



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



ANTİKANSER İLAÇ BEKSAROTENİN MİP TABANLI ELEKTROKİMYASAL SENSÖRLERLE TAYİNİ

Selenay SADAK

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Bengi USLU

ANKARA
2025

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANTİKANSER İLAÇ BEKSAROTENİN MIP TABANLI
ELEKTROKİMYASAL SENSÖRLERLE TAYİNİ

Selenay SADAK

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Bengi USLU

Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatörlüğü'nün TYL-2024-3583 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ANKARA
2025

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “ANTİKANSER İLAÇ BEKSAROTENİN MIP TEMELLİ ELEKTROKİMYASAL SENSÖRLERLE TAYİNİ” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Selenay SADAK
Tarih: 12.06.2025
İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Analitik Kimya Anabilim Dalında

Selenay SADAK tarafından hazırlanan

“ANTİKANSER İLAÇ BEKSAROTENİN MIP TEMELLİ ELEKTROKİMYASAL
SENSÖRLERLE TAYİNİ” adlı

tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile
kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 12.06.2025

Prof. Dr. Hayriye Eda ŞATANA KARA

Gazi Üniversitesi

Jüri Başkanı

Doç. Dr. Burçin BOZAL PALABIYIK

Ankara Üniversitesi

Raportör

Prof. Dr. Bengi USLU

Ankara Üniversitesi

Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fügen AKTAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

Antikanser İlaç Beksarotenin MIP Temelli Elektrokimyasal Sensörlerle Tayini

Kanser, dünya çapında ölümlü sonuçlanan hastalıklar arasında kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada yer almaktadır. Kutanöz T-hücreli lenfoma kanser hastalıklarından olan non-Hodgkin lenfoma türlerinden nadir görülen bir tanesidir ve yaygın etkileri cilt üzerinde görülmektedir. Reksinoidler adı verilen bileşiklerden olan Beksaroten (BEK), bir retinoid X reseptörü agonistidir ve kutanöz T-hücreli lenfomada etkinliği hem oral hem topikal formülasyonları ile kanıtlanmıştır. Bu tez çalışması kapsamında BEK'in hassas ve seçici tayini için ilk kez nanomateryal ve moleküler baskılanmış polimer temelli elektrokimyasal bir sensör geliştirilmiştir. Molibden trioksit (MoO_3), platin nanoküreler (PtNK) ve kitosan (Kit) karışımı ile modifiye edilen camı karbon elektrot (CKE) yüzeyi polimer film ile kaplanarak geliştirilen Poli(Arjinin)/BEK@MIP/ MoO_3 -PtNK@Kit/CKE sensörünün elektrokimyasal karakterizasyonu dönüşümlü voltametri (DV) ve elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS) teknikleri ile, yüzey morfolojik özellikleri ise çeşitli spektroskopik ve mikroskopik yöntemlerden taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) ile incelenmiştir. Sensörün elektrokimyasal performansı diferansiyel puls voltametri (DPV) ile değerlendirilmiştir. Buna göre sensör $7,0 \times 10^{-15}$ M ve $1,0 \times 10^{-13}$ M derişim aralığında standart BEK çözeltilerinin $1,06 \times 10^{-15}$ M ve $3,53 \times 10^{-15}$ M teşhis sınırı (TS) ve tayin alt sınırı (TAS) değerleri ile teşhis edilmiştir. Benzer kimyasal yapıya sahip olan retinoik asit ile yürütülen moleküler baskılama faktörü hesaplamaları, sensörün BEK'e karşı yüksek seçicilik gösterdiğini işaret etmiştir. Geliştirilen yöntem ile BEK ticari insan serumu örneklerinde de $1,0 \times 10^{-13}$ M ve $1,0 \times 10^{-12}$ M doğrusal konsantrasyon aralığında $1,14 \times 10^{-14}$ M TS ve $3,82 \times 10^{-14}$ M TAS ile başarılı bir şekilde tayin edilmiştir. Poli(Arg)/BEK@MIP/ MoO_3 -PtNK@Kit/CKE'nin doğruluğu ve uygulanabilirliği Beksar® jel dozaj formu ve ticari insan serumu örneklerinde gerçekleştirilen geri kazanım çalışmaları ile değerlendirilmiştir. Kuantum mekaniksel hesaplamalarda Gaussian 09W yazılımı içinde bulunan yoğunluk fonksiyonel teorisi (YFT) yöntemi ve model geometrilerin oluşturulmasında ve hesaplamaların analizinde GausView 5.0 programı kullanılmıştır. Enerji optimizasyonları B3LYP/6-31G(d,p) seviyesinde yapılmıştır. Ayrıca moleküllerin potansiyel enerji yüzeyinde bir minimumda buldukları (negatif frekansa sahip olmadıkları) belirlenmiştir. Kararlı yapılar için sistemlerin elektronik özellikleri incelenmiştir. Sonuç olarak geliştirilen sensör mükemmel seçicilik ve hassasiyetle BEK tayini için üstün avantajlar sergilemiştir.

Anahtar Kelimeler: Beksaroten, Elektrokimyasal Sensörler, Kutanöz T-Hücreli Lenfoma, Moleküler Baskılanmış Polimerler, Kuantum Mekaniksel Hesaplamalar

SUMMARY

Determination of Anticancer Drug Bexarotene with MIP-Based Electrochemical Sensors

The cancer is the second leading cause of death worldwide after cardiovascular diseases. Cutaneous T-cell lymphoma is a rare type of non-Hodgkin lymphoma, which is a cancer disease, and its widespread effects are seen on the skin. Bexarotene (BEK), one of the compounds called retinoids, is a retinoid X receptor agonist and its effectiveness in cutaneous T-cell lymphoma has been proven with both oral and topical formulations. In this thesis, an electrochemical sensor based on nanomaterials and molecularly imprinted polymers was developed for the first time for the sensitive and selective determination of BEK. The electrochemical characterization of the developed Poly(Arginine)/BEK@MIP/MoO₃-PtNS@Chit/GCE sensor, which was modified with a mixture of molybdenum trioxide (MoO₃), platinum nanospheres (PtNS) and chitosan (Chit) and coated with a polymer film on the glassy carbon electrode (GCE) surface, was investigated by cyclic voltammetry (CV) and electrochemical impedance spectroscopy (EIS) techniques, and the surface morphological properties were investigated by various spectroscopic and microscopic methods such as scanning electron microscope (SEM), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and atomic force microscope (AFM). The electrochemical performance of the sensor was evaluated by differential pulse voltammetry (DPV). Accordingly, the sensor was detected with 1.06×10^{-15} M and 3.53×10^{-15} M detection limit (LOD) and lower limit of detection (LOQ) values of standard BEK solutions in the concentration ranges of 7.0×10^{-15} M and 1.0×10^{-13} M. Molecular imprinting factor calculations carried out with retinoic acid, which has a similar chemical structure, indicated that the sensor showed high selectivity against BEK. With the developed method, BEK was also successfully determined in commercial human serum samples with 1.14×10^{-14} M LOD and 3.82×10^{-14} M LOQ in the linear concentration ranges of 1.0×10^{-13} M and 1.0×10^{-12} M. The accuracy and applicability of Poly(Arg)/BEK@MIP/MoO₃-PtNS@Chit/GCE were evaluated by recovery studies performed on Beksar® gel dosage form and commercial human serum samples. In quantum mechanical calculations, the density functional theory (DFT) method in the Gaussian 09W software and the GausView 5.0 program were used to create model geometries and analyze calculations. Energy optimizations were made at the B3LYP/6-31G(d,p) level. It was also determined that the molecules were in a minimum on the potential energy surface (they did not have negative frequencies). The electronic properties of the systems were investigated for stable structures. As a result, the developed sensor exhibited superior advantages for the determination of BEK with excellent selectivity and sensitivity.

Keywords: Bexarotene, Electrochemical Sensors, Cutaneous T-Cell Lymphoma, Molecularly Imprinted Polymers, Quantum Mechanical Calculations

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	iii
Kabul ve Onay	iii
Özet	iv
Summary	v
İçindekiler	vi
Önsöz	ix
Simgeler ve Kısaltmalar	xi
Şekiller	xiii
Çizelgeler	xv
1. GİRİŞ	1
1.1. Kanser Prevalansı ve Fizyopatolojisi	1
1.2. Kutanöz T-Hücreli Lenfoma	2
1.2.1. Kutanöz T-Hücreli Lenfoma'ya Yönelik Tedavi Yaklaşımları	3
1.2.2. Beksaroten	5
1.3. Elektrokimya	6
1.3.1. Elektrokimyada Kullanılan Üç Elektrotlu Sistemler	7
1.3.1.1. Çalışma Elektrodu	8
1.3.1.2. Karşıt Elektrot	8
1.3.1.3. Referans Elektrot	8
1.4. Elektrokimyasal Metotlar	8
1.4.1. Voltametrik Yöntemler	9
1.4.2. Dönüşümlü Voltametri	9
1.4.3. Puls Voltametri	10
1.4.3.1. Normal Puls Voltametri	10
1.4.3.2. Diferansiyel Puls Voltametri	11
1.4.3.3. Kare Dalga Voltametri	11
1.4.2. Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi	12
1.5. Nanomateryal Modifiye Elektrotlar	12
1.5.1. Platin Nanoküreler	13
1.5.2. Molibden Trioksit	13
1.5.3. Kitosan	13
1.6. Moleküler Baskılanmış Polimer Temelli Sensörler	14
1.6.1. Moleküler Baskılamada Kullanılan Bileşenler	14
1.6.1.1. Hedef Molekül	15
1.6.1.2. Monomer	15
1.6.1.3. Çapraz Bağlayıcı	16
1.6.1.4. Çözücü Ortamı	16
1.6.1.5. Başlatıcı	17
1.6.2. Moleküler Baskılama Stratejileri	17
1.6.2.1. Kovalent Etkileşimlerle Baskılama	18
1.6.2.2. Kovalent Olmayan Etkileşimlerle Baskılama	18
1.6.2.3. Yarı Kovalent Etkileşimlerle Baskılama	19
1.7. Elektrokimyasal Sensörlerde Validasyon	20
1.7.1. Seçicilik	20
1.7.2. Doğruluk	20
1.7.3. Doğrusallık	21
1.7.4. Çalışma Aralığı	21
1.7.5. Duyarlılık	22
1.7.6. Teşhis ve Tayin Alt Sınırı	22

1.7.7. Kesinlik	23
1.7.8. Tutarlılık ve Sağlamlık	24
1.7.9. Stabilité	24
1.8. Kuantum Mekaniksel Hesaplamalar	25
1.9. Beksaroten Tayinine Yönelik Literatür Çalışmaları	26
2. GEREÇ VE YÖNTEM	27
2.1. Tez Çalışmasında Kullanılan Kimyasal Maddeler	27
2.2. Tez Çalışması Kapsamında Kullanılan Cihazlar	28
2.3. Elektrokimyasal Teknikler	29
2.4. Tez Çalışmasında Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı	29
2.4.1. Tampon Çözelti Hazırlanışı	29
2.4.2. Redoks Çözeltisi Potasyum Ferrisiyanür Hazırlanışı	30
2.4.3. Beksaroten Etken Maddesinin Stok Çözeltisinin Hazırlanışı	30
2.4.4. Jel Dozaj Formu Çözeltisinin Hazırlanışı	30
2.4.5. Ticari İnsan Serumu Çözeltisinin Hazırlanışı	30
2.4.6. Girişim Çalışmalarında Yer Alan Çözeltilerin Hazırlanışı	31
2.5. Poli(Arg)/BEK@MIP/MoO ₃ -PtNK@Kit/CKE Sensörünün Hazırlanışı	31
2.5.1. Nanosensörün Hazırlanışı	31
2.5.2. Poli(Arg)/BEK@MIP/MoO ₃ -PtNK@Kit/CKE Sensörü İçin MIP ve NIP Sensörlerinin Hazırlanışı	32
2.6. Nano-MIP Temelli Elektrokimyasal Sensörün Yüzey Karakterizasyonu	33
2.7. Kuantum Mekaniksel Yöntemlerin Uygulanması	33
3. BULGULAR	34
3.1. Beksaroten Tayini İçin Geliştirilen Nano-MIP Temelli Sensörün Yüzey Karakterizasyonu	34
3.1.1. Nano-MIP Sensörünün Elektrokimyasal Karakterizasyonu	34
3.1.2. Nano-MIP Sensörünün Yüzey Karakterizasyonu	37
3.2. Optimizasyon Parametreleri	39
3.2.1. Nanomalzeme ile Sensörün Modifikasyonuna Yönelik Koşulların Optimizasyonu	39
3.2.1.1. Platform Seçimi ve Optimizasyonu	39
3.2.1.2. Damlatma Hacmi	41
3.2.2. MIP Temelli Sensörün Geliştirilmesine Yönelik Koşulların Optimizasyonu	42
3.2.2.1. Monomer Konsantrasyonunun İyileştirilmesi	42
3.2.2.2. Döngü Sayısının İyileştirilmesi	42
3.2.2.3. Elektropolimerizasyonda Tampon Çözelti Seçimi	43
3.2.2.4. Uzaklaştırma Çözeltisi ve Süresinin İyileştirilmesi	44
3.2.2.5. Yeniden Bağlanma Süresinin İyileştirilmesi	45
3.2.2.6. Tuz Etkisi	46
3.3. Poli(Arg)/BEK/MoO ₃ -PtNK@Kit/CKE Sensörünün Elektroanalitik Performansı	47
3.4. Beksar® Dozaj Formu ve Ticari İnsan Serumu Uygulamaları	48
3.5. Nano-MIP Sensörün Seçiciliğinin İncelenmesi	50
3.6. Girişim	51
3.7. Poli(Arg)/BEK/MoO ₃ -PtNK@Kit/CKE Sensörünün Tekrar Üretilbilirliği	52
3.8. Geliştirilen Yöntemin Stabilitesi	53
3.8. Kuantum Mekaniksel Hesaplama Sonuçları	54
4. TARTIŞMA	60
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	64
KAYNAKLAR	66



ÖNSÖZ

Kutanöz T-hücreli lenfoma, erken dönemde sedef ve egzama gibi deri hastalıkları ile karıştırılması ile teşhisi zor olan nadir bir non-Hodgkin türü kanser hastalığıdır. Hastalığın teşhisinin zor olması, hızlı bir seyir izlemesine, hastaların yaşam standartlarının olumsuz etkilenmesine ve tedavisinin güçleşmesine sebep olmaktadır. Beksaroten, özellikle çeşitli tedavi yöntemlerine karşı direnç gösteren hastalarda kullanımı yaygın ve etkili olan bir ilaç etken maddesidir. Bu tez çalışması kapsamında, antikanser etkili ilaç etken maddesi Beksaroten tayini için ilk kez nanomateryal ve moleküler baskılı polimer temelli elektrokimyasal bir sensör geliştirilmiştir. Geliştirilen Nano-MIP temelli sensör, farmasötik dozaj formları ve ticari insan serumu örneklerinde Beksaroten tayini için seçici ve hassas bir şekilde uygulanmıştır.

Lisans öğrenimime başladığım günden itibaren hayalini kurduğum akademik yolculuğumun mimarı, beni bilimsel başarıya ulaştırırken akademik bilgileri yanı sıra duruşu, kararlılığı ve azmi ile hep örnek aldığım, lisansüstü çalışmalarım boyunca emeklerini ve desteklerini hiç esirgemeyen, akademik kariyerimin bana tanıdığı en büyük şans olan, çalışma prensipleri ve etiği ile yoluma ışık tutan çok kıymetli ve saygı değer hocam Prof. Dr. Bengi USLU'ya sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca, kıymetli bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, sorduğum hiçbir soruyu cevapsız bırakmayan, desteklerini her zaman hissettiğim sayın hocam Doç. Dr. Burçin BOZAL PALABIYIK'a,

Tez çalışmalarım boyunca beni yalnız bırakmayan ve değerli bilgilerinden her zaman yararlanabildiğim sayın hocam Doç. Dr. Arzu KARAYEL'e,

Lisansüstü eğitimim boyunca gerçekleştirdiğimiz tüm çalışmaları büyük bir mutluluk içerisinde yürüttüğümüz, her zaman desteğini hissettiğim, her koşulda kıymetli vaktini bana ayıran sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi Hülya SİLAH'a teşekkür etmeyi borç bilirim.

Tüm destek ve yardımları için Anabilim Dalımızın saygıdeğer tüm öğretim üyeleri ve öğretim elemanlarına sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

Lisans eğitimimin bana en değerli ömürlük armağanlarından olan, düştüğümde kaldıran, mutluluğumu her zaman benden fazla yaşayan, her anımın en değerli ortağı,

akademik hayatımda bana yol arkadaşı, her şeyden önce biricik kardeşim Araş. Gör. İpek KÜÇÜK'e tüm destekleri, yardımları ve yanımda olduğu için sonsuz teşekkür ederim.

Yüksek lisans çalışmalarına TYL-2024-3583 kodlu projemiz ile destek sağlayan Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkürlerimi sunarım.

Bana hep destek olan, her zaman elimden tutan, cesaret veren, yanımda varlığını hep hissettiren, yüzümü hep güldüren canım yol arkadaşım Berke KARACA'ya çok teşekkür ederim.

Emeklerini ve desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen, hayatım boyunca dost, arkadaş, sırdaş olan teyzelerim Ayşe ARSLAN ve Tuğba HIZLI'ya sonsuz teşekkür ederim.

En büyük teşekkürümü hayatım boyunca güçlü duruşuyla bana hep örnek olan, bir gün olsun fedakarlığını esirgemeyen, hayatını bana adayan, sonsuz sevgisi ve merhameti ile beni hep tamamlayan, kendisi ile hep gurur duyduğum biricik annem Seden ARSLAN'a, ve gölgesinde kök saldığım, en büyük desteğim, gücüm ve beni bugünlere kadar her zaman kocaman kalbi ve sevgisi ile getiren canım dedem Şemsettin Bülend ARSLAN'a ederim.

SİMGELER ve KISALTMALAR

A	Elektroaktif yüzey alanı
AFM	Atomik kuvvet mikroskobu
Arg	L-arjinin
B3LYP	Becke'nin üç parametrelili değiş-tokuş fonksiyoneli ile Lee, Yang ve Parr' ın gradyent düzeltmeli fonksiyoneli
BEK	Beksaroten
BRT	Britton-Robinson tamponu
BSS	Bağlı standart sapma
BSSH	Baz seti süperpozisyon hataları
C	Kapasitans
CKE	Camsı karbon elektrot
CP	Counterpoise
D	Difüzyon katsayısı
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPV	Diferansiyel puls voltametri
DV	Dönüşümlü voltametri
EIS	Elektrokimyasal impedans spektroskopisi
FT	Fosfat Tamponu
FTIR	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
I_0	Değişim akım yoğunluğu
ICH	Uluslararası harmonizasyon topluluğu
I_p	Pik akımı değeri
k	Baskılama faktörü
k'	Göreceli baskılama faktörü
KDV	Kare dalga voltametrisi

Kit	Kitosan
KTHL	Kutanöz T-hücreli lenfoma
m	Kalibrasyon eğrisinin eğimi
MEP	Moleküler elektrostatik potansiyel
MF	Mikozis fungoides
MIP	Moleküler baskılı polimerler
MoO ₃	Molibden trioksit
PtNK	Platin nanoküreler
MS	Kütle spektroskopisi
NPV	Normal puls voltametri
PV	Puls voltametri
Rct	Yük transfer direnci
s	Standart sapma
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
SK	Sıvı kromatografisi
SS	Sézary sendromu
TAS	Tayin alt sınırı
TS	Teşhis sınırı
UV	Ultraviyole
V	Tarama hızı
YFT	Yoğunluk fonksiyonu teorisi
YPSK	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Kutanöz T-hücreki lenfomaya yönelik geliştirilen tedavi yöntemleri	4
Şekil 1.2. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması	9
Şekil 2.1. Poli(Arg)/BEK@MIP/MoO ₃ -PtNK@Kit/CKE sensörünün hazırlanışı	32
Şekil 3.1. Poli(Arg)/BEK@MIP/MoO ₃ -PtNK@Kit/CKE sensörünün geliştirilme aşamalarına ait 0,1 M KCl içeren 5 mM [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} redoks çözeltisi içerisinde gerçekleştirilen A) DV ile elektrokimyasal karakterizasyonu ve B) EIS ile elektrokimyasal karakterizasyonu	35
Şekil 3.2. A) Yalın CKE, B) MoO ₃ /CKE, C) PtNK/CKE, D) MoO ₃ -PtNK@Kit/CKE, E) MIP/MoO ₃ -PtNK@Kit/CKE ve F) NIP/MoO ₃ -PtNK@Kit/CKE sensörlerinin SEM görüntüleri	38
Şekil 3.3. MIP ve NIP sensörlerinin ATR-FTIR spektrumu	39
Şekil 3.4. Farklı modifiye edici ajanlar ile modifiye edilen CKE'nin 0,1 M KCl içeren 5 mM [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} redoks çözeltisi ortamında elde edilen DP voltamogramları ve B) MoO ₃ -PTNK@Kit nanokompozitinin iyileştirilmesi	41
Şekil 3.5. Farklı damlatma hacimlerinde MoO ₃ -PtNK@Kit ile modifiye CKE'nin 5 mM [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} çözeltisi içerisinde DPV yöntemi ile elde edilen akım değerleri	41
Şekil 3.6. 1 mM BEK varlığında farklı monomer derişimlerine karşılık 5 mM [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} redoks çözeltisinde DPV yöntemi ile elde edilen uzaklaştırma sonrası ve yeniden bağlanma sonrası akım değışimlerinin (ΔI) grafiği	42
Şekil 3.7. A) Farklı döngü sayılarına karşılık 5 mM [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} redoks çözeltisinde DPV yöntemi ile elde edilen uzaklaştırma sonrası ve yeniden bağlanma sonrası akım değışimlerinin (ΔI) ve grafiği ve B) MoO ₃ -PtNK@Kit/CKE sensörü yüzeyinin 5 mM L-arjinin ve 1 mM BEK içeren pH 7,4 fosfat tamponu ortamında 10 döngü sayısı ile -2,0 ve +2,0 V potansiyel aralığında dönüşümlü voltamogramları	43
Şekil 3.8. Farklı tampon çözeltileri içerisinde polimerize edilen sensörlerin, 5 mM [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} çözeltisi içerisinde DPV yöntemi ile elde edilen uzaklaştırma sonrası ve yeniden bağlanma sonrası pik akımı değerlerindeki değışim (ΔI) grafiği	44
Şekil 3.9. A) Farklı uzaklaştırma çözeltilerine ve B) Farklı uzaklaştırma sürelerine karşı 5 mM [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} redoks çözeltisinde gerçekleştirilen DPV ölçümleri sonucunda uzaklaştırma öncesi ve yeniden bağlanma sonrasında elde edilen akım değerleri farkının (ΔI) grafiği	45
Şekil 3.10. Farklı yeniden bağlanma sürelerine karşı 5 mM [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} redoks çözeltisinde gerçekleştirilen DPV ölçümleri sonucunda uzaklaştırma sonrası ve yeniden bağlanma sonrasında elde edilen akım değerleri farkının (ΔI) grafiği	46
Şekil 3.11. 5 mM [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} redoks çözeltisinin içerisine konulan farklı derişimlerde KCl tuzu derişimine karşı gerçekleştirilen DPV ölçümleri sonucunda uzaklaştırma ve yeniden bağlanma sonrasında elde edilen akım değerleri farkının (ΔI) grafiği	46
Şekil 3.12. Poli(Arg)/BEK/MoO ₃ -PtNK@Kit/CKE'nin 7,0 x 10 ⁻¹⁵ M – 1,0 x 10 ⁻¹³ M konsantrasyon aralığında standart BEK çözeltileri ile yeniden bağlanmasının ardından 0,1 M KCl içeren 5 mM [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} redoks çözeltisinde alınan A) DP voltamogramları ve B) Kalibrasyon grafiği	48
Şekil 3.13. Poli(Arg)/BEK/MoO ₃ -PtNK@Kit/CKE'nin 1,0 x 10 ⁻¹³ M – 1,0 x 10 ⁻¹² M konsantrasyon aralığında BEK içeren ticari insan serumu ile yeniden bağlanmasının ardından 0,1 M KCl içeren 5 mM [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} redoks çözeltisinde alınan A) DP voltamogramları ve B) Kalibrasyon grafiği	50
Şekil 3.14. Poli(Arg)/BEK/MoO ₃ -PtNK@Kit/CKE sensörü ile tayin edilen 3,0 x 10 ⁻¹⁴ M BEK'in 1:1, 1:10, 1:100 oranında girişim maddeleri varlığında geri kazanım yüzdeleri	52
Şekil 3.15. Poli(Arg)/BEK/MoO ₃ -PtNK@Kit/CKE'nin raf ömrü	54

Şekil 3.16. Bekсарoten (sol ve L-arjinin (sağ) moleküllerinin B3LYP/6-31G(D, P) seviyesinde elde edilen optimize geometrileri	54
Şekil 3.17. Bekсарoten molekülünün B3LYP/6-31G(D, P) seviyesinde, Moleküler Elektrostatik Potansiyel (MEP) ve HOMO-LUMO diyagramları	56
Şekil 3.18. Arjinin molekülünün B3LYP/6-31G(D, P) seviyesinde, Moleküler Elektrostatik Potansiyel (MEP) ve HOMO-LUMO diyagramları	57
Şekil 3.19. Sistemin (BEK+arjinin), B3LYP/6-31G(D, P) seviyesinde elde edilmiş optimize geometrisi ve geleneksel hidrojen bağları (yeşil kesikli çizgi ile gösterilmektedir)	57
Şekil 3.20. Sistemin (BEK+arjinin) B3LYP/6-31G(D, P) seviyesinde, Moleküler Elektrostatik Potansiyel (MEP) ve HOMO-LUMO diyagramları	58
Şekil 3.21. Bekсарoten molekülünün çözücü ortamında B3LYP/6-31G(D,P) seviyesinde Moleküler Elektrostatik Potansiyel (MEP) ve HOMO-LUMO diyagramları	59



ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Literatürde yer alan beksaroten tayini ile ilişkili çalışmalar	26
Çizelge 2.1. Tez çalışması kapsamında kullanılan kimyasal maddeler	27
Çizelge 3.1. İmpedans parametrelerinin değerlendirilmesi	36
Çizelge 3.2. Standart BEK çözeltisinde elde edilen kalibrasyon doğrusuna ait korelasyon parametreleri	48
Çizelge 3.3. Beksar® jel dozaj formu ve ticari insan serumu örnekleri için geri kazanım değerleri	49
Çizelge 3.4. Ticari insan serumu çözeltisinde elde edilen kalibrasyon doğrusuna ait korelasyon parametreleri	50
Çizelge 3.5. Poli(Arg)/BEK/MoO ₃ -PtNK@Kit/CKE sensörünün BEK tayini için seçiciliği	51
Çizelge 3.6. Poli(Arg)/BEK/MoO ₃ -PtNK@Kit/CKE sensörünün tekrar üretilebilirliği	53
Çizelge 3.7. En kararlı yapılara ait B3LYP /6-31G(D,P) seviyesinde HOMO-LUMO enerjileri (eV) ve global reaktivite parametreleri	55

1. GİRİŞ

1.1. Kanser Prevalansı ve Fizyopatolojisi

Kanser, kontrolsüz hücre bölünmesi ve vücudun diğer sindirim, merkezi sinir ve dolaşım sistemlerine yayılma riski ile karakterize edilen karışık bir grup hastalık olarak tanımlanmaktadır. Dünya çapında önde gelen ölüm nedenlerinden biri olmakla birlikte kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada yerini almaktadır (Marezzo vd., 2023). Yılda 19 milyondan fazla insanı etkileyen hastalık, dünya çapında 10 milyon ölümden sorumludur. GLOBOCAN'ın yayımlanmış olduğu verilere göre son 10 yıl değerlendirildiğinde her yıl yaklaşık 20 milyon yeni kanser vakasına rastlanmakta ve bunlardan yaklaşık 10 milyon hastanın durumu mortalite ile sonuçlanmaktadır (Hulvat, 2020; Weinberg, 1996). Bu vakalar arasında en sık rastlanılanları akciğer, karaciğer ve mide kanseriyken, erkeklerde en yüksek ölüm riski taşıyan kanser türü akciğer, kadınlarda ise meme kanseridir (Mattiuzzi ve Lippi, 2019).

Hastalığın temelini kontrolsüz bölünme sonucu çoğalan hücre kitleleri olan tümörler oluşturmakta ve bu tümörler benign ve malign tümörler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Kumar vd., 2022). Benign tümörler, kansere sebebiyet vermeyen, yakın vücut dokularına yayılmayan ve metastaza yol açmayan, yavaş büyüyen ve cerrahi yöntemlerle tedavi edilebilen hücre kitleleridir (Shiney ve Jerome, 2023). Malign tümörler ise agresif büyüme göstermekte, lenf sistemi ve kan dolaşımı ile kolaylıkla metastaza sebep olmakta ve tedavi sürecini daha kompleks yaklaşımlar oluşturmaktadır (Imai vd., 2025). Kanser çok faktörlü bir hastalık olmakla birlikte esas olarak onkogenlerde ve tümör baskılayıcı genlerdeki mutasyonlardan kaynaklanmakta, kontrolsüz hücre çoğalması ve hücre ölümüne direnç ile sonuçlanmaktadır (Suryavanshi ve Bodas, 2024). Normal, sağlıklı bir vücudun 30 trilyon hücresi birbirine bağımlı bir düzende yaşamakta ve her bir hücre bir diğerinin çoğalmasını düzenlemektedir. Ancak bu düzen içerisinde her bir hücre yakınında bulunan diğer bir hücrenin talimatı ile çoğalmaktadır. Bu iş birliği vücut fonksiyonlarının sağlıklı bir seyirde sürdürülmesinin mimarisini oluşturmaktadır (Weinberg, 1996). Ancak genlerde meydana gelen mutasyonlar, bu düzeni bozarak hücre bölünmesi için kontrolleri ihlal ederek kontrolsüz bir bölünme düzensizliği yaratmaktadırlar. Ayrıca bu hücreler komşu hücreler ile sınırlı kalmamakta agresif bir şekilde vücudun başka bölgelerinde de kitleler oluşturma eğilimi göstermektedirler.

İlaveten, kanser patofizyolojisinde onkogenlerin, tümör baskılayıcı genlerin, DNA metilasyonu gibi epigenetik değişiklikleri konu alan kompleks moleküler etkileşimleri etkili bir yere sahiptir (Ramaiyer vd., 2024). Ayrıca kronik inflamasyon ve bağışıklık sisteminden kaçış da kanser gelişiminde kritik önem taşımaktadır. Bununla ilişki olarak kalp yetmezliği proinflamatuvar sitokinler aracılığı ile karsinogenezi arttırabilmektedir (Cuomo vd., 2021).

Genetik yatkınlık, yaş, beslenme düzeni, çeşitli enfeksiyonlar, fiziksel hareketsizlik gibi birçok risk faktörü ile görülme olasılığı artan kanser vakalarının tedavisi için birçok yaklaşımı bulunmaktadır (Anand vd., 2008). Bu yaklaşımlar arasında kemoterapi, radyoterapi, immünoterapi, cerrahi müdahaleler, ilaç tedavileri gibi birçok yöntem bulunmakta ve bunlar kanserli hücrelerin buldukları organ, kanserin ilerlemiş olduğu evre gibi faktörlere göre tek başlarına ya da kombine halde uygulanabilmektedir (Chandraprasad vd., 2022). Erken dönemlerde tespit edilen kanser hastalığının tedavisi daha başarılı sonuçlar oluşturmaktadır. Bununla birlikte bazı kanser vakalarında tedavi tamamen mümkünken, bazılarında bu mümkün olmayabilmektedir. İleri evre veya metastaza uğramış pankreas kanseri, akciğer veya karaciğer kanserinde tamamen sonuç almak oldukça zordur. Ancak erken teşhis edilen Hodgkin lenfoması, testis kanseri gibi durumların tamamen tedavisi mümkün olabilmektedir (Ettinger vd., 2019; Kleinstern vd., 2020).

1.2. Kutanöz T-Hücreli Lenfoma

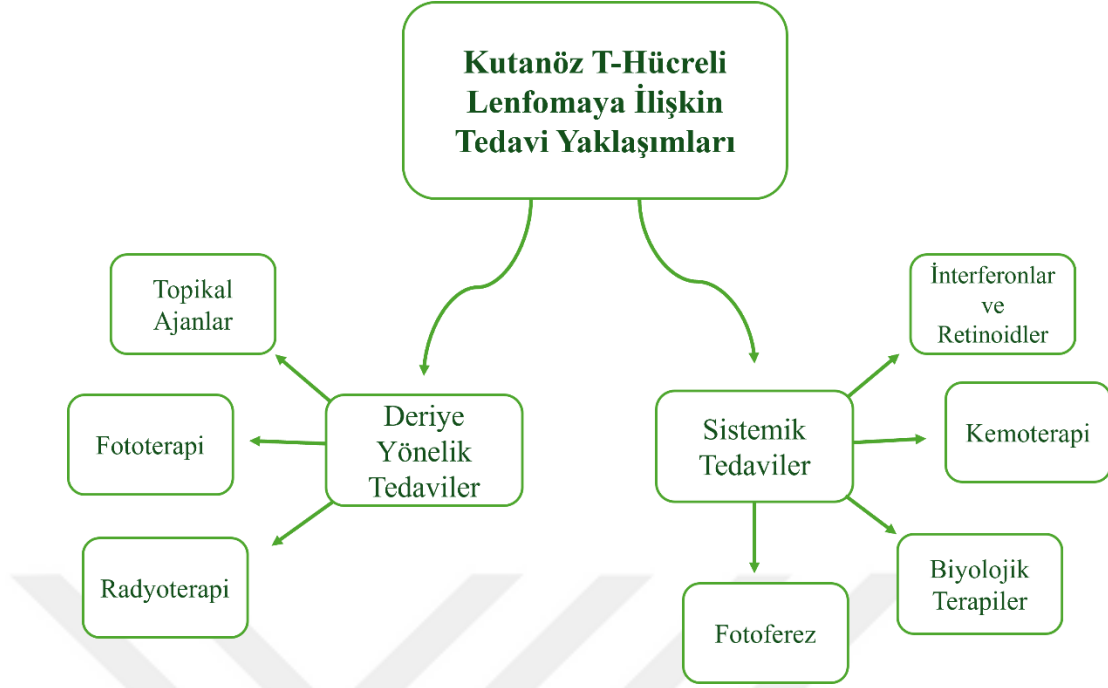
Kutanöz T-hücreli lenfoma (KTHL), kötü huylu T hücrelerinin deriye infiltrasyonu ile karakterize olan ve nadir görülen bir Hodgkin dışı lenfoma türüdür (Hague vd., 2022). En sık 55 ila 60 yaş aralığındaki hastaları etkilemekle birlikte, yıllık görülme sıklığı yüz bin kişide yaklaşık 0,5'tir ve en sık erkeklerde rastlanmaktadır (Bagherani & Smoller, 2016). Hastalığın en yaygın görülen alt tipleri Mikozis fungoides (MF) ve Sézary sendromu (SS) olsa da Dünya Sağlık Örgütü 2016 yılında diğer varyantları da birincil kutanöz lenfomalar sınıflandırmasında belgelendirmiştir (Ghazawi vd., 2019). MF, KTHL'nin en sık rastlanan formudur ve diğer dermatolojik hastalıkları taklit eden deri lezyonları şeklinde kendini belli etmektedir (Nefed'eva vd., 2018). Hastalığın seyri, her biri farklı bulgular gösteren farklı aşamalar boyunca ilerlemektedir. SS ise daha agresif bir KTHL varyantıdır. Hastalık yoğun kaşıntı ve döküntüler ile kendisini belli etmekte ve CD4+ hücrelerinin sistematik yayılımı ile ortaya çıkmaktadır. Hastalık ağır bir ilerleyiş göstermekte, tedavi süreci de oldukça hastayı zorlamaktadır (Alonso vd., 2020; Wojewoda vd., 2024).

KTHL'nin kesin nedenleri tamamen anlaşılamamış olup sebeplerinin birçok faktörden oluştuğu düşünülmektedir. Ancak potansiyel olarak etkili olabilecek faktörler olarak kimyasal maruziyet, ultraviyole ışınlar, gen düzensizliği, bakteriyel veya viral ajanlar görülmektedir. Bu faktörlerin tetiklemesi sonucunda ciltte yer alan CD4+ hafızalı T hücrelerinin kalıcı antijen uyarımı hastalığa neden olabilmektedir (Thestrup-Pedersen, 2016). Ciltte yer alan CD4+ hücreleri, genetik mutasyonların bir sonucu olarak kontrolsüz olarak çoğalmaya başlamaktadır. Kontrolsüz çoğalan hücreler inflamatuvar sitokinlerin salgılanmasına yol açmakta ve kronik inflamasyona ve bağışıklık sisteminde baskılamaya sebep olmaktadır. Sonuç olarak meydana gelen tümör hücreleri de çevrelerinde yer alan hücreleri de etkileyerek hastalığın ilerleyişini hızlandırmaktadır (Olsen vd., 2011).

Hastalarda genellikle eritroderma, deride yamalar veya plaklar, tümörler gibi deride lezyonlar şeklinde görülmektedir. Ancak bu klinik bulgular sedef, egzama, vitiligo ve ilaç döküntüleri gibi iyi huylu, inflamatuvar veya otoimmün bozuklukları taklit eden morfolojik belirtiler gösterebildiklerinden, hastalık dermatolojide iyi bir taklitçi olarak nitelendirilmektedir (Kirsch vd., 2015). Bu nedenle KTHL'nin teşhis edilmesi özellikle erken dönemlerinde oldukça zordur ve yaklaşık 36 ayı bulabilmektedir (Scarlsbrick vd., 2019). Belirgin bir plak veya deride yama gibi şikayetlerde bulunan hastalarda biyopsi ile tanı konulabilirken, belirtileri daha hafif olan hastalarda erken dönemlerde tanı gecikebilmektedir. Tanıda yaşanan gecikmeler hastalığın prognozunu ağırlaştırmaktadır. Erken evrede hastalık daha yavaş seyretmekte, ileri evrelerde ise lenf nodlarına, kan ve diğer organlara yayılma görülebilmektedir (Kotz vd., 2003).

1.2.1. Kutanöz T-Hücreli Lenfoma'ya Yönelik Tedavi Yaklaşımları

KTHL teşhisi konulan hastalarda erken dönemlerde kaşıntı ve döküntü gibi semptomlar hastanın yaşam kalitesini olumsuz yönde etkilerken, ilerleyen evrelerde hastalık ölümcül risk taşıyor bir hale gelmektedir. Hastalığın tedavisine ilişkin tedavi yöntemleri, hastaların iyileştirilmiş yaşam koşullarında semptomlardan daha az etkilenmesini ve tedaviye ilişkin toksisitenin en aza indirilerek hastalığın kontrol edilmesini hedeflemektedir. Geliştirilen birçok tedavi yöntemi semptomları gidermeyi ve yaşam kalitesini yükseltmeyi amaç edinse de sürdürülen çalışmalar ve araştırmalar hastalığın daha etkili ve daha az zararlı yöntemlerle tedavisine yönelik olarak ilerlemektedir.



Şekil 1.1. Kutanöz T-hücreli lenfomaya yönelik geliştirilen tedavi yöntemleri

KTHL'nin tedavisine yönelik geliştirilen yaklaşımlar, hastaya bağlı faktörler ile hastalığın ilerlemiş olduğu evreye bağlı olarak, temelde deriye yönelik tedaviler ve sistematik tedaviler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Şekil 1.1). Deriye yönelik tedavilerin genellikle hastalığın erken evrelerinde etkinliği gözlemlenmektedir. Erken evrede hastalık daha yavaş ilerlediği ve genellikle tutulum gözlemlenmeden deri ile sınırlı kaldığı için amaç hastalığın ilerleyerek metastaza uğramasını önlemek ve hastanın yaşam kalitesini semptomları gidererek iyileştirmektir. Deriye yönelik tedavi yaklaşımlarından ilki topikal ajanların kullanımınıdır. Topikal ajanlar olarak karmustin, beksaroten jel gibi formülasyonlar kullanılmaktadır. Bunlar derideki yangıyı ve kaşıntıyı azaltmakta ve hücre farklılaşmasını düzenlemektedir. Radyoterapi ve fototerapi ise diğer cilde yönelik uygulamalardandır. Fototerapi daha orta durumdaki lezyonlarda etkinlik gösterirken, radyoterapinin yaygın cilt tutulumu olan vakalarda kullanımı tercih edilmektedir (Elsayad vd., 2017). Sistemik tedavilerin uygulaması hastalığın ilerleyen evrelerinde ve tedaviye dirençli hastalarda uygun bulunmaktadır. Yaygın kullanılan sistemik tedaviler arasında beksaroten gibi immünomodülatör ilaçlar, kemoterapi, hedefe yönelik tedaviler ve fotoferez yer almaktadır. Kemoterapötik yaklaşımlarda gemsitabin, doksorubisin gibi birçok ajan yer alsa da bunlar kalıcı çözüm oluşturmamakta, kısa süreli yanıtlar meydana getirmektedir. Bu nedenle birçok ileri evre vakada fotoferez uygulanmaktadır. Fotoferez, lenfositlerin kandan uzaklaştırıldığı,

psoralen ve ultraviyole A'ya maruz bırakıldıktan sonra hasta vücuduna geri verildiği bir tedavi sistemidir (Dummer vd., 2003; Vonderheid, 2003).

Deriye yönelik ve sistemik tedaviye ek olarak daha da ileri vakalarda kök hücre nakli, kombine terapiler ve diğer yeni ajanlar da tedavinin önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Kök hücre nakli genellikle ileri evre genç vakalarda potansiyel bir tedavi seçeneği olarak düşünülmektedir. Yeni tedavi ajanları arasında ise proteazom inhibitörleri ve pürin nükleozid yer almaktadır (Horwitz, 2008; Mohd Affandi vd., 2015).

Tedavi planlamaları genellikle hasta bazlı olarak yapılmaktadır. Bu noktada hastalığın evresi, hastanın tedaviye toleransı, özelleştirilen terapi programlarına erişebilirliği gibi faktörler de göz önünde bulundurulmaktadır. Özellikle hastalığın ileri evrelerinde tedavi edici amaçlar yerine palyatif yaklaşım ve hastanın yaşam kalitesini iyileştirmeye odaklanılmaktadır (Mendrek, 2017).

1.2.2. Beksaroten

Beksaroten, reksinoidler adı verilen bir grup bileşik grubunda yer alan seçici bir retinoid X reseptörü agonistidir (Farol ve and Hymes, 2004; Lowe ve Plosker, 2000). Yeni bir reksinoid olan beksarotenin KTHL tedavisinde etkinliği 1999 yılında FDA tarafından kabul edilmiştir (Gniadecki vd., 2007). İlaç en az bir sistemik tedavi yöntemine dirençli hastalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Hem oral hem de topikal uygulanabilen formülasyonları bulunmakta ve hastalığın cilt üzerinde oluşturduğu belirtilerin yönetiminde etkinlik göstermektedir (Schadt, 2013). Jel dozaj formu oral formdan daha sonra ve dirençli olan veya diğer tedavi seçeneklerinin başarısızlıkla sonuç verdiği evre IA ve IB KTHL tedavisinde kullanım için onaylanmıştır.

Beksarotenin etki mekanizması tam olarak aydınlatılamamakla birlikte çeşitli gen ifadelerini etkileyen, embriyogenez ve merkezi sinir sistemi farklılaşması gibi birçok kritik gelişimsel faktörü etkileyen, tümör hücrelerinin çoğalması, farklılaşması ve hücre ölümünde hayati rol oynayan retinoid X reseptörlerine bağlanarak etkinlik gösterdiği düşünülmektedir (Shen et vd., 2018; Warda vd., 2023). Bu reseptörlerin homodimerizasyonunu teşvik edip, gen ifadesini değiştirerek hücre ölümünü başlatmakta ve hücre çoğalmasını engellemektedir (Sokołowska-Wojdyło vd., 2013).

Beksaroten özellikle erken evre KTHL'de yaklaşık %75 gibi yüksek bir yanıt oranı göstermiştir (Väkevä vd., 2012). Oral beksaroten, tek başına ya da kombine tedavi

yaklaşımlarında kullanılabilir. Erken evre ve daha sonraki evreleri gerçekleştirilen faz II ve III klinik denemeleri, ilacın günlük 300 mg/m² dozunun KTHL tedavisinde sırasıyla %54 ve %45 oranında etkinliği olduğunu göstermiştir (Duvic vd., 2001). Başka bir çalışmada, ilacın tek başına kullanıldığında 54 hastadaki yanıtının %48 olduğu belirtilmiştir (Talpur et vd., 2002).

Jel dozaj formundaki beksaroten, daha çok erken dönem KTHL'nin ciltteki etkilerini gidermek amacıyla kullanılmaktadır. Topikal bu uygulama, ciltteki hastalıktan etkilenen bölgeyi doğrudan etkilemektedir ve oral forma kıyasla potansiyel sistemik yan etkileri azaltmaktadır (Zhang ve Duvic, 2003; Zhang ve Duvic 2006). Yaygın görülebilen yan etki profilinde hafif ila orta derecede cilt tahrişi bulunmaktadır (Talpur vd., 2009). Topikal uygulamanın jel formunda olması krem ve merheme kıyasla daha hızlı etken madde salınımı, uygulama kolaylığı ve yağlı olmayan yapısıyla hasta ile uyumu gibi çeşitli avantajlar sunmaktadır (Vanpariya vd., 2021).

Beksaroten özellikle diğer tedavilere dirençli hastalar için güçlü bir tedavi seçeneğidir. Cilt semptomlarını yönetmedeki etkinliği her ne kadar kanıtlanmış olsa da yan etki profili dikkatli kullanımını gerektirmektedir. En sık rastlanan yan etkisi hipertrigliseridemi ve bu durum lipit düşürücü ilaçlar ile tedavi gerektirebilmektedir. Ayrıca hipotiroidizm nöropati ve tahriş edici dermatit de olası yan etkileri arasında yer almaktadır (Assaf vd., 2006; Hespel vd., 2011; Schadt, 2013). Bu nedenle dikkatli kullanımı doz takibi büyük önem taşır.

1.3. Elektrokimya

Kimya ve fizik gibi bilim alanlarının kesişim noktası olan elektrokimya, kimyasal ve elektriksel olaylar arasındaki ilişkiyi inceleyen bir bilim dalıdır. Bir diğer değiş ile ölçülebilir ve nicel bir parametre olarak bir elektrik potansiyeli ve bunun sonucunda oluşan kimyasal bir değişimin arasındaki ilişkinin veya tam tersinin incelenmesidir. Kimyasal enerjiyi elektrik enerjisine veya tam tersine çeviren cihazlara elektrokimyasal hücre denir ve bu hücreler galvanik hücreler ve elektrolitik hücre olarak ikiye ayrılmaktadır. Galvanik hücreler, kendiliğinden oluşan kimyasal reaksiyonlardan elektrik enerjisi üretmekte, elektrolitik hücreler ise kendiliğinden oluşmayan kimyasal reaksiyonları yönlendirmek için elektrik enerjisini kullanmaktadır (Gupta ve Yadav, 2023). Bu bilim alanı elektron iletkeni (elektrot) ve bir iyonik iletken (elektrolit) arasında bulunan arayüzdeki reaksiyonları inceler. Bu reaksiyonlar, redoks (indirgenme-yükseltgenme) reaksiyonları olarak bilinen elektron

transferini içermektedir (Faridbod vd., 2015; Han vd., 2021). Bu süreç, analitlerin tespitinde kullanılabilen elektrik akımlarının üretilmesine imkan tanımaktadır. Tanımsal olarak, bir arayüzde tek bir redoks yarı tepkimesi meydana geldiğinde, oksidasyonun gerçekleştiği elektrota anot, redüksiyonun gerçekleştiği elektrota ise katot adı verilmektedir (Lefrou vd., 2012).

1.3.1. Elektrokimya Kullanan Üç Elektrotlu Sistemler

Elektrot sistemleri, elektrokimyasal reaksiyonları kolaylaştırmak ve incelemek için çeşitli elektrot tiplerini ve kullanımlarını içermekte ve elektrokimya alanının temelini oluşturmaktadır. Elektrokimya, çeşitli analitik ve deneysel amaçlar için yaygın olarak kullanılan iki elektrotlu ve üç elektrotlu sistemlerden oluşmaktadır. Üç elektrotlu sistemler en yaygın kullanılan sistemler olmakla birlikte, bir çalışma elektrodu, karşıt elektrot ve referans elektrottan oluşmaktadır (Bouffier vd., 2017; Rezaei ve Irannejad, 2022). Bu sistemde çalışma elektrodunun potansiyeli referans potansiyelini izlemekte ancak akım çalışma elektrodu ve karşıt elektrot arasından geçmektedir (S. Chen, 2007).

1.3.1.1. Çalışma Elektrodu

Çalışma elektrodu, elektrokimyasal sistemlerin önemli bir bileşeni olup, içerisinde bulunduğu çözeltiye göre polarizasyonuna bağlı olarak yükseltgenme veya indirgenmeyi içeren elektrokimyasal reaksiyonların gerçekleştiği elektrotlardır. Çalışma elektrotları yüzey alanı ve morfolojik özellikleri bilinen maddelerden yapılmakta, bu maddelerin kimyasal olarak kararlı olması önem taşımaktadır. İdeal çalışma elektrotları düşük bir ohm direnci göstermekte, herhangi bir kimyasal veya elektrokimyasal tepkimeye girmemektedir (Horwood, 2022). Ayrıca elektrot malzemelerinin reaksiyonda substrata doğru gerçekleşen iyi elektron transferi sağlayan özellikler sergilemekte ve bu transfer için yüksek aktivasyon enerjisi göstermektedir (J. Grimshaw, 2000).

Çalışma elektrotlarında kullanılan yaygın malzemeler arasında yüksek elektriksel iletkenlik, üretim kolaylıkları ve elektrokimyasal olarak inert olmaları nedeni ile platin, altın, karbon ve civa yer almaktadır (Rezaei ve Irannejad, 2022). Günümüzde özellikle karbon temelli çalışma elektrotlarının kullanımı geniş yüzey alanları, yüksek kimyasal stabiliteleri ve morfolojik değişikliklere olanak tanımaları nedeni ile sıklıkla tercih edilmekte, camı karbon, karbon pasta, perde baskılı elektrotlar gibi farklı çeşitleri bulunmaktadır (Shi vd., 2024).

1.3.1.2. Karşıt Elektrot

Yardımcı elektrot olarak da bilinen karşıt elektrot, elektrokimyasal bir devrenin tamamlanması için kullanımı gereken, bu devrede elektrokimyasal reaksiyonlar sırasında akım geçişine izin vererek hayati bir rol oynayan elektrokimyasal hücre elemanıdır. Kurulan bu sistemin elektriksel yük dengesinin korunmasında büyük rol oynamaktadır (Bouffier vd., 2017; Rezaei ve Irannejad, 2022). Bu hedefle sıklıkla kullanılan karşıt elektrotlar arasında genellikle platin elektrotlar yer almaktadır.

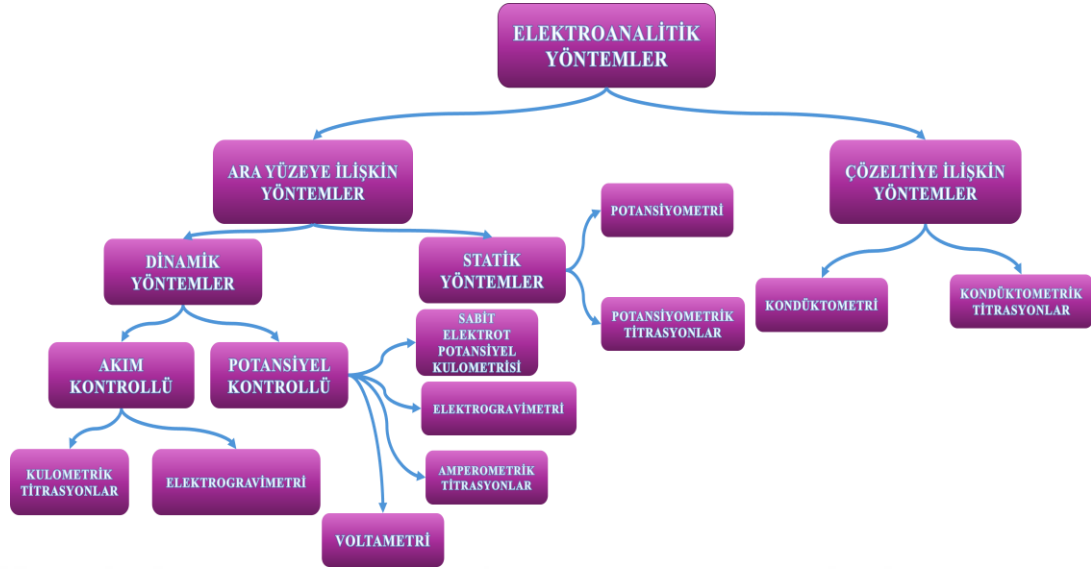
1.3.1.3. Referans Elektrot

Referans elektrot, elektrokimyasal bir hücrede çalışma elektrodunun potansiyelinin doğru şekilde ölçülmesine olanak tanımak için sabit bir potansiyeli korumak amacıyla kullanılmaktadır. Referans elektrot içinden geçebilecek küçük akımlardan etkilenmeyen sabit bir potansiyeli korumalı, polarize olmamalı ve akım durduktan sonra orijinal potansiyeline geri dönmeli, kimyasal ve elektrokimyasal olarak stabil olmalıdır (Kahlert, 2010). Standart hidrojen elektrot, doygun kalomel elektrot ve Ag/AgCl referans elektrotlara örnek oluşturmaktadır (Schmidt vd., 2018; Spitzer ve Wunderli, 2013).

1.4. Elektrokimyasal Metotlar

Elektrokimyasal bir sensörden gelen sinyal genellikle bir analitin varlığına bağlı olarak verilen bir elektriksel tepkiden türetilmektedir. Bu elektrik sinyalleri ise çeşitli elektrokimyasal yöntemlere göre farklılaşmaktadır (Simões ve Xavier, 2017). Elektrokimyasal yöntemler, bir elektron iletkeni (elektrot) ve bir iyonik iletken (elektrolit) arayüzündeki kimyasal reaksiyonların incelenmesini içeren analitik tekniklerdir. Bu yöntemler, elektron transfer reaksiyonlarının kinetiğini ve mekanizmalarını anlamak için önemlidir.

Elektrokimyasal yöntemler kullanım kolaylığı, oldukça düşük numune miktarları ile oldukça yüksek hassasiyette analizlere olanak tanımaları, düşük maliyetleri ve kinetik ve mekanistik parametrelerin incelenmesinde etkili olmaları nedeni ile yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Asif vd., 2022). Bu yöntemler hem araştırma hem de endüstriyel uygulamalarda güçlü araçlardır. Kimyasal reaksiyonlar hakkında ayrıntılı bilgi sağlama yetenekleri, yüksek hassasiyetleri ve çok yönlülükleri ile birleşince, modern bilim ve teknolojiye vazgeçilmez hale gelmektedirler. Elektrokimyasal yöntemler Şekil 1.2'de verildiği gibi detaylı bir şekilde sınıflandırılabilir.



Şekil 1.2. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması

1.4.1. Voltametrik Yöntemler

Voltametri, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak bir elektrokimyasal sistemin akım cevabını incelemek amacıyla kullanılan temel bir elektrokimyasal tekniktir (Bard vd., 2022). Elde edilen akım değerlerinin potansiyele karşı grafiğe geçirilmesi ile voltamogram adı verilen grafikler elde edilmekte ve bu grafikler farklı analitlerin tanımlanması için kullanılabilir (Venton ve DiScenza, 2020). Uygulanan potansiyelin bir sonucu olarak, elektrokimyasal olarak aktif olan analitler oksidasyon veya redüksiyona uğrayarak miktarsal olarak elektrot yüzeyinde bir değişikliğe uğramaktadır.

Voltametrik yöntemler ile gerçekleştirilen çalışmalar genellikle üç elektrotlu sistemlerden oluşmaktadır. Elektrokimyasal çalışmalarda elektrot bir yükün aktarılacağı ve etkileri ile oluşan değişikliklerin gözlemlenebileceği arayüzü sağlamaktadır. Voltametride çalışma elektrodu yüzeyinde uygulanan uygun potansiyelde bir madde indirgenmekte veya yükseltgenmekte, bunun bir sonucu olarak madde elektrot yüzeyine kütsel olarak taşınmakta ve bir akım meydana gelmektedir (Kounaves, 2008). Çoğunlukla miktarsal tayinlerde kullanılan voltametrik teknikler, temelde aynı elektrokimyasal teoriden türetilen ilke ve uygulamalara sahiptir.

1.4.2. Dönüşümlü Voltametri

Karışık voltametrik tekniklerden biri olmasına karşın, dönüşümlü voltametri birçok kimyasal sistemin hem kinetik hem de termodinamik ayrıntılarına ilişkin çok sayıda bilgi

sunması nedeni ile sıklıkla kullanılmaktadır (Marken vd., 2010). Ayrıca, elektroaktif türlerin redoks potansiyellerini belirlemek ve çözeltinin bu süreçler üzerindeki etkisini değerlendirmek için en etkili yöntemlerden birini oluşturmaktadır. Dönüşümlü voltametri (DV), doğrusal olarak taranan üçgen potansiyel dalga formu kullanılarak karıştırılmamış bir çözeltideki sabit bir çalışma elektrodunun potansiyelini değiştirme prensibine dayanmaktadır. Çalışma elektrodunun potansiyeli iki sınır arasında döngüye girmekte ve elektroaktif türlerin ardışık oksidasyonunu ve redüksiyonunu sağlamaktadır (Forster ve Walsh, 2004; Wu vd., 2011). Akım cevabı uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak incelenmekte ve akım-potansiyel voltamogramları elde edilmektedir. Analizde ihtiyaç duyulan bilgiye bağlı olarak tek veya çoklu döngüler kullanılabilir.

DV birçok kimyasal sisteme uygulanabilmekte, hassas ve hızlı sonuçlar verebilmektedir. Sensör yüzeylerinin modifikasyon aşamalarının değerlendirilmesi ve yüzey özelliklerinin karakterize edilmesi gibi kullanım alanları bulunmakta ve sensör performanslarının iyileştirilmesi için önemli veriler sağlamaktadır (Çelik vd., 2025). Bununla birlikte DV reaksiyonları geri dönüşümlü, geri dönüşümsüz ve yarı geri dönüşümlü olarak mekanizmalarına göre sınıflandırılmaktadır (Forster, 2019; Yamada vd., 2022).

1.4.3. Puls Voltametri

Puls voltametri (PV), elektrokimyasal bir sisteme bir dizi voltaj pulsu uygulanmasını ve uygulanan bu potansiyel sonucunda ortaya çıkan akımın ölçülmesini prensip edinen elektroanalitik bir tekniktir. Yöntem oldukça hassas olmakla birlikte yük akımlarına karşı ayırım gerçekleştirebilmektedir ve bu durum elektrokimyasal reaksiyonların kantitatif analizi için yöntemi uygun hale getirmektedir (Northrop ve Cole, 2018). Ayrıca teknik, analit konsantrasyonuna bağlı olmayan kapasitif akım etkisini en aza indirerek ölçüm doğruluğunu arttırmakta ve düşük derişimlerde analitin tayininde başarılı sonuçlar vermektedir (Machado ve Cincotto, 2021). Farmasötik analizler, gıda endüstrisi, ağır metallerin tayini, çevre kirliliği analizlerinde yaygın kullanımı bulunan puls voltametrimin birçok çeşidi bulunmaktadır.

1.4.3.1. Normal Puls Voltametri

Normal puls voltametrimin (NPV) temel prensibi, çalışma elektroduna artan voltaj pulsuları uygulamaktır. Her puls kısa bir süre tutulmakta ve bir sonraki puls uygulanmadan önce akımın dengelenmesi sağlanmaktadır. Akım her darbenin sonunda ölçülmekte, bu da kapasitif akım etkisinin en aza indirgenmesine yardımcı olmaktadır (Laborda vd., 2011,

2015). Bu durum doğrudan elektrokimyasal reaksiyon ile ilişkili Faradaik akımın doğru ölçümünü sağlamaktadır. Yöntem mikroelektrotlar, küresel elektrotlar dahil olmak üzere birçok çeşitte elektroda uygulanabilmektedir. Sonuçta yüksek hassasiyet ile kantitatif analizlerde reaksiyon kinetiğinin aydınlatılmasına yardımcı olmakta, gelişmekte olan elektrokimyasal sensörlere katkı sağlamaktadır (Bontempelli vd., 2019).

1.4.3.2. Diferansiyel Puls Voltametri

Üç elektrotlu sistem ile çalışan diferansiyel puls voltametri (DPV), özellikle kantitatif analizlerde yaygın olarak kullanılan bir elektrokimyasal tekniktir. DPV’de, çalışma ortamına daldırılmış elektrotlara periyodik olarak voltaj uygulanmakta ve her pulsun öncesinde ve sonrasında ayrı ayrı akım ölçümü gerçekleştirilmektedir (Deffo vd., 2023). Bu ölçümler ile elde edilen akımlar arasında meydana gelen diferansiyel fark, analitin derişiminden bağımsız olan kapasitif akımının azaltılmasına yardımcı olarak tekniğin hassasiyetini arttırmaktadır (Machado ve Cincotto, 2021). Akım pikleri ve analit derişimleri arasında doğrusal bir ilişki bulunmaktadır. DPV düşük derişimlerde tespitinde etkili bir yöntemdir ve yüksek hassasiyet, düşük gürültü gibi çeşitli avantajlar sunmaktadır. Ayrıca, difüzyon katsayılarının ve analitlerin potansiyellerinin belirlenmesi gibi elektrot kinetiği incelemelerini gerektiren çalışmalarda başarılı sonuçlar oluşturmaktadır. Nörotransmitterler, ağır metaller biyomoleküller gibi hassas tayin gerektiren ve çok küçük miktarlarda analiz gerektiren çalışmalar için de oldukça uygun bir teknik potansiyeli taşımaktadır (Sun vd., 2017).

1.4.3.3. Kare Dalga Voltametri

Kare Dalga Voltametri (KDV), temel olarak çalışma elektroduna, merdiven biçiminde simetrik bir kare dalga potansiyeli uygulamasına dayanmaktadır. Büyük genlikli diferansiyel voltametri yöntemi olarak da kabul edilen bu yöntemde, akım her kare dalga sırasında iki kez ölçülmekte, bunlardan ilkinin ileri pulsun, diğerini ise geri pulsun sonu oluşturmaktadır. Bu iki akım arasındaki fark, temel olarak potansiyele karşı grafiğe geçirilerek bir voltamogram elde edilmektedir (Deffo vd., 2023). KDV’nin bu temel prensibi, ölçümden önce çift katmanlı yüklenmeden kaynaklı Faradaik olmayan akımları en aza indirerek hassasiyeti arttırmaktadır. Ayrıca bu prensip sinyal-gürültü oranında da bir artış oluşturmaktadır. Elde edilen voltamogramlardaki pikler, elektrot yüzeyinde meydana gelen redoks reaksiyonlarına karşılık gelmekte, bu piklerin yükseklikleri, konumları analit derişimi ve elektrokimyasal özellikleri hakkında bilgi sağlamaktadır (Abeykoon ve White, 2023).

Sahip olduğu avantajlarla çevre analizleri, biyolojik madde tayinlerinde oldukça sık kullanılmaktadır.

1.4.2. Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi

Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi (EIS), elektrokimyasal sistem dinamiklerinin anlaşılmasını kolaylaştırmak için kapsamlı bilgi sağlayan bir tekniktir. Bu dinamik, bir elektrokimyasal hücrede elektrot ve bir çözelti arasındaki elektriksel impedansın frekansla değişim gösteren davranışı ile incelenmektedir. Elde edilen veriler genellikle Nyquist grafiği şeklinde ifade edilmektedir ve bu ifadelerin değerlendirilmesi için direnç, kapasitans, Warburg impedansı, sabit faz elemanı gibi unsurları içeren eşdeğer elektrik devreleri kullanılmakta ve yorumlar çıkartılmaktadır (Lukács ve Kristóf, 2020). Ayrıca elektrokimyasal reaksiyonların kinetiğini belirlemede önemli bir değer olan değişim akım yoğunluğu, dengede elektrot ve elektrolit arasında elektronların değiştirildiği hızı temsil etmektedir ve EIS sonucunda elde edilen veriler ile hesaplanabilmektedir.

EIS, elektrokimyasal hücrelerin karakterizasyonunda elektrot malzemelerinin kimyasal kararlılığı, yüzey morfolojisi ve elektron transferi kinetiğini araştırmak için kullanılmaktadır. Bu kapsamlı analiz yeteneği EIS yöntemini, elektrokimyasal sistem ve sensörlerin performanslarının iyileştirilmesi adımıında vazgeçilmez hale getirmektedir (Çelik vd., 2025).

1.5. Nanomateryal Modifiye Elektrotlar

Elektrokimyasal yöntemler yüksek hassasiyet, hızlı üretilebilir sonuçlar, düşük maliyet gibi birçok avantaja sahiptir. Bununla birlikte, son yıllarda sensör performansını iyileştirmek, seçici ve tekrar edilebilir sonuçlara ulaşmak, stabil ve kararlı bir yüzey elde etmek gibi çeşitli amaçlarla nanomateryal ile modifiye edilen elektrotlar gündeme gelmektedir. Nanomateryaller elektrokimyasal aktif yüzey alanını genişleterek, elektron transferini hızlandırarak ve elektrokatalitik özellikler sergileyerek sensör performansı üzerinde olumlu etkiler oluşturmakta ve hassasiyeti ve seçiciliği yükseltmektedir (Ramya vd., 2022). Nanopartiküller, kontrol edilebilir boyutları, değiştirilebilen yüzey özellikleri nedeni ile sensör hazırlığı için birçok avantaj sağlamakla birlikte polimerler ile kombine edilerek analit ile geçimliliği yüksek platform oluşumu için ideal seçenekler ortaya koymaktadır (A. Chen ve Chatterjee, 2013).

1.5.1. Platin Nanoküreler

Platin nanopartiküller, farklı elektrokimyasal özellikler sergileyen, birçok farklı kullanım alanı olan ve oldukça stabil nanomalzemelerdir. Genel anlamda yüksek yüzey alanı özellikleri ve katalitik etkileri nedeni ile birçok sensör platformunun tasarımında tercih edilmektedir (Ramli vd., 2024). Platin nanoküreler, tekdüze yüzey özellikleri gösterirler ve geniş bir yüzey alanına sahiptirler. Üstün elektrokatalitik özellikleri ile tek başlarına ya da kombine halde diğer nanomateryaller ile sensör performansını iyileştirebilmekte, değiştirilebilen yüzey özellikleri ile birçok biyolojik madde ile de geçimli hale getirilebilmektedirler. Tekdüze boyutlarda ve şekillerde olmaları sensör yüzeyinde homojen bir yüzey elde edilmesine katkı sağlamaktadır. Bu nedenle sensörler başta olmak üzere elektrokimyasal cihazlar ve yakıt hücreleri gibi farklı uygulama alanları da bulunmaktadır (Garcia vd., 2008).

1.5.2. Molibden Trioksit

Çok çeşitli elektrokimyasal uygulama için umut vaat eden molibden trioksit kendine özgü birçok özelliğe sahiptir. Bunlar arasında, çok katmanlı yapısı ve yüksek redoks aktivitesi en belirgin olanlarıdır. Çok katmanlı yapıya sahip olması materyalin yüzey alanını büyütmede, bu da sensör uygulamaları için avantaj oluşturmaktadır. Molibden trioksit ile ilgili karşılaşılan en büyük zorluklardan biri iletkenliğinin düşük olmasıdır (Elkholy vd., 2022). Bu zorluk başka materyaller ile kompozitler halinde kullanımıyla aşılabilmektedir. Ayrıca nano büyüklükte formları ile aktif bölgeleri ve yüzey alanı daha da genişletilerek, elektrokimyasal sensörlerde kullanımı daha avantajlı hale getirilebilmektedir. Elektrokimyasal sensörler için analite karşı yüksek bir adsorpsiyon kabiliyeti sergileyebilmekte, seçici bir tayin olanağı tanımakta, ayrıca gerçek numune uygulamalarında bir avantaj oluşturarak hızlı yanıtlar meydana getirmektedir (Q. Chen vd., 2020).

1.5.3. Kitosan

Bir kitin türevidir olan kitosan, toksik özellikleri bulunmayan ve kimyasal açıdan çok yönlü olan bir materyaldir. Yapısında yer alan amino ve hidroksil grupları, kitosanı modifikasyona oldukça açık hale getirmekte, bu da sensör uygulamalarında başarılı sonuçlar oluşturmaya neden olmaktadır. Bu malzemeler, ilginç mekanik ve biyolojik özellikleri ile karakterize olan kimyasal ve elektriksel özellikler sunmaktadır. Kitosan yalnız başına kullanımında faydalı özellikler sunsa da, birçok uygulama diğer nanomateryaller ile

kompozit halinde ve kimyasal modifikasyon yolu ile kullanımını incelemekte ve bu araştırmalar sinerjik etkiler nedeni ile sensör performansını iyileştirdiğini belirtmektedir (da Silva vd., 2019). Kitosan yalnızca modifikasyon amacı ile değil film oluşturmak için de kullanılabilir. Bu özelliği ile karışım halinde kullanıldığı diğer malzemelerin daha stabil ve kararlı bir sensör yüzeyi oluşturmasına olanak tanımaktadır (Petrucci vd., 2021).

1.6. Moleküler Baskılanmış Polimer Temelli Sensörler

Moleküler tanıma çevresel ortamı algılamak ve biyolojik süreçler için bir temel oluşturmakla birlikte kataliz olayları ve maddelerin ayırımı gibi süreçlerdeki önemi nedeni ile kimyasal araştırmaların odak noktası haline gelmiştir. Doğal biyolojik sistemler yabancı cisimlerin tanınması için antikor üretebilirken, bu reseptörlerin kimyasal süreçlerde uygulamaları oldukça yüksek maliyet ve çevre koşullarının çeşitli engelleri ile karşı karşıya bulunmaktadır. Günümüzde sensör çalışmalarının temel hedeflerinden biri, bu biyolojik antikor-antijen davranışını taklit eden, benzer özgülük ve duyarlılıkta sentetik reseptörlerin oluşturulmasıdır (BelBruno, 2019). Moleküler baskılı polimerler (MIP) bu biyolojik sistemler için en iyi nitelikleri taşıyan yapay analoglardan biridir. Bu hedefle, üretimleri sırasında kalıp molekül olarak kullanıp baskılandıkları moleküle seçici olarak bağlanarak eldiven-el niteliği göstermektedirler. Bu prensip sensörün seçiciliğini kanıtlar niteliktedir (Koshland Jr., 1995).

MIP sentezinde, monomer ve hedef molekül ya da şablon olarak adlandırılan molekülün fonksiyonel grubu arasında meydana gelen etkileşimler rol almaktadır. Polimer filmin sentezlenmesinin ardından, hedef molekül film yüzeyinden uygun bir çözücü kullanılarak uzaklaştırılmakta ve hedefe özđü boşluklar meydana gelmektedir. Bu adımı, hedef molekülün bu özđü boşluklara yeniden bağlanması takip etmektedir. Hedef moleküle özđü boşlukların oluşması ve bunlara seçici olarak molekülün bağlanmasının temelinde, MIP sentezinde monomer ve bu molekülün fonksiyonel grupları arasında meydana gelen etkileşimler bulunmaktadır (Vasapollo vd., 2011).

1.6.1. Moleküler Baskılamada Kullanılan Bileşenler

Moleküler baskılı polimerlerin oluşturulması kompleks bir süreci gerektirmekte ve bu süreç moleküllerin yüksek seçicilikle tanınması için polimer, termodinamik, kimyasal denge gibi birçok faktörün göz önünde bulundurulmasını gerektirmektedir. Oluşturulan polimer filmin, molekül yüzeyden uzaklaştırılırken zarar görmeyecek kadar sağlam, aynı

zamanda da molekülün uzaklaştırılabilmesi ve özgül boşlukların oluşturulabilmesi, peşinden ise yüzeye yeniden bağlanabilmesi için yeterli esneklikte olması gerekmektedir. Bu iki gerekliliğinde birbiri arasında bir denge ile yürütülmesi ve bu amaçla polimer filmin oluşumunda rol alan tüm bileşenlerin iyileştirilmesi durumunu ortaya çıkarmaktadır (Katz ve Davis, 1999).

1.6.1.1. Hedef Molekül

Moleküler baskılamada hedef molekül, şablon olarak da adlandırılmakta ve monomerde bulunan fonksiyonel grupların yönlendirilmesi üzerinde çok önemli bir role sahiptir. Birçok farklı nedenle her hedef molekül doğrudan baskılamaya uygun değildir. Hedef molekülün polimerizasyonda yer alabilecek fonksiyonel bir grup taşıması gerekmektedir. Başarılı ve etkili bir polimer yüzeyin oluşturulabilmesi için hedef molekülün fonksiyonel grubu kadar polimerizasyon sürecinde yüksek stabilite göstermesi de etkilidir (Cormack ve Elorza, 2004).

MIP tekniğinin birçok farklı analitin baskılanmasında uygulanabilmesi bir avantaj olsa da günümüzde küçük yapılı moleküllerin baskılanması başarılı sonuçlar gösterirken daha büyük moleküllerle ilgili çeşitli problemler ile karşılaşmaktadır. Bu problemlerin başında moleküle özgü boşlukların zor oluşturulması, çeşitli polimer sentez yöntemlerinin molekül yapısında bozulmaya yol açması ve yeniden bağlanmanın polimer yüzeye nüfuz etmekte karşılan güçlükler gelmektedir (Yan ve Row, 2006).

1.6.1.2. Monomer

Monomer seçimi, kararlı ve etkili bir polimer film yüzeyi oluşturmak ve bağlanma bölgeleri ve hedef molekül arasında tamamlayıcı etkileşimler sağlamak için büyük önem taşımaktadır. MIP yüzeyinde oluşturulan bağlanma bölgeleri mekanizması dikkate alındığında, monomerlerin polimer film yüzeyinde oluşturulan özgül boşluklar ile bağlanma etkileşimlerinden sorumlu oldukları görülmekte ve hedef molekül-monomer polimerleşmesinin desteklenmesi amacı ile hedef moleküle kıyasla yüksek miktarda kullanılmaktadır. Bu noktada kompleks oluşumunu ve moleküler baskılamayı verimli hale getirmek için hedef molekülün işlevselliği ile monomer arasında tamamlayıcı bir uyum oluşturmak önemlidir. Oksitlenme eğilimlerinin yüksek olması özellikle amino ve hidroksil grupları taşıyan monomerlerin hedef moleküller ile aralarındaki etkileşimi güçlendirmekte ve polimerleşmeye yardımcı olmaktadır (Kucuk vd., 2024). İlâveten, iki veya daha fazla

monomerin aynı moleküler baskılama adımında kullanıldığı durumlarda, monomerler arasındaki reaktiflik oranı da polimer filmin kararlılığını, seçiciliğini ve performansını etkilemektedir (Cormack ve Elorza, 2004; Yan ve Row, 2006).

1.6.1.3. Çapraz Bağlayıcı

MIP tekniğinin elektrokimyasal sensörlerde tercihinin sağladığı en önemli katkı seçici bir tayin yöntemini beraberinde getirmesidir. Moleküler baskılanmış polimerin sentezinde kullanılan çapraz bağlayıcının türü ve miktarı seçicilik üzerinde büyük ölçüde etkilidir. Çapraz bağlayıcılar, monomerleri hedef molekül etrafında sabitlemek amacı ile polimerizasyon çözeltilisine eklenen organik maddelerdir. Bu maddeler polimer filme yeterli gözenekliliği sağlarken yüzeydeki mekanik kararlılığı da oluşturmaktadır. Polimerizasyon başlatılmadan önce, monomer ve çapraz bağlayıcı arasında bir temas bulunmaktadır. Daha sonrasında bu temas, hedef molekülün sensör yüzeyinde yoğunlaşmasıyla sonuçlanır. MIP filminde yer alan hedef molekül, çapraz bağlayıcının varlığı ile daha kararlı bir şekilde film içerisinde baskılanır. Bu durum, hedef molekülün monomer ile bağlanma bölgesini stabil hale getirmekte ve bağlanmanın kararlılığı daha sonraki adımlarda molekülün uzaklaştırılmasını ve özgül boşlukların oluşturulmasını da etkilemektedir. Ayrıca çapraz bağlayıcı polimer ortamının yüzey morfolojisini kontrol etmek için önem taşımaktadır (Kucuk vd., 2024).

Çapraz bağlayıcıların polimer matrisinde optimum derişimde kullanılması, sensör performansını etkileyen bir parametredir. Bunun sebebi, çapraz bağlayıcı derişiminin, hedef molekülün uzaklaştırılması ile oluşan özgül boşlukları hem şekilsel hem de kimyasal yapı açısından etkileyerek, üç boyutlu molekül yapısını tamamlayan nitelikte kalmasını ve sonuçta yeniden bağlanma için yapıdaki fonksiyonel grupların ideal yapıda bulunmasını sağlamaktır (Yan ve Row, 2006).

1.6.1.4. Çözücü Ortamı

Çözücü, MIP'in bileşenlerini, hedef molekül, monomer, çapraz bağlayıcı ve başlatıcı gibi, tek faz halinde bir araya getiren ortamdır. Homojen bir polimer yüzeyin elde edilebilmesi için bu bileşenlerin çözücü ortamında tamamen çözünmesi gerekmektedir. Bu nedenle uygun çözücü ortamı seçimi sensör performansı üzerinde etkilidir. Makro gözenekli polimerler olarak da isimlendirilen MIP sensörlerinin gözenekli yapı oluşumlarında, gözeneksel çözücüler büyük yer edinmektedir. Polimer çözeltilisinde bulunan gözeneksel

çözücülerin miktarı ve yapısı, monomer ve hedef molekül arasındaki kovalent olmayan etkileşmeyi kuvvetlendirmekte, bu durum polimer filmin yapısını ve dolayısı ile sensör performansını etkilemektedir. Bu açıdan monomer ve hedef molekül arasındaki etkileşimin çeşitli faktörler sonucunda zayıflamasını engellemek ve sensör seçiciliğinin olumsuz sonuçlar doğurmasının önüne geçmek amacı ile düşük polarlıkta çözücü ortamlarının kullanımı tercih edilmektedir. Bununla birlikte termodinamik açıdan kuvvetli olan çözücüler polimerlerin yüksek gözenekliliğe ve özgül boşlukların geniş yüzey alanlarına yayılmasına, bunun aksine zayıf olanların ise gözenekliliği olumsuz etkilemesine ve özgül boşlukların ise azalmasına sebep olmaktadır (Yan ve Row, 2006).

1.6.1.5. Başlatıcı

Monomer türlerinin aktivasyonu, genellikle polimerizasyon çözeltilinde bir başlatıcının varlığına bağlıdır. Monomer derişimlerine kıyasla çok daha düşük miktarlarda kullanılmaktadırlar. Farklı kimyasal özelliklere sahip olan birçok kimyasal başlatıcı, serbest radikal polimerizasyonunda radikal kaynağı olarak görev alabilmektedir. Bu başlatıcıların serbest radikallere ayrılma hızı ısı, ışık, kimyasal veya elektrokimyasal yollar ile kontrol edilebilmektedir. Başlatıcıların bu ayrışımı, sahip oldukları kimyasal yapıya uygun olarak seçilmektedir (Kucuk vd., 2024; Yan ve Row, 2006). Kompleksleşmenin ve polimerizasyonun hidrojen bağları aracılığıyla gerçekleştiği sistemlerde düşük sıcaklıklarda çalışmak gereklidir ve bu koşullarda etkili olan fotokimyasal açıdan aktif başlatıcılar tercih edilmektedir.

1.6.2. Moleküler Baskılama Stratejileri

MIP'lerin hazırlanma süreçlerinde temel olan, monomer ve hedef molekül arasında oluşan kompleksin kolay oluşumu ve daha sonra yüzeyde hedef moleküle özgül boşlukların oluşturulabilmesi için kolay ayrışmalarıdır. Bu nedenle esnek polimer filmin oluşturulması hedeflenmektedir. MIP yüzeyinde oluşturulan özgül boşluklara molekülün yeniden bağlanabilmesi ise sensör performansının verimli bir şekilde sergilenebilmesi için çok önemlidir. Literatürde polimer yüzeyin oluşumunda görev alan kovalent, kovalent olmayan ve yarı kovalent etkileşimlerin yer aldığı görülmektedir.

1.6.2.1. Kovalent Etkileşimlerle Baskılama

Yapay reseptörler olarak bilinen moleküler baskılanmış polimerlerin oluşturulması için bilinen ilk yöntem kovalent kuvvetler yardımıyla baskılamadır. Kovalent bağlar hedef molekül ve monomerin yüksek kararlılıkta bir kompleks oluşturmasına yol açmakta, bu da yüksek seçicilikle oluşturulan özgül boşluklar aracılığıyla hassas tayine olanak tanımaktadır. Kovalent etkileşimler her ne kadar seçiciliği olumlu yönde etkilese de yüzeye baskılanan hedef molekülün uzaklaştırılmasında ve yeniden bağlanmasında meydana getirdikleri zorluklar nedeni ile reaksiyon kinetiğini yavaşlatmaktadır (Herrera-Chacón vd., 2021).

Kovalent yaklaşım, hedef molekülün monomer ile arasında kovalent bir etkileşimin olduğu ön polimerizasyon kompleksinin kullanımına dayanmaktadır. Bu doğrultuda MIP yüzeyinin oluşturulması için hedef molekülün en az bir fonksiyonel grup taşıması gerekmektedir. Etkileşimi kuvvetlendiren fonksiyonel grupların başında amin, karboksilik asit, aldehit ve ketonlar yer almaktadır. Hedef molekülün yüzeyden uzaklaştırılması için, monomer ve molekül arasındaki bağların kimyasal yollar ile ayrılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu bağ ayrımı asidik hidroliz, konsantre asit veya bazlarla ester bağlarının yıkımı gibi süreçlerle gerçekleştirilebilir. Hedef molekülün polimer yüzeye yeniden bağlanabilmesi için bahsi geçen bağların yeniden kurulması ile mümkündür. Bağların ayrılmasının ve dolayısı ile molekülün yüzeyden uzaklaştırılmasının kolaylaştırılması için MIP yüzeyinde kullanılacak olan hedef molekülün monomer ile oluşturduğu kovalent bağ kolayca kırılabilir ve tersinir olmalıdır. Bu koşullarda polimerize edilen sensör yüzeyinde homojen dağılmış özgül boşluklar oluşmakta ve başka bir madde tarafından oluşturulabilecek girişim etkisinin önüne geçilmektedir (Beyazit vd., 2016; Vasapollo vd., 2011).

1.6.2.2. Kovalent Olmayan Etkileşimlerle Baskılama

Kovalent olmayan etkileşimlerle moleküler baskılama yöntemi en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir. Hidrojen bağları, hidrofobik ve iyonik bağlar gibi daha zayıf etkileşimler hem polimerleşme hem de yeniden bağlanma aşamalarında etkilidir ve yöntem polimer film yüzeyinde daha heterojen şekilde dağılmış özgül boşlukların oluşumuna yol açsa da, çok daha fazla yönlü olması ve fazla çeşitte hedef molekülün moleküler olarak baskılanabilmesi nedeniyle kovalent etkileşimlerle oluşturulan MIP filmine kıyasla avantajlar oluşturmaktadır. Kolay hazırlık süreci, hızlı ve etkili olarak hedef molekülün uzaklaştırılması ve yeniden bağlanmanın da yüksek elverişle gerçekleşmesi ise yöntemin

diğer faydaları arasında yer almaktadır (Herrera-Chacón vd., 2021). Buna karşın kovalent olmayan etkileşimler de moleküler baskılama yöntemleri için bazı sınırlamalar taşımaktadır. Bunlardan ilki bu etkileşimlerin hidrofobik ortamlarda kararlı bir davranış sergilerken, polar ortamlarda hızlı bir bozunuma uğramasıdır. Ayrıca bazı tek fonksiyonel gruba sahip moleküller için daha düşük seçicilik özelliği göstermekte, bu durum pratik uygulamalarında kısıtlamaya yol açmaktadır (Beyazıt vd., 2016; Yan ve Row, 2006).

1.6.2.3. Yarı Kovalent Etkileşimlerle Baskılama

Yarı kovalent etkileşimler, kovalent ve kovalent olmayan etkileşimlerin sağladığı yararları birleştirmeyi ve meydana getirdikleri dezavantajlı durumları dengelemeyi hedeflemektedir. Etkileşimin temel prensibinde, polimer filmin monomer ve hedef molekül arasında kovalent bağların kurulması, ancak yeniden bağlanma adımında hedef molekülün yüzeye bağlanmasını kolaylaştırmak üzere kovalent olmayan bağlar ile yer değişimi bulunmaktadır. Bu ikili etkileşim türü, kovalent etkileşimler ile edilen yüksek hassasiyette bağlanma bölgelerinin ve kovalent olmayan etkileşimler ile hedef molekülün kolaylıkla yeniden bağlanışının avantajlarından faydalanmayı amaçlamaktadır (Curcio vd., 2009).

Yarı kovalent etkileşimlerle ilgili olarak karşılaşılan en büyük sorunlardan biri, polimer ve hedef molekül arasında meydana gelen, polimer bağlanma kapasitesi ve dolayısı ile baskılamayı etkileyen ve bu süreçte fonksiyonlarda gözlemlenen değişikliklerden kaynaklanan sterik engeldir. Bu sorunun üstesinden hedef molekül ve monomeri bağlamak için kullanılan özel bağlayıcılar ile gelinebilmektedir. Bağlayıcılara örnek olarak üre, karbamat, karbon esterleri ve türevleri verilebilir. Bu maddelerin temel işlevi polimerizasyon aşamasında monomer ve hedef molekülün arasında kovalent bağ oluşumunu sağlamak ve aynı zamanda molekülün polimer filmde uzaklaştırılması aşamasında sterik bir engel oluşumunu engellemektir. Her ne kadar sterik engelin önüne geçse de, bağlayıcı kullanımı polimer yüzey oluşumuna ilave bir adım eklemekte ve dipol kuvvetleri yeterince güçlü değilse hedef molekül için düşük tanıma kabiliyeti sergileyebilmektedir (Herrera-Chacón vd., 2021).

1.7. Elektrokimyasal Sensörlerde Validasyon

1.7.1. Seçicilik

Bir yöntemin geliştirilme aşamasında ilk kriter, yöntemin girişim etkilerinden arınmış gerçek yanıtlar oluşturabilme yeteneğinin değerlendirilmesidir. Seçicilik, analiz yapılan ortamda bulunması muhtemel olan diğer maddeler varlığında yöntemin hedef analiti hassas ve doğru bir şekilde tanıyabilme ve tayin edebilmesidir. Seçicilik ve özgüllük sıklıkla birbirleri yerine kullanılan ancak anlamsal olarak birbirlerinden farklı iki terimdir. Seçicilik geliştirilen yöntemin birbiri ile ayırt edilebilen ya da ayırt edilemeyen birçok kimyasal maddenin varlığında hedef moleküle yanıt oluşturabilme yeteneğini ifade etmekte ve analitin bu yöntemle seçilebilmesi derecelendirilebilirken, özgüllük ise yöntemin tek bir hedef moleküle cevap vermesidir ve mutlak bir değer olduğu kabul edilmektedir. Mevcut olan bu tanımlamalara göre birçok yöntem seçici olarak değerlendirilebilirken, bunlardan yalnızca birkaçı özgüllük göstermektedir çünkü tek bir analite yanıt gösteren sayılı analiz yöntemi bulunmaktadır (Ozkan vd., 2015; Rambla-Alegre vd., 2012).

Bir yöntemin seçiciliğinin değerlendirilmesinde, analitin tayin edildiği ortamda bulunması muhtemel olan safsızlıklar, metabolitler, parçalanma ürünleri, bir farmasötik dozaj formunun hazırlığında kullanılan yardımcı maddelerin yöntem üzerindeki etkileri değerlendirilmelidir. Bu amaçla, yöntemin, hedef analite karşı herhangi bir girişim etkeni olmadan verdiği sonuçlar ve ortamda girişim maddesi bulunduğunda üretmiş olduğu yanıtlar karşılaştırılarak seçiciliği yorumlanmaktadır. Yöntemin seçici olması uygulanabilirliğini göstermektedir. Seçici olmayan bir yöntemin doğruluğu ve kesinliğinden söz etmek de mümkün olmamaktadır.

1.7.2. Doğruluk

Doğruluk, gerçekleştirilen birçok analiz sonucunda bulunan değerlerin ortalaması ve kabul edilen referans bir değer veya geleneksel gerçek bir değer arasındaki uyum sonucunda hesaplanan yakınlık değeridir. Uluslararası harmonizasyon topluluğu (ICH) yönergelerinde yer alan doğruluk ifadesine göre değerlendirilmesinin gerçekleştirilmesi için, belirlenen çalışma aralığı içerisinde yer alan üç farklı derişim için en az üç tekrar ile testlerin yapılması ve elde edilen verilerin numune içerisinde eklenen bilinen derişimdeki analitin geri kazanımı veya ortalama test değerleri ve doğru kabul edilen değer arasındaki fark ile güven aralıkları ile raporlanması gerekmektedir. Bu raporlama hata, bağıl hata veya geri kazanım olmak

üzere üç farklı değer ile ölçülmektedir. Hata, bir dizi test sonucunun ortalaması ve gerçek kabul edilen değer arasındaki farkı ifade etmektedir. Yüzde bağıl hata ise test sonuçlarının ortalaması ve referans değer arasındaki farkın referans değere oranının, yüzde geri kazanım ortalama değerinin referans değer ile oranının yüzde ifadesidir. Doğruluk analitik uygulamaların sistematik hataları ile ilişkilidir. Bir analitik yöntemin sistematik hatası, hata ile ilişkilidir. Doğruluk üzerindeki diğer etkili hatalar ise rastgele hatalardır ve bu hatalar yöntem hassasiyeti ile doğrudan ilişkilidir (Rozet vd., 2007).

Doğruluk birkaç farklı yol ile yapılan ölçümler neticesinde değerlendirilebilmektedir. Bunlardan ilki geliştirilen yöntem ile elde edilen sonuçların uygun ve referans olarak kabul edilen bir yöntem ile elde edilen sonuçlar ile karşılaştırılması, bir diğeri analitin boş matris ortamından geri kazanımı sonuçlarının değerlendirilmesi ve son olarak standart ekleme yöntemi kullanılarak analit maddenin halihazırda analit maddeyi içeren bir ortama eklenmesidir. Geri kazanım ile bir karışım içerisinde analitin %98-102 aralığında bir doğrulukla tayin edilmesi gerekmektedir. Bu aralığın dışında elde edilen sonuçların doğruluğu yeniden test edilmelidir (Ozkan vd., 2015).

1.7.3. Doğrusallık

Bir analitik yöntemin doğrusallığı, belirli bir konsantrasyon aralığında numunede bulunan analit derişiminin miktarı ile doğru orantılı olan test sonuçları elde etme yeteneğidir. Bu doğru orantıdan yararlanılarak elde edilen kalibrasyon eğrisi ve bunun matematiksel ifadesi olan regresyon denklemi, güvenilir ölçümler ve monotonik bir yanıt ile tanımlanmaktadır ve ifade edilmektedir. Doğrusallık ölçütü, ölçümüne karar verilen derişim ve ölçüm sonucunda elde edilen yanıt ile kalibrasyon eğrisinden hesaplanan miktar arasındaki ilişkinin kıyaslanmasıdır (Ozkan vd., 2015; Rambla-Alegre vd., 2012).

1.7.4. Çalışma Aralığı

Kantitatif bir tayin yöntemi için, geliştirilen yöntemin etkili bir şekilde uygulanabileceği analit derişim aralığının ve uygun değerlerin belirlenmesi gerekmektedir. Geliştirilen bir yöntemin çalışma aralığı doğrusallığı kullanılarak belirlenebilmektedir. Bu aralık doğrusallık kapsamında çalışan en yüksek ve en düşük derişim sınırlarındaki konsantrasyon aralığını içermektedir. Çalışma aralığı belirlenirken geliştirilen yöntemin analit tayininde yeterli kesinlikte ve doğrulukta olduğunun belirtilmesi önemlidir. Yöntem geliştirilirken, çalışma aralığı erken aşamalarda, analitin daha önceki çalışmalarda belirlenen

özellikleri göz önünde bulundurularak öngörülmelidir. Seçilen aralık, kalibrasyon eğrisini oluşturacak olan standart numune sayısını da belirlemektedir. ICH yönergesi farklı çalışmalar için minimum değerde farklı çalışma aralıkları önermektedir. Bunlar arasında ilaç maddeleri veya bitmiş ilaç ürünleri için test konsantrasyonunun %80-120 aralığının çalışılması önerilmektedir. Çalışma aralığı, toplam ölçüm hatasının kabul edilebilir olduğu konsantrasyon aralığıdır. Belirlenen aralık için elde edilen test sonuçlarının doğruluğu değerlendirilmelidir. Bununla birlikte kesinlik deneysel olarak değerlendirilmeli ve geliştirilen analitik yöntemin uygulanabilmesi için hedeflenen tüm çalışma aralığında kabul edilebilir sınırlar içerisinde yer almalıdır (Ozkan vd., 2015; Rozet vd., 2007).

1.7.5. Duyarlılık

Bir yöntemin duyarlılığı, farklı derişimlerde numunelere karşı elde edilen yanıtlar ile oluşturulmuş kalibrasyon eğrisinin eğimini ifade etmektedir. Duyarlılık, geliştirilen yöntemin analit derişimdeki değışikliklere karşı verdiği yanıtın bir ölçüsüdür. Bu parametre sıklıkla teşhis sınırı (TS) ve tayin alt sınırı (TAS) ile kullanılmaktadır. Matematiksel olarak da TS ve TAS hesabında kalibrasyon eğrisinin eğiminden faydalanılmaktadır. Bu durum yalnızca duyarlılık ve TS arasında doğrusal bir tepki fonksiyonu bulunduğunda geçerliliğini korumaktadır. Küçük bir derişim değışimine karşılık ölçülen sinyalde büyük bir değışiklik elde ediliyorsa bu durum yöntemin yüksek duyarlılıkta olduğunu göstermektedir. Bu duruma karşılık, duyarlılık bir yöntemin doğrulanması adımında test edilmesi gereken zorunlu bir parametre değildir (Taverniers vd., 2004).

1.7.6. Teşhis ve Tayin Alt Sınırı

Bir analitik yöntem için TS, bir örnekteki tespit edilebilen ancak kesin bir değer olarak sayısal bir ifadeyle belirtilemeyecek en düşük analit miktarı iken, TAS bir numune içerisindeki uygun hassasiyet ve doğruluk ile sayısal olarak belirlenebilen en düşük analit miktarıdır. TS, ölçülen bir değer, onunla ilişkili belirsizlikten daha büyük olduğu noktadır, bununla birlikte TAS örnek numunelerindeki düşük analit derişimleri için nicel analizlerin bir parametresidir. Genellikle numunede yer alan analitin derişim birimi cinsinden ifade edilen TS, biyolojik numunelerdeki ilaç etken maddeleri, çeşitli ilaç bozunma ürünleri veya safsızlıkların değerlendirilmesi için önem taşımaktadır. TS genellikle yöntem hassasiyeti ile karıştırılabilmektedir. Duyarlılık, belirli bir çalışma aralığı için elde edilen kalibrasyon çizgisinin eğimine eşittir. Bununla birlikte TS çok sağlam bir değer değildir ve birçok ortam koşulundan etkilenebilmektedir. TS'nin bu durumu nedeni ile parametrenin daha önce valide

edilmiş yöntemlerin uygulandığı laboratuvarlarda doğrulanması önem taşımaktadır (Rambla-Alegre vd., 2012).

TS ve TAS değerlerinin hesaplanması için farklı yaklaşımlar bulunmakta, bunlar arasında görsel incelemeye dayanan yöntemler, çalışma aralığının en düşük derişimi için elde edilen yanıtların standart sapması, bu çalışma aralığı ve elde edilen yanıtlar ile oluşturulan kalibrasyon eğrisinin eğimi ve sinyal-gürültü oranı ilişkisi yer almaktadır. Bu yöntemler arasından TS ve TAS için hesaplamalar standart sapma ve eğim ilişkisi ile gerçekleştiriliyorsa, çalışma aralığının en düşük derişimine yakın derişimlerde analit içeren numune çözeltilerinin ölçümleri birkaç kez tekrar edilmelidir. Validasyon hangi yöntem kullanılarak yapılırsa yapılsın TAS değerinin TS değerinden küçük olması söz konusu değildir (Ozkan vd., 2015; Rambla-Alegre vd., 2012).

1.7.7. Kesinlik

Geliştirilen analitik bir yöntemin kesinliği, aynı koşullar altında gerçekleştirilen analizler ile aynı homojen örneğin birkaç farklı örneklemesinden elde edilen bir dizi ölçüm sonucu arasındaki yakınlığı ifade etmektedir. Genellikle bu ölçümler sonucu elde edilen verilen standart sapması, varyansı veya varyasyon katsayısı ile belirtilmektedir. Analitik yöntemle bağlı olan rastgele hataların, yani sonuçların ortalama değerleri etrafındaki dağılımını ölçmektedir. Kesinlik tahmini, gerçek veya belirtilen değerden, ortalama veya gerçeklik tahmininden bağımsız olarak yorumlanmaktadır. Kesinlik üç farklı düzeyde ele alınabilmektedir, bunlar tekrarlanabilirlik, ara kesinlik ve yeniden üretilebilirliktir. Tekrarlanabilirlik, kısa zaman aralığında aynı deneysel koşullar altındaki hassasiyeti ifade etmekte, ayrıca deney içi hassasiyet olarak da adlandırılabilir. Ara kesinlik, farklı günler, farklı analistler, farklı cihazlar gibi analizin yürütüldüğü laboratuvar içerisindeki farklılıklardan kaynaklı değişimleri ifade etmektedir. Tekrar üretilebilirlik ise laboratuvarlar arasındaki kesinliği belirtmekte, analiz geliştirilen aynı yöntem kullanılarak farklı analistler, farklı ekipmanlar, farklı cihazlar gibi parametrelerin değiştirilmesi ile değerlendirilmektedir. Ara kesinliğin amacı aynı laboratuvar içerisinde geliştirilen yöntemin aynı sonuçları vereceğini ispatlamaktır. Tekrar üretilebilirlikte ise yöntemin geçerliliği farklı laboratuvarlarda doğrulanmaktadır ve eğer geliştirilen yöntem farklı laboratuvarlarda uygulanacak ise yararlı olmaktadır (Rambla-Alegre vd., 2012; Rozet vd., 2007). Kesinlik yüzde bağıl standart sapma (BSS) ile ifade edilmektedir. Değerlendirilen yöntemin kesinliğinin olduğunu söyleyebilmek için bu değer %2'ye eşit veya düşük olması gerekmekte, ancak bu sınır safsızlık analizleri veya eser miktarda yürütülen çalışmalar için

genişlemekte ve %10 veya daha düşük BSS değerleri kabul edilebilmektedir (Ozkan vd., 2015).

1.7.8. Tutarlılık ve Sağlamlık

Ara kesinlik ile de benzerlik gösteren tutarlılık, geliştirilen yöntemin aynı laboratuvardaki farklı analistleri, farklı cihazlar, aynı kimyasalların farklı markalar tarafından temin edilen formları veya farklı laboratuvarlar gibi koşullarda elde edilen sonuçlarının kıyaslanması ile değerlendirilmektedir. Tutarlılık %BSS ile ifade edilir. Bununla birlikte, ICH kılavuzunda bir yöntemin validasyonunu gerçekleştirmek için ele alınması zorunlu olan parametreler arasında tutulmamıştır (Rambla-Alegre vd., 2012).

Sağlamlık, geliştirilen yöntemin güvenilir sonuçlar vermesi ile ilgili bilgi sağlamakta ve yöntem parametrelerindeki küçük değişikliklere karşı gösterdiği direncin bir ölçüsüdür. Sağlamlık tanımına göre, operasyonel, çevre ile ilişkili, tepe ölçümü veya analiz parametreleri gibi yönetime ilişkin parametrelerdeki küçük ve kasıtlı değişikliklerin etkileri değerlendirilmektedir. ICH kılavuzuna göre, sağlamlığı değerlendirmek için iki farklı yaklaşım bulunmaktadır. Bunlardan ilki tek seferde tek değişken, diğeri ise deneysel tasarım prosedürünü kapsamaktadır. Bir yöntemin sağlam olarak nitelendirilebilmesi için, koşullar değiştiğinde yöntemin ürettiği sonuçlarda büyük ve beklenmeyen değişiklikler oluşturmamalıdır (Dejaegher ve Heyden, 2007).

1.7.9. Stabilite

Stabilite çalışmalarını desteklemek için tasarlanan yöntemler geliştirilirken, yöntemin kararlılık gösterdiğinden emin olmak gerekmektedir. Stabilite gösteren bir yöntem, analiti ortamda bulunan bozunma ürünleri, çeşitli safsızlıklar, çeşitli içsel maddelerin girişim etkilerinden bağımsız olarak doğru ve hassas bir şekilde tayin eden valide edilmiş elektroanalitik bir yöntemdir. Stabilite testleri gerçekleştirilirken hedef analitin geçirmiş olduğu çeşitli süreçlerde herhangi bir bozulma gösterip göstermediğini belirlemektir. Bu amaçla, stabilite testleri bir faktör nedeni ile bozulmaya uğrayan analitin aktif olan miktarındaki azalmanın tayinini hedefleyen analitik prosedürlerdir. Depolama ya da geliştirme süreçleri içerisinde bozulmaya uğrayan maddeler formülasyon geliştirme aşamalarında da zorluk meydana getirmektedir. Bu zorlukların üstesinden gelinebilmesi ve çözümlenebilmesi için tekrar edilebilir ve güvenilir sonuçlar elde edilmesi ve bu amaç

doğrultusunda analizler gerçekleştirilirken kullanılan standart çözeltiler, kimyasallar, çalışma elektrotları karşılaştırılan zaman boyunca kararlılığını korumalıdır (Ozkan vd., 2015).

Stabilite testleri, hedef molekülün üretimi ve depolanması gibi süreçlerinde potansiyel olarak karşılaşılabileceği ortam koşulları gözetilerek gerçekleştirilmelidir. Çalışmalar amaçlanan depolama sıcaklıklarında dondurulduğunda uzun süreli depolama, oda sıcaklığında yer alan bir dizi örnek analizleri sırasında kısa süreli depolama ve dondurma ve çözme döngülerinin ardından tipik depolama senaryolarında örneklerin toplama ve işlemleri sırasında yürütülmektedir. Buna ilaveten, geliştirilen analitik yöntemin bozunma ürünlerinin varlığında hedef molekülü ölçme yeteneği de değerlendirilmektedir. ICH yönergeleri, bozunmayı zorlamak için yüksek sıcaklık, nem veya ışık gibi stres koşullarında da stabilite çalışmalarının yapılmasını önermektedir (Rambla-Alegre vd., 2012).

1.8. Kuantum Mekaniksel Hesaplamalar

Kompleks atomik ve moleküler sistemlerin detaylı bir şekilde incelenmesine kuantum mekaniksel hesaplamalar olarak tanımlanmaktadır. Yoğunluk Fonksiyoneli Teorisi (YFT) sıklıkla kullanılan kuantum mekaniksel hesaplamalarından birisidir. Özellikle malzeme bilimlerinde ve nanoteknoloji alanında önemli bir kullanıma sahiptir. Bunun temel nedeni, YFT'nin deneysel verilerin doğrulanması ve açık bırakılan olasılıklar arasında ayırım yapmakta etkili olmasıdır. Yöntem çeşitli moleküler verilerin incelenmesi, teorik ve deneysel veriler arasında bağlantı kurulması ve bu sistemlerin geometrik, elektronik ve spektroskopik özellikleri hakkında önemli ipuçları yakalanmasına neden olmaktadır (Orio vd., 2009). YFT, çok elektronlu sistemlerin Schrödinger dalga denklemini çözmek için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu teori, elektronik yapı hesaplamalarında çok parçacık dalga fonksiyonu yerine elektron yoğunluğunu temel değişken olarak kabul etmekte ve bir sistemin elektron yoğunluğu ile enerjisi arasındaki ilişkiyi kullanmaktadır. Kimya alanında kimyasal reaksiyonların mekanizmaları, faz dönüşümleri ve kompleks moleküllerin elektronik yapılarının anlaşılmasına yardımcı olmaktadır. Bu incelemeler sırasında, elektron yoğunluğu özelliklerine odaklanarak dalga fonksiyonu temelli metotlara kıyasla hem sistemi basitleştirmekte hem de maliyeti düşürmektedir. Ayrıca küçük molekül sistemlerinden, büyük molekül yapıları katılara birçok sisteme uygulanabilmekte ve başarılı sonuçlar üretmektedir. Sahip olduğu bu avantajlar kullanım alanlarını yaygınlaştırmaktadır (Bretonnet, 2017).

1.9 Bekсарoten Tayinine Yönelik Literatür Çalışmaları

Bekсарoten tayini ile ilgili olarak gerçekleştirilen literatür incelemesi sonucunda karşılaşılan çalışmalar Çizelge 1.1’de gösterilmektedir. Buna göre çeşitli analitik yöntemler kullanılarak bekсарotenin tayin edildiği görülürken yalnızca bir çalışmada elektrokimyasal yöntemlerden faydalandığı görülmektedir. Bekсарoten bu çalışmalarda başarıyla tayin edilse de, analiz yöntemi olarak kromatografik yöntemler ve floresans spektroskopisi bazı dezavantajlar sergilemektedir. Bunlar arasında maliyeti yüksek cihazlar, uzun ve karmaşık numune hazırlık süreleri ve çevre için zararlı olan çözücü atıkları sayılabilmektedir (Elfadil vd., 2021; Xue vd., 2024). Bununla birlikte elektrokimyasal sensörlerin moleküler baskılanmış polimerler ile modifiye edildiği yaklaşımlar çeşitli avantajlar sunarak güncel çalışmalarda yerini almaktadır.

Çizelge 1.1. Literatürde yer alan bekсарoten tayini ile ilişkili çalışmalar

Tayin yaklaşımı	Konsantrasyon aralığı	TS	Gerçek numune	%Geri kazanım	Kaynak
YPSK-UV	10,0-10000,0 ng/mL	10 ng/mL	Sıçan plazması	96,2-97,2	(Lee vd., 2017)
SK	0,500-1500 ng/mL	0,500 ng/mL	İnsan plazması	92,3	(Van De Merbel vd., 2002)
SK	0,003-0,008 mg/mL	0,003 mg/mL	Softgel dozaj formülasyonu	98,9-101,1	(Lakshmi Narasimha Rao ve Praneeth Rao, 2017)
SK-MS/MS	10,0-15000,0 ng/mL and 10.0-600.0 ng/mL	10 ng/mL	Fare plazması ve beyin dokusu	82,8-92,0	(Fu et vd., 2022)
SK-MS/MS	1,04-351,93 µg/mL	1,0540 ng/mL	İnsan plazması	95,72	(Nagaraju vd., 2021)
Floresans	2-18 µM	2 µM	-	-	(Zahirul Kabir vd., 2023)
Elektrokimyasal sensör; DNA biyosensör	$5,0 \times 10^{-9} - 2,0 \times 10^{-6}$ M	$9,90 \times 10^{-4}$ M and $1,48 \times 10^{-3}$ M	-	-	(Khan vd., 2025)

Gerçekleştirilen tez çalışmasında bekсарoten tayini için ilk kez nanomateryal modifiye moleküler baskılı polimer temelli bir sensör geliştirilmesi amaçlanmaktadır. Sensör yüzeyinin molibden trioksit (MoO_3), platin nanoküreler (PtNK) ve kitosan (Kit) nanokompoziti ile karıştırılmasıyla sensör hassasiyeti artırılmıştır. Daha sonra sensör yüzeyinde polimer film oluşturularak yüksek seçicilikle bekсарoten tayini hedeflenmiştir. Geliştirilen yöntem ile bekсарotenin analizi, jel dozaj formunda ve ticari insan serumu örneklerinde de başarı ile gerçekleştirilmiştir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Tez Çalışması Kapsamında Kullanılan Kimyasal Maddeler

Beksaroten tayini için geliştirilen sensör hazırlığında ve tüm tayin adımlarında kullanılan kimyasal maddeler analitik saflık derecesindedir ve herhangi bir ön işlem uygulanmadan doğrudan kullanılmıştır. Çalışma kapsamında kullanılan kimyasal maddeler Çizelge 2.1’de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Tez çalışması kapsamında kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasal Madde	Analitik Saflık Derecesi (%)	Firma
Beksaroten	-	Nobel İlaç A.Ş.
Beksar®	-	Nobel İlaç A.Ş.
Ticari insan serumu	-	Sigma-Aldrich
Potasyum ferrisiyanür ($K_3[Fe(CN)_6]$)	99,0	Sigma-Aldrich
Potasyum ferrosiyanür ($K_4[Fe(CN)_6]$)	$\geq 98,5$	Sigma-Aldrich
Potasyum klorür (KCl)	$\geq 99,0$	Sigma-Aldrich
Kitosan (Kit)	-	Sigma-Aldrich
Molibden trioksit (MoO_3)	-	Nanografi A.Ş.
Platin Nanoküreler (Pt NK’ler)	-	Metrohm DropSens
Fosforik asit (H_3PO_4)	$\geq 85,0$	Merck
Borik asit (H_3BO_3)	$\geq 99,5$	Sigma-Aldrich
Sodyum dihidrojen fosfat ($NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$)	99,99	Sigma-Aldrich
Sodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4)	98,0-102,0	Sigma-Aldrich
L-arjinin	-	Merck
N,N-dimetilformamit	$\geq 99,9$	Sigma-Aldrich
Dimetilsülfoksit (C_2H_6OS)	$\geq 99,9$	ISOLAB
Sodyum hidroksit (NaOH)	$\geq 97,0$	Sigma-Aldrich
Asetonitril (C_2H_3N)	$\geq 99,9$	Sigma-Aldrich
Metanol (CH_4O)	$\geq 99,8$	Sigma-Aldrich
Etanol (C_2H_6O)	$\geq 99,5$	Sigma-Aldrich
Asetik asit (CH_3COOH)	$\geq 99,0$	Sigma-Aldrich

Çizelge 2.1. Devam

Sodyum klorür (NaCl)	≥99,0	Sigma-Aldrich
Ürik asit	≥99,0	Sigma-Aldrich
Askorbik asit	≥99,0	Sigma-Aldrich
Kafein	99,0	Sigma-Aldrich
Niasin	≥98,0	Sigma-Aldrich
Dopamin hidroklorür	≥98,0	Sigma-Aldrich
Epinefrin	≥99,0	Sigma-Aldrich
Glukoz	≥99,0	Sigma-Aldrich
Retinoik asit	-	EGAS

2.2. Tez Çalışması Kapsamında Kullanılan Cihazlar

Tüm elektrokimyasal ölçümler NOVA 2.1.6 yazılımı ile entegre olan bir AUTOLAB-IMP (Hollanda) potansiyostat/galvanostat kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elektrokimyasal sistemler üçlü elektrot sisteminden oluşmaktadır ve bu üçlü sistemde çalışma elektrodu olarak bir camsı karbon elektrot (CKE), referans elektrot olarak Ag/AgCl elektrot (3,0 M NaCl içerisinde) ve karşıt elektrot olarak platin tel yer almaktadır. Kimyasalların tartımını gerçekleştirmek için Ohaus Corporation (Şanghay, Çin) marka bir hassas terazi kullanılmıştır. Nanomalzeme modifiye sensör yüzeyi bir inkübatörde (EN 055/120, Nüve, Türkiye) kurutulmuştur. Ayrıca, hazırlanan çözeltilerin pH'ını kontrol etmek amacıyla SevenCompact™ marka pH/Ion S220 model bir pH metre (Mettler Toledo, İsviçre) ve hazırlanan nanopartikül çözeltilerinin homojen bir şekilde karıştırılması için JP Selecta (Barselona, İspanya) marka bir ultrasonik banyo ve D-LAB MX-S vorteks kullanımı tercih edilmiştir. Tüm çözeltiler Millipore Milli-Q sistem ile edilen ultra saf su kullanılarak hazırlanmıştır. Bununla birlikte, çözeltilerin hazırlığında Eppendorf AG (Almanya) otomatik pipetler ve ISOLAB marka pipet uçları kullanılmıştır. Numune hazırlığında yer alan politetrafloroetilen (PTFE) ise ISOLAB markadır. Santrifüj cihazı olarak Nüve NF-200 (Ankara, Türkiye) model tercih edilmiştir.

Taramalı elektron mikroskobu (SEM) için ZEISS EVO 40 ve Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) analizi Perkin Elmer, Spectrum 100 model ile gerçekleştirilmiştir.

2.3. Elektrokimyasal Teknikler

Beksaroten tayini için geliştirilen Nano-MIP sensörünün hem elektrokimyasal polimerizasyon aşamasında hem de elektrokimyasal karakterizasyonunda DV tekniğinden yararlanılmıştır. MoO₃-PtNK@Kit/CKE sensörünün yüzeyinde L-arjinin ve beksaroten kullanılarak MIP filmin oluşturulması için -2.0 V ve 2.2 V potansiyel aralığında 100 mV s⁻¹ tarama hızında döngüsel voltametri yöntemi kullanılmıştır. NIP filminin oluşturulması için ise MIP ile aynı prosedür izlenmiş ancak polimer film çözeltisinin içerisinde hedef molekül olan beksaroten bulunmamaktadır. Geliştirilen MIP ve NIP sensörlerinin elektrokimyasal karakterizasyonunun gerçekleştirilmesi için DV yöntemi ile 0,1 M KCl ile hazırlanmış 5 mM [Fe(CN)₆]^{3-/4-} çözeltisi içerisinde ölçümler gerçekleştirilmiştir.

Geliştirilen Poli(Arg)/BEK@MIP/MoO₃-PtNK@Kit/CKE sensörünün elektroanalitik performansı diferansiyel puls voltametri (DPV) yöntemi kullanılarak 0,1 M KCl ile hazırlanmış 5 mM [Fe(CN)₆]^{3-/4-} çözeltisi içerisinde alınan ölçümler neticesinde değerlendirilmiştir.

Nano-MIP sensörünün elektrokimyasal karakterizasyonunda DV yöntemine ilaveten elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS) yönteminden faydalanılmıştır. EIS ölçümleri DV yönteminde kullanılan ile aynı koşullarda hazırlanmış redoks çözeltisi içerisinde gerçekleştirilmiştir.

2.4. Tez Çalışmasında Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı

2.4.1. Tampon Çözelti Hazırlanışı

Elektropolimerizasyon yöntemi ile MIP filminin oluşturulmasında pH 7,4 fosfat tamponu (FT) kullanılmış ve polimerizasyon çözeltisi ortamı fosfat tamponu içerisinde L-arjinin ve beksaroten karışımı ile hazırlanmıştır. Ayrıca yeniden bağlanma için beksaroten çözeltilerinin seyreltilmesinde de pH 7,4 FT destek elektrolitinden yararlanılmıştır. Bu amaçla, uygun miktarlarda H₃PO₄, NaH₂PO₄.2H₂O ve Na₂HPO₄ kullanılarak tampon çözelti hazırlanmış ve tampon çözelti uygun pH'ya 0,1 M NaOH ile ayarlanmıştır. Ayrıca, pH 8 Britton-Robinson tamponu (BRT) hazırlamak üzere uygun miktarda H₃BO₃, H₃PO₄ ve glasiyel CH₃COOH karıştırılıp 1000 mL'ye ultra saf su ile tamamlanmıştır. Tampon çözelti istenen pH'ya 0,1 M NaOH kullanılarak ayarlanmıştır.

2.4.2. Redoks Çözeltisi Potasyum Ferrisiyanür Hazırlanışı

Elektrokimyasal tüm ölçümler 0,1 M KCl ile hazırlanan 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ içerisinde gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 50 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ çözeltisi uygun miktarlarda $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ve $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ tartılıp ultra saf su içerisinde çözülmesi ile hazırlanmış, daha sonra redoks çözeltisi 5 mM derişime 0,1 M KCl çözeltisi kullanılarak seyreltilmiştir.

2.4.3. Beksaroten Etken Maddesinin Stok Çözeltisinin Hazırlanışı

Beksaroten etken maddesi N,N-dimetilformamit (DMF) içerisinde çözünebilmektedir. Ana stok beksaroten çözeltisi 10 mM derişimde hazırlanmış, bu amaçla 174,2 mg etken madde tartılmış ve 50 mL balonjoje içerisinde DMF ile çözülmüştür. Daha sonra gerekli seyreltmeler, maddenin çökmesini engellemek için 10 mM stok çözeltiden 0,01 mM'a kadar DMF ile yapılmış, daha fazla seyreltme pH 7,4 FT ile devam ettirilmiştir.

2.4.4. Jel Dozaj Formu Çözeltisinin Hazırlanışı

Beksar® %1 jel dozaj formundan (1 g jel 10 mg etken madde içerir), 10 mM stok çözeltisi elde etmek üzere 3,5 g jel tartılarak bir falkon tüp içerisinde 15 mL DMF ile tamamlanmıştır. Daha sonra elde edilen çözelti 5 dakika vorteks ile karıştırılıp, etken maddenin tamamen çözünmesi için 1,5 saat ultrasonik banyoda sonik edilmiştir. Elde edilen çözelti 0,45 µm por genişliğine sahip politetrafloroetilen (PTFE) filtre ile süzölmüştür. Gerekli seyreltmeler etken maddenin çökmesini engellemek amacıyla 0,01 mM'a kadar DMF ile, daha seyreltik çözeltilerin hazırlanması için seçilen destek elektrolit çözeltisi pH 7,4 FT ile gerçekleştirilmiştir ve voltamogramlar standart çözelti ile aynı şartlar altında kaydedilmiştir. Jel dozaj formundaki beksaroten etken maddesinin tespiti, standart çözeltiden elde edilen kalibrasyon eğrisi kullanılarak yapılmıştır. Geri kazanım çalışmaları için iki farklı derişimde numune çözeltisi üzerine bilinen miktarlarda standart etken madde çözeltisinin ilave edilmesi ile ve her bir derişim için 3 paralel ölçüm ile tamamlanmıştır.

2.4.5. Ticari İnsan Serumu Çözeltisinin Hazırlanışı

Ticari insan serumu, 1 mM derişimde stok çözelti şeklinde hazırlanmıştır. Bunun için 15 mL'lik bir falkon tüp içerisine 10 mM beksaroten çözeltisinden 1 mL, ticari insan serumundan 3,6 mL alınmış ve 5,4 mL DMF ile tamamlanmıştır. Elde edilen çözelti 15 dakika boyunca ultrasonik banyoda tutulmuş, daha sonra 20 dakika 5000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatant serum stok çözeltileri olarak kullanılmış, gerekli

seyreltmeler 0,01 mM'a kadar DMF ile, daha seyreltik derişimlerde pH 7,4 FT ile yapılmıştır. Serum numuneleri ile standart çözeltilerle aynı koşullarda DPV ölçümleri gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlar kullanılarak kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Geri kazanım çalışmaları serum çözeltileri için iki farklı derişimde üç paralel ölçümle, serum numunesinin üzerine bilinen derişimde standart beksaroten çözeltisi eklenerek gerçekleştirilmiştir.

2.4.6. Girişim Çalışmalarında Yer Alan Çözeltilerin Hazırlanışı

Biyolojik sıvılarda bulunması muhtemel olan maddelerin geliştirilen sensör ile beksaroten tayininde girişim etkileri incelenmiştir. Bu amaçla 1 mM derişimde stok çözelti hazırlamak üzere gerekli miktarda glukoz, NaCl, Askorbik asit, kafein, niasin, dopamin ve KCl ultra saf su içerisinde çözülerek hazırlanmıştır. Bunun dışında epinefrin asetik asit, ürik asit 1 M NaOH ve retinoik asit DMSO içerisinde çözülmüştür. Gerekli seyreltmeler destek elektrolit olarak seçilen pH 7,4 FT ile gerçekleştirilmiştir.

2.5. Poli(Arg)/BEK@MIP/MoO₃-PtNK@Kit/CKE Sensörünün Hazırlanışı

2.5.1. Nanosensörün Hazırlanışı

Sensör yüzeyinin modifikasyonunda kullanılan MoO₃ 2 mg/mL derişimde ultra saf su içerisinde çözülerek hazırlanmıştır. Platin nanoküreler sıvı formda olup, derişimleri 2 mg/mL'dir. Kitosan çözeltisinin hazırlanması için 0,5 mg kitosan tartılmış, %1 asetik asit çözeltisi içerisinde çözülmüş ve 2 saat ultrasonik banyoda homojen bir çözelti elde edilmesi için tutulmuştur. Daha sonra hazırlanan çözeltiler kullanılarak hacimsel olarak 2:2:1 oranında sırasıyla PtNK, MoO₃ ve kitosan çözeltilerinden alınarak nanokompozit karışımı hazırlanmıştır. Hazırlanan karışım homojenlik elde edilmesi için 30 dakika ultrasonik banyoda tutulmuştur.

CKE yüzeyinin modifiye edilmeden önce temizlenmesi ve olası kirliliklerin yüzeyden uzaklaştırılması önemlidir. Bu amaçla, CKE öncelikle 15 dakika boyunca 1:1 (h/h) ultra saf su ve metanol karışımında bekletilmiştir. Daha sonra, alümina bulamacı ve bir parlatma pedi ile yüzey parlatılmıştır. Yüzeyi parlatılan CKE ultra saf su ile yıkanmış ve oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Temizlenen CKE yüzeyine 3 µL MoO₃-PtNK@Kit nanokompoziti damlatılmış ve 37 °C'de etüvde 7 dakika boyunca kurutulmuştur.

2.6. Nano-MIP Temelli Elektrokimyasal Sensörün Yüzey Karakterizasyonu

Geliştirilen Nano-MIP sensörünün karakterizasyon çalışmaları iki aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada elektrokimyasal karakterizasyon uygulanmış ve bu DV ve EIS yöntemleri kullanılarak 5 mM redoks çözeltisi içerisinde gerçekleştirilmiştir. Buna ilaveten diğer aşamada, SEM, AFM ve FTIR yöntemleri kullanılarak sensör yüzeyinin morfolojik özellikleri incelenmiştir.

2.7. Kuantum Mekaniksel Yöntemlerin Uygulanması

Kuantum mekaniksel hesaplamalarda, Gaussian09W yazılımı (Frisch vd., 2010) ile model geometrilerin oluşturulmasında ve hesaplamaların analizinde ise GaussView 5.0 programı (Dennington vd., 2005) kullanılmıştır. Bir sistemin kararlı durumlarının enerjileri, moleküler yapısı, titreşim frekansları ve birçok moleküler özellik gaz fazında ve çözelti fazında hesaplanabilmektedir. GaussView 5.0 programı, çok büyük moleküllerin hızlıca taslağını oluşturmaya, molekülleri döndürmeye, öteleme, büyütme ve hesaplama sonuçlarının çeşitli grafik teknikleriyle incelemesine olanak sağlar. Moleküler orbitaller, elektron yoğunluğu yüzeyleri, elektrostatik potansiyel yüzeyleri, atomik yükler, titreşim frekanslarına karşılık gelen normal modların animasyonu grafiksel olarak rahatlıkla görüntülenebilmektedir. YFT yöntemi olarak B3LYP, Becke'nin üç parametreliliği değiş-tokuş fonksiyoneli ile Lee, Yang ve Parr' ın gradyent düzeltmeli fonksiyonelinin birleşimi olan hibrit fonksiyoneli (Becke, 1988; Lee vd., 1988; Vosko vd., 1990) ve baz seti olarak da 6-31g(d,p) baz seti kullanılmıştır. Sistemlerin bağlanma enerjilerini hesaplamak için Counterpoise (CP) metodu (Boys vd., 1970) kullanılmıştır. Bu aşamada sistem fragmanlar olarak değerlendirilmiştir ve sistemin toplam enerjisinden sistemi oluşturan parçaların enerji toplamları çıkarılarak ve baz seti süperpozisyon hataları (BSSE) dahil edilerek (Boys vd., 1970) bağlanma enerjileri hesaplanmıştır. Tüm moleküllerin başarılı geometri optimizasyonları sonrası elektronik özellikleri incelenmiştir. Bu amaçla sistemlerdeki etkileşimlerin doğasını anlamak için HOMO (en yüksek dolu moleküler orbital) ve LUMO (en düşük moleküler orbital) ile moleküler elektrostatik potansiyel (MEP) grafikleri oluşturulmuştur.

Ayrıca deney ortamını hesaplarda yansıtabilmek için, hesaplar çözücü ortamında da tekrarlanmıştır. Polarize Edilebilir Süreklilik Model (PCM), bir çözünen madde (örneğin bir molekül veya kompleks) ile çevresindeki çözücü arasındaki elektrostatik etkileşimi modellemede kullanılmıştır (Cancès vd., 1997; Mennucci ve Tomasi, 1997; Mennucci vd., 1997; Tomasi vd., 1999).

3. BULGULAR

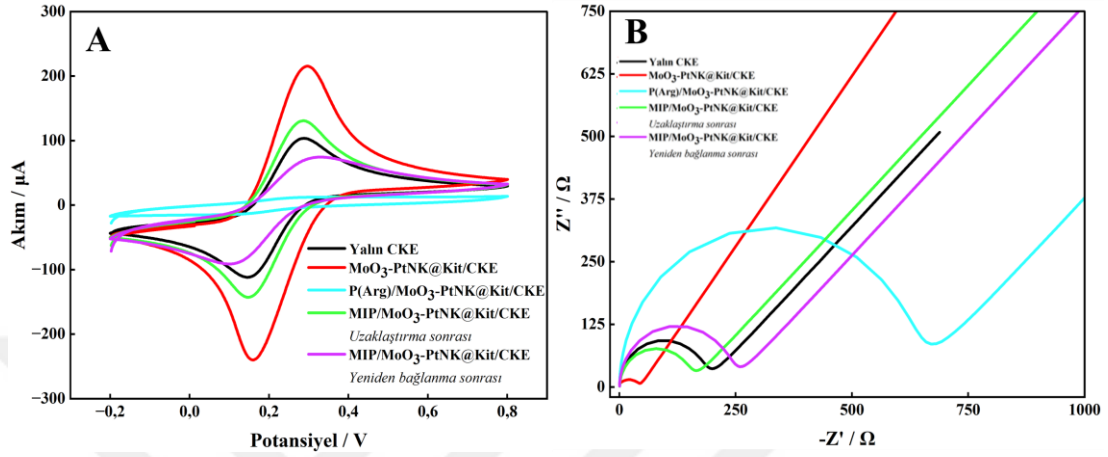
3.1. Bekсарoten Tayini İçin Geliştirilen Nano-MIP Temelli Sensörün Yüzey Karakterizasyonu

3.1.1. Nano-MIP Sensörünün Elektrokimyasal Karakterizasyonu

Sensör yüzeyinde gerçekleştirilen nanomateryal modifikasyonu, elektropolimerizasyon, Bekсарoten (BEK)'in polimer filmden uzaklaştırılması ve yeniden bağlanması adımlarından sonraki yüzey iletkenliğinde ve yük transferine gösterilen direnç gibi yüzey özelliklerindeki değişimler 0.1 M KCl içeren 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ redoks çözeltisi içerisinde DV ve EIS teknikleri kullanılarak incelenmiştir. Tüm modifikasyon adımlarında gerçekleştirilen ölçümler sonucunda elde edilen döngüsel voltamogramlar Şekil 3.1 A'da verilmiştir. Buna göre yalnız CKE yüzeyi $\text{MoO}_3\text{-PtNK@Kit}$ nanokompoziti ile modifiye edildiğinde redoks çözeltisinin DV sinyalinde yaklaşık iki katlık bir artış gözlemlenmiştir. Bu artış elektron transferindeki hızlanma ve aktif elektrokimyasal yüzey alanındaki artışa atfedilebilir. L-arginin (Arg) ile elektropolimerizasyon sonucunda sensör yüzeyinin polimer film ile kaplanmasının ardından, L-argininin yalıtkan yapısı nedeni ile elektron transferi sınırlanmaktadır (Karim-Nezhad vd., 2022). Bu yalıtkan etki, DV sinyalinde ciddi bir düşüşe neden olmuştur. BEK molekülünün sensör yüzeyinden uzaklaştırılması sonucunda polimer filmde moleküle özgü bağlanma bölgeleri oluşturan boşluklar meydana gelmiş, bu boşluklar elektron transferini yeniden mümkün hale getirmiştir. Sonuçta ise DV sinyalinde bir artış olmuştur. BEK'in bu boşluklara yeniden bağlanmasını takiben ise spesifik boşluklarda gerçekleşen azalma ile birlikte sinyal uzaklaştırma sonrasında elde edilen sinyale kıyasla tekrar düşmüştür.

Ayrıca, Nano-MIP sensörünün hazırlanma aşamalarında sensör empedansı EIS yöntemi kullanılarak 0,1 M KCl içeren 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ redoks çözeltisi içerisinde alınan ölçümler ile değerlendirilmiştir. Nyquist eğrileri sonucunda elde edilen verilere göre yük transfer direncindeki (R_{ct}) değişiklikler yorumlanmıştır. Şekil 3.1 B'de gösterildiği üzere, yalnız CKE direnci (180 Ω), sensörü $\text{MoO}_3\text{-PtNK@Kit}$ nanokompoziti ile modifiye edildikten sonra azalmıştır (48,9 Ω). Daha sonra sensör yüzeyinde MIP filmi oluşturulduğunda L-arginin yalıtkan özelliği nedeni ile elektron transferinin güçleşmesi sonucunda direnç büyümüştür (625 Ω). BEK molekülleri polimer filmden uzaklaştırıldığında yüzeyde oluşan seçici boşluklar elektron transferine olanak tanımış ve direnç yeniden azalma göstermiştir

(148 Ω). Son olarak seçici boşluklara BEK'in yeniden bağlanması elektron transferi için yeniden bir engel oluşturarak direnci attırmıştır (238 Ω). Buna göre BEK'in başarılı bir şekilde polimer filme yeniden bağlandığı görülmektedir. Elde edilen Rct değerleri Çizelge 3.1'de özetlenmiştir.



Şekil 3.1. Poli(Arg)/BEK@MIP/MoO₃-PtNK@Kit/CKE sensörünün geliştirilme aşamalarına ait 0,1 M KCl içeren 5 mM [Fe(CN)₆]^{3-/4-} redoks çözeltisi içerisinde gerçekleştirilen A) DV ile elektrokimyasal karakterizasyonu ve B) EIS ile elektrokimyasal karakterizasyonu

Sensör yüzeyinde nanomateryal ile modifikasyon, polimerizasyon sonrası, uzaklaştırma ve yeniden bağlanma sonrası aşamalarındaki redoks reaksiyonlarının hızını incelemek amacı ile Buttlar-Volmer eşitliği kullanılarak değişim akım yoğunluğu (I_0) hesaplanmıştır (Dickinson ve Wain, 2020). Buna göre hesaplamalar $I_0 = R \times T/n \times F \times R_{ct}$ eşitliği ile gerçekleştirilmiştir. Eşitlikte R evrensel gaz sabitini (8314 J mol⁻¹ K⁻¹), n redoks sürecine dahil olan elektron sayısını, T sıcaklığı (K) ve F Faraday sabitini (96485 C mol⁻¹) ifade etmektedir. Elde edilen I_0 sonuçları Çizelge 3.1'de verilmiştir. Yalın CKE'ye kıyasla MoO₃-PtNK@Kit/CKE'nin değişim akım yoğunluğunun artması sensör yüzeyinde elektron transferinin hızlandığını göstermektedir. Polimerizasyon sonrasında yoğunluğun düşmesi, elektrot yüzeyinin polimer film ile kaplandığını ve filmin elektron transferini etkileyici etkisinin sonucunda redoks reaksiyonunun yavaşladığını ifade etmektedir. Uzaklaştırmanın ardından, polimer filmde oluşan boşluklar redoks reaksiyonunun yeniden hızlanmasına ve değişim akımı yoğunluğunun artmasına neden olmuştur. Yeniden bağlanma ise yüzeydeki boşlukları kapatarak elektron transferini zorlaştırmış ve I_0 'da düşüşe yol açmıştır.

Çizelge 3.1. İmpedans parametrelerinin değerlendirilmesi

	Kapasitans (C)	Yük Transfer Direnci (Rct)	Değişim Akımı Yoğunluğu (I₀)
Yalın CKE	1,12 µF	180 Ω	0,1306 A cm ⁻²
MoO₃- PtNK@Kit/CKE	11,3 mF	48,9 Ω	0,4810 A cm ⁻²
Polimerizasyon sonrası	863 nF	625 Ω	0,0376 A cm ⁻²
Uzaklaştırma sonrası	1,36 µF	148 Ω	0,1589 A cm ⁻²
Yeniden bağlanma sonrası	1,00 µF	238 Ω	0,0988 A cm ⁻²

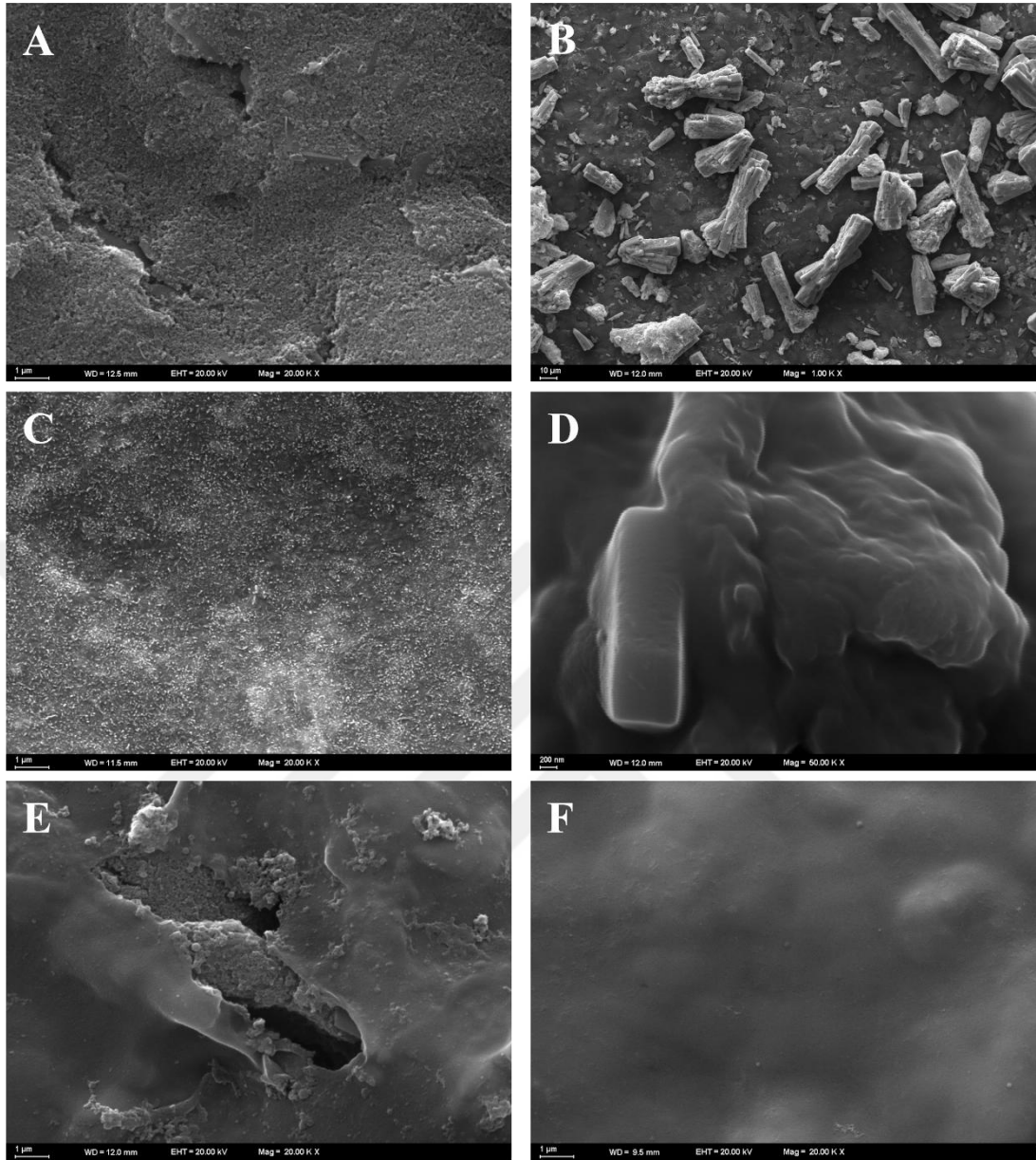
İlaveten, Poli(Arg)/BEK@MIP/MoO₃-PtNK@Kit/CKE sensörünün geliştirilme aşamalarının her biri için DV yöntemi kullanılarak elektroaktif yüzey alanı hesaplamaları yapılmıştır. Bu amaçla, DV ölçümleri 5 mM [Fe(CN)₆]^{3-/4-} içerisinde farklı tarama hızlarında gerçekleştirilmiş ve tüm hesaplamalar Randles-Sevcik eşitliğine göre yapılmıştır (Ganesh vd., 2024; Ganesh ve Kim, 2022).

$$I_p = 2.686 \times 10^5 \times n^{3/2} \times A \times c \times D^{1/2} \times v^{1/2}$$

Randles-Sevcik eşitliğinde, pik akımı değeri I_p, elektroaktif yüzey alanı A (cm²), difüzyon katsayısı D (cm²/s), redoks çözeltisinin konsantrasyonu c (mol/cm³), tarama hızı v (V/s), transfer edilen elektron sayısı n ile gösterilmiştir. Oda koşullarında gerçekleştirilen DV ölçümlerinde [Fe(CN)₆]^{3-/4-} redoks çözeltisi için transfer edilen elektron sayısı 1, difüzyon katsayısı 7,6 x 10⁻⁶ cm²/s ve redoks çözeltisinin derişimi 5 mM'a eşittir. Buna göre, yalın CKE'nin elektroaktif yüzey alanı 0,103 cm² olarak bulunmuş, sensör yüzeyi modifiye edildiğinde MoO₃-PtNK@Kit/CKE'nin yüzey alanı 0,200 cm²'ye yükselmiştir. Gözlemlenen bu 1,94 katlık artış, MoO₃-PtNK@Kit nanokompozitinin sensör performansını aktif yüzey alanını genişleterek arttırdığını göstermektedir. Elektropolimerizasyonun bir sonucu olarak, yüzey alanı L-arjininin kısıtlayıcı etkisi ile birlikte 0.026 cm²'ye düşmüştür. Polimer filminden BEK'in uzaklaştırılması sonucunda oluşan hedef moleküle özgü boşluklar sonucunda yüzey alanı 0.044 cm²'ye artmış, molekülün bu boşluklara yeniden bağlanmasını takiben ise yeniden yüzey alanı küçülmüş ve 0.037 cm² değerine düşmüştür.

3.1.2. Nano-MIP Sensörünün Yüzey Karakterizasyonu

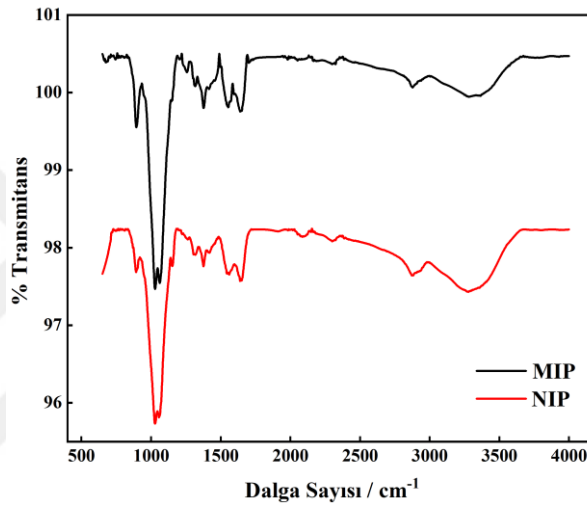
Geliştirilen Poli(Arg)/BEK@MIP/MoO₃-PtNK@Kit/CKE sensörünün yüzey karakterizasyonu SEM ve FTIR teknikleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan elektrotların morfolojik özellikleri SEM ile incelenmiştir. Şekil 3.2 A yalın CKE elektrodunu göstermektedir. CKE yüzeyi MoO₃ ile modifiye edildiğinde, Şekil 3.2 B’de görüldüğü gibi yüzey köşeli ve geniş parçacık boyutu dağılıma sahip kristal yapılar ile kaplanmaktadır. Şekil 3.2 C, CKE yüzeyinin PtNK ile modifikasyonuna aittir. Yüzeyde gözlemlenen homojen bir şekilde dağılmış düzgün şekilli küreler yüzey modifikasyonunun başarılı bir şekilde gerçekleştirildiğini göstermektedir. CKE yüzeyi MoO₃-PtNK@Kit ile modifiye edildiğinde, MoO₃ ve PtNK’lerin kitosan film içerisine gömüldüğü, modifiye elektrotta daha girintili çıkıntılı bir yüzey oluşturarak yüzey alanının genişlediği görülmektedir (Şekil 3.2 D). Şekil 3.2 E’de görülen pürüzlü ve BEK’in yüzeyden uzaklaşması sonucunda meydana gelen boşluklu yapı Poli(Arg)/BEK@MIP/MoO₃-PtNK@Kit/CKE sensörünün başarılı oluşumunu göstermektedir. NIP sensöründe ise MIP sensörüne kıyasla pürüzsüz bir yüzey gözlemlenmekte ve polimer filmde BEK baskılanmamasından kaynaklı daha gözeneksiz bir yapı oluşturmaktadır (Şekil 3.2 F).



Şekil 3.2. A) Yalın CKE, B) MoO₃/CKE, C) PtNK/CKE, D) MoO₃-PtNK@Kit/CKE, E) MIP/MoO₃-PtNK@Kit/CKE ve F) NIP/MoO₃-PtNK@Kit/CKE sensörlerinin SEM görüntüleri

Sensör yüzeyinde polimer filmin başarılı bir şekilde oluştuğu Poli(Arg)'nin fonksiyonel gruplarının ATR-FTIR spektrumlarının incelenmesi ile kanıtlanmıştır (Şekil 3.3). 1257, 1052 ve 1028 cm⁻¹'de C-N ve C-O gerilmelerine ait bantlar gözlemlenmektedir. Bu bantlar özellikle poliarjinin amin ve amid fonksiyonel gruplarına bağlı gerilmelere aittir. Spektrumun 3305 ve 3279 cm⁻¹ bölgesi – NH/OH gerilme titreşimlerine aittir. Bu bölgede gözlenen yayvan bantlar, primer ve sekonder amin grupları ile hidroksil gruplarına karşılık gelir. Poliarjinin guanidin ve amin grupları bu sinyallerin başlıca kaynağıdır. MIP ve NIP sensörlerinin spektrumları kıyaslandığında, MIP sensörünün spektrumunda 3000 cm⁻¹'in hemen altında kalan bölge alifatik C–H gerilmelerine ait titreşimleri göstermektedir, bu

sinyaller MIP spektrumunda 2930 ve 2877 cm^{-1} dalga sayılarında gözlenmektedir. Bu bantlar hem poliarjinin hem de BEK'in metil ve metilen gruplarına aittir. 1652 cm^{-1} bandı, karbonil (C=O) grubunun gerilme titreşimlerini gösteren Amid I bandıdır. 1561 cm^{-1} bandı ise N-H bükülmesi ve C-N gerilmesi ile ilişkili olan Amid II bandıdır. Bu iki bant, poliarjinin yapısındaki peptit grubundan kaynaklanır ve proteine özgü yapıların MIP'e entegre edildiğini doğrular niteliktedir. Ayrıca spektrumun 893 cm^{-1} bölgesinde BEK'in aromatik halkalarına ait karakteristik deformasyon piki şeklinde yorumlanabilir. Elde edilen sonuçlar MIP ve NIP sensörlerinin başarılı bir şekilde oluşturulduğunu göstermektedir (Barth, 2007; Coates, 2000; Silverstein ve Webster, 2005; Stuart, 2004; Surewicz ve Mantsch, 1998).



Şekil 3.3. MIP ve NIP sensörlerinin ATR-FTIR spektrumu

3.2. Optimizasyon Parametreleri

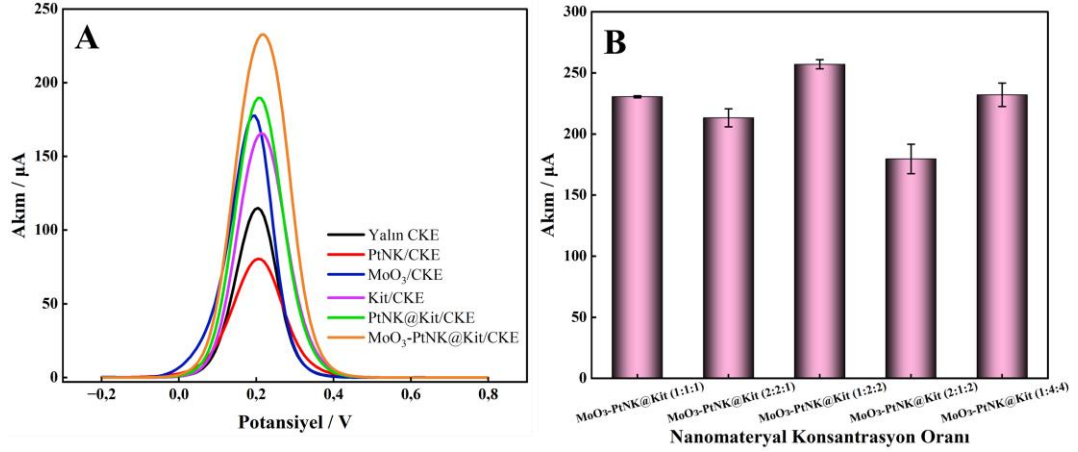
3.2.1. Nanomalzeme ile Sensörün Modifikasyonuna Yönelik Koşulların Optimizasyonu

3.2.1.1. Platform Seçimi ve Optimizasyonu

Elektrokimyasal sensörün çeşitli nanopartiküller ile veya diğer modifiye edici materyaller ile modifikasyonu, yüzey özelliklerinin değişmesine ve sonuç olarak ise sensör hassasiyetinin ve seçiciliğinin artmasına, hızlı yanıt elde edilmesine, daha uzun raf ömrüne ulaşılmasına neden olmaktadır. Kullanılan modifiye edici maddeler ve nanopartiküller, sensör yüzeyini ve morfolojisini, gözenekliliği ve pürüzlülüğü değiştirerek elektroaktif yüzey alanını değiştirmekte, sensör yüzeyi ve analit arasındaki elektron transferini ve sensörün iletkenliğini etkilemektedir. Bununla ilgili olarak yalnız CKE yüzeyi, platin

nanopartikül, molibden trioksit ve kitosan çözeltisi ile modifiye edilmiştir. Her bir nanopartikül ve modifikasyon ajanının etkisi önce ayrı ayrı damlatılarak incelenmiş, daha sonra platin/kitosan karışımının ve en son molibden trioksit/platin/kitosan karışımının etkisi incelenmiştir. Farklı platformlar ile geliştirilen sensörlere ait diferansiyel puls voltamogramları Şekil 3.4 A'da verilmiştir. Buna göre, yalnız CKE'nin diferansiyel puls yanıtına kıyasla Pt/CKE'nin yanıtının daha düşük olduğu, MoO₃/CKE ve Kit/CKE'de ise artış meydana geldiği gözlemlenmiştir. Platin nanopartikül sensör yanıtında bir düşüşe neden olsa da, kitosan ile karışım halinde uygulandığında sensör yanıtında daha fazla artışa yol açmış, modifiye edici ajanlar üçlü karışım halinde sensör yüzeyine damlatılarak MoO₃-Pt@Kit/CKE sensörü geliştirildiğinde ise artışın en fazla olduğu görülmüştür. Bu artış, modifikasyon ajanlarının bir arada kullanılması sonucunda meydana gelen sinerjik etkiden kaynaklanmıştır ve bu ajanların tek başına kullanılmasının sensör performansı üzerinde oluşturduğu etkiden daha fazla bir artışa yol açmıştır. Bu nedenle sensör platformu molibden trioksit, platin nanopartikül ve kitosanın karışım halinde bulunduğu MoO₃-Pt@Kit platformu olarak belirlenmiştir.

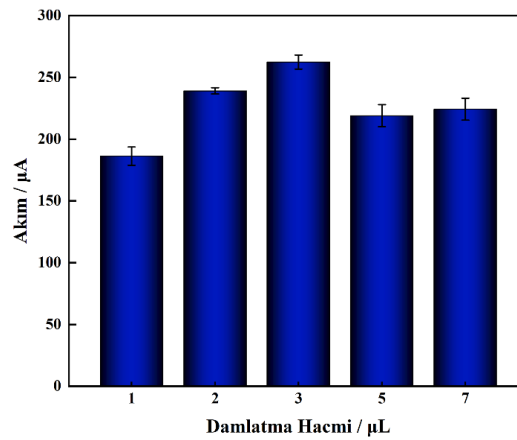
Platform seçiminde yer alan nanopartiküller ve modifiye edici maddeler kadar, platformda yer alan bu maddelerin derişimleri de elektrodun yüzey özellikleri ve sensör performansı üzerinde etkilidir. Düşük derişimlerde çalışılan modifiye edici ajanlar, yeterli miktarda yüzey alanını arttırmayabilir, hassasiyet ve seçiciliğin geliştirilmesinde yeterince etki göstermeyebilirken, gereğinden yüksek derişimler ise sensör yüzeyinde, maddenin agregasyonuna veya elektron transferini engelleyen ya da difüzyonu yavaşlatan bir kalınlığa ulaşılmasına neden olabilmektedir. Şekil 3.4 B molibden trioksit, platin nanopartikül ve kitosanın farklı hacim oranlarında karıştırılması sonucunda DPV yöntemi kullanılarak elde edilen akım değerleri verilmiştir. Bu amaçla MoO₃-PtNK@Kit kompoziti için, kompozitte modifiye edici ajanların bulunduğu sırayla 1:1:1, 2:2:1, 1:2:2, 2:1:2 ve 1:4:4 oranları denenerek sensör platformları hazırlanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre 1:2:2 oranında karıştırılarak hazırlanan nanomateryal kompoziti, diğer derişim oranlarına kıyasla sensör performansı üzerinde yüksek bir etki yaratarak en yüksek akım değerleri ile tekrar edilebilir sonuçlar vermiştir. Bu sebeple, optimum derişim oranı 1:2:2 olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.4. A) Farklı modifiye edici ajanlar ile modifiye edilen CKE'nin 0,1 M KCl içeren 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ redoks çözeltisi ortamında elde edilen DP voltamogramları ve B) MoO_3 -PtNK@Kit nanokompozitinin iyileştirilmesi

3.2.1.2. Damlatma Hacmi

Nanomateriyal modifiye sensörlerde, sensör performansını etkileyen en önemli parametrelerden biri damlatma hacmidir. Nanomateriyal hacmi, sensör yüzeyinde homojen bir film oluşturarak tekrar edilebilir sonuçlara ulaşılması üzerinde büyük etki göstermektedir. Aynı zamanda nanomateriyalin kuruma süresini belirleyerek sensörün hazırlık sürecinin uzunluğunu etkilemektedir. Gereğinden fazla hacimlerde damlatılan nanomateriyaller kalın bir film oluşturarak elektron transferini sınırlandırarak sinyal şiddetinde bir düşüş meydana getirebilir. Bu doğrultuda, MoO_3 -PtNK@Kit nanokompoziti 1, 2, 3, 5 ve 7 μL damlatılmış ve sinyal şiddeti üzerindeki etkisi incelenmiştir. Şekil 3.5'te elde edilen sonuçlar verilmiştir. 3 μL nanokompozit sensör performansı üzerinde en etkili koşulu oluşturmuş ve optimum damlatma hacmi olarak seçilmiştir.

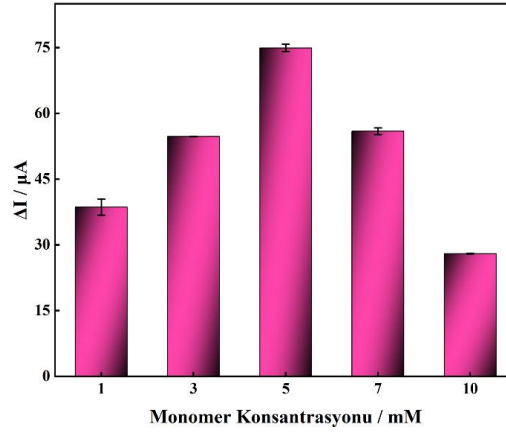


Şekil 3.5. Farklı damlatma hacimlerinde MoO_3 -PtNK@Kit ile modifiye CKE'nin 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ çözeltisi içinde DPV yöntemi ile elde edilen akım değerleri

3.2.2. MIP Temelli Sensörün Geliştirilmesine Yönelik Koşulların Optimizasyonu

3.2.2.1. Monomer Konsantrasyonunun İyileştirilmesi

MIP temelli sensör platformlarının geliştirilmesinde performansın ve seçiciliğin artırılması, tekrar edilebilir ve kararlı sensör oluşumu için MIP oluşumunu etkileyen koşulların iyileştirilmesi önem taşımaktadır. MIP filmi monomer ve şablon molekül arasında meydana gelen etkileşim ve bağlar aracılığı ile oluşmaktadır. Monomer ve şablon molekül arasındaki oran seçici ve kararlı bir polimer film oluşumu için kritiktir. Şablon molekül BEK'in derişimi 1 mM olarak tutulurken, monomer L-arjininin derişimi 1 ile 10 mM aralığında değiştirilmiştir. Farklı monomer derişimlerinde, uzaklaştırma sonrası ve BEK'in yeniden bağlanması sonrası 5 mM Fe redoks çözeltisi içerisinde DPV tekniği kullanılarak elde edilen akım değerlerindeki değişim (ΔI) Şekil 3.6'da verilmiştir. Düşük monomer derişimlerinde, fonksiyonel gruplar şablon molekül ile etkileşerek polimer film oluşturmak ve şablona özgü boşlukların oluşumu için yetersizdir. Gereğinden yüksek derişimlerde ise, monomerin polimer filmde düzensiz dağılımı nedeni ile özgül boşlukların oluşumuna engel oluşturarak sensör performansını olumsuz yönde etkilemektedir. Sonuç olarak, etkili bir polimer film ve şablon moleküle özgü boşlukların oluşumu için ideal monomer derişimi 5 mM seçilmiştir.

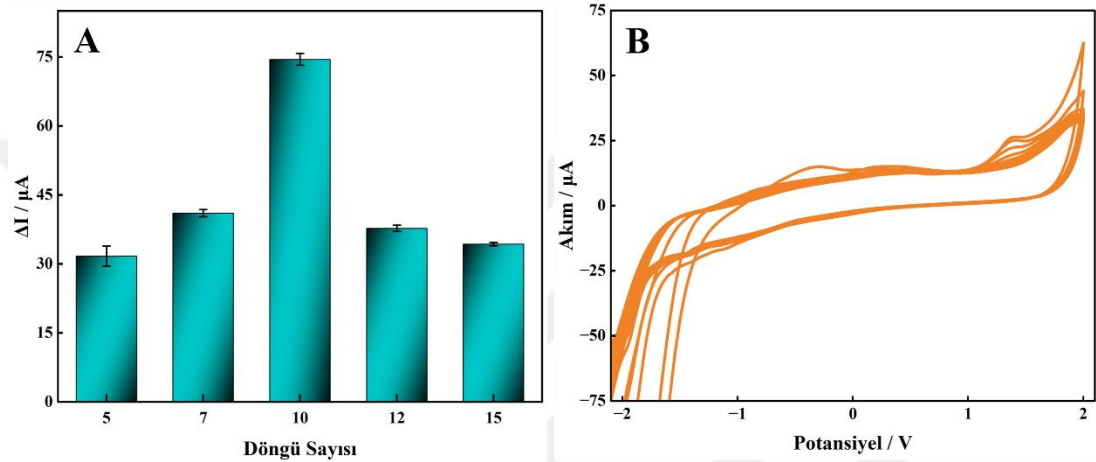


Şekil 3.6. 1 mM BEK varlığında farklı monomer derişimlerine karşılık 5 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ redoks çözeltisinde DPV yöntemi ile elde edilen uzaklaştırma sonrası ve yeniden bağlanma sonrası akım derişimlerinin (ΔI) grafiği

3.2.2.2. Döngü Sayısının İyileştirilmesi

DV yönteminin kullanıldığı elektropolimerizasyon süreçlerinde döngü sayısı, polimer filmin şablon molekül çevresinde oluşturduğu kalınlığı ve dolayısı ile şablon

molekülün polimer filmde yer aldığı derinliği doğrudan etkilemektedir. Ayrıca bu kalınlık, şablon moleküle özgü boşlukların etkili bir şekilde oluşumunu da değiştirmektedir. Stabil ve etkili bir polimer yüzey elde edilmesi için 5, 7, 10, 12 ve 15 döngü sayılarının etkileri incelenmiştir (Şekil 3.7 A). 10 döngüye kadar, uzaklaştırma ve yeniden bağlanma sonrası akım değerlerinde gözlemlenen fark (ΔI) artış göstermiş, ancak MIP filmi kalınlığının 10 döngüden sonra sensör performansını olumsuz etkilemesi sebebiyle bu ΔI değerinde bir düşüş bir meydana gelmiştir. Bu nedenle, optimum döngü sayısı 10 olarak belirlenmiştir (Şekil 3.7 B).

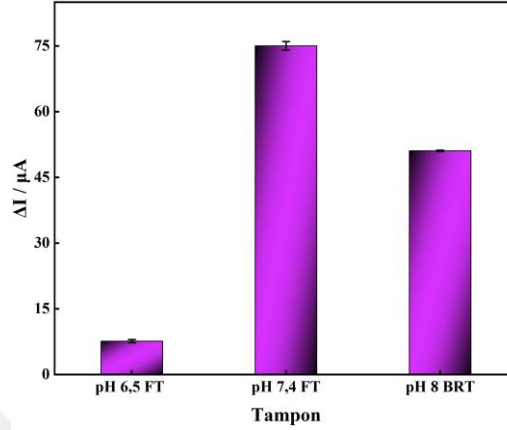


Şekil 3.7. A) Farklı döngü sayılarına karşılık 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ redoks çözeltisinde DPV yöntemi ile elde edilen uzaklaştırma sonrası ve yeniden bağlanma sonrası akım değişimlerinin (ΔI) grafiği ve B) $\text{MoO}_3\text{-PtNK@Kit/CKE}$ sensörü yüzeyinin 5 mM L-arjinin ve 1 mM BEK içeren pH 7,4 fosfat tamponu ortamında 10 döngü sayısı ile -2,0 ve +2,2 V potansiyel aralığında dönüşümlü voltamogramları

3.2.2.3. Elektropolimerizasyonda Tampon Çözelti Seçimi

Elektropolimerizasyon ile MIP sensörü geliştirilmesinde, şablon molekül ve monomerden oluşan polimerizasyon çözeltisi tampon çözelti ortamında hazırlanmaktadır. Bir monomerin elektropolimerizasyonunda tampon çözelti birçok kritik faktörü önemli ölçüde etkilemektedir. Bu faktörler arasında şablon molekül ve monomer arasındaki etkileşim, polimer filmin morfolojisi ve hatta DV yöntemi ile elde edilen polimerizasyon voltamogramlarının şekli ve pozisyonu gibi önemli noktalar yer almaktadır (Zhou & Heinze, 1999). Ayrıca tampon çözelti, şablon molekülün çözünürlüğünü üzerinde de etki oluşturabildiğinden homojen ve tekrar edilebilir bir film elde edilmesinde büyük bir etki oluşturmaktadır. Bu kapsamda pH 6,5 ve pH 7,4 FT ve pH 8 BRT olmak üzere üç farklı tamponun sensör performansı üzerindeki etkisi Şekil 3.8'de verilmiştir. Asidik pH'larda hazırlanan tampon çözeltiler ve ABS tamponu, H_2SO_4 gibi farklı tampon çözeltisi ortamları

üzerinde de çalışmalar gerçekleştirilmiş, ancak BEK'in asidik pH'larda çökmesinden ötürü homojen bir sensör yüzeyi elde edilememiş ve tekrar edilebilir sonuçlar alınamamıştır. Uzaklaştırma sonrası ve yeniden bağlanma sonrası pik akımları arasındaki fark değerlendirildiğinde, en büyük farkın pH 7,4 FT destek elektrolitinde gözlemlenmiştir ve deneysel çalışmalara pH 7,4 FT destek elektroliti ile devam edilmiştir.



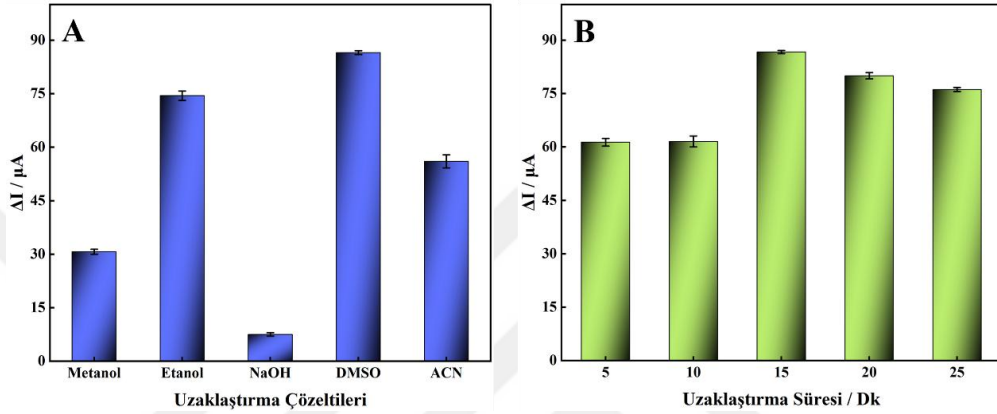
Şekil 3.8. Farklı tampon çözeltileri içerisinde polimerize edilen sensörlerin, 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ çözeltisi içerisinde DPV yöntemi ile elde edilen uzaklaştırma sonrası ve yeniden bağlanma sonrası pik akımı değerlerindeki değişim (ΔI) grafiği

3.2.2.4. Uzaklaştırma Çözeltisi ve Süresinin İyileştirilmesi

MIP temelli elektrokimyasal sensörler, hedef moleküllerin fonksiyonel grupları, şekli ve büyüklüğü ile uyumlu tanıma bölgeleri oluşturarak hedef molekülü özgül ve seçici bir yol ile tayin etmek üzere tasarlanan sensörlerdir. Uzaklaştırma sürecinde, polimer film yüzeyindeki non-kovalent intermoleküler bağlar kırılarak hedef molekülün yeniden bağlanması için uygun, özgül boşluklar meydana gelmektedir. Uzaklaştırma çözeltisinin seçimi, şablon molekülü polimer filmde moleküle özgü boşlukları filme zarar vermeden uzaklaştırmak için iyileştirilmelidir (Bozal-Palabiyik vd., 2020). Bu amaçla geliştirilen Poli(Arg)/BEK@MIP/MoO₃-PtNK@Kit/CKE sensörü 15 dakika boyunca oda sıcaklığı koşullarında farklı uzaklaştırma çözeltileri içerisinde bekletilmiş ve elde edilen uzaklaştırma ve yeniden bağlanma sonrası pik akımları arasındaki fark değerleri Şekil 3.9 A'da verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre en yüksek ΔI değeri ve tekrar edilebilirlikle deneysel çalışmaların DMSO ile devamı ideal olarak seçilmiştir.

Nano-MIP sensörünün performansını ve stabilitesini etkileyen diğer bir parametre uzaklaştırma süresidir. Uzun uzaklaştırma süreleri agresif bir uzaklaştırma adımı oluşturarak polimer filme ve hedef moleküle özgü tanıma bölgelerine zarar vererek, molekülün filme

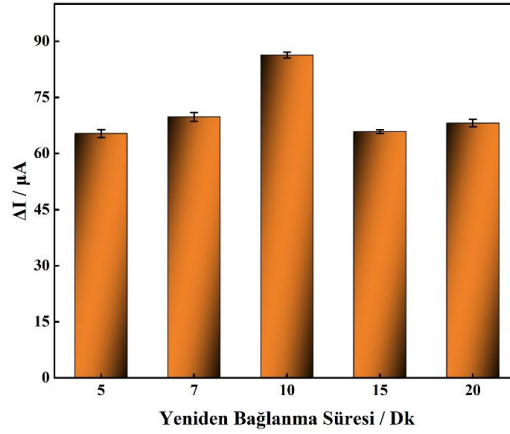
yeniden bağlanmasını ve sensör performansını olumsuz etkilerken, gereğinden kısa uzaklaştırma süreleri ise etkili bir biçimde molekülün uzaklaştırılmasını engellemektedir. Geliştirilen sensör için 5, 10, 15, 20 ve 25 dakika uzaklaştırma süreleri denenmiş ve ΔI değerleri üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir (Şekil 3.9 B). Sensör performansında 15 dakikadan sonra bir düşüş gözlemlenmiştir. Bu düşüş sensör yüzeyinin ve BEK'e özgü boşlukların zarar görmesinden kaynaklanabileceğinden en uygun uzaklaştırma süresi 15 dakika olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.9. A) Farklı uzaklaştırma çözeltilerine ve B) Farklı uzaklaştırma sürelerine karşı 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ redoks çözeltisinde gerçekleştirilen DPV ölçümleri sonucunda uzaklaştırma öncesi ve yeniden bağlanma sonrasında elde edilen akım değerleri farkının (ΔI) grafiği

3.2.2.5. Yeniden Bağlanma Süresinin İyileştirilmesi

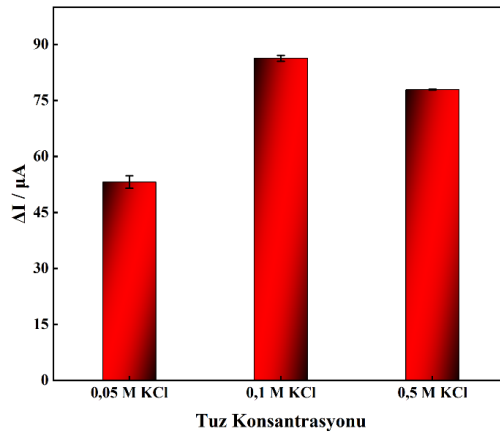
Hedef molekülün MIP yüzeyine yeniden bağlanma süresi, sensör verimliliği ve validasyonunun kritik bir bileşenidir. Sensör hassasiyeti ve yanıt süresi arasında bir denge kurulması için yeniden bağlanma süresinin iyileştirilmesi zorunlu bir adımdır. Uzaklaştırma süresi iyileştirmesinde olduğu gibi, kısa yeniden bağlanma süreleri tanıma bölgeleri ve hedef molekül arasında etkileşim oluşması için yeterli süreyi tanıyamayabilir. Bununla birlikte, fazla uzun süreler yanıt süresini geciktirerek sensörün gerçek numune uygulamalarını kısıtlayabilmektedir. Bu bağlamda 5, 7, 10, 15 ve 20 dakika yeniden bağlanma süreleri denenerek bu adım iyileştirilmiştir. Şekil 3.10'a göre, 10 dakika yeniden bağlanma periyodu daha iyi tekrar edilebilirlikle yüksek ΔI değerleri göstermiştir. Sonuç olarak, ideal bağlanma koşulu olarak 10 dakika süre ile çalışmalar sürdürülmüştür.



Şekil 3.10. Farklı yeniden bağlanma sürelerine karşı 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ redoks çözeltisinde gerçekleştirilen DPV ölçümleri sonucunda uzaklaştırma öncesi ve yeniden bağlanma sonrasında elde edilen akım değerleri farkının (ΔI) grafiği

3.2.2.6. Tuz Etkisi

Nano-MIP sensörünün performansı 5 mM Fe redoks çözeltisi ortamında DPV yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Ölçümlerin gerçekleştirildiği redoks çözeltisi ortamına elektriksel iletkenliği arttırmak amacıyla KCl tuzu konulmuştur. Bu tuzun derişimi elde edilen pik akımını etkilemektedir. Bu nedenle 0,05 M, 0,1 M ve 0,5 M olmak üzere üç farklı tuz derişimi denenmiştir. Farklı tuz derişimlerinde ulaşılan uzaklaştırma sonrası ve yeniden bağlanma sonrası pik akımları arasındaki farklar şekil 3.11’de grafiğe geçirilmiştir. Akım değerleri arasındaki en büyük fark 0,1 M KCl içeren 5 mM Fe redoks probunda alınan ölçümlerde gözlemlenmiştir. Elektriksel iletkenliği artırarak pik akımı üzerinde en fazla etkiyi oluşturan tuz derişiminin 0,1 M tuz olduğu belirlenmiştir.

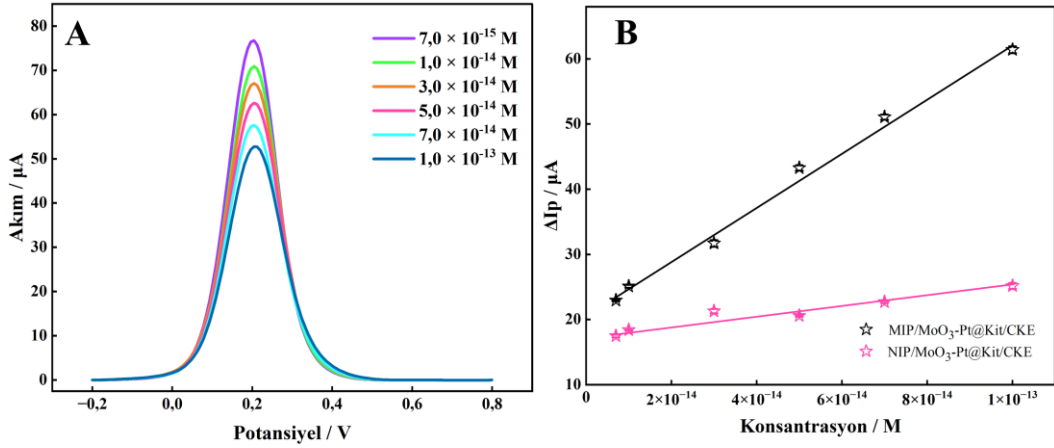


Şekil 3.11. 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ redoks çözeltisinin içerisine konulan farklı derişimlerde KCl tuzu derişimine karşı gerçekleştirilen DPV ölçümleri sonucunda uzaklaştırma öncesi ve yeniden bağlanma sonrasında elde edilen akım değerleri farkının (ΔI) grafiği

3.3. Poli(Arg)/BEK/MoO₃-PtNK@Kit/CKE Sensörünün Elektroanalitik Performansı

Geliştirilen Nano-MIP sensörünün elektroanalitik performansının değerlendirilmesi için pH 7,4 FT ile seyreltilerek hazırlanan farklı derişimlerde BEK'in sensör yüzeyine yeniden bağlanması ardından, 0.1 M KCl içeren 5 mM [Fe(CN)₆]^{3-/4-} redoks çözeltisi ortamında DPV tekniği ile elde edilen pik akımı değerleri kullanılmıştır. Kalibrasyon eğrisi, standart BEK çözeltilerinin 7,0 x 10⁻¹⁵ M ve 1,0 x 10⁻¹³ M konsantrasyon aralığında tayininde doğrusallık sergilemiştir. Şekil 3.12 A'da artan BEK derişimi sonucunda redoks çözeltisinin 0,2 V'ta gözlemlenen anodik pik akımında bir azalma olduğu görülmektedir. Şekil 3.12 B'de ise 7,0 x 10⁻¹⁵ M ve 1,0 x 10⁻¹³ M doğrusal konsantrasyon aralığında BEK çözeltisinin farklı derişimlerde BEK çözeltisinin uzaklaştırma ve yeniden bağlanma sonrası pik akımlarındaki derişim (ΔI) grafiğe geçirilmiştir. Poli(Arg)/BEK/MoO₃-PtNK@Kit/CKE sensörünün göstermiş olduğu doğrusal yanıt ΔI_p (μA) = 4,21 x 10¹⁴ C_{BEK} (M) + 20,5 (R² = 0.993) regresyon denklemi ile karakterize edilmiştir. Çizelge 3.2'de bu doğrusal ilişkiden elde edilen korelasyon parametrelerini gösterilmiştir. BEK'in tayin edildiği doğrusal konsantrasyon aralığı için TS ve TAS değerleri sırası ile 1,06 x 10⁻¹⁵ M ve 3,53 x 10⁻¹⁵ M olarak hesaplanmıştır. Bu hesaplama doğrusal aralıktaki en düşük derişimde BEK tayini için bulunan standart sapma (s) ve kalibrasyon eğrisinin eğimi (m) göz önünde bulundurularak, TS = 3s/m ve TAS = 10s/m formülleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Ashrafi vd., 2024).

Geliştirilen Nano-MIP sensörünün BEK tayinindeki seçiciliğini ve performansını değerlendirmek amacıyla, aynı iyileştirilmiş koşullarda hazırlanan NIP sensörü, aynı derişim aralığında BEK çözeltilerine uygulanmıştır. Buna göre farklı derişimler için elde edilen ΔI değerleri Şekil 3.12 B'de pembe renk ile gösterilmiştir. MIP sensörünün sergilemiş olduğu doğrusal davranış, NIP sensöründe gözlemlenmemiştir. Artan BEK derişimine karşı ΔI değerinde gözlemlenen artış MIP sensöründe NIP sensörüne kıyasla oldukça büyüktür. Elde edilen bu bulgular, NIP sensörü yüzeyinde BEK'e özgü tanıma bölgelerinin eksikliğinden kaynaklanmaktadır ve Poli(Arg)/BEK/MoO₃-PtNK@Kit/CKE sensörünün oldukça iyi bir seçicilikle BEK tayini için yüksek bir performans sergilediğini göstermektedir.



Şekil 3.12. Poli(Arg)/BEK/MoO₃-PtNK@Kit/CKE'nin $7,0 \times 10^{-15} \text{ M} - 1,0 \times 10^{-13} \text{ M}$ konsantrasyon aralığında standart BEK çözeltileri ile yeniden bağlanmasının ardından $0,1 \text{ M}$ KCl içeren 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ redoks çözeltisinde alınan A) DP voltamogramları ve B) Kalibrasyon grafiği

Çizelge 3.2. Standart BEK çözeltisinde elde edilen kalibrasyon doğrusuna ait korelasyon parametreleri

	Standart Çözelti
Doğrusal Çalışma Aralığı	$7,0 \times 10^{-15} \text{ M} - 1,0 \times 10^{-13} \text{ M}$
Eğim ($\mu\text{A M}^{-1}$)	$4,21 \times 10^{14}$
Eğimin Standart Hatası	$1,75 \times 10^{13}$
Kesişim (μA)	20,5
Kesişimin Standart Hatası	0,97
Regresyon Katsayısı	0,993
Teşhis Sınırı (M)	$1,06 \times 10^{-15}$
Tayin Alt Sınırı (M)	$3,53 \times 10^{-15}$
Tekrarlanabilirlik (%BSS)*	1,35
Tekrar Elde Edilebilirlik (%BSS)*	1,80

*Elde edilen %BSS değerleri 5 ölçüm sonucunu göstermektedir.

3.4. Beksar® Dozaj Formu ve Ticari İnsan Serumu Uygulamaları

Poli(Arg)/BEK/MoO₃-PtNK@Kit/CKE sensörünün analitik performansı ve doğruluğu, uygulama olarak jel dozaj formu Beksar® ve ticari insan serumu örneklerinde BEK tayini ile yorumlanmıştır. Jel dozaj formunda yer alan yardımcı maddeler ve etken madde arasında gerçekleşebilecek olası bir etkileşimin incelenmesi amacı ile geri kazanım çalışması yürütülmüştür. Bu amaçla, önceden hazırlanan jel dozaj formu çözeltilerinin üzerine bilinen derişimde standart BEK çözeltisi eklenmiştir. Bulunan geri kazanım değerleri Çizelge 3.3'te verilmiştir. Jel dozaj formu için %98,62 ile %101,07 sonuçları gösteren geri kazanım değerleri, BEK'in geliştirilen Nano-MIP sensörü ile yüksek doğrulukta tayin edilebildiğini ve jel formülasyonundaki yardımcı maddelerin etken madde ile girişime neden olmadığını göstermiştir.

Çizelge 3.3. Beksar® jel dozaj formu ve ticari insan serumu örnekleri için hesaplanan geri kazanım değerleri

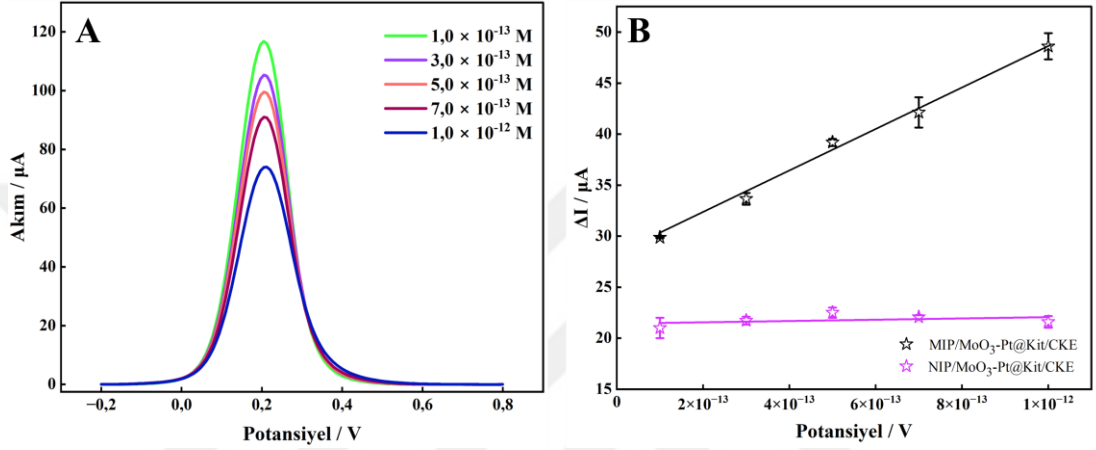
	Beksar®	Ticari İnsan Serumu
Etiket Miktarı (mg)	600	-
Bulunan Miktar (mg)	594,41	-
%BSS*	1,09	-
%BH	-0,93	-
Eklenen Miktar (mg)	10	$5,0 \times 10^{-13}$ M
Bulunan Miktar (mg)	9,86	$5,05 \times 10^{-13}$ M
Ortalama Geri Kazanım (%)	98,62	101,07
Geri Kazanımın %BSS*	1,75	2,09
%Bağlı Hata	1,37	-1,07
Eklenen Miktar (mg)	20	$7,0 \times 10^{-13}$ M
Bulunan Miktar (mg)	19,97	$7,05 \times 10^{-13}$ M
Ortalama Geri Kazanım (%)	99,89	100,74
Geri Kazanımın %BSS*	1,91	0,78
%Bağlı Hata	0,10	-0,74

*Elde edilen %BSS değerleri 3 ölçüm sonucunu göstermektedir.

Oluşturulan Nano-MIP sensörünün performansı BEK'in standart eklemesi ile hazırlanan ticari serum örneklerine uygulanarak da değerlendirilmiştir. Optimum koşullarda hazırlanan Poli(Arg)/BEK/MoO₃-PtNK@Kit/CKE $1,0 \times 10^{-13}$ M ile $1,0 \times 10^{-12}$ M derişim aralığında BEK içeren ticari insan serumu örneklerinde inkübe edilmiştir. Şekil 3.13 A'da yeniden bağlanma sonrasında redoks çözeltisi içerisinde elde edilen DP voltamogramları gösterilmiştir. Artan derişim ile birlikte redoks çözeltisinin 0,2 V'da yer alan anodik pik akımında azalma olduğu görülmektedir. Sensörün elektroanalitik performansının değerlendirilmesinde farklı derişimlerde BEK için, uzaklaştırma sonrası ve yeniden bağlanma sonrası redoks çözeltisinin anodik pik akımları arasındaki fark (ΔI) göz önünde bulundurulmuştur. Farklı BEK derişimlerine karşı hesaplanan ΔI değerleri Şekil 3.13 B'de grafiğe geçirilmiştir. Konsantrasyon ve ΔI arasındaki doğrusal ilişki $1,0 \times 10^{-13}$ M ile $1,0 \times 10^{-12}$ M derişim aralığında gözlemlenmiş olup, $R^2 = 0,995$ korelasyon katsayısına sahip ΔI_p (μA) = $2,09 \times 10^{13} C_{BEK}$ (M) + 27,83 kalibrasyon denklemi ile ifade edilmiştir. Bu doğrusal ilişki gözetilerek belirlenen konsantrasyon aralığında TS değeri $1,14 \times 10^{-14}$ M, TAS değeri ise $3,82 \times 10^{-14}$ M olarak bulunmuştur. Ticari serum örnekleri için bulunan diğer korelasyon parametreleri Çizelge 3.4'te derlenmiştir. Nano-MIP sensörün bilinen derişimde standart BEK çözeltisinin önceden hazırlanmış ticari insan serumu örneğinin üzerine eklenmesi ile tamamlanan geri kazanım çalışmaları da sensörün doğruluğunu teyit eden sonuçlar göstermiştir (Çizelge 3.3.). Sensör, insan serumu örneklerinde %100,74 ile %101,07 oranında maddeyi geri kazanılmasını sağlamıştır.

Sensörün performansı ve seçiciliğinin değerlendirilmesi için NIP sensörü de MIP sensörünün hazırlandığı optimum koşullarda hazırlanmıştır. Ticari insan serumu örneklerinde

çalışılan doğrusal derişim aralığında serum örnekleri NIP sensörü yüzeyine yeniden tutturulmuş ve farklı derişimlere karşı hesaplanan ΔI değerleri Şekil 3.13 B’de mor renk ile gösterilmiştir. Buna göre MIP sensörü artan derişim miktarlarına karşılık doğrusal olarak artan ΔI cevapları verirken, NIP sensöründe örneklerin derişiminin değişmesi ΔI yanıtı üzerinde büyük bir etki oluşturmamıştır. Bu durum, Poli(Arg)/BEK/MoO₃-PtNK@Kit/CKE serum numunelerinde BEK tayinine karşı etkili bir yanıt verdiğini ve seçici bir tayin sağladığını göstermiştir.



Şekil 3.13. Poli(Arg)/BEK/MoO₃-PtNK@Kit/CKE’nin $1,0 \times 10^{-13} \text{ M} - 1,0 \times 10^{-12} \text{ M}$ konsantrasyon aralığında BEK içeren ticari insan serumu ile yeniden bağlanmasının ardından $0,1 \text{ M}$ KCl içeren 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ redoks çözeltisinde alınan A) DP voltamogramları ve B) Kalibrasyon grafiği

Çizelge 3.4. Ticari insan serumu çözeltisinde elde edilen kalibrasyon doğrusuna ait korelasyon parametreleri

Serum Çözeltisi	
Doğrusal Çalışma Aralığı	$1,0 \times 10^{-13} \text{ M} - 1,0 \times 10^{-12} \text{ M}$
Eğim ($\mu\text{A M}^{-1}$)	$2,09 \times 10^{13}$
Eğimin Standart Hatası	$8,84 \times 10^{11}$
Kesişim (μA)	27,83
Kesişimin Standart Hatası	0,53
Regresyon Katsayısı	0,995
Teşhis Sınırı (M)	$1,14 \times 10^{-14}$
Tayin Alt Sınırı (M)	$3,82 \times 10^{-14}$
Tekrarlanabilirlik (%BSS)*	1,04
Tekrar Elde Edilebilirlik (%BSS)*	1,48

*Elde edilen %BSS değerleri 5 ölçüm sonucunu göstermektedir.

3.5. Nano-MIP Sensörün Seçiciliğinin İncelenmesi

MIP temelli elektrokimyasal sensörlerde, sensör performansını etkileyen en önemli faktörlerden biri seçiciliktir. MIP sensörleri, çeşitli uygulama alanlarında doğru ve güvenilir sonuçlara ulaşmak amacıyla hedef molekölü tanıyıp bağlanmak üzere tasarlanmaktadır.

Farklı molekül yapılarının var olduğu matrislerde hedef molekülü diğerlerinden ayıracak, hedef molekülün şekli, boyutu ve fonksiyonel grupları ile uyumlu boşluklar oluşturmayı hedeflemektedirler (Liu vd., 2017; Peng ve Su, 2015). MIP temelli sensörlerin seçiciliği, benzer kimyasal yapıya sahip moleküller ile baskılama faktörü hesabı ile değerlendirilebilmektedir. Poli(Arg)/BEK/MoO₃-PtNK@Kit/CKE sensörünün seçiciliği, sensörün BEK ile benzer molekül yapısına sahip retinoik asite (RA) vermiş olduğu yanıt üzerinden değerlendirilmiştir. Çizelge 3.5'te BEK ve RA'nın kimyasal yapıları gösterilmiştir. Baskılama faktörü (k_{MIP} ve k_{NIP}), MIP ve NIP sensörleri ile BEK ve RA tayininde elde edilen ΔI değerlerinin birbirlerine oranlanması ile hesaplanmıştır (Kucuk vd., 2025). Daha sonra göreceli baskılama faktörü (k'), MIP ve NIP sensörleri için bulunan k değerlerinin kıyaslanması ile hesaplanmıştır. Çizelge 3.5'te, geliştirilen Nano-MIP sensörün seçiciliğini tayin etmek amacı ile üç farklı derişimde RA ile hesaplanan k' değerleri verilmiştir. Buna göre, elde edilen bulgular Poli(Arg)/BEK/MoO₃-PtNK@Kit/CKE sensörünün BEK'e karşı RA'nın farklı derişimlerine kıyasla 4,14, 6,45 ve 7,21 kat daha seçici olduğunu göstermektedir.

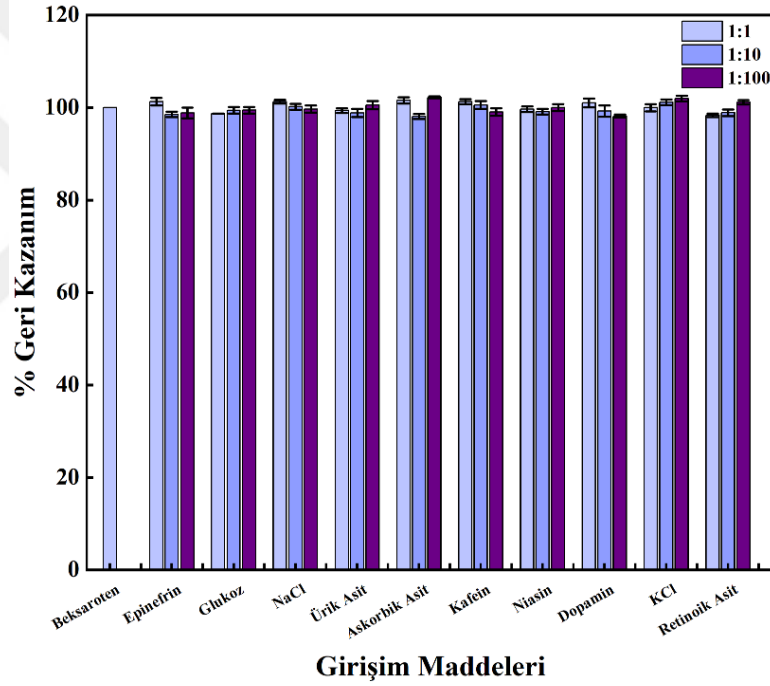
Çizelge 3.5. Poli(Arg)/BEK/MoO₃-PtNK@Kit/CKE sensörünün BEK tayini için seçiciliği

		MIP			NIP		
Molekül	Konsantrasyon (M)	ΔI (μA)	k_{MIP}	ΔI (μA)	k_{NIP}	k'	
Beksaroten	3.0×10^{-14}	31.01	-	21.28	-	-	
	3.0×10^{-14}	6.93	4.61	19.09	1.11	4.14	
Retinoik Asit	3.0×10^{-13}	5.49	5.83	23.58	0.90	6.45	
	3.0×10^{-12}	3.63	8.81	17.41	1.22	7.21	

3.6. Girişim

BEK tayini için geliştirilen Nano-MIP temelli sensör, ticari insan serumu gibi biyolojik ortam uygulamalarında başarılı sonuçlar ortaya koymuştur. Bu durum insan serumu gibi fizyolojik sıvılarda yer alan dopamin, epinefrin, NaCl ve KCl gibi tuzlar, ürik asit,

glukoz gibi maddelerin potansiyel olarak sensör performansını etkileme durumunu da beraberinde getirmektedir. Bu nedenle, sensör performansı üzerinde fizyolojik sıvılarda bulunması muhtemel maddelerin ve BEK ile benzer kimyasal yapı sergileyen RA'nın etkileri incelenmiştir. Poli(Arg)/BEK/MoO₃-PtNK@Kit/CKE sensörü, pH 7,4 FT ile seyreltilmiş 3,0 x 10⁻¹⁴ M BEK üzerine, 1:1, 1:10 ve 1:100 oranında girişim maddelerinin eklendiği çözeltilere uygulanmıştır. Buna göre sensörün farklı oranlarda girişim maddeleri içeren çözeltilere verdiği yanıt, standart BEK çözeltisine verdiği yanıtla Şekil 3.14'te verilmiştir. Geliştirilen sensör girişim maddeleri varlığında %0,02 ile %1,98 arasında değişen %BSS değerleri ile %98,13 - %101,87 aralığında muhteşem bir geri kazanım performansı göstermiştir. Elde edilen sonuçlar, sensör platformunun benzer molekül RA veya diğer girişim maddelerinden önemli ölçüde etkilenmediğini doğrulamaktadır.



Şekil 3.14. Poli(Arg)/BEK/MoO₃-PtNK@Kit/CKE sensörü ile tayin edilen 3,0 x 10⁻¹⁴ M BEK'in 1:1, 1:10, 1:100 oranında girişim maddeleri varlığında geri kazanım yüzdeleri

3.7. Poli(Arg)/BEK/MoO₃-PtNK@Kit/CKE Sensörünün Tekrar Üretilirliği

Geliştirilen bir yöntemin validasyonunda en önemli aşamalardan biri tekrar üretilebilirliğinin test edilmesidir. Nano-MIP sensörünün tekrar üretilebilirliği üç farklı açıdan değerlendirilmiştir. Bu amaçla ilk aşamada farklı CKE'lerin tekrar edilebilirlikteki etkisi incelenmiştir. Poli(Arg)/BEK/MoO₃-PtNK@Kit/CKE birbirinden bağımsız 5 farklı CKE kullanılarak aynı koşullarda hazırlanmıştır. Hazırlanan sensörler ile 0,1 M KCl içeren 5 mM [Fe(CN)₆]^{3-/4-} redoks çözeltisinde DPV ölçümleri alınmıştır. Farklı elektrotlar için %BSS

değeri 0,80 olarak hesaplanmıştır. Bir sonraki aşamada tekrar üretilebilirlik farklı cihazlar arasında değerlendirilmiştir. Buna göre ilk cihaz için %BSS 1,35 ve diğer cihaz için 1,85 bulunmuştur. Son olarak ise iki farklı analist aynı CKE'yi kullanarak, aynı koşullar arasında Nano-MIP sensörünü hazırlamış ve 1,35 ile 1,57 %BSS değerlerine ulaşmıştır. Tekrar üretilebilirlik için gerçekleştirilen analiz sonuçları ve hesaplanan %BSS değerleri Çizelge 3.6'da verilmiştir. Buna göre, sensör farklı çalışma elektrotları, cihazlar ve analistler arasında oldukça yüksek tekrarlanabilirlikte sonuçlar vermektedir.

Çizelge 3.6. Poli(Arg)/BEK/MoO₃-PtNK@Kit/CKE sensörünün tekrar üretilebilirliği

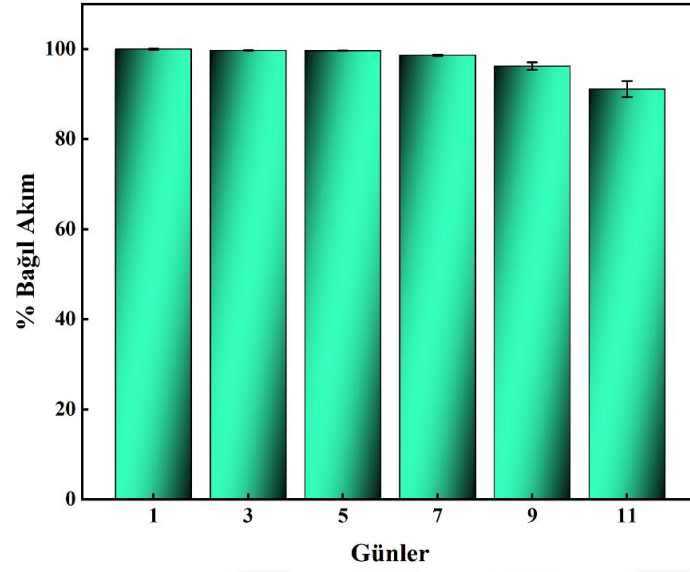
	Elektrot	Enstrüman		Analist	
	Ortalama ΔI (μA)*	1	2	1	2
ΔI (μA)**	31,85	32,1	31,06	32,1	32,0
	32,32	32,47	32,76	32,47	32,41
	32,41	33,0	31,49	33,0	32,52
	31,99	32,6	31,67	32,6	31,76
	32,54	31,71	32,22	31,71	31,67
%BSS	0,80	1,35	1,85	1,35	1,57

*Her ortalama değer için farklı elektrot kullanılmış, her bir değer 3 ölçüm sonucunda elde edilmiştir.

** ΔI değerleri $3,0 \times 10^{-14}$ M BEK için hesaplanmıştır.

3.8. Geliştirilen Yöntemin Stabilesi

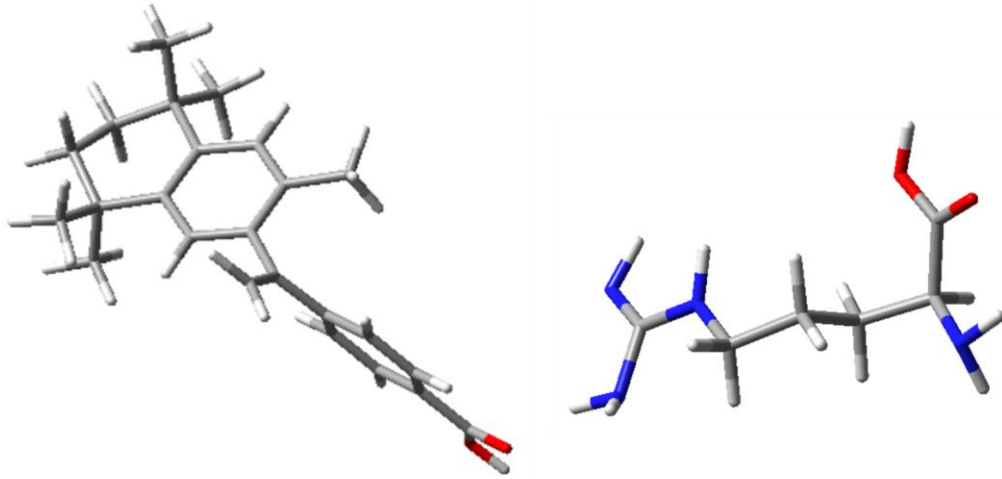
Hazırlanan Nano-MIP sensör, raf ömrünün değerlendirilebilmesi amacıyla 11 gün boyunca oda sıcaklığında desikatör içerisinde saklanmıştır. 1, 3, 5, 7, ve 11. günlerde 5 mM [Fe(CN)₆]^{3-/4-} çözeltisi içerisinde DPV ölçümleri alınmıştır. Buna göre elde edilen değerler, sensörün hazırlandığı ilk gün elde edilen pik akımı değerine kıyasla değerlendirilmiş ve Şekil 3.15'te ölçümlerin alındığı farklı günlere karşı hesaplanan %bağıl akım değerleri grafiğe geçirilmiştir. Sensör performansı 11. günde %91,11'e düşmeden önce 3, 5, 7 ve 9. günlerde sırasıyla %%99,71, %99,65, %98,64 ve %96,22 oranında ilk günkü verimliliğini korumuştur. Sonuç olarak, Nano-MIP sensörün 11 güne kadar stabilesini koruduğu görülmüştür.



Şekil 3.15. Poli(Arg)/BEK/MoO₃-PtNK@Kit/CKE'nin raf ömrü

3.9. Kuantum Mekaniksel Hesaplama Sonuçları

Tüm moleküller, B3LYP /6-31G(D,P) seviyesinde optimize edilmiş ve frekans hesapları da aynı seviyede yapılmıştır. Tüm yapıların potansiyel enerji yüzeyinde bir minimumda oldukları ve negatif frekansa sahip olmadıkları belirlenmiştir. Optimize geometriler Şekil 3.16'da verilmiştir. Kararlı yapılar için elektronik özellikler incelenmiştir.



Şekil 3.16. Beksaroten (sol) ve L-arginin (sağ) moleküllerinin B3LYP/6-31G(D, P) seviyesinde elde edilen optimize geometrileri

BEK'in bant aralığı enerjisi (ΔE), 4.50 eV olarak hesaplanırken, arginine molekülününki 5.59 eV olarak elde edilmiştir. BEK' in elektrofilik indeksi 3,196 eV olarak hesaplanmıştır (Çizelge 3.7) ve bu elektrofilik indeks değeri ($\omega > 1,5$ eV) ile molekül,

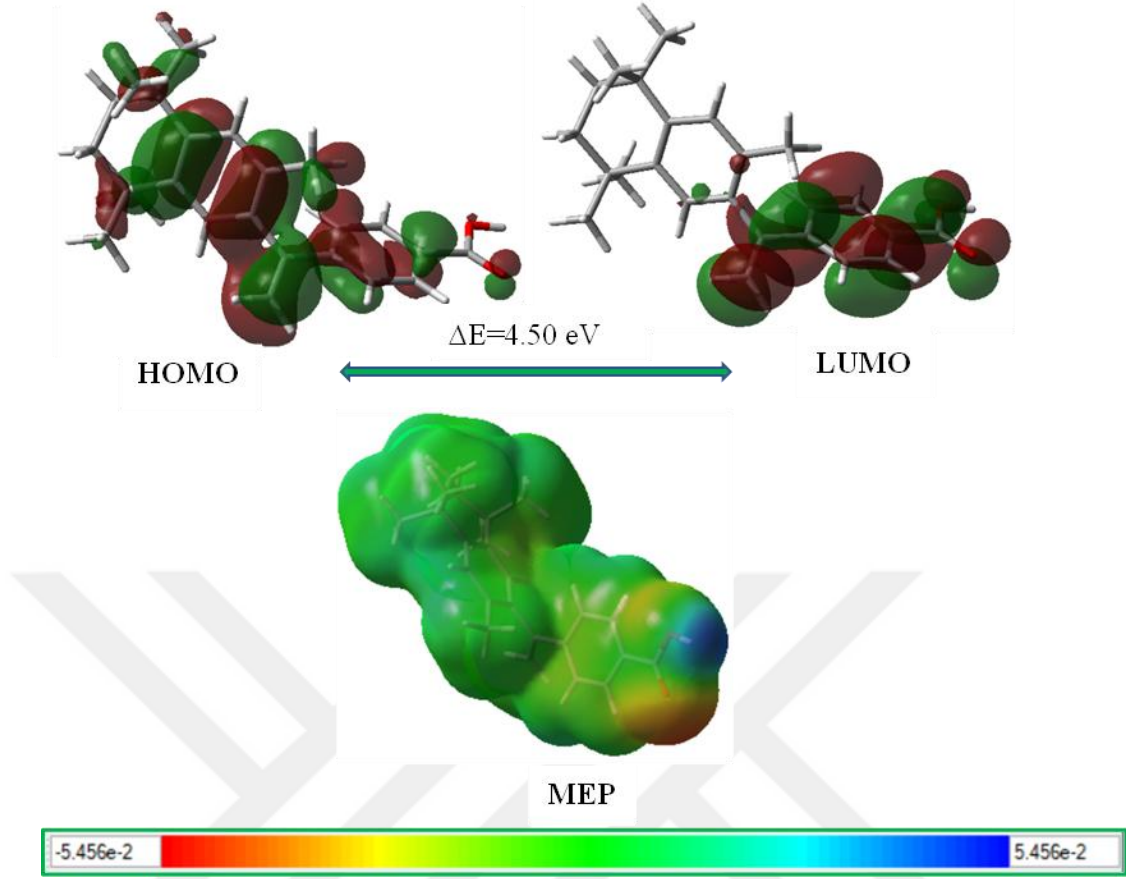
organik moleküller için tanımlanan sınıflandırmada güçlü elektrofil grubuna girer ve bu kapsamda arjinine ait değer tam sınırdadır (Domingo, 2002). Sistemin bant enerjisi, sistemi oluşturan moleküllerin bant enerji aralığından daha küçüktür. Sistemin solvent içindeki bant enerjisi ($\Delta E=4,100$ eV), gaz fazındaki bant enerjisine göre daha yüksek değerdedir ve bu yüksek değer daha kararlı olduğu anlamına gelmiştir.

Çizelge 3.7. En kararlı yapılar için B3LYP /6-31G(D,P) seviyesinde HOMO-LUMO enerjileri (eV) ve global reaktivite parametreleri

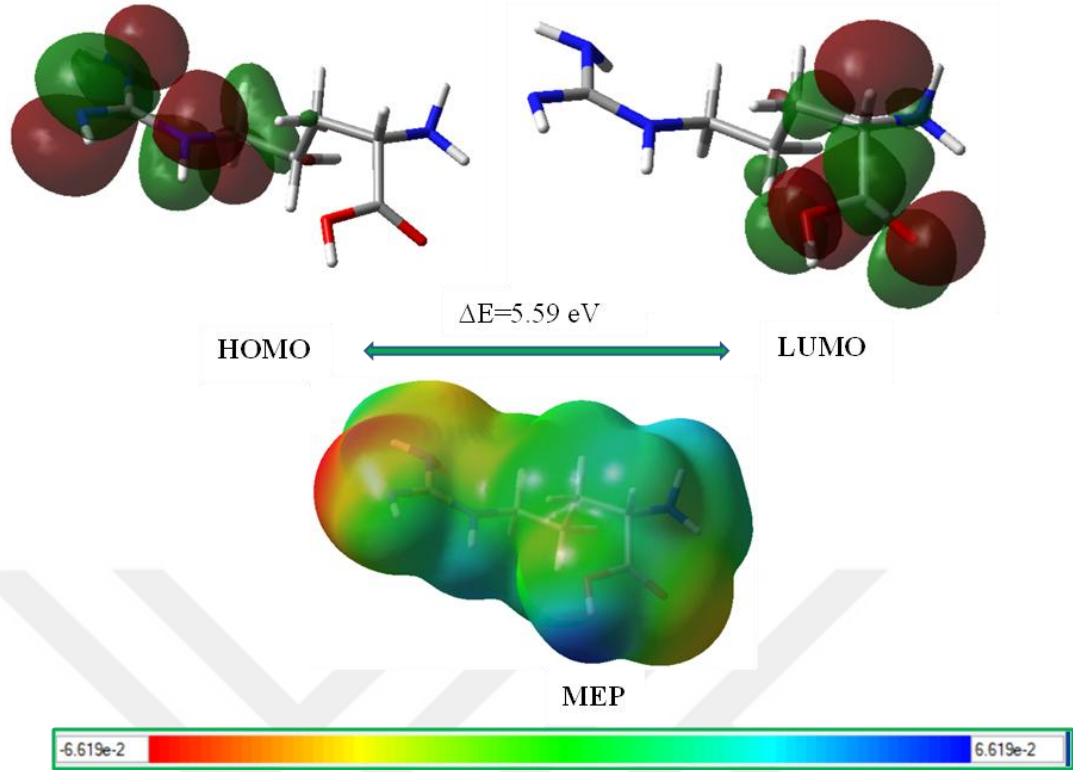
Sistem	E_H (eV)	E_L (eV)	ΔE (eV)	EA(eV)	IP(eV)	η (eV)	χ (eV)	μ (eV)	σ (eV) ⁻¹	ω (eV)
BEK	-6,044	-1,542	4,502	1,542	6,044	2,251	3,793	-3,793	0,222	3,196
BEK+ çözücü (DMF)	-6,088	-1,675	4,413	1,675	6,088	2,207	3,882	-3,882	0,226	3,415
Arjinin	-5,651	-0,062	5,589	0,062	5,651	2,795	2,857	-2,857	0,179	1,46
Arjinin+çözücü (su)	-6,000	0,079	6,079	0,079	6,000	3,039	2,960	-2,960	0,164	1,442
BEK+arjinin	-5,547	-1,728	3,819	1,728	5,547	1,909	3,638	-3,638	0,262	3,465
BEK+arjinin +çözücü (su)	-5,875	-1,775	4,100	1,775	5,875	2,050	3,825	-3,825	0,244	3,568

ΔE (E_L-E_H): Bant gap Enerji, IP ($-E_H$): İyonlaşma potansiyeli, EA ($-E_L$): Elektron afinitesi, χ ($-(E_L + E_H)/2$): Elektronegatiflik, σ ($1/2\eta$): kimyasal yumuşaklık, η ($(E_L - E_H)/2$): Kimyasal sertlik, μ ($(E_L + E_H)/2$): kimyasal potansiyel, ω ($\mu^2/2\eta$): elektrofilik indeks

LUMO, BEK'in etil benzoik asit grubu etrafında dağılırken, HOMO tüm molekül boyunca dağılır. MEP diagramı yüksek negatif yüklü kırmızı alanın, karboksil grubunun O atomu etrafında yoğunlaştığını gösterdi ve bu alanlar elektrofilik saldırılara karşı hassas olan alanlardır (Şekil 3.17). Ek olarak, yüksek pozitif yükleri gösteren mavi bölgenin ise, karboksil grubunun OH'ı etrafında yer aldığı görülmüştür. Şekil 3.17 ve Şekil 3.18'de yer alan MEP diyagramlarındaki kırmızı ve mavi bölgeler, kompleks oluşumunda muhtemel hidrojen bağları oluşabilecek bölgeler olarak değerlendirilmiştir. Bu durum BEK+arjinin sisteminin optimizasyonları ile doğrulanmıştır. BEK'in çözücü ortamındaki HOMO-LUMO dağılımları gaz fazındaki dağılımlarla aynı trende sahiptir.



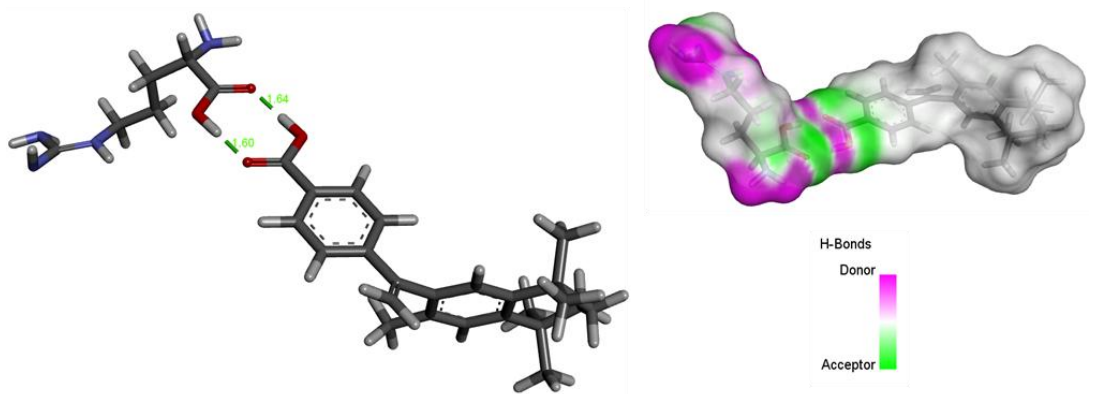
Şekil 3.17. Beksaroten molekülünün B3LYP/6-31G(D, P) seviyesinde, Moleküler Elektrostatik Potansiyel (MEP) ve HOMO-LUMO diyagramları



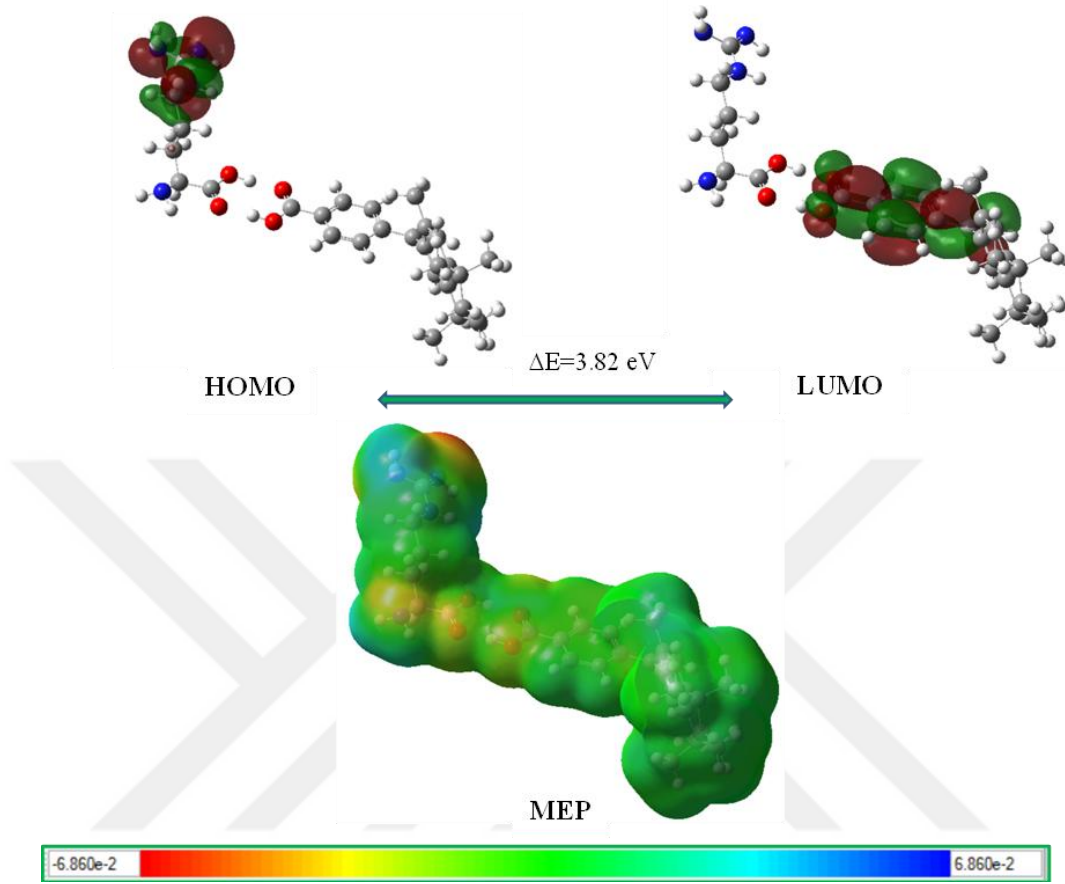
Şekil 3.18. Arjinin molekülünün B3LYP/6-31G(D, P) seviyesinde, Moleküler Elektrostatik Potansiyel (MEP) ve HOMO-LUMO diyagramları

Sisteme (BEK+arjinin) ait moleküler elektrostatik potansiyel (MEP) ve HOMO-LUMO diyagramları, Şekil 3.20’de verilmiştir.

Yapılan kuantum mekaniksel hesaplamalar, BEK ile arjinin arasında çok kuvvetli geleneksel hidrojen bağları (2 tane O-H \cdots O tipi) olduğunu göstermiştir (Şekil 3.19). H \cdots O arası uzaklıklar 1.60 Å ve 1.64 Å dur. Bu uzaklıklar solvent ortamında gerçekleştirilen hesaplarda 1.61 Å ve 1.63 Å olarak elde edilmiştir. Counter Poise hesabından da -20,81 kilokalori/mol değerinde bir bağlanma enerjisi hesaplanmıştır.

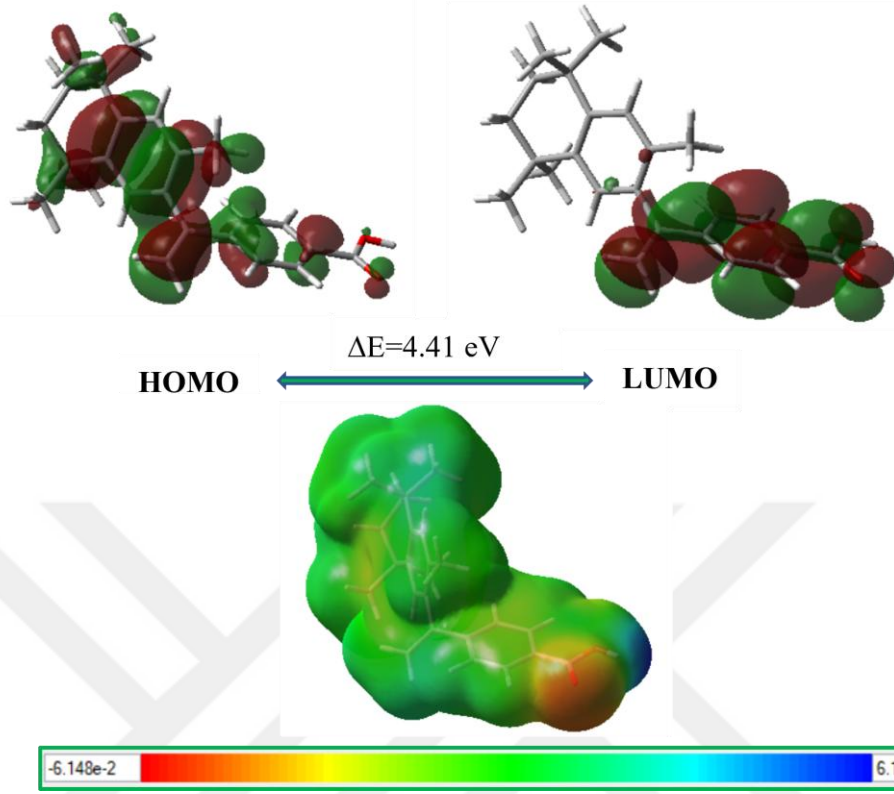


Şekil 3.19. Sistemin (BEK+arjinin), B3LYP/6-31G(D, P) seviyesinde elde edilmiş optimize geometrisi ve geleneksel hidrojen bağları (yeşil kesikli çizgi ile gösterilmektedir)



Şekil 3.20. Sistemin (BEK+arjinin) B3LYP/6-31G(D, P) seviyesinde, Moleküler Elektrostatik Potansiyel (MEP) ve HOMO-LUMO diyagramları

BEK N,N-Dimethylformamide (DMF) içerisinde çözülüp deneyler yapıldığı için; modellemede ortam bu çözücü ile doldurulup optimizasyon aşaması tekrarlanmış ve HOMO-LUMO ve MEP diyagramları Şekil 3.21’de gösterildiği şekilde elde edilmiştir. Optimize enerji değerleri kıyaslandığında çözücü ortamında gerçekleşen optimizasyonun gaz fazı hesabına göre yaklaşık 5 kilokalori/mol daha düşük olduğu görülmüştür. Aynı şekilde BEK+arjinin sistemi için çözücü ortamında (suda) yapılan hesaplar da yine gaz fazına göre 12,96 kilokalori/mol daha düşük enerjilidir.



Şekil 3.21. Beksaroten molekülünün çözücü ortamında B3LYP/6-31G(D,P) seviyesinde Moleküler Elektrostatik Potansiyel (MEP) ve HOMO-LUMO diyagramları

4. TARTIŞMA

Tez çalışması kapsamında kutanöz T-hücreli lenfoma tedavisinde başarılı etkiler oluşturan BEK'in hassas ve seçici tayinini gerçekleştirmek için Nano-MIP temelli elektrokimyasal bir sensör geliştirilmiştir. Nano-MIP temelli elektrokimyasal sensör platformunun hazırlanması, sensör performansını etkileyen çeşitli parametrelerin iyileştirilmesi, sensörün elektroanalitik performansının değerlendirilmesi ve elektrokimyasal yüzey karakterizasyonu için çeşitli elektrokimyasal tekniklerden faydalanılmıştır. Ayrıca, sensör yüzeyinin yüzey morfolojisi çeşitli mikroskopik ve spektroskopik yöntemler kullanılarak incelenmiştir. Geliştirilen Nano-MIP sensörün gerçek numunelere uygulanabilirliği ve doğruluğunun yorumlanması için farmasötik dozaj formu olan Beksar® ve ticari insan serumu örneklerinde de sensör başarı ile uygulanmıştır.

Giriş bölümünde kanser hastalığının prevalansı ve fizyopatolojisi hakkında bilgiler verilmiş olup, kutanöz T-hücreli lenfoma hastalığı, hastalığın tedavisine yönelik yaklaşımlar ve bu tedavi yaklaşımlarından olan ve tez çalışmaları kapsamında tayini gerçekleştirilen ilaç etken maddesi beksaroten ile ilgili detaylı bilgilere değinilmiştir. İlâveten, BEK tayini için geliştirilen sensörün Nano-MIP temelli olmasından ötürü, nanomalzemeler, bu malzemelerden PtNK, MoO₃ ve kitosan, moleküler baskılı polimerler ve bunların bileşenleri, moleküler baskılamada faydalanılan etkileşimler, voltametrik yöntemler ve validasyon parametreleri ile ilgili çeşitli açıklamalar sunulmuştur.

Gereç ve yöntem bölümünde tez çalışması kapsamında kullanılan kimyasal maddeler, ekipman ve cihazlara yer verilmiştir. Ayrıca tez çalışmasında kullanılan elektrokimyasal tekniklerden ve BEK etken maddesi standart çözeltisinin, tampon çözeltilerin, redoks çözeltisinin, jel dozaj formu ve ticari insan serumu çözeltisinin ve girişim çalışmalarında kullanılacak girişim maddelerinin hazırlanışlarından söz edilmiştir. Bununla birlikte Nano-MIP temelli elektrokimyasal sensörün ve kontrol elektrodu olarak NIP sensörünün hazırlık aşamaları açıklanmış ve geliştirilen sensörün yüzey karakterizasyonunda kullanılan yöntemlere değinilmiştir. Elde edilen sonuçlar detaylı bir biçimde Bulgular bölümünde verilmiştir.

Elektrokimyasal ölçüm teknikleri olan DV, DPV ve EIS ölçümleri 0,1 M KCl ile hazırlanan 5 mM [Fe(CN)₆]^{3-/4-} redoks çözeltisi içerisinde gerçekleştirilmiştir. DPV yöntemi ile redoks çözeltisi ortamında yürütülen çalışmalarda, geliştirilen sensörün optimizasyonunda, elektrokimyasal performansının değerlendirilmesinde ve validasyon

çalışmalarında akım değerleri doğrudan değerlendirilmemiş, bunun yerine hedef molekül olan BEK'in polimer filmde uzaklaştırılması ve film yüzeyine yeniden bağlanmasından sonra elde edilen akım değerleri arasındaki fark (ΔI) değerlendirilmiştir. Bu durum dolaylı yoldan bir tayin gerçekleştirilmesini sağlamış ve doğrudan tekniklere kıyasla daha düşük derişimlerde hedef molekülün tayinini mümkün kılmıştır.

Yalın CKE yüzeyi öncelikli olarak nanomateryal kompoziti ile modifiye edilmiştir. Bu aşamada elektrot yüzeyi tek başına PtNK, MoO₃ ve kitosan ile modifiye edildiğinde gözlemlenen DP voltamogramları, bu malzemelerin karışım halinde sensör yüzeyine damlatılmasına kıyasla daha düşük tepe akımı değerleri sergilemiştir. Bu nedenle, karışım halinde elde edilen MoO₃-PtNK@Kit nanokompozitinin optimizasyonu gerçekleştirilmiş ve farklı hacimsel oranlar denenerek en uygun derişim oranının 1:2:2 olduğuna karar verilmiştir. Farklı derişim oranlarının iyileştirilmesinin hemen ardından damlatma hacminin sensör performansı üzerindeki etkisi incelenmiştir ve tekrar edilebilir sonuçlar ile sensör performansının iyileştirilmesine katkıda bulunan hacim 3 μ L olarak belirlenmiştir.

Nanosensör yüzeyinin hazırlanmasının ardından, MIP filminin oluşturulması amacıyla elektropolimerizasyon yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla, polimerizasyon çözeltisi 1 mM BEK, 5 mM L-arjinin, DMF ve pH 7,4 fosfat tamponu kullanılarak hazırlanmıştır. Elektropolimerizasyon, -2,0 V ve +2,2 V potansiyel aralığında 100 mV s⁻¹ tarama hızında 10 döngü DV yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Etkili ve kararlı bir MIP yüzeyinin elde edilmesi amacıyla ilk olarak monomer derişimi iyileştirilmiştir. Gereğinden düşük derişimlerde monomer, yeterli fonksiyonel grubu ve monomer ile hedef molekülün etkileşimini sağlayamazken, gereğinden yüksek derişimler ise monomerin polimer filmde düzensiz bir şekilde dağılmasını ve sonuç olarak hedef moleküle özgü boşlukların oluşumunda çeşitli zorlukları beraberinde getirmektedir. Bu nedenle 5 mM L-arjinin derişimi tez çalışması için en uygun derişim olarak belirlenmiştir. İlâveten, elektropolimerizasyonda kullanılan döngü sayısı monomerin hedef molekül etrafında oluşturduğu polimer filmin kalınlığını ve molekülün filmde yüzeyindeki derinliğini etkilemektedir. Çeşitli döngü sayıları iyileştirme çalışmalarında denenmiş ve en uygun döngü sayısı 10 olarak seçilmiştir. Ayrıca polimer filmin morfolojik özellikleri, hedef molekül ve monomer etkileşimi, bununla birlikte DV voltamogramlarının şekli ve monomerin çözünürlüğü ile homojen bir sensör yüzeyi elde edilmesi gibi birçok özellik üzerinde etkili olan diğer bir faktör polimerizasyonun gerçekleştirildiği destek elektrolit çözeltisidir. BEK'in asidik pH'larda çökmesi nedeni ile MIP yüzeyinin en etkili şekilde oluşmasını sağlayan tampon çözelti pH 7,4 fosfat tamponu olmuştur.

MIP temelli elektrokimyasal sensörlerin performansını etkileyen en önemli parametrelerden biri hedef molekülün uzaklaştırma çözeltisi ve süresidir. Hedef moleküllerin polimer filme zarar vermeden yüzeyden uzaklaştırılması, daha sonraki aşamada sensör yüzeyine molekülün yeniden bağlanmasını ve sensör performansını doğrudan etkilemektedir. Bu nedenle agresif bir yaklaşımla sensör yüzeyine zarar vermeden moleküle özgü boşlukların oluşturulması için uzaklaştırma çözeltisi DMSO ve uzaklaştırma süresi 15 dakika olarak belirlenmiştir.

Yeterli yeniden bağlanma süresi sensörün yüksek hassasiyetle hedef moleküle bağlanması ve yanıt süresi arasında bir denge oluşturmaktadır. Bu nedenle hedef molekülün, polimer filmdeki özel bağlanma bölgeleri ile etkileşim kurması için yeniden bağlanma süresi optimize edilmiştir ve en uygun sürenin 10 dakika olduğu gözlemlenmiştir. Optimizasyonun son adımında, redoks çözeltisinin içerdiği tuz derişimi iyileştirilmiştir. Tez çalışması kapsamında redoks çözeltisine tuz elektriksel iletkenliği arttırmak amacıyla konulmuştur. Tuz derişimi redoks çözeltisinin oksidasyon tepe akımı üzerinde etki göstermiştir. Bu amaç doğrultusunda çalışmada kullanılmak üzere en uygun tuz derişimi 0,1 M seçilmiştir.

Nano-MIP sensörü belirlenen optimum şartlar altına BEK'in standart çözeltilerde tayini için uygulanmıştır. Geliştirilen Nano-MIP sensörü, $7,0 \times 10^{-15}$ M ve $1,0 \times 10^{-13}$ M derişim aralığında BEK tayini için doğrusal bir davranış sergilemiştir. Bu konsantrasyon aralığı için elde edilen regresyon denklemi kullanılarak sırası ile TS ve TAS değerleri $1,06 \times 10^{-15}$ M ve $3,53 \times 10^{-15}$ M bulunmuştur. Hesaplanan bu TS ve TAS değerleri, literatürde yer alan BEK tayini için geliştirilmiş diğer yöntemler ile kıyaslandığında geliştirilen Nano-MIP sensörün daha düşük derişimlerde BEK tayinine olanak tanıyarak gelişmiş bir hassasiyet sergilediğini göstermiştir. MIP sensörünün elektroanalitik performansı kontrol elektrodu olarak hazırlanan NIP sensörü ile kıyaslanarak kontrol edilmiştir. Ayrıca standart çözeltiden elde edilen kalibrasyon eğrisi kullanılarak, sensörün gerçek numune uygulaması jel dozaj formu Beksar® içerisinde BEK tayini ile gerçekleştirilmiştir.

Poli(Arg)/BEK/MoO₃-PtNK@Kit/CKE sensörü standart ekleme ile hazırlanan ticari insan serumu çözeltilerine de uygulanmıştır. Değişen BEK konsantrasyonları ve ΔI arasındaki ilişki incelendiğinde, sensörün $1,0 \times 10^{-13}$ M ve $1,0 \times 10^{-12}$ M derişim aralığında doğrusal bir yanıt verdiği gözlemlenmiştir. Bu doğrusal yanıtta hareketle TS ve TAS değerleri sırası ile $1,04 \times 10^{-14}$ M ve $3,82 \times 10^{-14}$ M hesaplanmıştır.

Geliştirilen sensörün doğruluğu ve uygulanabilirliğinin değerlendirilmesi amacı ile geri kazanım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. İki farklı jel dozaj formu derişimi için 3 tekrarlı

ölçüm alınmış, elde edilen değerler standart BEK çözeltisi ve ΔI arasındaki ilişkiden hareketle oluşturulan kalibrasyon eğrisi kullanılarak değerlendirilmiştir. Buna göre iki farklı derişim için geri kazanım değerleri %98,62 ve %101,07 bulunmuştur. Ticari insan serumu için de iki farklı derişimde 3 paralel ölçümle geri kazanım çalışması yapılmış ve geri kazanım yüzdeleri %101,07 ve %100,74 olarak hesaplanmıştır.

MIP temelli elektrokimyasal sensörlerin sağladığı en büyük avantajlardan biri yüksek seçicilik göstermeleridir. Nano-MIP sensörün seçiciliği BEK ile benzer kimyasal yapı gösteren retinoik asit ile baskılama faktörü hesabı yapılarak değerlendirilmiştir. 3 farklı retinoik asit derişimi için geliştirilen yöntemin BEK tayini için düşük derişimden yüksek derişime doğru sırasıyla 4,14, 6,45 ve 7,21 kat daha seçici olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, sensörün seçiciliği girişim çalışmaları ile de desteklenmiştir. Bu amaçla BEK aynı derişimde, 10 katı ve 100 katı derişimde epinefrin, glukoz, NaCl, ürik asit, Askorbik asit, kafein, niasin, dopamin, KCl ve retinoik asit varlığında tayin edilmiştir. Sinyalde gözlemlenen değişiklikler takip edildiğinde, sensörün BEK'i çeşitli girişim maddelerinin varlığında da seçici bir şekilde tayin ettiğini ortaya koymuştur.

Geliştirilen yöntemin geçerliliğini değerlendirmek için Poli(Arg)/BEK/MoO₃-PtNK@Kit/CKE sensörünün tekrarlanabilirliği ve tekrar elde edilebilirliği değerlendirilmiştir. Bu amaçla BEK tayini beş paralel ölçüm ile gerçekleştirilmiş ve %BSS değerleri 1,35 ve 1,80 bulunmuştur. Ayrıca farklı analist, farklı cihaz ve farklı CKE kullanılarak yürütülen 5 paralel ölçümlü çalışmalar sensörün yüksek bir tekrar üretilebilirliğe sahip olduğunu doğrulamıştır. Nano-MIP sensörünün ilk günkü performansını 11 gün boyunca %91,11 oranında koruması, sensörün stabilitesini uzun süre koruyabildiğini ifade etmektedir.

BEK ve arjinin arasındaki etkileşimin detaylı olarak incelenmesi için kuantum mekaniksel hesaplamaları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre hidrojen bağları ile etkileşimin meydana geldiği bulunmuş ve bağlanma enerjisi -20,81 kilokalori/mol olarak hesaplanmıştır.

Tez çalışması kapsamında geliştirilen Nano-MIP temelli sensör, BEK tayini için literatürde yer alan diğer yöntemler ile kıyaslandığında yüksek seçicilikte, gelişmiş hassasiyet ve tekrarlanabilirlikte, daha kolay uygulama prosedürlerine sahip ve daha çevre dostu bir yaklaşım sergilemektedir. Geliştirilen yöntemin bunlara ilaveten valide edilmesi ile birlikte, geleneksel analiz yöntemleri ve klinik uygulamalar için bir potansiyel taşıdığı öngörülmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması kapsamında, kutanöz T-hücreli lenfoma tedavisinde kullanılan Bekсарoten etken maddesinin yüksek seçicilik ve hassasiyet ile tayini için ilk kez Nano-MIP temelli elektrokimyasal bir sensör geliştirilmesi amaçlanmıştır. Geliştirilen Nano-MIP temelli sensörün iyileştirme ve validasyon çalışmaları yapılarak elde edilen sonuçlar incelenmiş ve kolay uygulanabilir, hassas ve seçici, düşük maliyetli ve tekrar edilebilirliği yüksek sonuçlar üreten bir yöntem geliştirilmesi planlanmıştır.

BEK'in hassas ve seçici tayinini jel dozaj formu ve ticari insan serumu gibi örneklerde gerçekleştirilebilmesi için Poli(Arg)/BEK/MoO₃-PtNK@Kit/CKE sensörü geliştirilmiştir. Yalın CKE yüzeyi, sensörün hassasiyetinin artırılması için nanomateryallerin geniş yüzey alanı, mükemmel iletkenliği ve katalitik etkisi gibi avantajlarından faydalanılmış ve MoO₃-PtNK@Kit nanokompoziti ile modifiye edilmiştir. Nanomateryal ile modifiye edilen yüzeyde ardından MIP filmi oluşturmak hedeflenmiştir. Bu doğrultuda, polimer çözeltisi 1 mM BEK, 5 mM L-arjinin ve DMF içeren pH 7,4 FT içerisinde hazırlanmış ve dönüşümlü voltametri (DV) tekniğinden faydalanılarak elektropolimerizasyon ile yüzeyde polimer film oluşturulmuştur.

Geliştirilen Nano-MIP sensörünün elektrokimyasal yüzey özellikleri dönüşümlü voltametri (DV) ve elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS) ile 5 mM [Fe(CN)₆]^{3-/4-} redoks çözeltisi içerisinde gerçekleştirilmiştir. Ayrıca sensörün yüzey morfolojik özellikleri mikroskopik ve spektroskopik yöntemlerden taramalı elektron mikroskopu (SEM), atomik kuvvet mikroskopu (AFM) ve Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) yöntemleri ile incelenmiştir.

Yöntemin elektroanalitik performansını değerlendirilmesi diferansiyel puls voltametri (DPV) ile yöntemi ile 5 mM [Fe(CN)₆]^{3-/4-} redoks çözeltisi içerisinde gerçekleştirilmiştir. Farklı derişimlerde BEK standart çözeltilerinin sensör yüzeyine yeniden bağlanması ile elde edilen ΔI değerleri incelendiğinde, sensör 7,0 × 10⁻¹⁵ M ve 1,0 × 10⁻¹³ M konsantrasyon aralığında doğrusallık göstermiştir. Buna göre TS ve TAS değerleri sırası ile 1,06 × 10⁻¹⁵ M ve 3,53 × 10⁻¹⁵ M hesaplanmıştır. Sensör performansının değerlendirilmesi için kontrol elektrodu olarak NIP sensörü de hazırlanmış, değişen konsantrasyona karşılık elde edilen ΔI cevabında dikkate alınacak ölçüde değişim gözlemlenmemesi sensörün BEK tayini için etkinliğini ortaya koymuştur. Poli(Arg)/BEK/MoO₃-PtNK@Kit/CKE sensörü

ticari insan serumu örneklerinde BEK'in $1,0 \times 10^{-13}$ M ve $1,0 \times 10^{-12}$ M doğrusal derişim aralığında, $1,04 \times 10^{-14}$ M TS ve $3,82 \times 10^{-14}$ M TAS ile tayin edilmiştir.

Gerçek numune uygulamaları olan farmasötik dozaj formu Beksar® ve ticari insan serumunda yürütülen geri kazanım çalışmaları ile geliştirilen sensörün doğruluğu ve uygulanabilirliği değerlendirilmiştir. Jel dozaj formu ve ticari insan serumunda BEK'in %98,62 ile %101,07 aralığında geri kazanılabildiği görülmüştür. Bu sonuçlar sensörün yüksek bir doğrulukla mükemmel uygulanabilirliğini göstermiştir.

Yöntemin seçiciliği, BEK molekülü ile benzer kimyasal yapı gösteren retinoik aside karşı yanıtlarının değerlendirilmesi ve moleküler baskılama faktörü hesabı ile incelenmiştir. Buna göre sensörün BEK tayini için 4,14, 6,45 ve 7,21 kat gibi bir farkla mükemmel seçicilik göstermiştir. Ayrıca biyolojik ortamlarda bulunması muhtemel girişim maddelerinin varlığında dahi sensör seçici bir şekilde ve yüksek tekrar edilebilirlikle BEK'in tayinini gerçekleştirmiştir. Sensörün validasyon çalışmaları sonucunda elde edilen verilere göre sensörün yüksek bir tekrar edilebilirlik ve tekrar üretilebilirliğe sahip olduğu ve 11 gün boyunca yüksek bir stabilite göstererek performansını koruduğunu belirtmiştir. Ayrıca, BEK ve monomer olan arjinin arasındaki etkileşim kuantum mekaniksel hesaplamaları ile incelenmiş ve hidrojen bağlarının oluşumu gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak yüksek lisans tez çalışması kapsamında, antikanser etkili ilaç etken maddesi BEK'in hassas ve seçici tayinine yönelik nanomateryal ve MIP temelli elektrokimyasal bir sensör geliştirilmiştir. Geliştirilen Nano-MIP temelli sensörün, yalnızca yüksek bir hassasiyet ve seçicilik değil, aynı zamanda gelişmiş tekrar edilebilirlik, yüksek stabilite, kolay uygulama, düşük bütçe gereksinimi ve jel dozaj formu ve ticari insan serumu örnekleri gibi gerçek numune uygulamalarında sergiledikleri başarılı performans ile geleneksel analiz yöntemleri ve klinik uygulamalar için yüksek bir potansiyel vaat ettiği öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abeykoon, S. W. and White, R. J. (2023). Continuous Square Wave Voltammetry for High Information Content Interrogation of Conformation Switching Sensors. *ACS Measurement Science Au*, 3(1), 1–9. <https://doi.org/10.1021/acsmesuresciau.2c00044>
- Alonso, B., Arias, M. and Abeldaño, A. (2020). Sézary syndrome Pathogenesis, epidemiology, clinical features, diagnosis and prognosis. *Dermatologia Argentina*, 26(1), 2–10. <https://doi.org/10.47196/da.v26i1.2059>
- Anand, P., Kunnumakara, A. B., Sundaram, C., Harikumar, K. B., Tharakan, S. T., Lai, O. S., Sung, B., & Aggarwal, B. B. (2008). Cancer is a Preventable Disease that Requires Major Lifestyle Changes. *Pharmaceutical Research*, 25(9), 2097–2116. <https://doi.org/10.1007/s11095-008-9661-9>
- Ashrafi, A. M., Selcuk, O., Mukherjee, A., Unal, D. N., Kurbanoglu, S., Uslu, B., Jurica, J., Pekarkova, J., Richtera, L., & Adam, V. (2024). Rapid determination of uracil in biological fluids at mercury thin film electrode for early detection of potential 5-fluorouracil toxicity due to dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. *Biosensors and Bioelectronics*, 262, 116545. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2024.116545>
- Asif, M., Saadullah, M., Huwaimel, B., Batool, J. A., Rasul, A., Uzair, M., & Chaudhary, B. A. (2022). Electrochemical methods of analysis. In *Functional Analytical Techniques in Pharmaceutical Chemistry* 109–147. <https://doi.org/10.52305/OTNA9625>
- Assaf, C., Bagot, M., Dummer, R., Duvic, M., Gniadecki, R., Knobler, R., Ranki, A., Schwandt, P., & Whittaker, S. (2006). Minimizing adverse side-effects of oral bexarotene in cutaneous T-cell lymphoma: An expert opinion. *British Journal of Dermatology*, 155(2), 261–266. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2006.07329.x>
- Bagherani, N., & Smoller, B. R. (2016). An overview of cutaneous T cell lymphomas. *F1000Research*, 5(1882). <https://doi.org/10.12688/f1000research.8829.1>
- Bard, A. J., Faulkner, L. R., White, H. S. (2022). *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. Wiley.
- Barth, A. (2007). Infrared spectroscopy of proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1767(9), 1073–1101. <https://doi.org/10.1016/j.bbabo.2007.06.004>
- Becke, A.D. (1988). Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior. *Physical review. A*, 38(6), 3098–3100. <https://doi.org/10.1103/physreva.38.3098>
- BelBruno, J. J. (2019). Molecularly Imprinted Polymers. *Chemical Reviews*, 119(1), 94–119. <https://doi.org/10.1103/physreva.38.3098>
- Beyazit, S., Tse Sum Bui, B., Haupt, K., & Gonzato, C. (2016). Molecularly imprinted polymer nanomaterials and nanocomposites by controlled/living radical polymerization. *Progress in Polymer Science*, 62, 1–21. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2016.04.001>
- Bontempelli, G., Dossi, N., & Toniolo, R. (2019). Voltammetry | Polarography (P. Worsfold, C. Poole, A. Townshend, & M. B. T.-E. of A. S. (Ed.), *Encyclopedia of Analytical Science* (Third Edition) (ss. 218–229). Elsevier Academic Press.

- Boys, S.F. and Bernardi, F. (1970). The calculation of small molecular interactions by the differences of separate total energies. Some procedures with reduced errors”, *Molecular Physics*, 19(4), 553–566. <https://doi.org/10.1080/00268977000101561>
- Bouffier, L., Zigah, D., Sojic, N., & Kuhn, A. (2017). Recent advances in bipolar electrochemistry. *In Electroanalytical Chemistry: A Series of Advances*, 27, 27–117. <https://doi.org/10.1201/9781315270302>
- Bozal-Palabiyik, B., Erkmen, C., & Uslu, B. (2020). Molecularly Imprinted Electrochemical Sensors: Analytical and Pharmaceutical Applications Based on Ortho-Phenylenediamine Polymerization. *In Current Pharmaceutical Analysis*, 16(4), 350–366. <http://dx.doi.org/10.2174/1573412915666190304150159>
- Cancès, E., Mennucci, B., Tomasi, J. (1997). A new integral equation formalism for the polarizable continuum model: theoretical back-ground and applications to isotropic and anisotropic dielectrics. *The Journal of Chemical Physics*, 107, 3032-3041. <https://doi.org/10.1063/1.474659>
- Çelik, M., Kucuk, I., Sadak, S., & Uslu, B. (2025). Combination of miniature electrode systems via nanomaterials: Pesticide analysis. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, 45, e00251. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.teac.2024.e00251>
- Chandraprasad, M. S., Dey, A., & Swamy, M. K. (2022). 1 - Introduction to cancer and treatment approaches, M. K. Swamy, T. Pullaiah, & Z.-S. B. T.-P. Chen (Ed.), *Sources, Chemistry, Anticancer Actions, and Current Biotechnology* (ss. 1–27). Academic Press.
- Chen, A. and Chatterjee, S. (2013). Nanomaterials based electrochemical sensors for biomedical applications. *Chemical Society Reviews*, 42(12), 5425–5438. <https://doi.org/10.1039/C3CS35518G>
- Chen, Q., Zheng, J., Liu, X., Zhang, X., Kang, W., Fang, L., & Zhou, M. (2020). First-principles investigations on the mechanism of highly sensitive and selective trimethylamine sensing in MoO₃. *Applied Surface Science*, 524, 146520. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2020.146520>
- Chen, S. (2007). 2 - Practical Electrochemical Cells, E. Zoski (Ed.), *Handbook of Electrochemistry* (ss. 33–56), Elsevier.
- Coates, J. (2000). Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach. Meyers, R.A. (Ed), *Encyclopedia of Analytical Chemistry*., Wiley.
- Cormack, P. A. G., & Elorza, A. Z. (2004). Molecularly imprinted polymers: synthesis and characterisation. *Journal of Chromatography B*, 804(1), 173–182. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2004.02.013>
- Cuomo, A., Paudice, F., D’Angelo, G., Perrotta, G., Carannante, A., Attanasio, U., Iengo, M., Fiore, F., Tocchetti, C. G., Mercurio, V., & Pirozzi, F. (2021). New-Onset Cancer in the HF Population: Epidemiology, Pathophysiology, and Clinical Management. *Current Heart Failure Reports*, 18(4), 191–199. <https://doi.org/10.1007/s11897-021-00517-y>
- da Silva, S. B., Batista, G. L., & Santin, C. K. (2019). Chitosan for Sensors and Electrochemical Applications. L. Broek, C.G. Boeriu (Ed.) , *In Chitin and Chitosan* (ss. 461–476). Wiley.
- Deffo, G., Nde Tene, T. F., Medonbou Dongmo, L., Zambou Jiokeng, S. L., & Tonleu Temgoua, R. C. (2023). Differential pulse and square-wave voltammetry as sensitive methods for

- electroanalysis applications, K. Wandelt ve G. Bussetti (Ed.), *In Encyclopedia of Solid-Liquid Interfaces* (ss, 409-417), Elsevier.
- Dennington, R., Keith, T., & Millam, J. (2009). GaussView, Version 5. Semichem Inc., Shawnee Mission, KS.
- Dickinson, E. J. F., & Wain, A. J. (2020). The Butler-Volmer equation in electrochemical theory: Origins, value, and practical application. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 872, 114145. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2020.114145>
- Dummer, R., Kempf, W., Hess Schmid, M., Häffner, A., & Burg, G. (2003). Therapy of cutaneous lymphoma - Current practice and future developments. *Onkologie*, 26(4), 366–372. <https://doi.org/10.1159/000072098>
- Duvic, M., Hymes, K., Heald, P., Breneman, D., Martin, A. G., Myskowski, P., Crowley, C., & Yocum, R. C. (2001). Bexarotene is effective and safe for treatment of refractory advanced-stage cutaneous t-cell lymphoma: Multinational phase II-III trial results. *Journal of Clinical Oncology*, 19(9), 2456–2471. <https://doi.org/10.1200/JCO.2001.19.9.2456>
- Elfadil, D., Lamaoui, A., Della Pelle, F., Amine, A., & Compagnone, D. (2021). Molecularly Imprinted Polymers Combined with Electrochemical Sensors for Food Contaminants Analysis. *In Molecules*, 26 (15), 4607. <https://doi.org/10.3390/molecules26154607>
- Elkholy, A. E., Duignan, T. T., Knibbe, R., & Zhao, X. S. (2022). Electrosynthesis of polypyrrole-reinforced helical α -MoO₃ microribbons for high-energy aqueous Al³⁺-ion pseudocapacitors. *Electrochimica Acta*, 429. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2022.141050>
- Elsayad, K., Susek, K. H., & Eich, H. T. (2017). Total Skin Electron Beam Therapy as Part of Multimodal Treatment Strategies for Primary Cutaneous T-Cell Lymphoma. *Oncology Research and Treatment*, 40(5), 244–252. <https://doi.org/10.1159/000475634>
- Ettinger, D. S., Wood, D. E., Aggarwal, C., Aisner, D. L., Akerley, W., Bauman, J. R., Bharat, A., Bruno, D. S., Chang, J. Y., Chirieac, L. R., D'Amico, T. A., Dilling, T. J., Dobelbower, M., Gettinger, S., Govindan, R., Gubens, M. A., Hennon, M., Horn, L., Lackner, R. P., ... Hughes, M. (2019). NCCN Guidelines Insights: Non-Small Cell Lung Cancer, Version 1.2020: Featured Updates to the NCCN Guidelines. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network J Natl Compr Canc Netw*, 17(12), 1464–1472. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2019.0059>
- Faridbod, F., Corouzi, P., & Ganjali, M. R. (2015). Principles of electroanalytical methods, M. Barbooti (Ed.), *Environmental Applications of Instrumental Chemical Analysis* (ss. 137–186). CRC Press.
- Farol, L. T. and Hymes, K. B. (2004). Bexarotene: a clinical review. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 4(2), 180–188. <https://doi.org/10.1586/14737140.4.2.180>
- Forster, R. J. (2019). Voltammetry | cyclic voltammetry of organic compounds. S. Harmon, C. Sonne, E. Zeng (Ed.), *Encyclopedia of Analytical Science* (ss. 197–208), Elsevier.
- Forster, R. J., & Walsh, D. A. (2004). Voltammetry - Overview, G. J. Johnson (Ed.), *In Encyclopedia of Analytical Science: Second Edition*, (ss. 181–188), Elsevier.

- Frisch, M.J., Trucks, G.W., Schlegel, H.B., Scuseria, G.E., Robb, M.A., Cheeseman, J.R., Scalmani, G., Barone, V., Mennucci, B., Petersson, G.A., Nakatsuji, H., Caricato, M., Li, X., Hratchian, H.P., Izmaylov, A.F., Bloino, J., Zheng, G., Sonnenberg, J.L., Hada, M., Ehara, M., Toyota, K., Fukuda, R., Hasegawa, J., Ishida, M., Nakajima, T., Honda, Y., Kitao, O., Nakai, H., Vreven, T., Montgomery Jr., J.A., Peralta, J.E., Ogliaro, F., Bearpark, M., Heyd, J.J., Brothers, E., Kudin, K.N., Staroverov, V.N., Kobayashi, R., Normand, J., Raghavachari, K., Rendell, A., Burant, J.C., Iyengar, S.S., Tomasi, J., Cossi, M., Rega, N., Millam, J.M., Klene, M., Knox, J.E., Cross, J.B., Bakken, V., Adamo, C., Jaramillo, J., Gomperts, R., Stratmann, R.E., Yazyev, O., Austin, A.J., Cammi, R., Pomelli, C., Ochterski, J.W., Martin, R.L., Morokuma, K., Zakrzewski, V.G., Voth, G.A., Salvador, P., Dannenberg, J.J., Dapprich, S., Daniels, A.D., Farkas, O., Foresman, J.B., Ortiz, J.V., Cioslowski, J., & Fox, D.J. (2010). Gaussian 09, Revision B.01. Gaussian Inc., Wallingford.
- Fu, H., Chu, L., Jiao, H., Lin, L., Liu, Y., Chen, G., Zou, L., Wang, X., & Di, X. (2022). A highly sensitive and rapid LC-MS/MS method for quantification of bexarotene in mouse plasma and brain tissue: Application to mice pharmacokinetic study. *Journal of Chromatography B*, 1189, 123025. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2021.123025>
- Ganesh, P.-S., Eluwale Elugoke, S., Kim, S.-Y., Kaya, S., & Ebenso, E. E. (2024). Role of electron transfer between bare electrode and benzoguanamine to fabricate an electrochemical sensor for drugs: Theoretical and electrochemical approach. *Microchemical Journal*, 201, 110731. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.110731>
- Ganesh, P.-S. and Kim, S.-Y. (2022). Electrochemical sensing interfaces based on novel 2D-MXenes for monitoring environmental hazardous toxic compounds: A concise review. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 109, 52–67. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2022.02.006>
- Garcia, R. M., Song, Y., Dorin, R. M., Wang, H., Li, P., Qiu, Y., Van Swol, F., & Shelnut, J. A. (2008). Light-driven synthesis of hollow platinum nanospheres. *Chemical Communications*, 22, 2535–2537. <https://doi.org/10.1039/b801695j>
- Ghazawi, F. M., Alghazawi, N., Le, M., Netchiporouk, E., Glassman, S. J., Sasseville, D., & Litvinov, I. V. (2019). Environmental and Other Extrinsic Risk Factors Contributing to the Pathogenesis of Cutaneous T Cell Lymphoma (CTCL). *Frontiers in Oncology*, 9, 300. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00300>
- Gniadecki, R., Assaf, C., Bagot, M., Dummer, R., Duvic, M., Knobler, R., Ranki, A., Schwandt, P., & Whittaker, S. (2007). The optimal use of bexarotene in cutaneous T-cell lymphoma. *British Journal of Dermatology*, 157(3), 433–440. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2007.07975.x>
- Grimshaw, J. (2000). Electrochemical Oxidation and Reduction of Organic Compounds, O. C. Grimshaw (Ed.), *Electrochemical Reactions and Mechanisms in Organic Chemistry* (ss. 1–26). Elsevier.
- Gupta, M., & Yadav, S. (2023). Electrochemistry, S. Kaushik, B.Kumar (Ed.), In *Analytical Methods in Chemical Analysis: An Introduction*, (ss. 229–260). De Gruyter Textbook.
- Hague, C., Farquharson, N., Menasce, L., Parry, E., & Cowan, R. (2022). Cutaneous T-cell lymphoma: diagnosing subtypes and the challenges. *British Journal of Hospital Medicine*, 83(4), 1–7. <https://doi.org/10.12968/hmed.2021.0149>
- Han, L.-H., He, Q.-F., & Zhan, D.-P. (2021). Sailing to the Ocean of Electrochemistry: the First Step of Experiment. *Journal of Electrochemistry*, 27(3), 311–315. <https://doi.org/10.13208/j.electrochem.201254>

- Herrera-Chacón, A., Cetó, X., & del Valle, M. (2021). Molecularly imprinted polymers - towards electrochemical sensors and electronic tongues. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 413(24), 6117–6140. <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03313-8>
- Hespel, A., Mejdoubi-Charef, N., Yous, S., Courty, J., Papy-Garcia, D., & Charef, S. (2011). Interactions of bexarotene (LGD1069, Targretin) with the coagulation system. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 68(4), 847–854. <https://doi.org/10.1007/s00280-010-1553-0>
- Horwitz, S. M. (2008). Novel therapies for cutaneous T-cell lymphomas. *Clinical Lymphoma & Myeloma*, 8(5), 187–192. <https://doi.org/10.3816/CLM.2008.s.015>
- Horwood, C. (2022). Chapter Eleven - Ionic liquids as electrolytes for electrochemistry, A. C. Ruiz-Angel (Ed.), *Ionic Liquids in Analytical Chemistry* (ss. 329–342). Elsevier.
- Hulvat, M. C. (2020). Cancer Incidence and Trends. *Surgical Clinics*, 100(3), 469–481. <https://doi.org/10.1016/j.suc.2020.01.002>
- Imai, T., Shimoi, T., Kawai, A., & Yonemori, K. (2025). Diagnosis and treatment of cardiac tumors. *Medical Oncology*, 42(4), 110. <https://doi.org/10.1007/s12032-025-02661-0>
- Kahlert, H. (2010). Reference electrodes. F. Scholz (Ed.) *In Electroanalytical Methods: Guide to Experiments and Applications* (ss. 291–308). Springer.
- Karim-Nezhad, G., Khorablou, Z., Sadegh, B., & Mahmoudi, T. (2022). Electro-Polymerized Poly(L-Arginine) Film as An Efficient Electrode Modifier for Highly Sensitive Determination of Methadone in Real Samples. *Analytical and Bioanalytical Electrochemistry*, 14(8), 730–741. https://www.abechem.com/article_254432.html
- Katz, A. and Davis, M. E. (1999). Investigations into the Mechanisms of Molecular Recognition with Imprinted Polymers. *Macromolecules*, 32(12), 4113–4121. <https://doi.org/10.1021/ma981445z>
- Khan, R., Dindar, Ç. K., Karayel, A., Silah, H., Kurnalı, S. Z., Haider, A., & Uslu, B. (2025). Evaluating the Interaction between the Antineoplastic Drug Bexarotene and Double-stranded DNA Using Electrochemical, Spectroscopic, and Molecular Docking Studies. *ChemistrySelect*, 10(13), e202405000. <https://doi.org/10.1002/slct.202405000>
- Kirsch, I. R., Watanabe, R., O'Malley, J. T., Williamson, D. W., Scott, L.-L., Elco, C. P., Teague, J. E., Gehad, A., Lowry, E. L., LeBoeuf, N. R., Krueger, J. G., Robins, H. S., Kupper, T. S., & Clark, R. A. (2015). TCR sequencing facilitates diagnosis and identifies mature T cells as the cell of origin in CTCL. *Science Translational Medicine*, 7(308). <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaa9122>
- Kleinstern, G., O'Brien, D. R., Li, X., Tian, S., Kabat, B. F., Rabe, K. G., Norman, A. D., Yan, H., Vachon, C. M., Boddicker, N. J., Call, T. G., Parikh, S. A., Bruins, L., Bonolo de Campos, C., Leis, J. F., Shanafelt, T. D., Ding, W., Cerhan, J. R., Kay, N. E., ... Braggio, E. (2020). Tumor mutational load predicts time to first treatment in chronic lymphocytic leukemia (CLL) and monoclonal B-cell lymphocytosis beyond the CLL international prognostic index. *American Journal of Hematology*, 95(8), 906–917. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ajh.25831>
- Koshland Jr., D. E. (1995). The Key–Lock Theory and the Induced Fit Theory. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 33(23–24), 2375–2378. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/anie.199423751>

- Kotz, E. A., Anderson, D., & Thiers, B. H. (2003). Cutaneous T-cell lymphoma. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 17(2), 131–137. <https://doi.org/10.1046/j.1468-3083.2003.00635.x>
- Kounaves, S. P. (2008). Chapter 37 Voltammetric Techniques. F. Settle (Ed.), *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*, (ss. 707–725). Prentice Hall.
- Kucuk, I., Sadak, S., Kurnali, S. Z., Altınöz, S., & Uslu, B. (2025). A novel electrochemical sensor based on MIP technology for sensitive determination of cinacalcet hydrochloride in tablet dosage form and serum samples. *Microchimica Acta*, 192(5), 299. <https://doi.org/10.1007/s00604-025-07152-7>
- Kucuk, I., Sadak, S., & Uslu, B. (2024). MIP-Based Electrochemical Sensors ,S. Patra, S. K. Shukla, & M. Sillanpää (Ed.), *Molecularly Imprinted Polymers: Path to Artificial Antibodies* (ss. 69–99). Springer Nature Singapore.
- Kumar, B., Mishra, A., Raj, S., Kumar, A., Vibhandik, O. S., Talesara, A., Kumar, S., & Vyas, O. P. (2022). An approach for classifying benign and malignant skin lesions using Optimized Deep Learning and SVM. 2022 Fourteenth International Conference on Contemporary Computing, 429–439. <https://doi.org/10.1145/3549206.3549281>
- Laborda, E., Henstridge, M. C., Molina, A., Martínez-Ortiz, F., & Compton, R. G. (2011). A comparison of Marcus-Hush vs. Butler-Volmer electrode kinetics using potential pulse voltammetric techniques. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 660(1), 169–177. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2011.06.027>
- Laborda, E., Olmos, J. M., Martínez-Ortiz, F., & Molina, A. (2015). Voltammetric speciation studies of systems where the species diffusivities differ significantly. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 19(2), 549–561. <https://doi.org/10.1007/s10008-014-2620-y>
- Lakshmi Narasimha Rao, K., & Praneeth Rao, K. (2017). Development and Validation of a Stability-Indicating LC Method for Determination of Bexarotene in Softgel Dosage Formulation. *Chromatographia*, 80(8), 1211–1224. <https://doi.org/10.1007/s10337-017-3339-6>
- Lee, C., Yang, W., Parr, R.G. (1988). Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density, *Physical review. B*, 37(2), 785–789. <https://doi.org/10.1103/physrevb.37.785>
- Lee, J. B., Zgair, A., Kim, T. H., Kim, M. G., Yoo, S. D., Fischer, P. M., & Gershkovich, P. (2017). Simple and sensitive HPLC-UV method for determination of bexarotene in rat plasma. *Journal of Chromatography B*, 1040, 73–80. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.11.024>
- Lefrou, C., Fabry, P., & Poignet, J.-C. (2012). Basic notions, C. Lefrou, P. Fabry, & J.-C. Poignet (Ed.), *Electrochemistry: The Basics, With Examples* (ss. 1–50). Springer Berlin Heidelberg.
- Liu, Y., Yan, K., Wang, B., Yang, C., & Zhang, J. (2017). An Electrochemical Sensor for Selective Detection of p-Aminophenol Using Hemin-Graphene Composites and Molecularly Imprinted Polymer. *Journal of The Electrochemical Society*, 164(14), B776. <https://doi.org/10.1149/2.0171802jes>
- Lowe, M. N. and Plosker, G. L. (2000). Bexarotene. *American Journal of Clinical Dermatology*, 1(4), 245–250. <https://doi.org/10.2165/00128071-200001040-00006>

- Lukács, Z., & Kristóf, T. (2020). A generalized model of the equivalent circuits in the electrochemical impedance spectroscopy. *Electrochimica Acta*, 363, 137199. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2020.137199>
- Machado, S. A. S., & Cincotto, F. H. (2021). Electrochemical methods applied for bioanalysis: Differential pulse voltammetry and square wave voltammetry, L.T. Kubota, J.A.F. Silva (Ed.), *Tools and Trends in Bioanalytical Chemistry*, (ss. 273–282). Springer International Publishing.
- Marezzo, K. C., Basen-Engquist, K., & Hawk, E. (2023). 1 - Cancer Epidemiology, Prevention, and Survivorship, C. Hagberg, V. Gottumukkala, B. Riedel, J. Nates, & D. B. T.-P. C. of the C. P. Buggy (Ed.), *Perioperative Care of the Cancer Patient*, (ss. 3–14). Elsevier.
- Marken, F., Neudeck, A., & Bond, A. M. (2010). Cyclic Voltammetry BT - Electroanalytical Methods: Guide to Experiments and Applications (F. Scholz, A. M. Bond, R. G. Compton, D. A. Fiedler, G. Inzelt, H. Kahlert, Š. Komorsky-Lovrić, H. Lohse, M. Lovrić, F. Marken, A. Neudeck, U. Retter, F. Scholz, & Z. Stojek (Ed.), *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, (ss. 57–106). Springer Berlin Heidelberg.
- Mattiuzzi, C. and Lippi, G. (2019). Current Cancer Epidemiology. *Journal of Epidemiology and Global Health*, 9(4), 217–222. <https://doi.org/10.2991/jegh.k.191008.001>
- Mendrek, W. (2017). The role of hematopoietic stem cell transplantation in the treatment of patients with primary cutaneous lymphomas. *Hematologia*, 8(4), 280–288. <https://doi.org/10.5603/Hem.2017.0040>
- Mennucci, B., Cancès, E., Tomasi, J. (1997). Evaluation of solvent effects in isotropic and anisotropic dielectrics and in ionic solutions with a unified integral equation method: theoretical bases, computational implementation, and numerical applications. *The Journal of Physical Chemistry B*, 101(49), 10506–10517. <https://doi.org/10.1021/jp971959k>
- Mennucci, B., Cancès, E., Tomasi, J. (1997). Continuum solvation models: a new approach to the problem of solute's charge distribution and cavity boundaries. *The Journal of Chemical Physics*, 106, 5151–5158. <https://doi.org/10.1063/1.473558>
- Mohd Affandi, A., Blumetti, T. P., Wells, J., Hertzberg, M., & Fernandez-Peñas, P. (2015). Gemcitabine and vinorelbine treatment in cutaneous T-cell lymphoma in four patients. *Australasian Journal of Dermatology*, 56(4), 294–297. <https://doi.org/10.1111/ajd.12270>
- Nagaraju, K., Chowdary, Y. A., & Rao, M. V. B. (2021). Development and validation of bexarotene by bioanalytical methods using liquid chromatography-tandem mass spectroscopy (LC-MS/MS). *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(1), 28. <https://doi.org/10.1186/s43094-020-00155-6>
- Nefed'eva, Y., Ziganshin, O. R., & Startseva, E. (2018). Mycosis fungoides: Case report. *Klinicheskaya Dermatologiya i Venerologiya*, 17(4), 46–50. <https://doi.org/10.17116/klinderma20181704146>
- Northrop, P. W. C., & Cole, J. V. (2018). A pulse voltammetry analysis toolkit for battery and fuel cell material. *ECS Transactions*, 85(5), 23–42. <https://doi.org/10.1149/08505.0023ecst>

- Olsen, E. A., Whittaker, S., Kim, Y. H., Duvic, M., Prince, H. M., Lessin, S. R., Wood, G. S., Willemze, R., Demierre, M.-F., Pimpinelli, N., Bernengo, M. G., Ortiz-Romero, P. L., Bagot, M., Estrach, T., Guitart, J., Knobler, R., Sanches, J. A., Iwatsuki, K., Sugaya, M., ... Vonderheid, E. C. (2011). Clinical End Points and Response Criteria in Mycosis Fungoides and Sézary Syndrome: A Consensus Statement of the International Society for Cutaneous Lymphomas, the United States Cutaneous Lymphoma Consortium, and the Cutaneous Lymphoma Task Force of the E. *Journal of Clinical Oncology*, 29(18), 2598–2607. <https://doi.org/10.1200/JCO.2010.32.0630>
- Ozkan, S. A., Kauffmann, J.-M., & Zuman, P. (2015). Electroanalytical Method Validation method validation in Pharmaceutical Analysis and Their Applications, S. A. Ozkan, J.-M. Kauffmann, & P. Zuman (Ed.), *Electroanalysis in Biomedical and Pharmaceutical Sciences: Voltammetry, Amperometry, Biosensors, Applications* (ss. 235–266). Springer Berlin Heidelberg.
- Peng, Y., & Su, H. (2015). Recent Innovations of Molecularly Imprinted Electrochemical Sensors Based on Electropolymerization Technique. *Current Analytical Chemistry*, 11(4), 307–317. <https://doi.org/10.2174/1573411011666150326001941>
- Petrucci, R., Pasquali, M., Scaramuzza, F. A., & Curulli, A. (2021). Recent Advances in Electrochemical Chitosan-Based Chemosensors and Biosensors: Applications in Food Safety. *Chemosensors* 9(9), 254. <https://doi.org/10.3390/chemosensors9090254>
- Ramaiyer, M. S., Saad, E., Kurt, I., & Borahay, M. A. (2024). Genetic Mechanisms Driving Uterine Leiomyoma Pathobiology, Epidemiology, and Treatment. *In Genes*, 15(5), 558. <https://doi.org/10.3390/genes15050558>
- Rambla-Alegre, M., Esteve-Romero, J., & Carda-Broch, S. (2012). Is it really necessary to validate an analytical method or not? That is the question. *Journal of Chromatography A*, 1232, 101–109. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.10.050>
- Ramli, N. H., Mohamad Nor, N., Abu Bakar, A. H., Zakaria, N. D., Lockman, Z., & Abdul Razak, K. (2024). Platinum-based nanoparticles: A review of synthesis methods, surface functionalization, and their applications. *Microchemical Journal*, 200, 110280. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.110280>
- Ramya, M., Senthil Kumar, P., Rangasamy, G., Uma Shankar, V., Rajesh, G., Nirmala, K., Saravanan, A., & Krishnapandi, A. (2022). A recent advancement on the applications of nanomaterials in electrochemical sensors and biosensors. *Chemosphere*, 308, 136416. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136416>
- Rezaei, B., & Irannejad, N. (2022). Metal-based electrodes. *Electrochemical Sensors: From Working Electrodes to Functionalization and Miniaturized Devices*, G. Maruccio ve J. Narang, (ss. 51–78). Elsevier.
- Scarisbrick, J. J., Quaglino, P., Prince, H. M., Papadavid, E., Hodak, E., Bagot, M., Servitje, O., Berti, E., Ortiz-Romero, P., Stadler, R., Patsatsi, A., Knobler, R., Guenova, E., Child, F., Whittaker, S., Nikolaou, V., Tomasini, C., Amitay, I., Prag Naveh, H., ... Willemze, R. (2019). The PROCLIFI international registry of early-stage mycosis fungoides identifies substantial diagnostic delay in most patients. *British Journal of Dermatology*, 181(2), 350–357. <https://doi.org/10.1111/bjd.17258>
- Schadt, C. R. (2013). Topical and oral bexarotene. *Dermatologic Therapy*, 26(5), 400–403. <https://doi.org/10.1111/dth.12087>

- Schmidt, B., King, D., & Kariuki, J. (2018). Designing and Using 3D-Printed Components That Allow Students to Fabricate Low-Cost, Adaptable, Disposable, and Reliable Ag/AgCl Reference Electrodes. *Journal of Chemical Education*, 95(11), 2076–2080. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.8b00512>
- Shen, D., Yu, X., Wu, Y., Chen, Y., Li, G., Cheng, F., & Xia, L. (2018). Emerging roles of bexarotene in the prevention, treatment and anti-drug resistance of cancers. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 18(5), 487–499. <https://doi.org/10.1080/14737140.2018.1449648>
- Shi, K., Bai, J., & Sun, W. (2024). Advances in Modification Methods and Applications of Carbon-based Electrode Materials. *Cailiao Daobao/Materials Reports*, 38(22), 23080167-9. <https://doi.org/10.11896/cldb.23080167>
- Shiney, T. S. S. and Jerome, S. A. (2023). An Intelligent System to Enhance the Performance of Brain Tumor Diagnosis from MR Images. *Journal of Digital Imaging*, 36(2), 510–525. <https://doi.org/10.1007/s10278-022-00715-7>
- Silverstein, R. M. and Webster, F. X. (2005). Spectrometric Identification of Organic Compounds. Wiley.
- Simões, F. R., & Xavier, M. G. (2017). 6 - Electrochemical Sensors. In A. L. Da Róz, M. Ferreira, F. de Lima Leite, & O. N. B. T.-N. and its A. Oliveira (Ed.), *Micro and Nano Technologies* (ss. 155–178). William Andrew Publishing.
- Sokołowska-Wojdyło, M., Ługowska-Umer, H., & MacIejewska-Radomska, A. (2013). Oral retinoids and rexinoids in cutaneous T-cell lymphomas. *Postepy Dermatologii i Alergologii*, 30(1), 19–29. <https://doi.org/10.5114/pdia.2013.33375>
- Spitzer, P. and Wunderli, S. (2013). Reference electrodes for aqueous solutions: The hydrogen electrode. In *Handbook of Reference Electrodes*, G. Inzelt, A. Lewenstam, F. Scholz (Ed.), (ss. 77). Springer.
- Stuart, B. (2004). Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications. Wiley.
- Sun, P., Yan, M.-G., Zhang, H.-Z., Huang, Q., Zhou, L., Zhao, Y., Peng, F.-G., & Liu, P.-L. (2017). Detection of Heavy Metal Ions by Differential Pulse Stripping Voltammetry. *Dianzi Keji Daxue Xuebao/Journal of the University of Electronic Science and Technology of China*, 46(5), 784–789. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-0548.2017.05.022>
- Surewicz, W. K. and Mantsch, H. H. (1988). New insight into protein secondary structure from resolution-enhanced infrared spectra. *Biochimica et Biophysica Acta*, 952(2), 115–130. [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(88\)90107-0](https://doi.org/10.1016/0167-4838(88)90107-0)
- Suryavanshi, P. and Bodas, D. (2024). Knockout cancer by nano-delivered immunotherapy using perfusion-aided scaffold-based tumor-on-a-chip. *Nanotheranostics*, 8(3), 380–400. <https://doi.org/10.7150/ntno.87818>
- Talpur, R., Vu, J., Bassett, R., Stevens, V., & Duvic, M. (2009). Phase I/II randomized bilateral half-head comparison of topical bexarotene 1% gel for alopecia areata. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 61(4), 592.e1-592.e9. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2009.02.037>
- Talpur, R., Ward, S., Apisarnthanarax, N., Breuer-Mcham, J., & Duvic, M. (2002). Optimizing bexarotene therapy for cutaneous T-cell lymphoma. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 47(5), 672–684. <https://doi.org/10.1067/mjd.2002.124607>

- Taverniers, I., De Loose, M., & Van Bockstaele, E. (2004). Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 23(8), 535–552. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2004.04.001>
- Thestrup-Pedersen, K. (2016). Cutaneous T-Cell Lymphoma. A hypothesis on disease pathophysiology involving deficiency in DNA repair. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 30(10), 1682–1685. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jdv.13852>
- Tomasi, J., Mennucci, B., Cancès, E. (1999). The IEF version of thePCM solvation method: an overview of a new method addressed to study molecular solutes at the QM ab initio level. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 464(1-3), 211-226. [https://doi.org/10.1016/S0166-1280\(98\)00553-3](https://doi.org/10.1016/S0166-1280(98)00553-3)
- Väkevä, L., Ranki, A., & Hahtola, S. (2012). Ten-year experience of bexarotene therapy for cutaneous T-cell lymphoma in Finland. *Acta Dermato-Venereologica*, 92(3), 258–263. <https://doi.org/10.2340/00015555-1359>
- Van De Merbel, N. C., Van Veen, J. H., Wilkens, G., & Loewen, G. (2002). Validated liquid chromatographic method for the determination of bexarotene in human plasma. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 775(2), 189–195. [https://doi.org/10.1016/S1570-0232\(02\)00291-X](https://doi.org/10.1016/S1570-0232(02)00291-X)
- Vanpariya, F., Shiroya, M., & Malaviya, M. (2021). Emulgel: A Review. *International Journal of Science and Research*, 10(3), 847–852. <https://doi.org/10.21275/SR21311095015>
- Vasapallo, G., Sole, R. Del, Mergola, L., Lazoi, M. R., Scardino, A., Scorrano, S., & Mele, G. (2011). Molecularly Imprinted Polymers: Present and Future Prospective. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(9) 5908–5945). <https://doi.org/10.3390/ijms12095908>
- Vasapallo, G., Sole, R. Del, Mergola, L., Lazoi, M. R., Scardino, A., Scorrano, S., & Mele, G. (2011). Molecularly Imprinted Polymers: Present and Future Prospective. In *International Journal of Molecular Sciences*, 12(9), 5908–5945. <https://doi.org/10.3390/ijms12095908>
- Venton, B. J., & DiScenza, D. J. (2020). Chapter 3 – Voltammetry, B. Patel (Ed.), *Electrochemistry for Bioanalysis* (ss. 27–50). Elsevier.
- Vonderheid, E. C. (2003). Treatment planning in cutaneous T-Cell lymphoma. *Dermatologic Therapy*, 16(4), 276–282. <https://doi.org/10.1111/j.1396-0296.2003.01638.x>
- Vosko, S.H., Wilk, L., Nusair, M. (1980). Accurate spin-dependent electron liquid correlation energies for local spin density calculations: a critical analysis. *Canadian Journal of Physics*, 58(8), 1200–1211. <https://doi.org/10.1139/p80-159>
- Warda, A., Staniszewski, L. J. P., Sabir, Z., Livingston, S., Sausedo, M., Reshi, S., Ron, E., Applegate, M. T., Haddad, D., Khamisi, M., Marshall, P. A., Wagner, C. E., & Jurutka, P. W. (2023). Development of Bexarotene Analogs for Treating Cutaneous T-Cell Lymphomas. *Cells*, 12(21), 2575. <https://doi.org/10.3390/cells12212575>
- Weinberg, R. A. (1996). How Cancer Arises. *Scientific American*, 275(3), 62–70. <http://www.jstor.org/stable/24993349>

- Wojewoda, K., Gillstedt, M., Lewerin, C., & Osmančević, A. (2024). Sézary Syndrome in West Sweden: Exploring Epidemiology, Clinical Features, and Treatment Patterns in a Registry-Based Retrospective Analysis. *Cancers*, 16(11), 1948. <https://doi.org/10.3390/cancers16111948>
- Wu, J., Yuan, X.-Z., & Wang, H. (2011). Cyclic voltammetry. *PEM Fuel Cell Diagnostic Tools*, H. Wang, X. Yuan, H. Li (Ed.) (ss. 71–85). CRC Press.
- Xue, J., Mao, K., Cao, H., Feng, R., Chen, Z., Du, W., & Zhang, H. (2024). Portable sensors equipped with smartphones for organophosphorus pesticides detection. *Food Chemistry*, 434, 137456. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137456>
- Yamada, H., Yoshii, K., Asahi, M., Chiku, M., & Kitazumi, Y. (2022). Cyclic Voltammetry Part 1: Fundamentals. *Electrochemistry*, 90(10), 1–8. <https://doi.org/10.5796/ELECTROCHEMISTRY.22-66082>
- Yan, H., & Row, K. H. (2006). Characteristic and Synthetic Approach of Molecularly Imprinted Polymer. *International Journal of Molecular Sciences*, 7 (5), 155–178. <https://doi.org/10.3390/i7050155>
- Zahirul Kabir, M., Tayyab, H., Erkmén, C., Mohamad, S. B., & Uslu, B. (2023). Spectroscopic, voltammetric and computational approaches shed light on the combination characteristics of an anticancer agent, bexarotene with human serum albumin. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 443(6135), 114881. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2023.114881>
- Zhang, C., & Duvic, M. (2003). Retinoids: Therapeutic applications and mechanisms of action in cutaneous T-cell lymphoma. *Dermatologic Therapy*, 16(4), 322–330. <https://doi.org/10.1111/j.1396-0296.2003.01644.x>
- Zhang, C., & Duvic, M. (2006). Treatment of cutaneous T-cell lymphoma with retinoids. *Dermatologic Therapy*, 19(5), 264–271. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8019.2006.00083.x>
- Zhou, M., & Heinze, J. (1999). Electropolymerization of pyrrole and electrochemical study of polypyrrole: 1. Evidence for structural diversity of polypyrrole. *Electrochimica Acta*, 44(11), 1733–1748. [https://doi.org/10.1016/S0013-4686\(98\)00293-X](https://doi.org/10.1016/S0013-4686(98)00293-X)