektrotu: BDD elektrot Karşılaştırma elektrotu: Ag/AgCl (3 M NaCl) (MF 1063, BAS) Yardımcı elektrot: Platin tel (MF 1032, BAS)
d) Otomatik makro ve mikro pipetler	(Őeřitli ölçülerde)
e) Deney hücresi	10 mL 3 bölmeli kapaklı standart cam Hücre (MR1208)
f) Karıştırma sistemi	Manyetik karıştırıcı (ARE heating magnetic stirrer) Magnet (Spinbar VMR micro)
g) Duyarlı terazi	Precisa 320XB 220A
h) Elektrokimyasal analiz cihazı	(AUTOLAB, PGSTAT128N) (şekil 3.1) (Nova2.1.6 yazılımı ile)
i) pH metre	Termo scientific Orion 3 star pH metre



Şekil 1.3 Deneysel çalışmalarda kullanılan malzemeler

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bu araştırma için satın alınan kimyasallar ve reaktif malzemelerin firma adı ve özellikleri Çizelge 3.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 3. 3. Deneyslerde harcanan kimyasal maddeler

Maddenin Adı	Üretici Firma Adı
Dimetil sülfoksit	Merck
Di sodyum monohidrojen fosfat	Merck
Sodyum Hidroksit	Merck
Asetik Asit	Merc
Sülfürik asit	Sigma
Ribosiklib	Farmanova
Hidroklorik asit	sigma
Borik Asit	Merck
Sodyum klorür	Sigma

3.3. Çözeltilerin Hazırlanması

3.3.1. Stok çözeltilerin hazırlanması

Bu tez çalışmasında kullanılmış olan 4.15×10^{-2} M RBS stok çözeltisi dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde hazır hale getirilmiştir. Çözeltiler kullanılmadıkları vakit

buzdolabında muhafaza edilmiştir. RBS çalışmasındaki çözeltiler stok çözeltilerden yeterli miktarı yardımcı elektrolit çözeltisiyle seyreltikten sonra kullanılmışlardır.

3.3.2. Destek elektroliti çözeltilerinin hazırlanması

Deneyler sırasında kullanılan yardımcı elektrolit çözeltisi, 0.04 M, pH 4.8 asetat (ABS), 0.04 M, pH 2.0, 3.0 ve 7.4 fosfat (PBS) ve 0.04 M, pH 2.0 ile pH 12.0 aralığında Britton-Robinson (BR), tampon çözeltilerini içermektedir. ABS tamponu, 0.04 M CH_3COOH çözeltisinden, PBS tamponu, 0.04 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, BR tamponu ise, 0.04 M H_3PO_4 ve 0.04 M CH_3COOH , 0.04 M H_3BO_3 , çözeltilerinden elde edilmiştir. Çözeltilerin tümü istenilen pH seviyesine getirilmek üzere 5 M HCl ya da 5 M NaOH ilavesiyle düzeltilmiştir. Buzdolabında muhafaza edilen tampon çözeltileri hazırlandıktan itibaren Pyrex® cam şişeler içinde saklanmıştır.

3.3.3. Girişim

Biyolojik sıvılarda bulunabilecek ve RBS ile etkileşim yapacak maddelerin etkisini araştırmak için 10^{-3} M olacak şekilde hazırlanan epinefrin, dopamin, ürik asit, askorbik asit, triptofan, norepinefrin, Cu^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , ve Mg^{2+} stok çözeltileri kullanılmıştır. Bu maddelerin etkilerini incelemek amacıyla, RBS içeren bir elektrokimyasal hücreye, optimize edilmiş miktarlarda 10 kat derişik olacak şekilde eklenip ölçümler alınmıştır.

3.4. Elektrokimyasal Ölçümler

Çalışma elektrodu, örnek elektrodu ve destek elektrodu olmak üzere üç elektrotlu bir formül kullanılarak elektrokimyasal değerlendirmeler gerçekleştirildi. Çalışmada destek elektrot olarak platin (Pt), çalışma elektrotu olarak (BDDE) elektrotları, örnek elektrot olarak da gümüş/gümüş klorür (Ag/AgCl) kullanıldı. PGSTAT128N AUTOLAB Elektrokimyasal cihaz olarak kullanılmıştır (Şekil 3.1). Bu cihaz, yazılımı Nova 2.1.6 ve 10 ml'lik özel olarak üretilen elektrokimyasal deney hücresinden (MR 1208) yapılan farklı bir bölüm ve kaptan meydana gelmiştir.

Önce BDDE 0.5M H_2SO_4 yardımcı elektrolit çözeltinin içerisinde 60 saniye boyunca -2.0 V gerilim uygulanarak aktive edilmiştir. Elektrokimyasal

değerlendirmelerde aktif hale getirilen BDD elektrot kullanılmış, CV ve SWV ile yapılmıştır.

3.4.1. Voltametrik yöntem

Elektrokimyasal her gün analizlere başlamadan önce BDD elektrot 1/1 oranında etil alkol çözeltisinde ultrasonik banyoda 15 dakika bekletildi. Daha sonra yüzeyi saf etil alkol çözeltisi ve suyla temizlendi. BDD elektrot elektrokimyasal olarak anodik (+2.0 V) veya katodik (-2.0 V) olarak 300 sn 0.5 M H₂SO₄ çözeltisinde bekletilmiştir. Her bir voltametrik ölçüm arasında BDD elektrot yüzeyi sırasıyla etil alkol ve saf suyla temizlendikten sonra anodik veya katodik olarak 60 saniye boyunca 0.5 M H₂SO₄ ortamında elektrokimyasal işleme tabi tutuldu. Daha sonra CV ve SWV tekniği kullanılarak RBS'nin elektrokimyasal özellikleri farklı destek elektrolit ve geniş bir pH aralığında incelenmiştir.

3.5. Gerçek Numunelerin Analize Hazırlanması

Bu yöntemi ilaçların ticari formlarına uygulamak için eczanelerden alınan VALAMOR™ 200 mg tabletler kullanılmıştır. VALAMOR™ tablet havanda toz hale getirildi, tablet örneği hassas biçimde ölçülüp DMSO' da çözüldü ve yardımcı elektrolit içinde bulunduran hücreye en iyi koşullar içinde µL düzeyinde birçok ekleme yapıldı. Örnek çözeltinin direkt analiziyle, ölçüm grafiği ile miktar tayini amacıyla testler yapıldı. Yapılmış olan her analiz testi beş defa tekrarlanarak uygulandı.

İdrar numuneleri deneylerden hemen önce gönüllü ve hasta olmayan erkek bireyden temin edilmiştir. İdrar numuneleri 10 mL iki deney tüpe yerleştirildi. Bu deney tüplerinin birisine ribosiklib ilave edilmiş diğerine ise ilave edilmemiştir. Bu idrar numuneleri 5000 rpm 10 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüjlemeden sonra oluşan üstteki berrak kısımdan alınan 25 µL idrar örneği destek elektrolit çözeltisi ile 10 mL'ye seyreltildi. Bölüm 3.4.1'deki voltametrik prosedür uygulanarak, idrar numunelerinin voltamogramları kaydedildi. Geri kazanım çalışmaları, çoklu standart ekleme yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

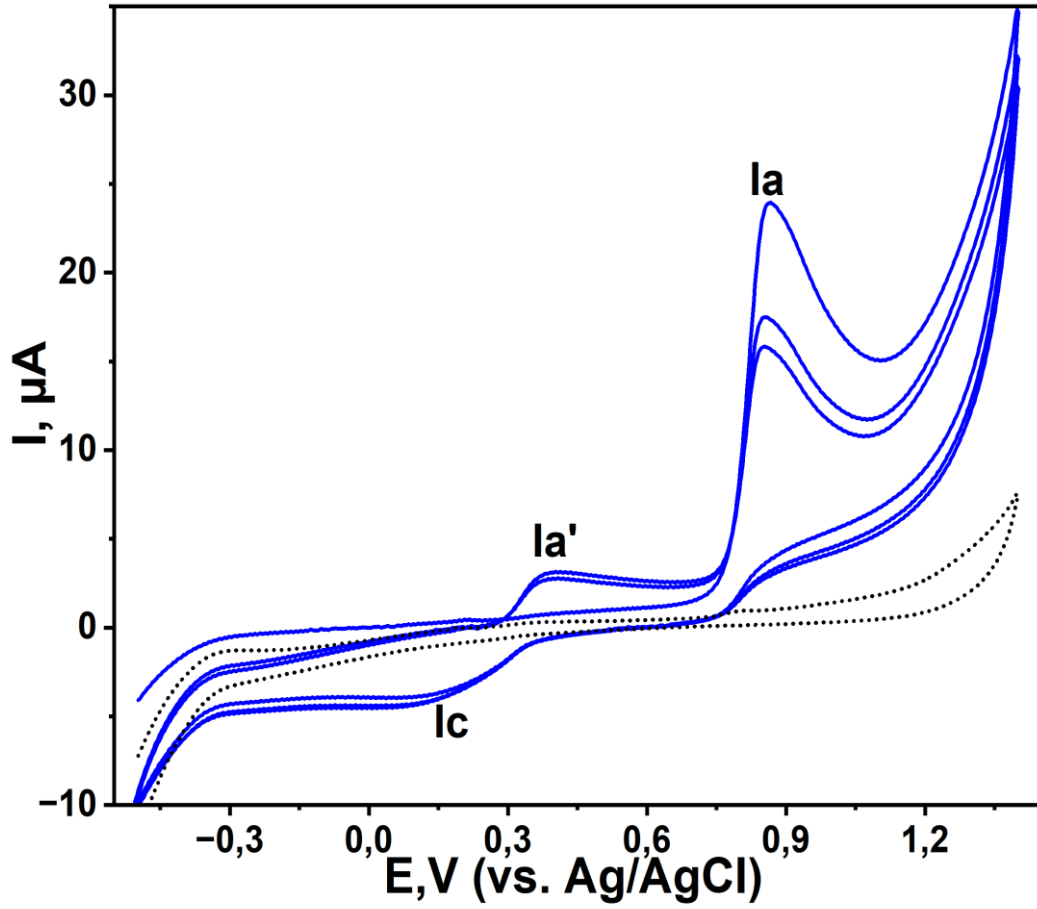
4.1. Ribosiklib'in BDD Elektrot Üzerindeki Elektrokimyasal Davranışın İncelenmesi

BDD kullanılarak RBS aktif maddenin pik morfolojisi ve gerilimi üzerindeki elektrokimyasal değişimlerin tespit edilmesi, değerlendirilmesi amacıyla CV ve SWV teknikleri kullanılarak elektrokimyasal davranışlar detaylı bir şekilde incelenmiştir.

4.1.1. Dönüşümlü voltametri

Bu araştırmada BDD 0.5 M H₂SO₄ içerisindeki 16.6x10⁻⁴ M RBS'nin CV'leri 100 mVs⁻¹ tarama hızında (0.0 V)- (+1.4 V)- (0.0 V) gerilim değerleri arasında ölçümler alınmıştır. CV tekniği kullanılarak anodik pik akımı ve gerilim tarama hızının değiştirilmesiyle oluşan piklerdeki değişim ve adsorpsiyon, elektron iletimi ve difüzyon gibi kimyasal reaksiyonların varlığı tespit edilmeye çalışıldı.

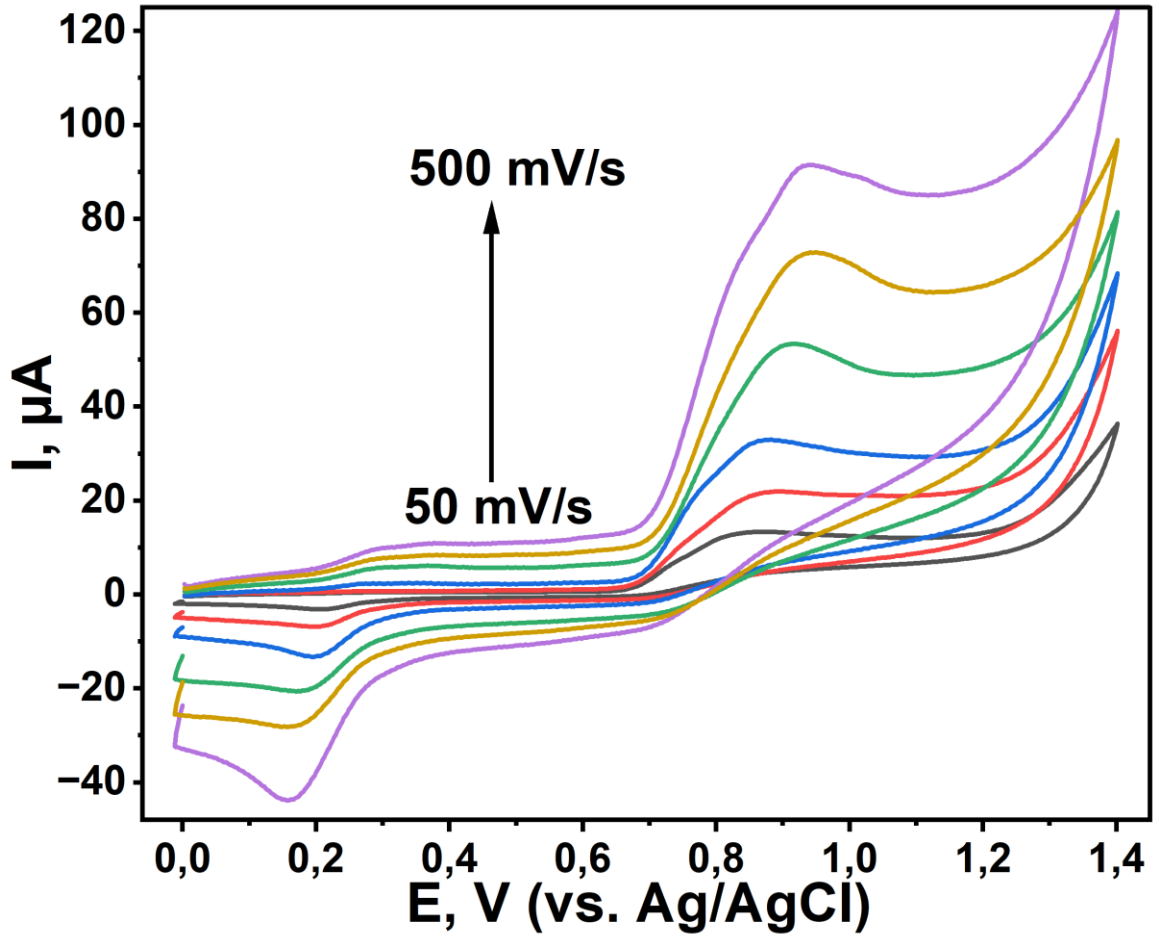
0.5 M H₂SO₄ tamponu içinde RBS'ye ait üç döngülü voltamogramı verilmiştir (Şekil 4.1). Voltamogram incelendiği zaman +0.859 V'ta anodik ve +0.105 V katodik sinyal verdiği gözlenmektedir. İndirgenen sinyal tekrar +0.393 V'a yükseltgenip anodik sinyal vermiştir. Ayrıca döngü sayısına bağlı olarak anodik pik sinyal gücünde azalış ve pikde bir yayvanlık gözlemlenmektedir.



Şekil 4. 1. RBS'ye ait üç döngülü voltamogram 0.5 M H₂SO₄ tamponu içinde çizilmiştir.

4.1.2. Gerilim tarama hızının etkisi

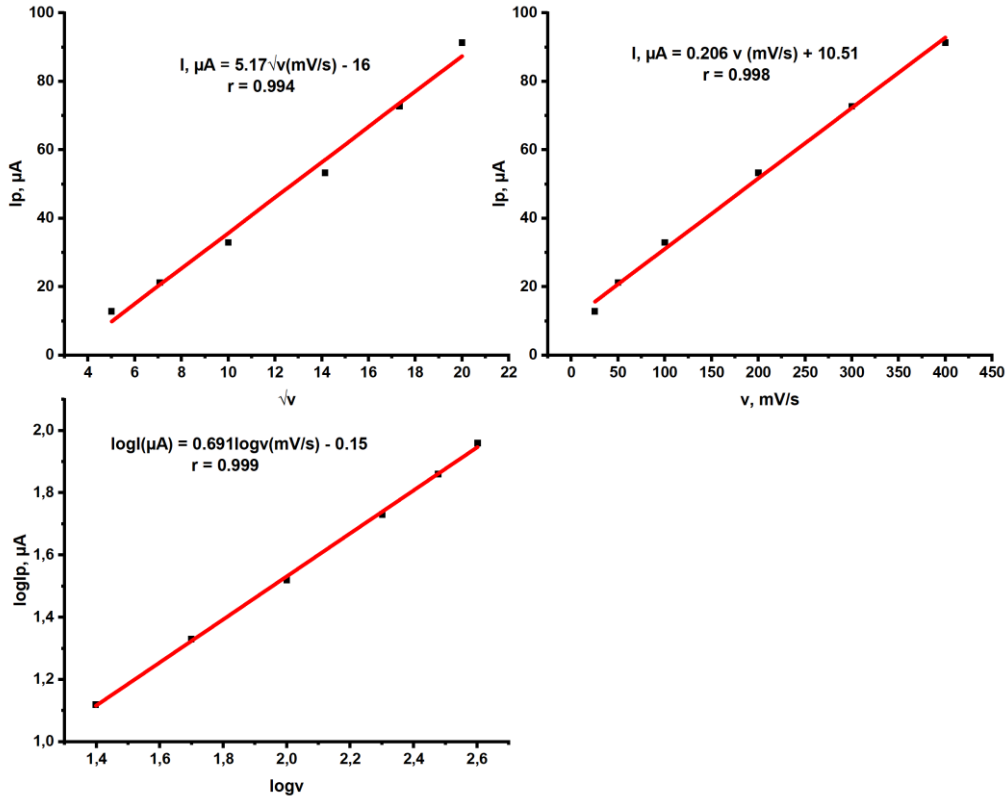
Elektrokimyasal olarak RBS'nin özelliklerini araştırmak amacıyla, farklı tarama hızlarında (50-500 mVs⁻¹) 0.5 M H₂SO₄ tamponu içerisinde 16.6x10⁻⁴ M RBS çözeltisi kullanılarak (0.0 V)- (+1.4 V)- (0.0 V) potansiyel aralığında CV'leri alınmıştır. Çizelge 4.1 ve Şekil 4.2 ayrıntılı olarak incelendiğinde oksidasyon pik geriliminin tarama hızı arttıkça daha pozitif değerlere yaklaştığı görülmektedir.



Şekil 4. 2. Farklı gerilim tarama hızlarında ($50\text{-}500\text{ mVs}^{-1}$) ve $0.5\text{ M H}_2\text{SO}_4$ tamponu içinde $16.6 \times 10^{-4}\text{ M}$ RBS’de elde edilen CV voltamogramları

Çizelge 4.1 Döngüsel voltametri tekniği ile farklı gerilim tarama hızlarında elde edilen oksidasyon pik akımı ve pik gerilim değerleri

v (mVs^{-1})	I_p (μA)	\sqrt{v} (mVs^{-1})	E_p (V)	$\text{Log}v$ (mVs^{-1})	$\text{Log}I_p$ (μA)
50	12.8	7.071	0.83	1.699	1.119
100	21.2	10	0.859	2	1.33
200	32.938	14.142	0.874	2.301	1.52
300	53.3	17.321	0.908	2.477	1.73
400	72.7	20	0.94	2.602	1.86
500	91.3	22.36	0.95	2.699	1.96



Şekil 4. 3. ($\log v/\log I_p$), tarama hızı/akım (\sqrt{v}/I_p) ve (v/I_p) grafikleri farklı tarama hızlarında elde edilmiştir.

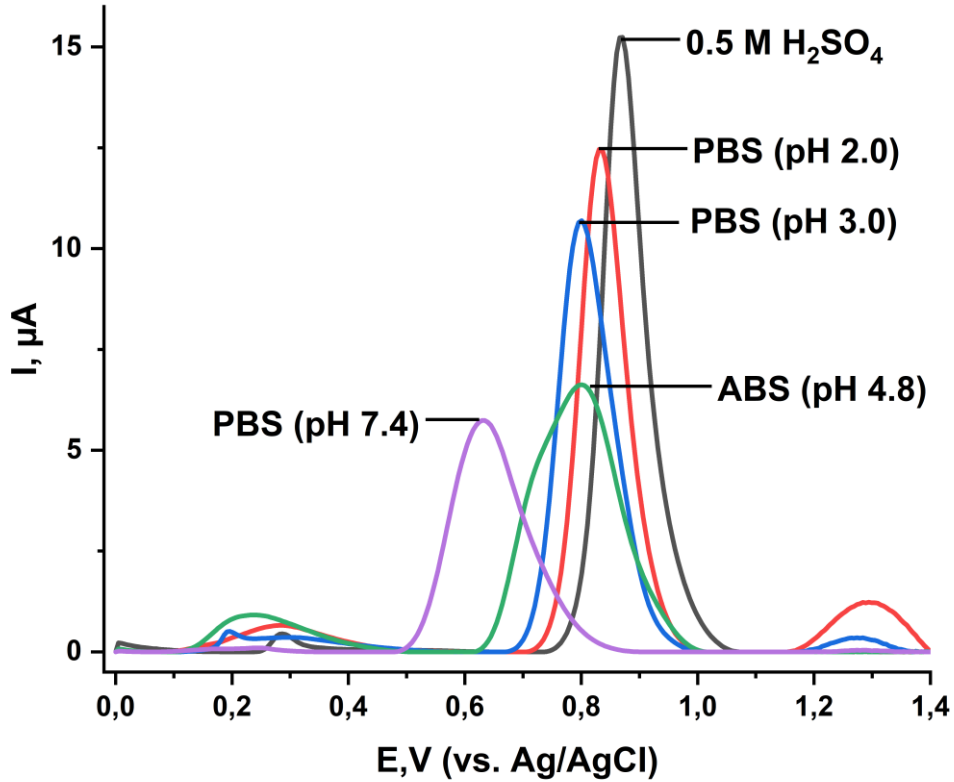
Elektrokimyasal çalışmalar sırasında, çalışma elektrodundaki süreçte I_p/\sqrt{v} ve I_p/v eğrilerinin doğrusal olması, sürecin difüzyonun etkisi altında olduğunu gösterir. $\log I_p$ - $\log v$ doğrusunun eğiminin 1 olması ve I_p/v eğrisinin doğrusal olması durumu, sürecin adsorpsiyon kontrollü olduğunu gösterir. Eğimi 0.5 ile 1 arasında olan $\log I_p$ - $\log v$ eğrisiyle sürecin adsorpsiyon varlığının difüzyon katkılı olduğunu gösterir. Tam difüzyon incelemesi için ise ($\log I_p$ - $\log v$ eğrisinin eğimi=0.5) sürecin dengeli bir difüzyonla gerçekleştiği varsayılır (Laviron ve Degrand, 1980).

Çizelge 4.1'deki verilere göre, $\log I_p$ - $\log v$ arasındaki bağlantının ve I_p/\sqrt{v} arasındaki doğrusal değişim eğiminin 0.8 civarında bulunması, BDDE üzerindeki etkisi difüzyon kontrollü adsorpsiyon ile gerçekleştiğini yorumlandırmaktadır.

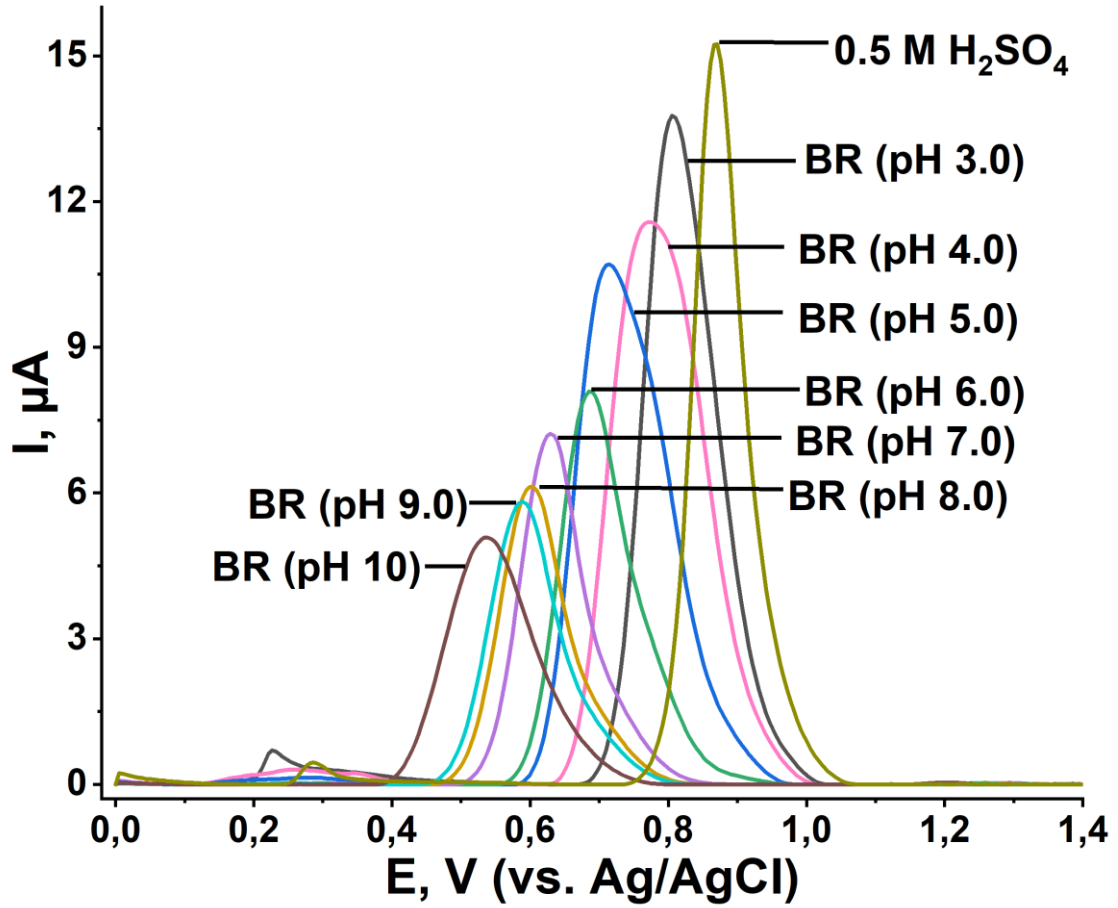
Öte yandan ve Şekil 4.2'de gösterildiği gibi, 50-500 mV s^{-1} aralığındaki pik gerilimlerinin pozitif doğru kayması, tersinir bir elektrokimyasal tepkimenin karakteristik özelliklerini yansıtmaktadır. (Faulkner ve ark., 2000).

4.1.3. Destek Elektroliti ve pH Etkisi

Voltmetrik bir çalışmada, analitin çalışma elektrodu üzerindeki elektrokimyasal davranışı tespit etmek için destek elektrolitin ve pH'ın doğru bir şekilde belirlenmesi son derece önemlidir. pH'ın, ve destek elektrolit çözeltisinin pik akımı pik gerilimi üstündeki etkilerini belirlemek amacıyla SWV tekniğiyle ölçümler yapılmıştır. RBS'nin en iyi pH değerini belirlemek için, ABS çözeltisi (pH 4.8) PBS çözeltileri (pH 7.4, 3.0 ve 2.0), ve 0.5M H₂SO₄ çözeltisi içinde ölçümler alınmıştır (Şekil 4.4). BR tamponu içinde (pH 3.0-10.0) oluşturulan SW voltametri eğrileri Şekil 4.5'te gösterilmiştir.



Şekil 4. 4. 8.3×10^{-4} RBS'nin 0.5 M H₂SO₄, ABS (pH 4.8) ve PBS (pH 2.0, 3.0 ve 7.4) çözeltileri içinde BDDE kullanarak elde edilmiş eğriler. SWV değişkenleri: amplitüd, 60 mV; frekans, 90 Hz, adım gerilimi ,9 mV.

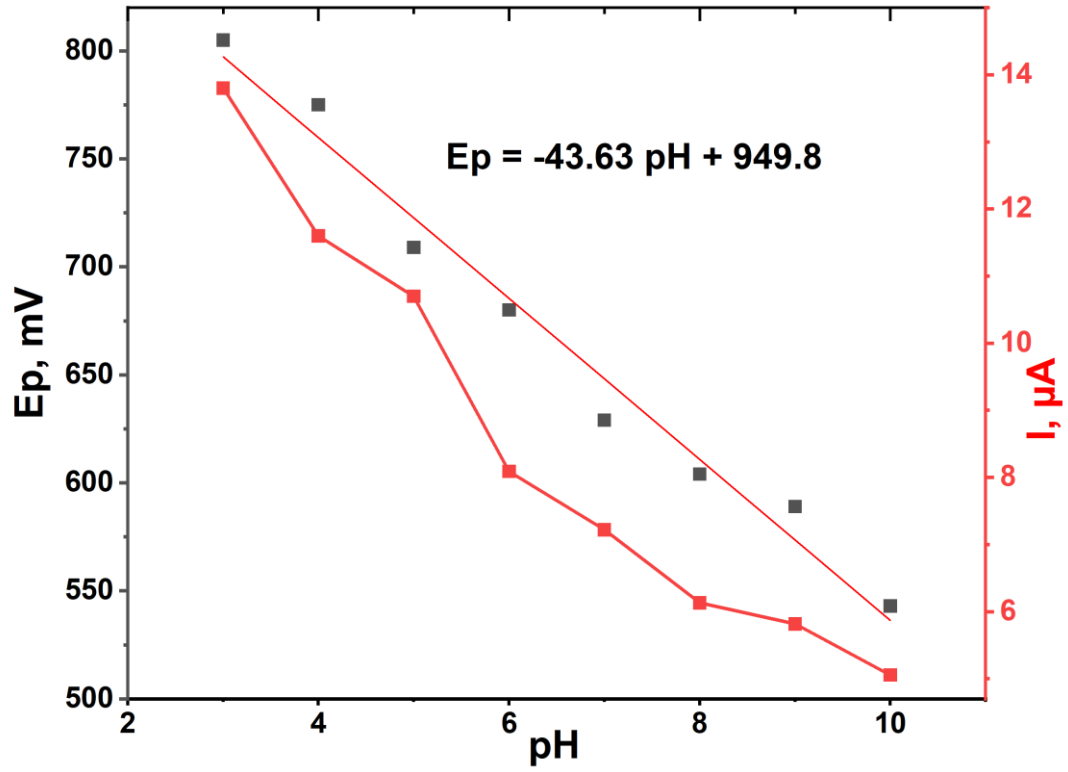


Şekil 4. 5. 8.3×10^{-4} M RBS'ın 0.5M H_2SO_4 ortamında ve BR (pH 3.0-10.0) tamponu BDDE kullanılarak elde edilmiş, SW eğrileri. SWV değişkenleri: amplitüd, 60 mV frekans, 90 Hz; adım gerilimi, 9 mV

Çizelge 4.2 ve Şekil 4.6 'daki bulgulara göre, pik geriliminin daha negatif değerlere kayması pH değerinin artmasıyla gözlemlenmiştir. Gözlemimizde, RBS'nin oksidasyonu proton transferinin gerçekleştiğini gösteren bir kanıt olarak değerlendirilebilir. E_p/pH ilişkisini incelediğimizde, geniş bir pH skalasında eğim değerleri farklı olan iki lineer alan oluştuğu gözlemlenmiştir.

Çizelge 4. 2. RBS voltammogramlarında pH'ın pik voltajı (E_p) ve pik akımı (I_p) üzerindeki etkisi. Elektrot, BDDE; RBS konsantrasyonu, 8.3×10^{-4} M; yöntem, SWV; destek elektroliti, BR tamponu

pH (BR)	E_p (mV)	I_p (μ A)
3	805	13.8
4	775	11.6
5	709	10.7
6	608	8.09
7	629	7.22
8	604	6.13
9	589	5.816
10	543	5.054

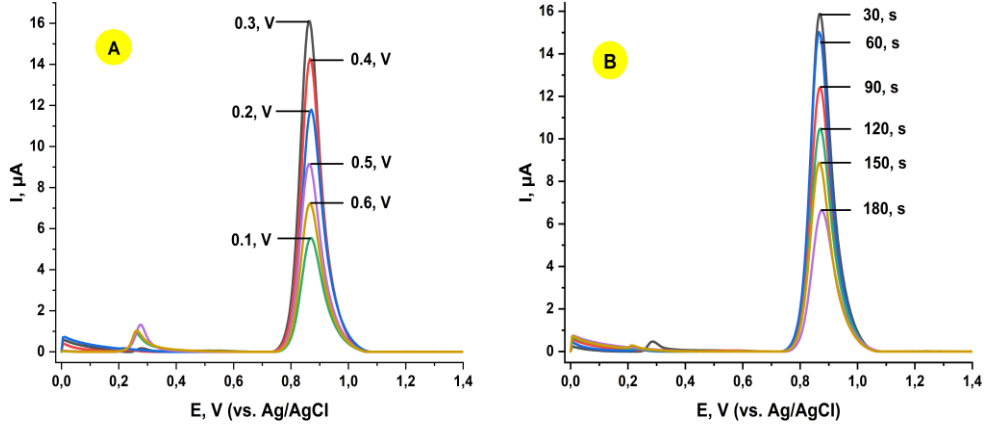


Şekil 4. 6. RBS'nin pik akımı (I_p) ve pik gerilimi (E_p) üzerindeki pH etkisinin grafikleri

Şekil 4.6 ile E_p /pH ilişkisi değerlendirildiğinde, farklı eğimli iki bölüm gözlemlenmektedir. Eğimli iki bölümün tahmini olarak (pH 3.0 civarında) birleştiği nokta, RBS'nin pKa değerine karşılık gelebilir. Asidik ortamdaki pKa değerleri 3.2 ve 3.8 olduğu verilmiştir (Turković, L. ve ark. 2023).

4.1.4. Biriktirme/Sıyırma Koşullarının Etkisi

RBS için Adsorbif sıyırma parametreleri olan biriktirme potansiyeli (E_{acc}) (0.1 V – 0.6 V) ve süresi (30 s- 180 s) (t_{acc}) koşullarının etkisi incelenip voltamogramlar kaydedilmiştir.



Şekil 4.7. 0.5 M H₂SO₄ ortamında SW voltogramları (A) 0.1 V- 0.6 V aralığında biriktirme potansiyeli (B) 30 s- 180 s aralığında biriktirme süresi

Şekil 4.7 detaylı incelendiğinde 30 s boyunca 0.3 V gerilim incelendiğinde BDDE yüzeyinde RBS biriktirilecektir.

4.1.5. Kare-Dalga Değişkenlerinin Etkisi

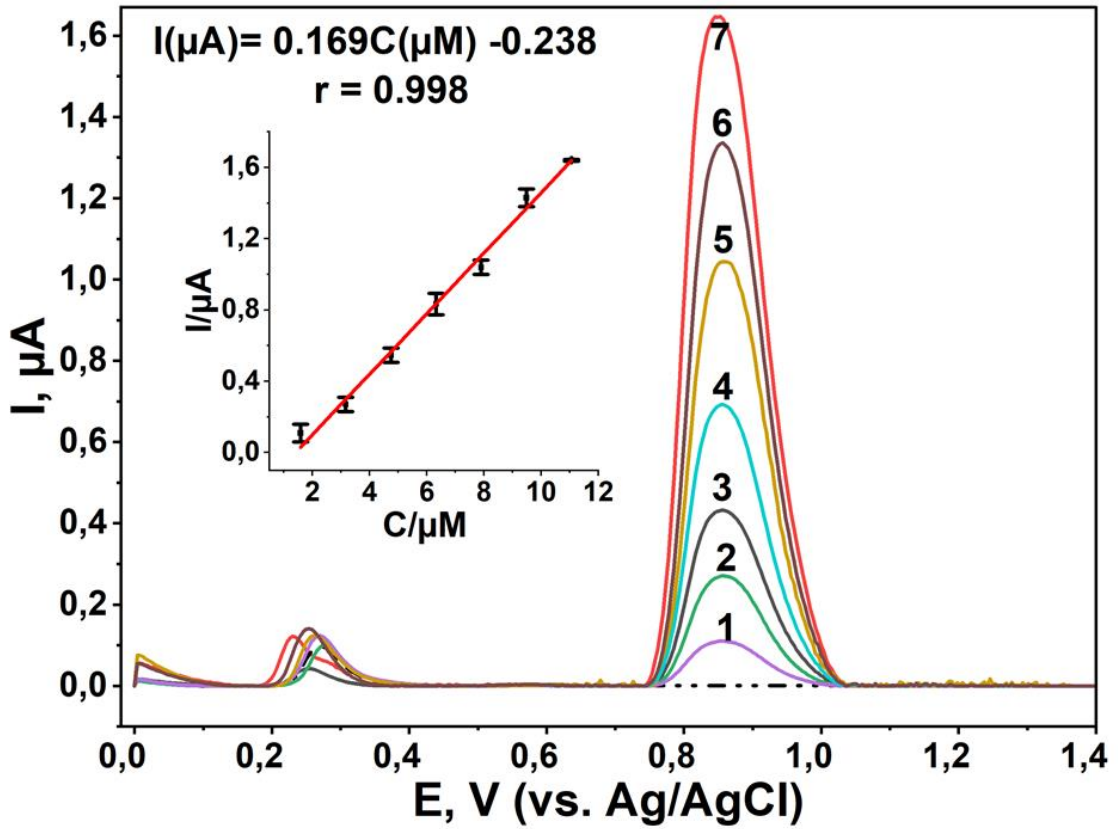
Kare-dalga parametreleriyle daha simetrik ve duyarlı voltamogramları oluşturmak amacıyla en iyi cihaz değişkenlerinin tespit edilmesi için SW değişkenlerinin; amplitüd, $\Delta E_{sw} = 10- 100$ mV; frekansı, $f = 10-100$ Hz ; adım gerilimi, $\Delta E_s = 1-10$ mV, etkisi incelenmiştir. Elektokimyasal ölçümler 8.3×10^{-4} M RBS 0.5 M H₂SO₄ çözeltisinde alınmıştır. Alınan ölçümler iki değişkenin sabit olduğu diğer değişkenin değiştirilmesiyle alınmıştır. Tüm sonuçlar değerlendirildiği zaman optimum SW parametreleri şöyle belirlenmiştir; $\Delta E_{sw} = 40$ mV, $\Delta E_s = 4$ mV ve $f = 25$ Hz.

Çizelge 4. 3. RBS etken maddesi için kullanılan voltmetrik yöntemin çözümlenmesi sonucu geliştirilen optimum parametreler

Elektrot	BDDE
Destek Elektroliti	0.5 M H ₂ SO ₄
Yöntem	SWV
Kare Dalga Değişkenleri	
ΔE_s	4 mV
ΔE_{sw}	40 mV
f	25 Hz

4.1.6. Analitik Çalışma Koşulları

Bu araştırmada, geliştirilen voltametrik yöntemin BDD elektrot yüzeyindeki analitik verim değeri, çalışma aralığı, hassasiyet ve süregenliği açısından en uygun koşullarda değerlendirilmiştir. BDD elektrot kullanarak RBS maddesinden optimize edilen şartlar altında ilavelerle SW voltamogramları kaydedilmiştir. (Şekil 4.8) de RBS nin başarılı bir şekilde her ilavesi yapıldıktan sonra BDD elektrodu üstünde yaklaşık olarak +0.85 V analitik sinyalin doğru bir biçimde artmış olduğu görülmüştür. 1.58 μ M-11.06 μ M aralığında olan analitik sinyalin doğrusal bir şekilde değiştiği görülmüştür.



Şekil 4.8. RBS'nin (1) 1.58 μM, (2) 3.16 μM (3);4.74 μM (4)6.32 μM (5) 7.9 μM (6) 9.48 μM (7)11.06 μM farklı derişimlerinin 0.5 M H₂SO₄ çözeltisi içerisinde kaydedilen SW voltamogramları ve kalibrasyon grafiği. Biriktirme potansiyeli 0.3V, biriktirme süresi 30s; SW değişkenleri, adım gerilimi, 4 mV; amplitüd, 40 mV; frekans, 25 Hz; Kesikli çizgi: Destek elektrolit

LOQ (10 s/m) ve LOD (3 s/m) değerleri, sırasıyla 0.888 μM ve 0.266 μM olarak bulunmuştur. Bulunan değerlerden anlaşılacağı gibi BDD elektrot üstünde voltametrik olarak geliştirilen tekniğin başarılı bir analitik doğrusallığı ve hassaslığı içinde bulundurmaktadır.

Tez çalışmamızda yapılmış olan voltametrik tekniğin yeniden denene bilirliliğini belirlemek için, BDD elektrot üzerinde 0.5 M H₂SO₄ ortamında 9.48 μM RBS çözeltisi, en iyi deney şartlarında hazır edilerek ve aynı günde bu çözeltilerin 9 kez SW voltamogramları elde edilerek kayıt altına alınmıştır. Gün içi kesinlik açısından, voltamogramların gerilim değerleri ve oksidasyon pik akımı toplanarak elde edilen sonuçlar detaylı bir şekilde incelenmiştir. İncelemeler sonucunda % BSS değerleri gerilim ile oksidasyon pik akımı için sırasıyla %0.88 ve % 3.25 olarak bulunmuştur.

4.1.7. Gerçek Numune Analizleri

RBS için tasarlanan tekniğin doğruluğunu ve geçerliliğini kontrol etme amacıyla ticari ilaç formları ve idrar örnekleriyle test edilmiştir.

Ticari ilaç formuna tekniğin uygulamasında Farmanova firması tarafından üretilen VALAMOR™ 200 mg tablet kullanılmıştır. Bölüm 3.5'te anlatıldığı üzere DMSO içerisinde Tablet örnekleri çözerek 4.74 µM-12.64 µM derişim aralığında tayin edilen şartlarla çözeltilerin SW voltamogramları kaydedilmiştir.

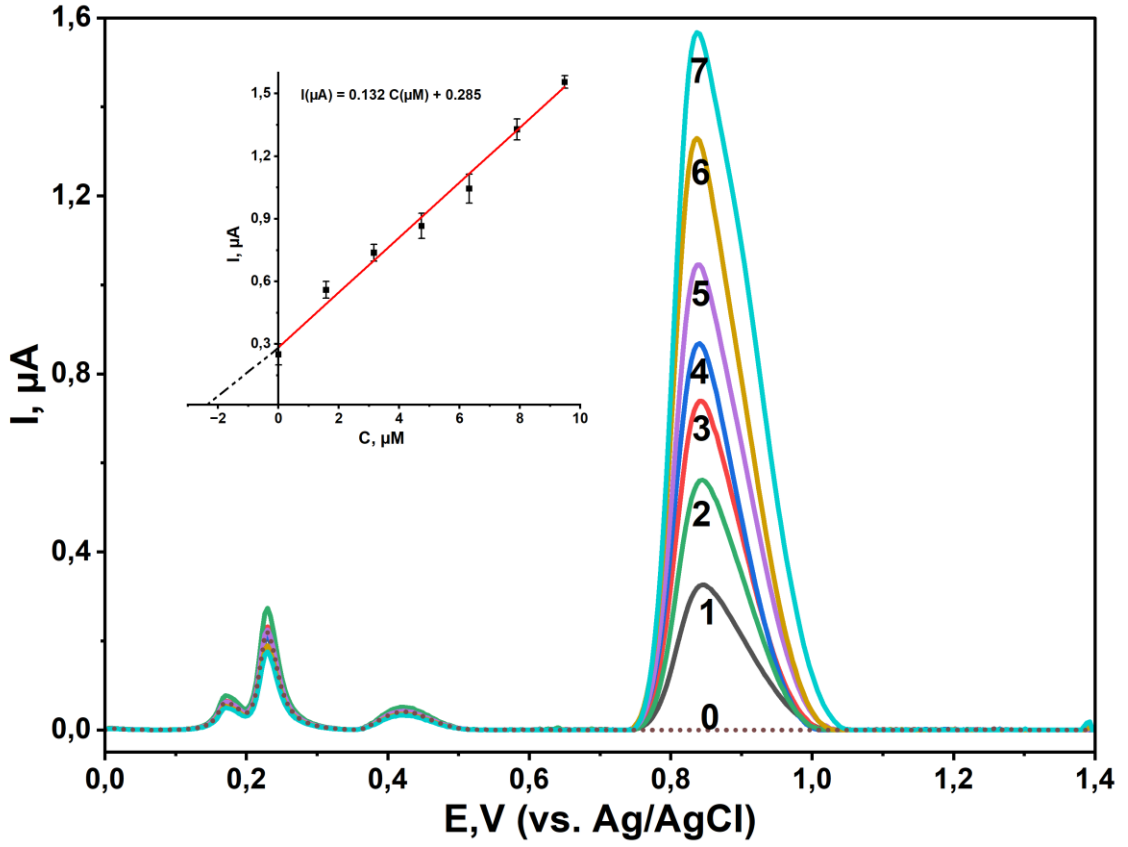
Voltamogram analizleriyle ilgili olarak, tablet ait voltamogramlar ile standart RBS'ye ait voltamogramlar karşılaştırıldığında, eğrilerin uyumlu olduğu gözlenmiştir. Okunan yükseltgenme pik akımı değerleri voltamogramlar üzerinde belirlenmiş ve ilgili kalibrasyon eğrilerine yerleştirilerek, tabletlerdeki RBS miktarları hesaplanmıştır.

Ayrıca BDD elektrot üzerinde geliştirilen voltametrik yöntemin, idrar numunelerindeki uygulanabilirliği test edilmiştir. Şekil 4.9 idrar numunelerine ait SW voltammogramları sunulmuştur. RBS' nin idrar numunelerinde elde edilen sonuçlar Çizelge 3.'te verilmiştir. Bu sonuçlara göre idrar numunelerinde RBS'nin başarılı bir şekilde analiz edilebileceğini göstermektedir.

Çizelge 4.4.BDD elektrot kullanılarak RBS'nin idrar numunelerinde analizi için elde edilen voltammetrik sonuçları

İlave edilen (µM)	Bulunan (µM) ^a	Recovery (%) ± %RSD
2.16	2.27	105.22 ± 3.84

^aStandart katma yöntemi kullanılarak yapılan hesaplama ($n=3$)



Şekil 4.9. İdrar örneğinin 0.5 M H₂SO₄ çözeltisi içerisinde kaydedilen SW voltammogramları; kesikli çizgi seyreltilmiş idrar örneği, (1) 2.16 μM RBS varlığında, (2): 1.58 μM, (3): 3.16 μM, (4): 4.74 μM, (5): 6.32 μM, (6): 7.9 μM, (7) 9.48 μM RBS ilavelerinden sonra. SW değişkenleri; adım gerilimi, 4 mV; amplitüd, 40 mV; frekans, 25 Hz.

4.1.8. Girişim

Geliştirilen yöntemin seçiciliğini değerlendirmek için ideal deneysel koşullar altında biyolojik ve gerçek örneklerde sıklıkla bulunan çeşitli girişimci bileşiklerin etkisi incelenmiştir. 8.3×10^{-4} M RBS ile epinefrin, dopamin, ürik asit, askorbik asit, triptofan, norepinefrin, Cu^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} ve Mg^{2+} gibi analitler üzerinde girişim çalışması gerçekleştirilmiştir. PGE için 8.3×10^{-4} M RBS sabit tutulmuş ve ölçümler girişim yapan analitlerin 10 katı konsantrasyonda alınmıştır. Elde edilen voltammogramlar değerlendirildiğinde RBS'nin anodik pik sinyal şiddetinde ve geriliminde önemli bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Ancak epinefrin, norepinefrin ve ürik asitte kısmen girişim verdiği görülmüştür. RBS'nin tespiti için geliştirilen bu voltammetrik yöntemde kullanılan PG elektrotla, ilgili analitlerin voltammetrik analizlerinde belirtilen bazı maddeler için eş zamanlı olarak analiz edilebileceğinisöyleyebiliriz.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez çalışmasının ilk bölümünde SWV ve CV teknikleri kullanılarak Ribosiklib'in BDD elektrot yüzeyinde göstermiş olduğu redoks davranışları incelenmiştir.

Elektrokimyasal ölçümler BR tamponu (pH 2.0-12.0); PBS (pH 2.0 3.0 ve 7.4);0.5M H₂SO₄ çözeltileri ve ABS (pH 4.8) içinde denenmiştir. Bu denemeler sonucunda 0.5M H₂SO₄ çözelti ortamında en hassas pik değeri ve uygun çalışma ortamı tespit edilmiştir. BDD elektrot ile 16.6x10⁻⁴ M RBS'nin 0.5 M H₂SO₄ içinde (100 mVs⁻¹) tarama hızında- (0.0 V)- (+1.4) (0.0 V) gerilim değerleri arasında, CV'leri kaydedilmiştir. RBS'nin elektrokimyasal yönlerinin araştırılması için -(0.0 V) -(+1.4 V) (0.0 V) potansiyel aralıkta 0.5 M H₂SO₄ tamponu içerisinde 16.6x10⁻⁴ M RBS çözeltisinin, hızlarının farklı olduğu taramalarda (50-500 mVs⁻¹)incelenmiştir. Çizelge 4.1 ve Şekil 4.2 ayrıntılı biçimde incelenince tarama hızı artıkça oksidasyon pik geriliminin daha pozitif sonuçlara yaklaştığı görülmüştür. Şekil 4.2ve Çizelge 4.1'de gösterildiği üzere; 50-500 mV s⁻¹ aralığında pik gerilimleri pozitif bölüme doğru kayma göstermiştir. Bu olgu da tersinir bir elektrokimyasal tepkimenin karakteristik özelliğidir. RBS'nin analitiksel performans özellikleri araştırılmış gözlenebilirlik sınırınının 0.266 µM olduğu belirlenmiştir. RBS gerçek numune analizlerine uygulandığında elde edilen sinyaller idrarda bulunma olasılığı olan maddelerin sinyallerini etkilemediği görüldü. Ayrıca belirlenen voltametrik yöntem RBS'nin ilaç tabletlerine başarılı bir şekilde uygulanmıştır.

KAYNAKÇA

- Ali, H.S. and Yardım, Y.,2023, Simultaneous estimation of total phenolic and alkaloid contents in the tea samples by utilizing the catechin and caffeine oxidation signals through the square-wave voltammetry technique, *Food Chemistry*, 441, 138262.
- Alshogran, O.Y., Al-Shdefat, R. And Hailat, M., 2023, Simple and rapid quantification of ribociclib in rat plasma by protein precipitation and LC-MS/MS: An application to pharmacokinetics of ribociclib nanoparticles in rats, *Journal of Mass Spectrometry*, 58 (12), 4984.
- Ankara üniversitesi, 2017,Protein kinaz nedir? [Online]
https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/43987/mod_resource/content/1/3.pdf
[Erişim Tarihi: 15 Kasım 2023].
- Asıladağ, M., 2006, Laktik Asitin Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Adana.
- Aslan, M., 2019, Okzaliplatinin elektrokimyasal özellikleri ve miktar tayini, Yüksek Lisans Tezi, *Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Batman.
- Avaca L.A. and Hugo B., 2004, Suffredini, Valber A. Pedrosa, Lúcia Codognoto, Sérgio A.S. Machadoa, Romeu C. Rocha-Filho, Enhanced electrochemical response of boron-doped diamond electrodes brought on by a cathodic surface pre-treatment *Electrochimica Acta*, 49, 4021–4026.
- Bard, A.J. and Faulkner L.R., 2001, Electrochemical Methods Fundamentals and Applications. *Copyright John Wiley & Sons, Inc.* 2nd ed.
- Barek, J., Cvacka, J., Muck, A. and Quaiserova, V., 2001, Electrochemical methods for monitoring of environmental carcinogens. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 369, 556-562.
- Bond, A. M., Mahon, P. J., Schiewe, J. and Vicente-Beckett, V., 1997, An inexpensive and renewable pencil electrode for use in field-based stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, 345(1-3), 67-74.
- Braal, C.L. Lam, M. H., Rienks, T., van Tilborg, C. J., Heuts, W., Heijns, J. B., ... & Koolen, S. L., 2021, Quantification of ribociclib in dried blood spots by LC–MS/MS: Method development and clinical validation. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 201, 114118.
- Burke, S.M., Kamal, M. and Goey, A.K. 2023, Development and Validation of a Quantitative LC-MS/MS Method for CDK4/6 Inhibitors Palbociclib, Ribociclib, Abemaciclib, and Abemaciclib-M2 in Human Plasma. *Therapeutic Drug Monitoring*, 45(3), 327-336.
- Carlos A. Alfaro, M. A. Q., Ferro, S., Martínez-Huitle, & Vong, Y. M., 2006, Boron Doped Diamond Electrode for the Wastewater Treatment *J. Braz. Chem. Soc.*, 17, 227-236,

- Choudhary, N., Li, C., Moore, J., Nagaiah, N., Zhai, L., Jung, Y., & Thomas, J., 2017, Asymmetric supercapacitor electrodes and devices. *Advanced Materials*, 29(21), 1605336.
- Coldibeli, B., and Sartori, E.R. 2024, Development of environmentally friendly voltammetric methods for the individual and simultaneous determination of antihypertensives: Validation and application. *Diamond and Related Materials*, 110787.
- Comminellis, C., Duo, I., Michaud, P.A., Marselli, B., Park, S.M., 2005, Application of Synthetic Boron-Doped Diamond Electrodes in Electrooxidation Processes. *Diamond Electrochemistry*, 449-476.
- Czaze, M.Z. and Wang, J., 1999, Pushing the detectibility of voltammetry. *Talanta*, 50, 921-928.
- Faulkner, L.R., and Bard, J.A., 2000, Fundamentals and Applications. *Annu. Rev. Mater. Sci*, 30, 30-100.
- Gosser, D.K., 1994, Cyclic Voltammetry, *VCH Publishers, Inc.*
- Habler, K., Kalla, A.S., Rychlik, M., Vogeser, M., and Teupser, D., 2023, Therapeutic drug monitoring in breast cancer therapy–LC-MS/MS method for quantification of the CDK4/6 inhibitors abemaciclib, palbociclib, ribociclib, and major metabolites abemaciclib M20 and M2 in human serum. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 225, 115211.
- Henden, E., Gökçel, H.İ. and Ertaş, F. N., 2001, Eser Analiz Yaz Okulu. *Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilim dalı*, İzmir 151-160.
- Kala, A., Patel, Y. T., Davis, A., and Stewart, C.F., 2017, Development and validation of LC–MS/MS methods for the measurement of ribociclib, a CDK4/6 inhibitor, in mouse plasma and Ringer’s solution and its application to a cerebral microdialysis study. *Journal of Chromatography B*, 1057, 110-117.
- Kapalka, A., Lanova, B., Baltruschat, H., Fotı, G., and Commnellis, C., 2008, Electrochemically induced mineralization of organics by molecular oxygen on boron-doped diamond electrode ,*Electrochemistry Communications*, 10, 1215-1218.
- Keskin, E., 2009, Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlardan Benzo [a] piren ve 7, 12-Dimetilbenz [a] antrasen’in Kalem Grafit Elektrot Kullanarak Adsorptif Sıyırma Voltametriyi Yöntemiyle Redoks Özelliklerinin İncelenmesi ve Miktar Tayini, Doktora tezi, *YüzüncüYıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.*
- Kısacık, İ., 2010, Benzenin Bor Katkılı Elmas (BDD) Elektrot Üzerinde Elektrooksidasyonu, Yüksek Lisans Tezi, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Adana 9-12.

- Kiliç, A., Aslan, M., and Levent, A., 2024, Investigation of the electrochemical properties of edoxaban using glassy carbon and boron-doped diamond electrodes and development of an eco-friendly and cost effective voltammetric method for its determination. *Analytical Biochemistry*, 685, 115386.
- Kissinger, P., and Heineman, W.R. (Eds.), 2018, *Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry, revised and expanded*. CRC press.
- Laviron, E., Roullier, L. and Degrand, C., 1980, A multilayer model for the study of space distributed redox modified electrodes: Part II. Theory and application of linear potential sweep voltammetry for a simple reaction. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 112(1), 11-23.
- Laviron, E., Roullier, L. and Degrand, C., 1980, A multilayer model for the study of space distributed redox modified electrodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 112, 11-23.
- Levent A., 2012, Electrochemical determination of melatonin hormone using a boron-doped diamond electrode. *Diamond & Related Materials*, 21, 114–119
- Levent A., 2017, Bor Katkılı Elmas Elektrot ile Naftalin'in Voltametrik Davranışı: Kare Dalga Anodik Sıyırma Voltametrisi ile Miktar Tayini, *Süleyman Demirel University Journal of Natural and Applied Sciences*, 21, 948-955.
- Liu, N., Liu, H., Zhang, W., and Yao, H., 2020, Metabolic profiles of ribociclib in rat and human liver microsomes using liquid chromatography combined with electrospray ionization high-resolution mass spectrometry. *Biomedical Chromatography*, 34(3), e4783.
- Liu, Y., Zhao, R., Fang, S., Li, Q., Jin, Y., and Liu, B., 2020, Abemaciclib sensitizes HPV negative cervical cancer to chemotherapy via specifically suppressing CDK4/6 Rb E2F and mTOR pathways. *Fundamental & Clinical Pharmacology*.
- Mariano, R. S., Coldibeli, B., Ceravolo, G. S., and Sartori, E. R., 2024, Ultra-sensitive determination of serotonergic antidepressant vortioxetine in pharmaceutical and blood samples at the boron-doped diamond electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 952, 117962.
- Mete, C., and Pinar, P.T., 2023, Using a Boron Doped Diamond Electrode in Anionic Surfactant Media as an Improved Electrochemical Sensor for the Anticancer Drug Ibrutinib. *ChemistrySelect*, 8(6), e202204492.
- Moraes, J.T., Salamanca-Neto, C. A. R., Eisele, A. P. P., Coldibeli, B., Ceravolo, G. S., & Sartori, E. R., 2019, Fast and sensitive simultaneous determination of antihypertensive drugs amlodipine besylate and ramipril using an electrochemical method: application to pharmaceuticals and blood serum samples. *Analytical Methods*, 11(31), 4006-4013.

- Nur Husna, S.M., Tan, H.T.T., Mohamud, R., Dyhl-Polk, A., and Wong, K.K., 2018, Inhibitors targeting CDK4/6, PARP and PI3K in breast cancer: a review. *Therapeutic advances in medical oncology*, 10, 1758835918808509.
- O'Brien, N., Conklin, D., Beckmann, R., Luo, T., Chau, K., Thomas, J., ... & Slamon, D. J., 2018, Preclinical activity of abemaciclib alone or in combination with antimetabolic and targeted therapies in breast cancer. *Molecular cancer therapeutics*, 17(5), 897-907.
- Oliveira, R.T.S., Salazar-Banda, G. R., Santos, M. C., Calegari, M. L., Miwa, D. W., Machado, S. A., & Avaca, L. A., 2007, Electrochemical oxidation of benzene on boron-doped diamond electrodes, *Chemosphere*, 66, 2152-2158
- Özdoğan M., 2020, CDK4 İnhibitörleri, [Online]
<https://www.drozdogan.com/meme-kanseri-tedavisini-kokten-degistiren-tarihi-gelismek46-inhibitorleri>. [Erişim Tarihi: 15 Kasım 2023].
- Pınar, P.T., Yardım, Y., Gülcan, M., and Şentürk, Z., 2023, The first approach for the simultaneous quantification of isoproterenol, carbendazim, and carbofuran at the surface of a MIL-101 (Cr) metal-organic framework-based electrode. *Inorganic Chemistry Communications*, 111327.
- Probiyotik, 2023, Reampla nedir?, [Online]
<https://www.probiyotik.com/reampla-nedir?>, [Erişim Tarihi: 15 Kasım 2023].
- Reinke, R., Simon, J., 2002, The online removal of dissolved oxygen from aqueous solutions used in voltammetric techniques by the chromatomembrane method. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 374(7), 1256-1260.
- Sahu, A.K., Goswami, A., Kate, A.S., and Sengupta, P., 2021, Identification and structural characterization of potential degraded impurities of ribociclib by time of flight-tandem mass spectrometry, and their toxicity prediction. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 197, 113933.
- Shelke, R.U., and Rishipathak, D.D., 2023, Development and validation of a new bioanalytical method for quantification of CDK4/6 inhibitor in Spiked Human Plasma by HPLC-UV. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, 36(2), 81-86.
- Simon N., Girard H., Ballutaud D., Herlem M., Etcheberry A., 2007, Effect of anodic and cathodic treatments on the charge transfer of boron doped diamond electrodes *Diamond & Related Materials*, 16, 316–325.
- Skoog, D.A., West, D.M., and Holler, F.J., 1996, Analitik Kimya. *Bilim Yayıncılık*, Ankara, 497s.
- Skoog, D.A., Holler, F.J., and Crouch, S.R., 1998, Enstrümantal Analiz İlkeleri, *Bilim Yayıncılık*, 6.

- Suryanarayanan, Noel, M., 2010, comparative evaluation on the voltammetric behavior of boron-doped diamond and glassy carbon electrodes in different electrolyte media, *Journal of Electroanalytical Chemistry* 642(1), 69-74
- Şentürk Z., Yardım Y., 2014, Electrochemical Behavior of Folic Acid at A Boron-Doped Diamond Electrode: Its Adsorptive Stripping Voltammetric Determination in Tablets. *Turk J Pharrn*, 11(1), 87-100
- Torres-Guzmán, R., Calsina, B., Hermoso, A., Baquero, C., Alvarez, B., Amat, J., ... & Lallena, M. J., 2017, Preclinical characterization of abemaciclib in hormone receptor positive breast cancer. *Oncotarget*, 8(41), 69493.
- Turković, L., Bočkor, L., Ekpenyong, O., Silovski, T., Lovrić, M., Crnković, S., ... & Sertić, M. , 2022, Development and validation of a novel LC-MS/MS method for the simultaneous determination of abemaciclib, palbociclib, ribociclib, anastrozole, letrozole, and fulvestrant in plasma samples: a prerequisite for personalized breast cancer treatment. *Pharmaceuticals*, 15(5), 614.
- Turković, L., Mutavdžić Pavlović, D., Mlinarić, Z., Skenderović, A., Silovski, T., & Sertić, M., 2023, Optimisation of Solid-Phase Extraction and LC-MS/MS Analysis of Six Breast Cancer Drugs in Patient Plasma Samples. *Pharmaceuticals*, 16(10), 1445.
- Wang, J., Schultze, J. W., 1996, Analytical electrochemistry. *Angewandte Chemie-English Edition*, 35(17), 1998-1998.
- Wang, J., 2000, Analytical Electrochemistry. *2nd Ed. Wiley-VCH*, New York. S.1-209.
- Wang, J., 2006. *Analytical electrochemistry*.
- Wildgoose, G. G., Banks, C. E., Leventis, H. C., and Compton, R. G., 2006, Chemically modified carbon nanotubes for use in electroanalysis. *Microchimica Acta*, 152, 187-214.
- Yaacob, M.H.B., 2006, Stripping voltammetric methods for the determination of aflatoxin compounds, Doktora tezi, *Faculty of Science University Technology*, Malaysia.
- Yıldız, A., Genç, Ö., and Bektaş, S., 1997, Enstrümental analiz yöntemleri, 2. baskı. *Haccepik Üniversitesi Yayınları A-64*, Ankara.
- Zhao G.H., Li M.F., and Li M.L., 2007, Differential pulse voltammetric determination of dopamine with the coexistence of ascorbic acid on boron-doped diamond surface *Central European journal of chemistry*, 10.2478/s11532-007-0049-1.
- Zoski, C. G. (Ed.), 2006, *Handbook of electrochemistry*. Elsevier.