



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANTİNEOPLASTİK İLAÇ ETKEN MADDESİ
5-FLUOROURASİL' İN Cu(II) İLE OLUŞTURDUĞU
YENİ METAL BAZLI İLAÇ TASARIMI, ENJEKSİYON
ÇÖZELTİLERİNDEN VE BİYOLOJİK MATERYALLERDEN
MİKTAR TAYİNİ ÇALIŞMASI

FATMA ÇELLO ATAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANA BİLİM DALI

KAHRAMANMARAŞ 2015

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANTİNEOPLASTİK İLAÇ ETKEN MADDESİ
5-FLUOROURASİL' İN Cu(II) İLE OLUŞTURDUĞU
YENİ METAL BAZLI İLAÇ TASARIMI, ENJEKSİYON
ÇÖZELTİLERİNDEN VE BİYOLOJİK MATERYALLERDEN
MİKTAR TAYİNİ ÇALIŞMASI

FATMA ÇELLO ATAŞ

Bu tez,
Kimya Anabilim Dalında
YÜKSEK LİSANS
derecesi için hazırlanmıştır.

KAHRAMANMARAŞ 2015

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Fatma ÇELLO ATAŞ tarafından hazırlanan ANTİNEOPLASTİK İLAÇ ETKEN MADDESİ 5-FLUOROURASİL' İN Cu(II) İLE OLUŞTURDUĞU YENİ METAL BAZLI İLAÇ TASARIMI, ENJEKSİYON ÇÖZELTİLERİNDEN VE BİYOLOJİK MATERYALLERDEN MİKTAR TAYİNİ ÇALIŞMASI' adlı bu tez, jürimiz tarafından 26 / 01 /2015 tarihinde oy birliği ile Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ayşegül GÖLCÜ (DANIŞMAN)

.....

Kimya Bölümü Anabilim Dalı

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Prof. Dr. Mehmet TÜMER (ÜYE)

.....

Kimya Bölümü Anabilim Dalı

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Prof. Dr. M. Kemal KIYMIK (ÜYE)

.....

Elektrik Elektronik Mühendisliği Anabilim Dalı

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Mustafa Şekkeli

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Fatma ÇELLO ATAŞ

Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi ve TÜBİTAK fonu tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 2013/1-5 YLS ve 112T721

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

**ANTİNEOPLASTİK İLAÇ ETKEN MADDESİ 5-FLUOROURASIL' İN
Cu(II) İLE OLUŞTURDUĞU YENİ METAL BAZLI İLAÇ TASARIMI,
ENJEKSİYON ÇÖZELTİLERİNDEN VE BİYOLOJİK MATERYALLERDEN
MİKTAR TAYİNİ ÇALIŞMASI
(YÜKSEK LİSANS TEZİ)**

FATMA ÇELLO ATAŞ

ÖZET

Bu tez çalışmasında antineoplastik ilaç etken maddesi olan 5-FU, Cu(II) iyonu ile etkileştirilerek, yeni metal bazlı bir ilaç sentezlenmiştir. Metal bazlı bu ilacın yapısı aydınlatılması için analitik (erime noktası, elementel analiz, itk) ve enstrümental tekniklerden (UV, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve MS) yararlanılmıştır.

UV-vis tekniği kullanılarak spektrofotometrik yöntem ile 5-FU'nun kantitatif tayini yapılmıştır. 5-FU'nun anne sütü, idrar ve serumda spektrofotometrik tayini yapılmıştır. Ayrıca 5-FU'nun ve metal bazlı ilacın fotolüminesans tekniği ile fotofiziksel özellikleri de incelenmiştir.

5-FU'nun yükseltgenme özellikleri camı karbon elektrot üzerinde geniş pH aralığında, dönüşümlü voltametri (CV), diferansiyel puls voltametrisi (DPV), kare dalga voltametrisi (KDV) teknikleri kullanılarak incelenmiştir. 5-FU'nun elektrokimyasal yöntem ile anne sütü, idrar ve serum etkisi incelenmiştir .

Metal bazlı ilacın çift sarmal fish sperm deoksiribonükleik asit (FSdsDNA) ile etkileşimleri spektrofotometrik (UV-Vis absorpsiyon) olarak incelenmiştir. Elde edilen spektroskopik sonucuna göre DNA bağlanma sabiti (K_b) hesaplanmış ve bulunan sonuçlar benzer çalışmalara ait sonuçlarla kıyas edilmiştir.

Ayrıca 5-FU ve Cu (II) kompleksinin farklı konsantrasyonlarında C6 ve HeLa hücre hatlarına karşı antikanser aktivitesi incelenmiştir.

Anahtar kelime: 5-Fluorourasil, voltametri, spektrofotometri, fotolüminesans

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı, Şubat / 2015

Danışman: Prof. Dr. Ayşegül GÖLCÜ

Sayfa sayısı: 129

**NEW METAL BASED DRUG DESIGN OF 5-FLUOROURACIL WHICH IS
ANTINEOPLASTIC DRUG AGENT WITH Cu (II) : A QUANTITATION STUDY
FROM INJECTION SOLUTIONS AND BIOLOGICAL MATERIALS
(M.Sc. THESIS)**

FATMA ÇELLO ATAŞ

ABSTRACT

In this study, Cu (II) metal complex of the antineoplastic drug 5-FU has been synthesized. Analytical (melting point, elemental analysis, ^{13}C NMR and ^1H NMR) and instrumental (UV, IR, ^{13}C -NMR and Mass) techniques were used to characterize the complex.

The quantitative determination of 5-FU was made by using UV-Vis. technique. 5-FU was made spectrophotometric determination in breast, urine and serum. Beside these, photophysical properties of both 5-FU and its metal complex were investigated by photoluminescence technique.

Oxidation properties of 5-FU has been investigated by using cyclic voltammetry (CV), differential pulse voltammetry (DPV), and square wave voltammetry (SWV) in a wide pH range, by using glassy carbon electrode. 5-FU in breast milk, urine, and blood serum were investigated by electrochemical techniques.

The effect of metal complex to fish sperm on double stranded DNA (FSdsDNA) was investigated by (UV-Vis.) techniques. Binding constants (K_b) of metal complex was calculated with help of spectroscopic results.

Also 5-FU and its Cu (II) complexes were examined anticancer activity against at different concentrations of C6 the HeLa cell line.

Key Words: 5-Fluorouracil, voltammetry, spectrophotometry, photoluminescence

University of Kahramanmaraş Sütçü İmam
Institute for Graduate Studies in Technology
Department of Chemistry, February / 2015

Supervisor: Prof. Dr. Ayşegül GÖLCÜ

Page number: 129

TEŞEKKÜR

Tezimin başlangıç aşamasından bitimine kadar geçen süreçte desteklerini esirgemeyen ve katkılarından dolayı Sayın Danışman Hocam Prof. Dr. Ayşegül GÖLCÜ' ye en içten dileklerimle teşekkürlerimi sunarım.

Öğrenim hayatımdaki katkılarından dolayı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Mehmet TÜMER' e şükranlarımı sunarım.

Tezimin hazırlanma aşamasında yardım ve katkılarından dolayı ekip arkadaşlarım Derya TARINÇ' a, Mustafa ÇEŞME' ye, Badel DOLAZ'a , Özge EREN'e çok teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili aileme yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
TABLolar DİZİNİ	XII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİN	XIV
1. GİRİŞ	1
1.1 İlaç Nedir?	1
1.2 Kanser Nedir?	1
1.3. Antineoplastik (Antikanser) İlaçlar	2
1.3.1. Antineoplastik ilaçların sınıflandırılması	3
1.3.2. Alkilleyici ilaçlar	3
1.3.2.1. Azotlu hardallar	3
1.3.2.2. Etileniminler	3
1.3.2.3. Alkilsulfonatlar	3
1.3.2.4. Nitrozoüreler	4
1.3.2.5. Triazen ve Hidrazen türevleri	4
1.4. Antimetabolitler	4
1.4.1. Folik asit antimetabolitleri	4
1.4.2. Purin antimetabolitleri	4
1.4.3. Pirimidin antimetabolitleri	4
1.4.4. Bitkisel kaynaklı antineoplastik ilaçlar	5
1.4.5. Antibiyotikler	5
1.4.6. Hormonlar ve hormon antagonistleri	5
1.4.7. Diğer antineoplastik ilaçlar	6
1.5. Antineoplastik Kemoterapide İlaçların Etkinliğini Kısıtlayan Faktörler	6
1.5.1. Tümör biyolojisi veya tümör ilaç etkileşmesi ile ilgili faktörler	6
1.5.2. İlacın farmakokinetiği ve farmakolojisi ile ilgili faktörler	6
1.5.3. İlaça rezistans gelişmesi	7
1.5.4. Hasta ile ilgili faktörler	7
1.5.5. Antineoplastik ilaçların yan etkileri	7
1.6. 5-FU	8
1.6.1. 5-FU'nun kimyasal yapısı	10
1.7. Spektroskopisi	10

Sayfa No

1.7.1 Ultraviyole ve görünür bölge moleküler absorpsiyon spektroskopisi.....	12
1.7.2. İnfrared spektroskopisi (titreşim spektroskopisi).....	13
1.7.3 Kütle spektroskopisi.....	14
1.7.4. Nükleer magnetik rezonans spektroskopisi (NMR).....	15
1.8. Analitik Yöntem Validasyonu (Yöntem Geçerlilik Testleri).....	16
1.8.1. Validasyon karakteristikleri.....	16
1.8.1.1 Doğruluk.....	16
1.8.1.2. Kesinlik.....	17
1.8.1.3 Seçicilik.....	17
1.8.1.4. Teşhis sınırı.....	17
1.8.1.5. Tayin alt sınırı (TAS).....	18
1.8.1.6. Doğrusallık.....	18
1.8.1.7. Aralık.....	18
1.8.1.8. Kararlılık.....	19
1.8.1.9. Tutarlılık.....	19
1.8.1.10. Stabilite.....	19
1.9 Elektrokimya.....	19
1.9.1 Elektrokimyasal hücreler ve tepkimeler.....	19
1.9.2. Elektroanalitik yöntemler.....	21
1.10. Voltametri.....	22
1.10.1 Voltametrik elektrokimyasal analizde kullanılan elektrotlar.....	24
1.10.2. Voltametri de kullanılan uyarma sinyalleri.....	36
1.10.2.1 Doğrusal taramalı voltametri.....	37
1.10.2.2 Dönüşümlü voltametri.....	37
1.10.2.3. Diferansiyel puls polarografisi.....	39
1.10.2.4 Kare dalga polarografisi ve voltametrisi.....	40
1.11. İlaç-DNA etkileşimi.....	40
1.12.Fotoluminesans.....	45
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	47
3.MATERYAL METOT.....	60
3.1.Materyal.....	60
3.1.1.Kullanılan kimyasal maddeler.....	60
3.1.2.Kullanılan cihazlar.....	60
3.2. Metod.....	61
3.2.1. 5-FU'nun metal kompleksinin sentezi.....	61
3.2.1.1. [Cu(5-Fu) ₂ Cl ₂].H ₂ O kompleksinin sentezi.....	62
3.2.2. Antikanser aktivite çalışmaları.....	62
3.2.3. 5-FU'nun miktar tayini çalışmaları.....	62
3.2.3.1. 5-FU'nun spektrofotometrik miktar tayini çalışmaları.....	62
3.2.3.1.1. Standart maddenin stok çözeltisi.....	62

	<u>Sayfa No</u>
3.2.3.1.2. Biyolojik sıvıların stok çözeltisi.....	63
3.2.3.1.3. Spektrofotometrik yöntemin biyolojik sıvılara uygulanması.....	63
3.2.3.1.4. Geri kazanım çalışmaları.....	63
3.2.4. 5-FU'nun elektrokimyasal çalışmaları.....	63
3.2.4.1. Standart maddenin stok çözeltisi.....	63
3.2.4.2. Tampon çözeltiler ve hazırlanışları.....	64
3.2.5. Komplekslerin termal davranışları.....	64
3.2.6. Tampon çözeltiler ve hazırlanışları.....	64
3.2.6.1. FSdsDNA çözeltisinin hazırlanışı.....	64
3.2.6.2. İlaç-FSdsDNA etkileşim çalışmaları.....	64
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	68
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	108
KAYNAKLAR.....	114

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. 5-FU' nun Kimyasal Yapısı	10
Şekil 1.2. Genel elektrokimyasal hücre şeması.....	20
Şekil 1.3. Çeşitli çalışma elektrotlarına ait çalışma potansiyeli aralıkları.....	26
Şekil 1.4 Karbon pastası elektrotunun şematik olarak gösterimi.	31
Şekil 1.5. Camsı karbon elektrodun amorf yapısı	32
Şekil 1.6. Perde baskılı karbon elektrotun şematik olarak gösterimi.....	33
Şekil 1.7. Karbon-fiber elektrotun şematik olarak gösterimi.....	34
Şekil 1.8. Kalem grafit elektrotun şematik olarak gösterimi.....	35
Şekil 1.9. Voltametrizde kullanılan potansiyel uyarma sinyalleri.....	37
Şekil 1.10. (a) Dönüşümlü voltametrizde elektroda uygulanan gerilimin zamana karşı grafiği ; (b) Dönüşümlü voltametrizde elde edilen akım-gerilim eğrisi.....	38
Şekil 1.11. Diferansiyel puls polarografisi için uyarma sinyalleri; (a) Analog cihazlarda diferansiyel puls voltametrisi için kullanılan uyarma sinyali; (b) Diferansiyel puls voltametrisinde elde edilen bir voltamogram.....	39
Şekil 1.12. Bir kare-dalga voltametrisinde uyarma sinyalinin oluşumu [(a) daki uyarma sinyali (b)“deki puls taraması ile (c)“deki kare-dalga uyarma sinyalini elde edecek şekilde toplanıyor].....	40
Şekil 1.13. Nükleik asiti oluşturan kısımlar.....	41
Şekil 1.14. DNA çift sarmalı.....	42
Şekil 1.15. DNA'nın kopyalanması.....	43
Şekil 1.16. DNA'ya interkalasyon bağlanma türü.....	44
Şekil 1.17. DNA'ya minör oluk bağlanma türü.....	44
Şekil 1.18 Fotoluminesans'ın çalışma prensibi.....	46
Şekil 2.1 Valasiklovir'in kimyasal yapısı.....	48
Şekil 2.2. cis-[Pt (NH) (HFU)] kimyasal yapısı.....	49
Şekil 2.3 Norfloksasinin Ag(I) Kompleksinin Sentezi.....	50
Şekil 2.4. Valsartan'ın kimyasal yapısı.....	51

Şekil 2.5. 1×10^{-5} M $[\text{Cu}(\text{OFL})\text{Cl}_2](\text{H}_2\text{O})$ 'nin tampon çözelti varlığında artan ct-DNA konsantrasyonundaki UV-Vis spektrumu.....	56
Şekil 2.6. 1×10^{-5} M $[\text{Zn}(\text{ASK})\text{Cl}_2]5\text{H}_2\text{O}$ 'nin artan ct-DNA konsantrasyonundaki UV-Vis spektrumu.....	57
Şekil 2.7. 1×10^{-4} M $[\text{Cu}(\text{VAL})\text{Cl}_2]$ in tampon çözelti içerisinde artan ct-DNA konsantrasyonundaki UV-Vis spektrumu.....	58
Şekil.2.8 1×10^{-5} M PRX (a) ve 1×10^{-5} M $[\text{Pt}(\text{PRX})_2.5\text{H}_2\text{O}$ (b)'nin artan konsantrasyonundaki elektronik absorpsiyon spektrumu.....	59
Şekil 2.9. Mitoksantron'un farklı oranlarda DNA ile etkileşiminin absorpsiyon spektrumu.....	59
Şekil 2.10. (1) Sadece 2.95×10^{-5} M ct-dsDNA (2) sadece 2.58×10^{-5} M LPT (3-6) 2.95×10^{-6} M - 4.72×10^{-5} M aralığındaki DNA'nın UV-vis spektrumu.....	60
Şekil 2.11. Tamoksifen'in kimyasal yapısı.....	60
Şekil 2.12. Doksorubisin-DNA etkileşiminin moleküler yerleştirme çalışmaları ile şematize edilmesi.....	61
Şekil 2.13. 100.0 μM Dakarbazin ile 0-60 μM konsantrasyon aralığındaki DNA'nın UV-vis absorpsiyon spektrumu.....	62
Şekil 3.1. $[\text{Cu}(\text{Cl})_2(5\text{FU})](\text{H}_2\text{O})$ kompleksinin sentezi.....	64
Şekil 4.1. 5-FU ilaç etken maddesinin ^1H -NMR spektrumu.....	68
Şekil 4.2. 5-FU ilaç etken maddesinin ^{13}C -NMR spektrumu.....	68
Şekil 4.3. 5- FU ve $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2].\text{H}_2\text{O}$ kompleksinin FT-IR spektrumları.....	69
Şekil 4.4. $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2].\text{H}_2\text{O}$ kompleksinin kütle spektrumu.....	70
Şekil 4.5. 1×10^{-5} M 5-FU ilaç etken maddesinin UV-Vis spektrumu.....	71
Şekil 4.6. 1×10^{-5} M $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2].\text{H}_2\text{O}$ kompleksinin DMSO-metanol çözücü karışımı ortamında UV-Vis spektrumu.....	71
Şekil 4.7. $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2].\text{H}_2\text{O}$ kompleksinin DTA-TG eğrisi.....	72
Şekil 4.8. 5-FU'nun fotolüminesanstaki 1×10^{-1} - 1×10^{-7} M konsantrasyon aralığındaki emisyon spektrumu.....	73
Şekil 4.9. 5-FU'nun fotolüminesanstaki 1×10^{-3} - 1×10^{-7} M konsantrasyon aralığındaki excitasyon spektrumu.....	73

Şekil 4.10. 5-FU'nun fotolüminesanstaki farklı çözücülerdeki çözücülerdeki (1×10^{-3} M Metanol, Diklorometan, Etanol, Aseton, DMF) emisyon spektrum.....	74
Şekil 4.11. 5-FU'nun fotolüminesanstaki farklı çözücülerdeki (1×10^{-3} M Metanol, Diklorometan, Etanol, Aseton, DMF) exitasyon spektrumu.....	76
Şekil 4.12. 5-FU'nun fosfat tamponundaki farklı pH (2-12)' lardaki emisyon spektrumu.....	76
Şekil 4.13. 5-FU'nun fosfat tamponundaki farklı pH (2-12)' lardaki excitation spektrumu.....	76
Şekil 4.14. 5-FU'nun 1×10^{-3} - 1×10^{-7} M konsantrasyon aralığındaki fotolüminesans spektrumu.....	77
Şekil 4.15. $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ kompleksinin 1×10^{-3} - 1×10^{-7} M konsantrasyon aralığındaki fotolüminesans spektrumu.....	78
Şekil 4.16 3×10^{-4} M $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ kompleksinin dönüşümlü voltamogramı(pH2)...	79
Şekil 4.17 3×10^{-4} M $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ kompleksinin dönüşümlü voltamogramı(pH5)...	80
Şekil 4.18 3×10^{-4} M $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ kompleksinin dönüşümlü voltamogramı(pH7)...	80
Şekil 4.19 3×10^{-4} M $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ kompleksinin dönüşümlü voltamogramı(pH9)...	81
Şekil 4.20 3×10^{-4} M $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ kompleksinin dönüşümlü voltamogramı(pH12)...	81
Şekil 4.21. 3×10^{-4} M $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ kompleksinin E_{pa} -pH diyagramı.....	82
Şekil 4.22. 3×10^{-4} M $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ kompleksinin I_p -pH diyagramı.....	82
Şekil 4.23. 3×10^{-4} M $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ kompleksinin hız voltamogramı(pH2).....	83
Şekil 4.24. 3×10^{-4} M $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ kompleksinin I_p -kök ν diyagramı(pH2).....	84
Şekil 4.25. 3×10^{-4} M $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ kompleksinin log I_p -log ν diyagramı(pH2).....	84
Şekil 4.26. 5-FU'nun antikanser aktivitesine ait veriler.....	85
Şekil 4.27. $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ kompleksinin antikanser aktivitesine ait veriler.....	85
Şekil 4.28. Oksaliplatinin antikanser aktivitesine ait veriler.....	86
Şekil 4.29. Karboksiplatinin antikanser aktivitesine ait veriler.....	86
Şekil 4.30. 1×10^{-4} M 5-FU'nun saf su içerisinde UV-Vis spektrumu.....	87
Şekil 4.31. 1×10^{-4} M 5-FU'nun pH 2-4 BR tamponundaki spektrumları.....	88
Şekil 4.32. 1×10^{-4} M 5-FU'nun pH 5-12 BR tamponundaki spektrumları.....	88
Şekil 4.33. 1×10^{-4} M 5-FU'nun pH 3.5-5.5 asetat tamponundaki spektrumları.....	89

Şekil 4.34. 1×10^{-4} M 5-FU'nun pH 2-5 Fosfat tamponundaki spektrumları.....	89
Şekil 4.35. 1×10^{-4} M 5-FU'nun pH 6-12 Fosfat tamponundaki spektrumları.....	90
Şekil 4.36. 1×10^{-4} M 5-FU'nun spektrumlarından okunan pH değişiminin absorbans (a) ve dalga boyu (b) üzerindeki etkileri; (□) Britton-Robinson (0.04M); (χ) fosfat (0.2M) ve (Δ) asetat tamponları (0.2M).....	91
Şekil 4.37. 5-FU'nun pH 5.5 Asetat tamponu çözeltisi içinde 1×10^{-5} – 5×10^{-5} M derişim aralığında elde edilen spektrumları.....	91
Şekil 4.38. 5-FU'nun pH 5.5 Asetat tamponu ortamındaki insan serumu içinde 2×10^{-5} – 6×10^{-5} M derişim aralığında elde edilen spektrumları.....	92
Şekil 4.39. 5-FU'nun pH 5.5 Asetat tamponu ortamındaki anne sütündeki 1×10^{-6} – 8×10^{-6} M derişim aralığında elde edilen spektrumları.....	92
Şekil 4.40. 5-FU'nun pH 5.5 Asetat tamponu ortamındaki idrardaki 1×10^{-5} – 4×10^{-5} M derişim aralığında elde edilen spektrumları.....	93
Şekil 4.41. 1×10^{-4} M 5-FU in farklı tampon çözeltiler içerisindeki dönüşümlü voltamogramları (a) 0,5 M H_2SO_4 çözeltisi (b) pH 2 Fosfat tamponu (c) pH 5 BR tamponu (d) pH 8 BR tamponları.....	95
Şekil 4.42. 1×10^{-4} M 5-FU in farklı tampon çözeltiler içerisindeki dönüşümlü voltamogramları a) 0,5 M H_2SO_4 çözeltisi (b) pH 2 Fosfat tamponu (c) pH 5 BR tamponu (d) pH 8 BR tamponları	96
Şekil 4.43. DV voltamogramlarından okunan 1×10^{-4} M 5-FU pikine ait pH değişiminin potansiyel (a) ve akım (b) üzerindeki etkileri; 0.04 M Britton-Robinson (Δ), 0.2 M asetat (χ) ve 0.2 M fosfat tamponları (□).....	97
Şekil 4.44. DPV voltamogramlarından okunan 1×10^{-4} M 5-FU pikine ait pH değişiminin potansiyel (a) ve akım (b) üzerindeki etkileri; 0.04 M Britton-Robinson (Δ), 0.2 M asetat (χ) ve 0.2 M fosfat tamponları (□).....	98
Şekil 4.45. KDV voltamogramlarından okunan 1×10^{-4} M 5-FU çözeltisine ait pH değişiminin potansiyel (a) ve akım (b) üzerindeki etkileri; 0.04 M Britton-Robinson (Δ), 0.2 M asetat (χ) ve 0.2 M fosfat tamponları (□).....	99
Şekil 4.46. 5×10^{-4} M 5-FU pH 5.5 Asetat tamponu içerisinde tekrarlanan dönüşümlü voltamoğramı.....	100

Şekil 4.47. 5×10^{-4} M 5-FU' in asetat tamponunda pH 5.5 farklı tarama hızlarına ait voltamogramlar. Tarama hızı (a) 1000 mV s^{-1} (b) 750 mV s^{-1} (c) 500 mV s^{-1} (d) 250 mV s^{-1} (e) 100 mV s^{-1} (f) 50 mV s^{-1} (g) 25 mV s^{-1} (h) 10 mV s^{-1}	100
Şekil 4.48. 5×10^{-4} M 5-FU'nun pH 5.5 Asetat tamponunda pik akımının kök v' 'ye (a) $\log i_p$ nin $\log v'$ 'ye (b) etkisi.....	101
Şekil 4.49. DPV'nin (1) destek, (2) 2×10^{-5} M, (3) 4×10^{-5} M, (4) 6×10^{-5} M, (5) 8×10^{-5} M 5-FU'nun pH 5.5 asetat tamponunda anne sütü karibrasyonuna ait voltamogram.....	102
Şekil 4.50. KDV'nin (1) destek, (2) 2×10^{-5} M, (3) 4×10^{-5} M, (4) 6×10^{-5} M, (5) 1×10^{-4} M 5-FU'nun pH 5.5 asetat tamponunda anne sütü karibrasyonuna ait voltamogramı.....	102
Şekil 4.51. DPV'nin (1) 2×10^{-5} M, (2) 4×10^{-5} M, (3) 6×10^{-5} M, (4) 1×10^{-4} M, (5) 2×10^{-4} M 5-FU'nun pH 5.5 asetat tamponunda serum karibrasyonuna ait voltamogram.....	103
Şekil 4.52. KDV'nin (1) 2×10^{-5} M, (2) 4×10^{-5} M, (3) 6×10^{-5} M, (4) 1×10^{-4} M, 5-FU'nun pH 5.5 asetat tamponunda serum karibrasyonuna ait voltamogram.....	103
Şekil 4.53. DPV'nin (1) 2×10^{-5} M, (2) 4×10^{-5} M, (3) 6×10^{-5} M, (4) 8×10^{-5} M, (5) 1×10^{-4} M 5-FU'nun pH 5.5 asetat tamponunda idrar karibrasyonuna ait voltamogram.....	104
Şekil 4.54. KDV'nin (1) 2×10^{-5} M, (2) 4×10^{-5} M, (3) 6×10^{-5} M, (4) 1×10^{-4} M, 5-FU'nun pH 5.5 asetat tamponunda idrar karibrasyonuna ait voltamogram.....	104
Şekil 4.55. 2×10^{-5} M 5-FU ilaç etken maddesinin tris-HCl (pH 7) tampon çözelti ortamında artan fish sperm DNA konsantrasyonlarındaki UV spektrumu.....	106
Şekil 4.56. 1×10^{-5} M $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})]$ kompleksinin tris-HCl (pH 7) tampon çözelti ortamında artan fish sperm DNA konsantrasyonlarındaki UV spektrumu.....	107
Şekil 5.1. 5-FU'nun FSdsDNA'ya kısmi interkalasyon bağlanma türü ile bağlanması....	111
Şekil 5.2. $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ kompleksinin FSdsDNA'ya elektrostatik bağlanma türü ile bağlanması.....	112

TABLÖLER DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 3.1. Kullanılan kimyasal maddeler.....	63
Tablo4.1.[Cu(5-Fu) ₂ Cl ₂ (H ₂ O)]kompleksinin analitik ve fiziksel sonuçları.....	69
Tablo 4.2. [Cu(5-Fu) ₂ Cl ₂ (H ₂ O)] kompleksinin IR sonuçları (cm ⁻¹).....	70
Tablo4.3. 5-FU farklı konsantrasyon ve farklı çözücü ortamlarında ki emisyon ve excitation değerleri.....	78
Tablo 4.4. [Cu(5-Fu) ₂ Cl ₂ (H ₂ O)] kompleksinin farklı konsantrasyon ve farklı çözücü ortamlarındaki emisyon ve excitation değerleri.....	75
Tablo 4.5 . 5-FU' nun pH 5.5 Asetat tamponu ortamındaki UV-Vis tekniği ile elde edilen kalibrasyon eğrisine ait regresyon analizi sonuçları ve gerekli parametreleri.....	94
Tablo 4.6. 5-FU' nun DPV ve KDV teknikleri ile elde edilen kalibrasyon eğrisine ait regresyon analizi sonuçları ve gerekli validasyon parametreleri.....	105
Tablo.4.7. 5- FU ve [Cu(5-Fu) ₂ Cl ₂ (H ₂ O)] kompleksinin K _b sabitleri.....	107

SİMGELER VE KISALTMALAR

$\lambda_{\max}$	:Maksimum Dalga Boyu
°C	:Derece Santigrat
g	:Gram
ml	:Mililitre
mmol	:Milimol
DMSO	:Dimetil Sulfoksit
BRT	: Britton-Robinson Tamponu
DV (CV)	:Dönüşümlü Voltametri
DPV	:Diferansiyel Puls Voltametrisi
KDV	: Kare Dalga Voltametrisi
UV-Vis	: Ultraviole –Görünür Bölge Spektroskopisi
MA	:Molekül Ağırlığı
5-FU	:5-Fluorourasil

1.GİRİŞ

1.1. İlaç Nedir?

İlaç, canlı hücre üzerinde meydana getirdiği tesir ile bir hastalığın teşhisini, iyileştirilmesi veya semptomlarının azaltılması amacıyla tedavisini veya bu hastalıktan korunmayı mümkün kılan, canlılara değişik uygulama yöntemleri ile verilen doğal, yarı sentetik veya sentetik kimyasal preparatlardır. İlaçlar uygulama yoluna, kimyasal özelliklerine ve etkilediği biyolojik sistemlere göre sınırlandırılabilir. İlaçların kimyasal yapıları ile fizyolojik etkileri arasında bağlantı yoktur. Örneğin; alkollerin hem hipnotik, hem analgesik, hem de antibiyotik etkileri vardır. Çeşitli aminler de analgesik, antihistaminik ve antimalarial etki gösterebilir. Bu nedenle ilaçlar genellikle fizyolojik etkilerine göre sınıflandırılır:

1. Sinir sistemini etkileyen ilaçlar
 1. Merkezi sinir sistemini etkileyen ilaçlar
 1. Anestetik ilaçlar
 2. Hipnotik ve sedatif ilaçlar
 3. Analgesik ilaçlar
 2. Perifer sinir sistemini etkileyen ilaçlar
 3. Otonom sinir sistemini etkileyen ilaçlar
 1. Kalp ve damar sistemini etkileyen ilaçlar
 2. Sindirim sistemini ve bağırsakları etkileyen ilaçlar
 3. Solunum sistemini etkileyen ilaçlar
 4. Kemoterapik etki gösteren ilaçlar
 5. Vitaminler ve hormonlar
 6. Dezenfektan ve antiseptik etki gösteren ilaçlar

[<http://tr.wikipedia.org/wiki/%C4%B0la%C3%A7>]

1.2 Kanser

Kanser, hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalması, invazif nitelik kazanması ve metastaz yapması ile kendini gösteren ve halen gelişmiş ülkelerin ölüm istatistiklerinde kalp-damar hastalıklarından sonra ikinci sırada yer alan öldürücü bir hastalıktır. Genel olarak bakıldığında erişkin kanser hastalarında sağ kalım 1960' larda %39 iken bu oran 1990' larda %60' a ulaşmıştır. Sağ kalım oranlarında görülen bu artış, kombine tedavi yaklaşımının bir sonucudur. Günümüzde kanser tedavisi cerrahi, kemoterapi ve radyoterapinin kombinasyonu

şeklinde uygulanmaktadır. İlkinde amaç tümörlü doku veya organın uzaklaştırılması, son ikisinde ise kanser hücrelerinin öldürülmesidir [1,2].

1.3. Antineoplastik (Antikanser) ilaçlar

Antikanser ilaçların çoğu sitotoksik etkileri ile malign hücrelerin büyüme ve çoğalmalarını önlerler ve onların ölümüne yol açarlar. Radikal bir tedavi vücutta tek bir malign hücre kalmaksızın yok edilmesi ile mümkündür. Ancak böyle bir durum az sayıdaki istisnalar dışında halen var olan ilaçlarla sağlanamamaktadır. Antineoplastik ilacın terapötik etkinliğini kısıtlayan önemli bir faktör, tümör hücrelerinin ilaca azalmış hassasiyeti, bir başka deyişle ilaca karşı direnç gelişimidir. Bu durum bazı kanser türünde kendiliğinden olabildiği gibi (doğal veya primer rezistans), kemoterapiden sonra da gelişebilir (kazanılmış veya sekonder rezistans) [2].

Antineoplastik ilaçlar, hücre bölünmesini ve dolayısıyla çoğalmasını inhibe ederler. Antineoplastik ilaçların kanser hücrelerine karşı olan selektiflikleri azdır. Çünkü malign hücre ile normal insan hücresi arasında kalitatif bakımdan fazla fark yoktur. Bu nedenle, antineoplastik ilaçlar, kanser hücrelerini yok ettikleri gibi, hızlı bir biçimde çoğalmakta olan normal hücreleri de yok edebilirler. En fazla etkilenen hücreler şunlardır;

- Kemik iliği,
- Gonadlar,
- Gastro-intestinal kanal,
- Cilt (özellikle kıl folikülü hücreleri).

Ayrıca böbrek, karaciğer gibi, nispeten yavaş çoğalan hücreleri de etkilerler. Antineoplastik ilaçların terapötik indeksleri antimikrobik ilaçlara göre çok düşüktür. Yeterli bir başarı şansı öngörülüyorsa kullanılmamalıdır.

Alkilleyici İlaçlar

Antimetabolitler

Antineoplastik Bitkisel Kaynaklı İlaçlar

İlaçlar Antitümör Antibiyotikler

Hormonlar ve hormon antagonistleri

Diğer İlaçlar

1.3.1. Antineoplastik ilaçların sınıflandırılması

Antineoplastik ilaçlarla ilgili önemli bir özellik de bu ilaçların bazılarının döneme özgü ilaçlar olmasıdır. Bunlar hücre çoğalması ile ilgili dinamik olaylar üzerinde etkindirler. Diğerleri ise, malign hücre ister istirahat döneminde olsun, isterse bölünme döneminden geçiyor olsun, her zaman etkilidirler. Bunlara da döneme-özü olmayan ilaçlar denir.

1.3.2. Alkilleyici ilaçlar

Hücrede DNA çift zincirinde birden fazla noktaya kovalent bağla bağlanarak DNA molekülünü alkilerler. Protein ve enzimleri de alkilleyerek hücrelerde solunumu ve ara metabolizmayı da bozarlar. Döneme özü olmayan tipte ilaçlardır.

1.3.2.1. Azotlu hardallar

- Biskloretilamin
- Siflofosfamid (Endoxan)
- Mekloretilamin (Mustargen)
- Klorambusil (Leukeran)
- Melfalan (Alkeran)

1.3.2.2. Etileniminler

- Tiotepa (Thiotepa)
- Trietilenmelamin

1.3.2.3. Alkilsulfonatlar

- Busulfan (Myleran)

1.3.2.4. Nitrozoüreler

- Karmustin (Bi CNU)
- Lomustin (CİNU)
- Semustin
- Streptosin (Zanosar)

1.3.2.5. Triazen ve hidrazen türevleri

- Dakarbazin (DTIC)
- Prokarbazin (Natulan)

1.4. Antimetabolitler

DNA, RNA, proteinler ve diğer hücre komponentlerinin sentez zincirinde rol oynayan doğal metabolitlerin analoglarıdır. Bu grup ilaçlar, metabolit senteziyle ilgili bir enzimi irreversible olarak inhibe ederler. Döneme-özü ilaçlardır. Çoğalma fraksiyonu yüksek tipteki tümörlere etkilidirler.

1.4.1. Folik asit antimetabolitleri

- Ametopterin (Metotreksat)

1.4.2. Purin antimetabolitleri

- Merkaptopurin (Purinethol)
- 6-Tiyoguanin (thioguanine-Wellcome)

1.4.3. Pirimidin antimetabolitleri

- Sitarabin (Alexan)
- 5-Fluorourasil (Fluoro-Uracil)
- Azauridin
- Azasitidin

1.4.4. Bitkisel kaynaklı antineoplastik ilaçlar

Etkilerini mitozun metafaz döneminde, mikrotübüllerden ibaret olan mitoz (M) iğciklerinin oluşmasını önleyerek gösterirler. M dönemine-özü ilaçlardır.

- Vinblastin (Velve)
- Vinkristin (Oncovin)
- Demekolsin
- Podofilotoksin
- Etopozid: VP-16 (Vepesid)
- Tnipozid (VM 26-Bristol)
- Vindesin (Eldesine)

1.4.5. Antibiyotikler

Çeşitli mikroorganizmaların kültürlerinden elde edilirler.

- Doksorubisin (Adriblastina)
- Daunorubisin (cerubidin)
- Bleomisin (Bleocin)
- Mitomisin
- Mitramisin
- Epirubisin

1.4.6. Hormonlar ve hormon antagonistleri

Bazı malign tümör hücreleri, bir hormon tarafından baskı altında tutulan hücrelerden kaynaklanır. Bu durumda hormonlar kullanılabilir. Bazı tümör grupları da hormon tarafından stimüle edilen dokulardan kaynaklanır. Bu tip tümörlerde de hormon antagonistleri kullanılabilir.

- Glukokortikid hormonlar
- Östrojenler
- Projestinler
- gnRH (Gonadotropin salıverici hormon)
- antiandrojenler

1.4.7. Diğer antineoplastik ilaçlar

- sisplatin (cisplatyl)
- l-Asparaginaz (Crasnitin)
- hidroksiüre (Hydrea)
- amsakrin (Amsidyl)

1.5. Antineoplastik Kemoterapide İlaçların Etkinliğini Kısıtlayan Faktörler

1.5.1. Tümör biyolojisi veya tümör ilaç etkileşmesi ile ilgili faktörler

- ilaçlar tümör hücrelerinde belirli bir oranda azalma yaparlar, oysa tümörün eradikasyonu (ortadan kaldırılması) için tüm malign hücrelerin öldürülmesi gerekir. Çünkü tek hücre canlı kalsa, hızla çoğalarak tümörü yeniden oluşturur.

- İlaç etkisinin hücre siklusunun dönemine-özgü olup olmaması ilaçların etkinliğini kısıtlar.
- Tümör hücrelerinin proliferasyon (çoğalma) hızı, ilaçların etkinlik derecesini değiştirir. Hızlı çoğalan tümör hücreleri, antineoplastik ilaçların çoğuna karşı, yavaş çoğalan hücrelere oranla daha duyarlıdırlar. Ayrıca, tümör büyüdükçe ilaca duyarlılık azalır.

1.5.2. İlacın farmakokinetiği ve farmakolojisi ile ilgili faktörler

İlacın etki yerindeki konsantrasyonunun yeterli derecede olması, ilacın farmakokinetik özellikleri ve veriliş yoluna bağlıdır. Beyinde yerleşmiş tümör ve metastaza etkili olamazlar. Antineoplastik ilaçların çoğunun etki yeri hücre içindedir. Malign hücre membranının ilaca geçirgen olmaması ilacın etkinliğini azaltır. Örneğin osteojenik sarkom hücrelerine metotreksatın girmesi zordur, bu nedenle yüksek konsantrasyonda verilmesi gerekir. Antineoplastik ilaçların terapötik etkinliğinin artırılmasını kısıtlayan önemli bir faktör, toksisitedir. Bunlara doz kısıtlayan toksik etkiler adı verilir. Çünkü tümör hücrelerinin yapısı ve biyokimyasal özellikleri ile normal hücreler arasında pek fark yoktur ve ilaçların selektivitesi düşüktür.

1.5.3. İlaça rezistans gelişmesi

Tümör hücrelerinin ilaca rezistan olması veya zamanla rezistans kazanması ilacın terapötik etkinliğini kısıtlar.

1.5.4. Hasta ile ilgili faktörler

- Hastanın genel aktivitesi: günlük aktivitesini eskiden olduğu gibi sürdürebilen hastalarda kemoterapi daha etkili olur.
- Hastanın ümmün (bağışıklık) durumu: Hastanın immünitesi normalse, immün yetmezliği olan hastalara göre, kemoterapiye daha iyi cevap verir. Antineoplastik ilaçlar da immün sistemde bozukluk yaparlar. Bu nedenle ilaçlar yeterli uzun aralarla uygulanır.
- Hastaya daha önce kemoterapi ve radyoterapi yapılmış olması ilaçların etkinliğini azaltır. Çünkü hastada immün bozukluk gelişmiş olabilir.
- Hastanın yaşı, cinsiyeti, ırkı, organlarının durumu, başka bir hastalık halinin var olmasında antineoplastik ilaçların etkinliğini değiştiren faktörlerdir.

1.5.5. Antineoplastik ilaçların yan etkileri

Kemik iliği süpresyonu: Kemik iliğinde lökosit, trombosit ve eritrosit oluşturan ana hücreler için toksiktirler. Bu nedenle, antineoplastik ilaçlarla tedavi sırasında kan hücrelerinin sayısının izlenmesi gerekir. Bazen iliği supresyonu irreversibl olabilir ve hastanın ölüm nedenini teşkil eder.

Hızlı çoğalan normal hücrelerin inhibisyonu: Gastrointestinal kanalın epitel hücrelerini inhibe ederek stomatit, ülser, enterite neden olurlar. Kıl foliküllerinin jerminal hücrelerini yok ettiklerinden alopesi (saç dökülmesi) yaparlar. Gonadlarda jerminal ve endokrin hücrelerin çoğalmasını bozarak, erkeklerde spermatojenezin, kadınlarda oojenezin bozulmasına ve kısırlığa neden olurlar.

Lenfotoksik etki ve immünosüpresyon: Antineoplastik ilaçlar lenfoid dokuların hızlı çoğalan hücrelerinin çoğalmasını inhibe ederler. Kemik iliğini de deprese ettiklerinden hücresel ve humoral immüniteyi süprese ederler. Bu durumda vücudun hem patojen mikroplara, hem de tümöre karşı savunma mekanizmaları felç olur.

Teratojenik etki: gebelerde antineoplastik ilaç uygulanması düşüğü ve deformiteli bebek doğmasına neden olabilir.

Mutajenik ve karsinojenik etki: bu grup ilaçlar, gerek kanser tedavisi, gerekse kanser dışı otoimmün hastalıklarda kullanılmaları sırasında kromozom bozuklukları ve karsinojik etki ortaya çıkar.

Hemen oluşan yan etkiler;

- Bulantı, kusma
- Doku nekrozu: ilaçların verililişleri sırasında doku içine kaçması nekroza neden olabilir.

1.6. 5-Fluorourasil

Florlanmış bir primidin analogudur [3-5]. Bazı tümör türlerinde hücrelerin, primidin bazı olan urasil'i normal vücut hücrelerine göre daha fazla kullandığının gözlenmesi üzerine sentez edilmiş bir ilaçtır. Vücutta önce fluorouridilata ve daha sonra bir dezoksinukleotid olan flourodezoksiuridilata (5-fluoro-2'-dezoksiüridin 5'-monofosfat) yani FdUMP' ye dönüştürüldükten sonra etkinlik kazanır [6]. Bu aktif metabolit, folatlı kofaktör olan N5-10 metilentetrahidrofolat ile birlikte timidilat sentaz ile birleşerek üçlü kompleks yapar ve timidilat sentaz enzimini inhibe eder.

Timidilat sentaz, Uridilat(dUMP)+CH₃→Timidilat(dTMP) reaksiyonunu katalize eder.

Timidilat (timin'in dezoksiribotid'i) oluşması azalınca, hücrede timin sentezi bozulmuş olur ve DNA sentezi duraklar. Fluorourasil, ikincil bir mekanizma ile de sitotoksik etki yapar. Fluorourasil'den vucutta oluşan fluorouridilat (FUMP), RNA yapısına katılır ve böylece RNA fonksiyonlarını ve protein sentezini bozar [7, 8]. 5-FU'nun en önemli antitümör etkisi timidilat sentazın inhibisyonu şeklinde açıklanabilir [9]. 5-FU hücre siklusundaki S fazına etkilidir. Bu nedenle çoğalan hücreler üzerinde, istirahat halindekiere göre daha fazla sitotoksik etki yapar; fakat döneme-özgü olma özelliği diğer antimetabolit ilaçlarındaki kadar belirgin değildir [10].

5-FU' nun vücutta dağılımı iyidir; beyine ve BOS'a geçer. Midebarsak kanalından biyo yararlanımı %0-80 arasında değişkenlik gösterir ve tahmin edilemez [11]. Önemli ölçüde ilk-geçiş eliminasyonuna uğrar. Karaciğerdeki metabolizması doyurulduğundan büyük dozlarda biyo yararlanımı artar. 5-FU başta karaciğerde olmak üzere birçok dokuda metabolize olur. Oral biyo yararlanımının değişkenliği nedeni ile ağız yolundan ziyade, IV enjeksiyon veya enfüzyon şeklinde uygulanır. Eliminasyon yarılanma ömrü 0.3 saattir. 5-FU karaciğer, barsak mukozası, tümör hücreleri ve diğer dokularda dihidroprimidin dehidrogenaz ile inaktive edilir. Bu enzimin kalıtsal eksikliğinde ilaca ileri derecede sensitivite gelişir. Bu ender durumda hasta takip eden dozlarda önemli bir ilaç toksisitesi yaşayabilir [10]. Mutad dozu günde 500 mg/m²'dir; IV enjeksiyonla veya devamlı infüzyonla 5 gün verilir. Yüksek dozda (günde 800-1200 mg/m²) 5 gün boyunca devamlı IV infüzyonla verilebilir. Beş günlük uygulamalar 3-4 haftada bir tekrarlanır. Yüksek dozda verildiğinde birlikte kalsiyum folinat (ağızdan 4 saatte bir 100 mg/ m² 5 gün) verilir [12]. Fluorourasil, solid tümörlerin tedavisinde endikedir. Yaygın kolorektal kanser ve meme kanserinin adjuvant tedavisinde tek başına kullanılabilir. Ayrıca over, mesane, uterus serviksi, endometriyum, prostat, baş ve boyun, pankreas ve karaciğer kanserinin tedavisinde yararlı olabilir [6, 11].

Cildin bazal hücreli kanserinde ve baş-boyun bölgesindeki aktinik keratozlarda % 2 veya 5 oranında ilaç içeren merhem şeklinde lokal uygulanır. Yine şiddetli psöriyaziste etkilidir. 5-FU potent bir radyasyon duyarlaştırıcısıdır. Bu yüzden lokal ilerlemiş baş-boyun, özefagus, akciğer ve rektum tümörlerinin primer tedavisi için radyoterapi ile eş zamanlı olarak kullanılabilir [10, 12]. 5-FU' nun başlıca yan etkileri gastrointestinal bozukluklar ve kemik iliği depresyonudur. Anoreksi, bulantı ve kusma en sık görülenidir. 5-FU' nun tedavi sırasındaki toksisitesinin en erken semptomları da anoreksi ve bulantıdır. Mukozitler (stomatit, özefagofarenjit ve diyare), doz kısıtlayıcı yan tesirlerdir. Belirgin lökopeni yapabilir; trombositopeni genellikle belirgin olmaz. Lökopeni genellikle ilk enjeksiyondan 9-14 gün sonra olur. İntravenöz infüzyona başladıktan 48-72 saat sonra tehlikeli derecede koroner spazmına neden olabilir; bu etki kalsiyum antagonistleri ile düzeltilebilir. Yine kardiyotoksiste 5-FU' nun nadir ancak ciddi bir komplikasyonudur. Alopesi, onkolizis, dermatit, pigmentasyon gibi cilt toksisitesi belirtilerine neden olabilir. Somnolans, serebellar ataksi ve yukarı motor nöron belirtileri gibi nörotoksik yan etkileri ve epifora, blefarit, konjonktivit, skatrisyel ektropion, nazolakrimal kanal stenozu gibi oküler toksisite belirtilerine neden olabildiği bildirilmiştir [3, 10,12].

5-Fluorourasil, bir antimetabolittir ve primidin antagonisti olarak, DNA sentezi ile etkileşerek hücre bölünmesini inhibe eder. 5-FU'nun kendisi antineoplastik aktiviteden yoksundur. Bu aktivite 5-FU'nun vücutta enzimatik olarak 5-fluorouridin ve 5-fluorodeoksiuridin şekline dönüşümünden sonra artar.

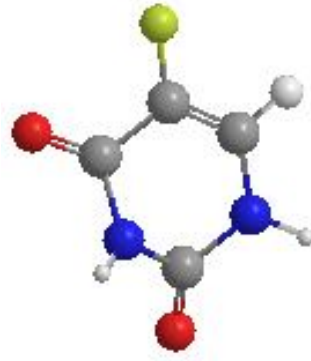
Emilim: Oral uygulamadan sonra gastrointestinal kanaldan 5-fluorourasilin emilimi bireyler arasında ve aynı bireyde büyük değişkenlikler gösterir. Ayrıca karaciğerde ilk-geçiş etkisine uğrar. Biyo yararlanımı %0 ila %80 arasındadır.

Dağılım: 5-Fluorourasil intravenöz uygulamadan sonra tüm vücuda dağılır ve özellikle kemik iliği, intestinal mukoza ve neoplazi gibi hızlı çoğalan dokularda bulunur. 5-Fluorourasil kan-beyin bariyerini ve plasentayı geçer. 5-Fluorourasil, 0.12 l/kg'lık bir dağılım hacmi gösterir, plazma proteinlerine yaklaşık olarak %10 oranında bağlanır.

Metabolizma: 5-Fluorourasil karaciğerde metabolize olur. 5-Fluorourasil enzimlerle, daha uzun yarılanma ömrüne sahip olan aktif metabolit dihidro-5-fluorourasile dönüştürülür. Diğer non-toksik parçalanma ürünleri, karbondioksit ve üredir.

Atılım: Ortalama plazma yarılanma ömrü yaklaşık 10 ila 20 dakikadır ve doza bağımlıdır. İntravenöz uygulamadan 3 saat sonra plazmada değişmemiş ilaç saptanamaz. 5-Fluorourasil başlıca akciğerlerden (%60-80) karbondioksit şeklinde dışarı atılır. İkincil olarak, böbreklerden değişmemiş ana ilaç olarak atılır (%7-20), böylece ilacın yaklaşık %90'ı bir saat içinde atılmış olur. Renal klerens yaklaşık 170-180 ml/dakikadır. Böbrek fonksiyonu bozukluğunda atılımı yavaşlar.

1.6.1. 5-Fluorourasil'in kimyasal yapısı



Şekil 1.1. 5-Fluorourasil'in açık formülü

Kimyasal yapısı: 5-fluoro-1H,3H-pyrimidine-2,4-dione

Molekül Ağırlığı: 130.077 g/mol

Formülü: C₄H₃FN₂O

Bileşim yüzdesi: C %36.9; H %39.02; N %21.52; O %24.6.

1.7. Spektroskopi

Spektroskopi, bir örnekteki atom, molekül veya iyonların, bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri sırasında absorplanan veya yayılan elektromanyetik ışımanın ölçülmesi ve yorumlanmasıdır. Her atom, molekül veya iyonun elektromanyetik ışıma ile kendine özgü bir ilişkisi vardır ve bunların dönen, titreşim ve elektronik enerjilerindeki değişiklikler spektroskopinin temelini oluşturur. Ayrıca, bir örneğin manyetik alana yerleştirilmesi ile oluşan enerji düzeyleri arasındaki geçişlerin ölçülmesi de bazı spektroskopik yöntemlerin temel ilkesidir [13].

Bir madde, üzerine düşürülen çeşitli dalga boylarından (ultraviyole ışınlarından radyo dalgalarına kadar) ancak bazılarını absorplar. Maddenin bu özelliğinden yararlanılarak yapısı, konsantrasyonu vs. tayin edilebilir. Bunun için madde üzerine dalga boyu 110 nm den 3000 nm ye kadar değişen ışınlar düşürülür. Bütün bu dalga boylarını verecek ve hangi dalga boylarının absorplandığını tespit edecek tek bir cihaz yapmak mümkün olmadığından, belirli dalga boyları arasında çalışan cihazlar geliştirilmiştir. 110-1000 nm dalga boylarındaki ışınlarla çalışan cihazlara ultraviyole ve görünür alan, 2500-25000 nm dalga boylarında çalışan cihazlara infrared ve dalga boyları yüzlerce metreye kadar değişen radyo dalgalarıyla çalışan cihazlara da nükleer manyetik rezonans cihazları denir. Bu cihazların geçerli oldukları alan spektroskopilerine de sırasıyla ultraviyole UV ve görünür (elektronik), infrared IR (titreşim) ve nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopileri adı verilir [14].

1.7.1 Ultraviyole ve görünür bölge moleküler absorpsiyon spektroskopisi

Ultraviyole spektrofotometreleri genellikle görünür bölgeyi de içine alırlar. Çalışma alanları 200 nm den 1000 nm ye kadar değişir. Ancak vakum tertibatlı cihazlar 110 nm de bile çalışırlar.

Ultraviyole spektrofotometreleri yapılarına göre iki kısma ayrılırlar.

- 1) Tek ışın demetli spektrofotometreler
- 2) Çift ışın demetli spektrofotometreler [14].

Moleküler absorpsiyon spektroskopisi 160–780 nm dalga boyları arasındaki ışığın b ışın yoluna sahip bir hücredeki çözeltinin geçirgenliğinin (T) veya absorbansının (A) ölçümüne dayanır. Bu absorpsiyon daha çok molüküllerdeki bağ elektronlarının uyarılmasından kaynaklanır, bunun sonucu olarak moleküler absorpsiyon spektroskopisi bir moleküldeki fonksiyonel grupların tanımlanmasında ve aynı zamanda fonksiyonel grupları taşıyan bileşiklerin nicel tayininde kullanılır. UV/GB spektroskopisi çok sayıda organik ve inorganik bileşiğin analizinde kullanılmaktadır.

UV/GB bölgesindeki geçişler:

- π , σ ve n orbitalleri arasındaki geçişler (organik molüküllerde)
- d ve f orbitalleri arasındaki geçişler (koordinasyon komplekslerinde)
- yük aktarım geçişleri (hem organik molüküller ve hem de komplekslerde).

UV-Visible Spektroskopisi ve Lambert-Beer Yasası:

Temel alanlarda UV ve görünür ışınlar kullanılarak :

- Molekölün yapısı hakkında bilgi edinilebilir. (özellikle UV alandaki absorpsiyon önemlidir.)
- Konsantrasyon (derişim) belirlenebilir
- Kimyasal reaksiyonun gidişı izlenebilir.
- Enzim aktivitesi ölçülebilir.

Lambert Yasası:

Homojen bir absorplayıcı ortamdan geçen ışının şiddeti tabaka kalınlığının artması ile üssel olarak azalır:

$$I = I_0 \times e^{-kd}$$

I = geçen ışının şiddeti

I_0 = gelen ışının şiddeti

k = absorpsiyon katsayısı

d =tabakanın kalınlığı

Beer Yasası:

Işının şiddeti içerisinde geçtiği maddenin konsantrasyonuna bağlıdır.

$$I = I_0 \times e^{-kc}$$

I = geçen ışının şiddeti

I_0 = gelen ışının şiddeti

k = absorpsiyon katsayısı

c = konsantrasyon

Bu iki yasanın birleştirilmesiyle:

$$I = I_0 \times e^{-kcd}$$

I = geçen ışının şiddeti

I_0 = gelen ışının şiddeti

k = absorpsiyon katsayısı c = konsantrasyon

d = ışık yolu (sıvının içinde bulunduğu küvetin genişliği)

$$I/I_0 = e^{-kcd}$$

$$\ln I/I_0 = -k \times c \times d$$

$$\ln I_0/I = k \times c \times d$$

$$\log I_0/I = k \times c \times d / 2.303$$

$$k/2.303 = \epsilon$$

$\log I_0/I = \epsilon \times c \times d = A$ (Absorbans) veya ϵ (Molar absorbtivite katsayısı)

C: Maddenin konsantrasyonu

ϵ : Absorpsiyon (veya Ekstinksiyon) katsayısı

Konsantrasyonun (c) birimi g/L olursa, ϵ_S , spesifik absorpsiyon katsayısı;

Konsantrasyonun (c) birimi mol/L olursa, ϵ_M , molar absorpsiyon katsayısı adını alır.

Spektrofotometrik ölçümler iki farklı şekilde yapılabilir:

- 1- Belli bir dalga boyunda absorbans ölçülür. Konsantrasyon veya absorpsiyon katsayısının belirlenmesine yarar.
- 2- Belli bir dalga boyu aralığında absorbans taraması yapılır. Böylece absorpsiyon spektrumu elde edilir. Maddenin kimyasal karakteri hakkında bilgi sağlar.

1.7.2. İnfrared spektroskopisi (titreşim spektroskopisi)

İnfrared (titreşim) spektroskopisi, maddenin infrared ışınlarını absorplaması üzerine kurulmuş olan spektroskopi dalıdır. Homonükleer (N_2 , O_2 , Cl_2 gibi) moleküller hariç bütün moleküller infrared ışınlarını absorplarlar ve infrared spektrumu verirler.

İnfrared ışınlarının dalga boyları 1000-300000 nm arasında olmasına rağmen infrared spektroskopisinde, genellikle dalga boyları 2500-25000 nm arasında olan ışınlardan yararlanılır. Bu aralığa yakın infrared ve infrared bölgesi denir.

İnfrared spektroskopisinde ışınlar dalga boylarıyla değil daha çok dalga sayılarıla verilir. Dalga sayısı $\nu = 1/\lambda$ (cm) dır. Buna göre yukarıdaki dalga boyları aralığı;

$$\nu = 1/2500 \times 10^{-7} = 4000 \text{ cm}^{-1}$$

$$\nu = 1/25000 \times 10^{-7} = 400 \text{ cm}^{-1} \text{dır.}$$

Dalga sayıları 400 cm^{-1} den daha küçük ışınların enerjileri moleküllerin rotasyon (dönme) enerjileri seviyesinde olduklarından, havadaki moleküller tarafından bile kolaylıkla absorbe edilirler.

İnfrared spektroskopisi, daha çok yapı analizinde kullanılır ve çoğu kez elektronik ve NMR spektroskopileriyle birlikte uygulanır. Her maddenin kendine özgü bir infrared spektrumu vardır. Bir maddenin infrared spektrumu, ultraviyole spektrumuna göre daha karışıktır. Bunu nedeni infrared ışınları enerjilerinin moleküllerin titreşim enerjileri seviyelerinde ve molekülde birçok titreşim merkezlerinin olmasıdır. Molekül içindeki atomların titreşimleri sırasında atomlar arasındaki uzaklık devamlı büyüyüp küçüldüğünden, iki atom arasında titreşim halinde bir elektriksel alan meydana gelir. Bu titreşim, infrared ışınının elektriksel alanının titreşimine uyunca, ışın absorplanır ve ışını absorplayan molekülün elektriksel yük dağılımı daha da asimetric olur ve dipol momenti büyür. Buna karşılık N_2 , O_2 , Cl_2 gibi moleküller dipol momenti değişmesi olmadığından, bunlar infrared ışınlarını absorplamazlar [14].

1.7.3 Kütle spektroskopisi

Özel bir düzenek kullanarak pozitif yüklü parçacıklar meydana getirilmesi, bu parçacıkların m/e oranlarına göre ayrılmaları, belirlenmeleri ve bunlardan yararlanarak numunenin teşhis edilmesi üzerine kurulmuş olan metotlar topluluğuna kütle spektrometresi denir. Pozitif yüklü tanecikler bir molekül iyonu ve metal iyonu olabildiği gibi molekülün parçalanmasıyla meydana gelen herhangi bir parçacık da olabilir. Böylece söz konusu numuneye göre ortamda çok sayıda pozitif yüklü tanecik bulunabilir. Bu taneciklerden her biri spektrumda m/e değerlerine göre birer pik verirler.

Kütle spektrometrisi yapısı belli maddeleri belirtmek (teşhis etmek) ve tayin etmek amacıyla kullanılabildiği gibi, yapısı belli olmayan yeni maddelerin yapısını aydınlatmak amacıyla da kullanılabilir [14].

1.7.4. Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi (NMR)

Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi de öteki spektroskopi dalları (IR, raman, UV ve görünür alan spektroskopisi) gibi maddede iki seviye arasındaki enerji farkını ölçmek için geliştirilmiştir. Ancak öteki spektroskopilerden iki noktada farklıdır. Bu farklar:

- 1) Elektronlarla değil, çekirdeklerle ilgili olması,
- 2) Kuvvetli bir manyetik alana ihtiyaç göstermesidir.

Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi çok geniş bir uygulama alanı bulmuştur. Bu metodla bir molekülde hidrojen ihtiva eden grupların sayıları yanında, bu gruba komşu olan gruplarda tespit edilebilmektedir.

Atom çekirdekleri proton ihtiva etmeleri nedeniyle pozitif yüklüdürler ve bazıları kendi ekseni etrafında dönerler (spin hareketi yaparlar). Ekseni etrafında dönen yüklü bir tanecik, etrafında manyetik bir alan meydana getirir. Meydana gelen manyetik alanın yönü klasik sağ el kuralıyla tayin edilir. Bu kurala göre sağ elin dört parmağı yönünde akan bir elektrik akımı yukarıya açılmış olan baş parmak yönünde bir manyetik alan meydana getirir. Ayrıca sol el kuralına göre de uygulanan bir manyetik alandan meydana gelen akımın yönü tayin edilir. Buna göre de başparmak uygulanan alanın yönünü göstermek üzere öteki parmakların yönü meydana gelen akımın yönünü gösterir.

Çekirdekler adına spin (kendi ekseni etrafında dönme) kuantum sayısı denir ve I ile gösterilen bir sayıyla karakterize edilirler. Bu I kuantum sayısı 0;1/2;1;3/2;2 gibi değerler alır. Buna göre çekirdekler üç gruba ayrılır.

1) $I=0$ olan çekirdekler. Bunlar ekseni etrafında dönmeyen ve manyetik momenti olmayan C (12), O (16) gibi nötron ve protonu çift olan çekirdeklerdir. Böyle çekirdekler NMR spektroskopisi vermezler.

2) $I= \frac{1}{2}$ olan çekirdekler. Bunlar eksenleri etrafında küresel simetrik olarak dönerler ve manyetik momenti olan fakat kuvadrupol momenti olmayan, H (1), C (13), F (19), P (31), N (15) gibi çekirdeklerdir. Böyle çekirdekler NMR spektroskopisi verirler.

3) $I>1/2$ olan çekirdekler. Bunlar eksenleri etrafında küresel simetrik olarak dönmeyen fakat hem manyetik momentleri (dipol momentleri) hem de kuvadrupol momentleri olan,

$I=1$; H (2), N (14) gibi

$I= \frac{3}{2}$; B (11), Cl (35), Cl (37) gibi

I= 2; CI (36), Co (58) gibi

I= 5/2; Mg (25), Al (27), O (16) gibi çekirdeklerdir.

1.8. Analitik Yöntem Validasyonu (Yöntem Geçerlilik Testleri)

Analitik yöntemler, ilaç analizlerinde, biyolojik numune analizlerinde, biyoeşdeğerlik, biyoyararlanım çalışmaları, farmakokinetik bilgilerin değerlendirilmesi ve yorumlanmasında, ilaç etken maddelerinin nitel ve nicel analizlerinde, ilaç etken maddelerinin metabolitlerinin tayininde kullanılan yöntemlerdir.

Yöntem validasyonu analitik işlemlerin istenilen kullanım için uygunluğunu gösteren parametrelerdir. Uygulanacak analitik işlemler için hangi tip validasyon karakteristiklerinin kullanılacağı belirlenmelidir. Geliştirilen bir yöntemin veya parametrelerinde ufak değişiklikler yapılmış bir yöntemin geçerli olabilmesi için mutlaka gerekli validasyon testlerinin ve ilgili hesapların yapılmış olması gereklidir.

Amerikan Farmakopesine (USP 24) göre validasyon, analizi yapılacak madde için geliştirilen analiz yönteminin seçilen aralıkta uygunluğunu, doğruluğunu, duyarlılığını ve tekrar edilebilirliğini, sağlamlığını belirtmektedir [15].

1.8.1. Validasyon karakteristikleri

1.8.1.1 Doğruluk

Ölçülen değerin gerçek değere yakınlığının ölçüsüdür. Geri kazanım çalışmaları ile verilir. Ortalama geri kazanım her bir ölçüm derişimi için %99-101 aralığında olmalıdır. 3 yolla tayin edilebilir.

1. Referans standart ile karşılaştırmak
2. Kör matris ortamında analizi yapılan maddeyi ilave etmek
3. Analizi yapılan maddeye bulunduğu ortamda standart ekleme yöntemi ile saf madde ilavesi

1.8.1.2 Kesinlik

Geliştirilen yöntemin normal koşullar altında tekrarlanabilirliğinin ölçüsüdür. % BSS (Bağıl Standart Sapma) sonuçları ile ifade edilir. Kesinlik üç kısımda düşünülmelidir. Tekrarlanabilirlik, orta kesinlik ve tekrar elde edilebilirlik.

Tekrarlanabilirlik (Gün içi tekrarlanabilirlik): Analizi yapılacak maddenin çalışma ortamındaki çözeltisi ayrı ayrı hazırlanır ve bu çözeltilerin her birinden en az 10 ölçüm alınır. Sonuçta, gün içi kesinlik elde edilen değerlerin %BSS'ı verilerek ifade edilir ve $\%BSS \leq 2.0$ olmalıdır.

Orta Kesinlik (Günler arası tekraredilebilirlik): Analizi yapılacak maddenin çalışma ortamındaki çözeltisi ayrı ayrı ve farklı zamanlarda (en az birkaç gün ara ile yapılmalıdır) hazırlanır ve bu çözeltilerin her birinden en az 3'er ölçüm yapılır. Sonuçta günler arası kesinlik, elde edilen değerlerin %BSS'ı verilerek ifade edilir ve %BSS değerleri $\%BSS \leq 2.0$ olmalıdır.

Biyolojik numunelerle çalışırken %BSS değerleri 10-15'e kadar çıkabilmektedir.

Tekrar Elde Edilebilirlik: Tekrar elde edilebilirlik özellikle ortak çalışma yapan farklı laboratuvarların uygulamaları sonucu elde edilen ve deneysel farklılıkları belirten kesinlik derecesidir. Analizi yapılacak olan maddenin çalışma ortamındaki çözeltisi ayrı ayrı laboratuvarlarda, farklı zamanlarda ve farklı analizciler tarafından (en az birkaç gün ara ile yapılmalıdır) hazırlanır ve bu çözeltilerin her birinden en az 3'er ölçüm yapılır. Sonuçta, tekrar elde edilebilirlik, ölçülen değerlerin %BSS'ı verilerek ifade edilir.

1.8.1.3. Seçicilik

Analitik yöntemlerin en önemli parametresidir. Analizi yapılacak maddenin numunede bulunan diğer yardımcı veya etken maddeler yanında derişiminin tam ve doğru olarak tayin edilebileceğini gösterir.

Seçicilik yeterli düzeyde değilse, yöntemin doğruluğu, kesinliği ve doğrusallığı hakkında bir şüphe uyanır.

1.8.1.4. Teşhis sınırı (TS)

Analizi yapılan örneğin belirlediği fakat kantitatif sınırlar içerisine girmediği en alt derişimdir. Doğrudan, yapılan deneylerden veya hesapla bulunabilir.

Hesaplama yolu ile teşhis sınırı saptanmasında

$TS = 3 \times SS / m$ eşitliği kullanılır.

SS=Kör çözeltinin; çok az derişimdeki maddenin çözeltisinin veya kesişim değerinin standart sapması,

m= Kullanılan kalibrasyon eşitliğinin eğim değeridir.

1.8.1.5. Tayin alt sınırı (TAS)

Analizi yapılan örneğin kabul edilebilir düzeyde kesin ve doğru olarak miktarının tayin edilebileceği doğrusallık sınırları içerisine girmeyen veya doğrusallığın en alt derişimini oluşturan düzeyidir. Doğrudan yapılan deneylerden veya hesapla bulunabilir.

Hesaplama yolu ile TAS saptanmasında

$TAS = 10 \times SS / m$ eşitliği kullanılır.

SS ve m değerleri TS eşitliği ile aynıdır.

1.8.1.6. Doğrusallık

Derişime karşı cevabın doğru orantılı olarak artması ve çizilen grafikte noktaların düz bir çizgi üzerinde veya yakınında yer almasıdır.

Eğim, kesişim ve korelasyon katsayısı (r) doğrusallığı veren parametrelerdir. Doğrusallık, $r=0.999$ ve üzerinde ise ve değerler çizilen doğrunun üzerinde yer alıyorsa sağlanmış demektir.

Doğrusallığı belirleyebilmek için stok çözeltiden en az 5 değişik derişimin hazırlanması ve analiz edilmesi gerekir. Bu derişimin alt sınırı hedef seviyenin %50 sinden düşük ve üst sınır da %150 sinden yüksek olacak aralıkta seçilmelidir. Bu 5 değerle yapılan doğrusallığın saptanması işleminin en az 3 defa tekrarlanması gerekir.

Doğrusallığın tam validasyonu için de eğim ve kesişim değerlerinin %BSS ları veya standart hataları da verilmelidir.

1.8.1.7. Aralık

Yeterli doğruluk, duyarlık ve doğrusallığa sahip yöntemin alt ve üst derişimlerinden oluşmaktadır. Derişim aralığı genellikle seçilen yöntemin tipine göre değişir. Ana maddenin analizinde standartların derişimleri genellikle hedeflenen seviyede veya ona yakın ölçülür.

Bu derişimin alt sınırı hedef seviyenin %50 sinden düşük ve %150 sinden yüksek olacak aralıkta seçilmelidir. Hedef miktarın %50, 75, 100, 125 ve 150 olacak şekilde aralık düzenlenebilir.

1.8.1.8. Kararlılık

Yöntemin, parametrelerdeki ufak değişimlerden etkilenmeden kalabilme kapasitesidir. Bu parametreler organik çözücü yüzdesi, pH, iyonik güç, sıcaklık gibi etkenlerdir. Kararlılık yöntem geliştirilirken değerlendirilmesi gereken bir aşamadır.

1.8.1.9. Tutarlılık

Yöntemin gerçek kullanım koşulları altında tekrar edilebilirliğinin saptanmasıdır. %BSS ile ifade edilir.

1.8.1.10. Stabilité

Zorunlu bir validasyon parametresi olmamakla beraber yapılması tavsiye edilir. Tekrar edilebilir ve güvenilir sonuçlar elde edebilmek için numunelerin, standart maddelerin ve kullanılan çözücülerin uygun bir süre stabilitesini koruması gereklidir.

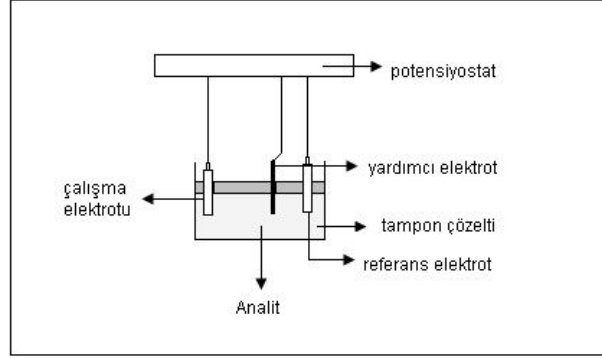
1.9. Elektrokimya

Elektrokimya; maddenin elektriksel davranışını ve elektrik enerjisi ile kimyasal tepkime arasındaki ilişkiyi inceleyen bilim dalıdır. Elektrokimyasal tepkimeler yükseltgenme ve indirgenme tepkimeleri olup, elektron geçişi veya elektron aktarımı ile sağlanır. Elektrokimyasal tepkimeler, elektronların bir yerden başka bir yere geçişiyle, elektrokimyasal hücre adı verilen bir hücrede gerçekleşir. Elektrokimyasal tepkimelerin gerçekleşebilmesi için; analizi yapılacak maddeyi içeren bir çözelti (Elektriksel iletkenliği sağlamak amacıyla tampon çözelti kullanılır), maddenin kimyasal dönüşüme uğradığı genellikle üçlü olan elektrot sistemi, elektrotları birbirine bağlayan çevirim sistemi gereklidir.

1.9.1. Elektrokimyasal hücreler ve tepkimeler

Kimyasal sistemlerdeki elektrokimyasal ölçümler, elektrot çözelti ara yüzeyinin elektriksel özelliklerini ve elektrot tepkimelerinin temel ilkelerini anlamayı gerektiren uygulamalardır. Elektrokimya, kimyasal fazlar arasındaki ara yüzey boyunca oluşan yük aktarımını etkileyen nedenleri ve bu süreci inceler. Kimyasal fazlardan biri, iyonların hareketi ile yükün taşındığı (sıvı çözeltiler, erimiş katılar ya da iyonik olarak iletken katılardan oluşan) elektrolit olarak adlandırılan kısımdır. İkinci faz ise elektronik hareketle (elektron hareketi) yükün taşındığı (metaller, yarı iletkenlerden oluşan) elektrot olarak adlandırılan kısımdır.

Elektrot – elektrolit arasında oluşan ara yüzeyin toplam özelliklerinin çalışıldığı sisteme elektrokimyasal hücre denir. Bir elektrokimyasal hücre, analit ile birlikte destek elektroliti adı verilen ve belirteç olmayan bir elektrolitin aşırısını da içeren bir çözeltiye daldırılmış üç elektrottan (çalışma, karşılaştırma, yardımcı) olmuştur. Voltametrik ölçümlerde kullanılan elektrokimyasal bir hücrenin bileşenleri Şekil 1.2.”de verilmiştir.



Şekil 1.2. Genel elektrokimyasal hücre şeması [16].

Çalışma elektrodu: Üzerinde ilgili tepkimenin oluştuğu ve zamanla gerilimi doğrusal olarak değişen elektrottur.

Karşılaştırma elektrodu: Çalışma elektrodunun geriliminin kıyaslandığı elektrot olup, analit bileşiminden bağımsız olarak tekrar edilebilir, kararlı ve sabit bir gerilim sağlar.

Yardımcı elektrot: Sinyal kaynağından çıkan elektriğin çözelti içerisinde geçerek çalışma elektroduna aktarılmasını sağlayan (akım taşıyıcı elektrot) ve tepkimeye girmeyen (inert) bir iletken materyalden oluşan elektrottur.

Elektrokimyasal ölçümler genellikle bir destek elektroliti içeren çözelti ortamında yürütülür. Çözücü seçiminde; analit çözünürlüğü ve redoks aktivitesinin yanı sıra çözücünün elektrik iletkenliği, elektrokimyasal aktivitesi ve kimyasal reaktivitesi de önemlidir. Çözücü, analit ile tepkimeye girmemeli ve geniş bir gerilim aralığında elektrokimyasal inert olmalıdır. Su, en çok kullanılan çözücü olup genellikle iki kez arıtılmış olması yeterlidir. Organik çözücülerden ise metanol, asetonitril, dimetilformamid (DMF) ve dimetil sülfoksit (DMSO) sıklıkla kullanılır. Bazı uygulamalar için çözücü karışımları da kullanılabilir.

Gerilimin kontrol edildiği deneylerde destek elektroliti kullanılması gereklidir. Destek elektroliti; çözeltinin direncini azaltır, elektriksel migrasyon (elektriksel göç) etkisini ortadan kaldırır ve sabit bir iyonik güç sağlar. İnert destek elektroliti olarak inorganik tuzlar, mineral asitler ya da pH kontrolü gerekli olduğu zaman tampon sistemleri kullanılabilir. Destek

elektroliti olarak kullanılacak kimyasal bileşiklerin saflığı yüksek olmalı ve kolaylıkla yükseltgenip indirgenmemelidir. Destek elektroliti derişimi, diğer tüm elektroaktif (elektrot tepkimesine katılan) türlerin derişiminden büyük olmalıdır. Genel olarak 0.1 – 1 M arasındaki çözelti derişimlerinde hazırlanır.

Elektrokimyasal hücrelerde karşılaştırma elektrodunun gerilimi sabit olduğundan, hücredeki değışikliğin çalışma elektrodundan kaynaklandığı söylenebilir. Elektrokimyasal hücrede karşılaştırma elektroduna göre çalışma elektrodunun gerilimi diğer bir deyişle çalışma elektrodundaki elektronların enerjileri kontrol edilir ya da gözlemlenir [17].

Elektroda negatif gerilimlerin uygulanması ile elektronların enerjisi artar; elektrolizdeki türlerin değeriilik durumundaki enerji düzeyine ulaşıldığında elektronlar, elektrottan çözeltiye akar ve indirgenme akımı meydana gelir. Benzer bir şekilde elektroda pozitif gerilim uygulandığında elektronların enerjisi düşer; çözelti ortamındaki enerji düzeyi uygun olan elektronlar elektroda akar ve yükseltgenme akımı meydana gelir. Bu süreçte etkili olan kritik gerilim değeri, türlerin standart gerilimi (E_o) ile ilgilidir [18].

1.9.2. Elektroanalitik yöntemler

Elektroanalitik metotların çok çeşitli sınıflandırma yolları vardır. Elektroanalitik metotlar genelde net akımın sıfır olduğu denge durumundaki statik metotlar ve denge durumundan uzakta net akımın gözlemlendiği dinamik metotlar olmak üzere ikiye ayrılır. Dinamik metotlar çoğunlukla ya potansiyel kontrollü veya akım kontrollüdür. Potansiyel veya akımın kontrol edildiği tekniklerde bu parametreler büyük genlikli veya küçük genlikli olarak uygulanır. Büyük genlikli teknikler diğerlerine göre daha yaygın olarak kullanılır.

Elektroanalitik yöntemler, hücrenin elektrokimyasal özelliklerinin izlenmesine dayanan yöntemlerdir. Elektroanalitik yöntemler bilimsel çalışmalarda oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Endüstriyel materyallere, farmasötik maddelere, biyolojik örneklere (ya da sıvılara) uygulanabilmektedir. Elektroanalitik teknikler ile çok düşük tayin sınırına ulaşabilir (yaklaşık 10^{-10} M) ve mekanizma tayinine olanak veren yöntemlerdir. Çoğu kez, bir elementin özel bir yükseltgenme basamağı için spesifiktir. Kullanılan cihazlar nispeten ucuzdur. Kimyasal türlerin derişiminden çok, aktiviteleri hakkında bilgi verir. Ayrıca ara yüzeydeki yük aktarımının stokiyometrisi ve hızı, kütle aktarım hızı, adsorpsiyon ve kemisorpsiyon derecesi, kimyasal tepkimelerin hızı ve denge sabitleri gibi konularda da bilgi verir. Bu özelliklerinden dolayı, elektrokimyasal yöntemler diğer yöntemlerden daha avantajlıdır.

Elektroanalitik yöntemler; ara yüzeyde ya da çözelti ortamının tamamında gerçekleşen değişimlerin incelendiği yöntemler olarak da ikiye ayrılır. Ara yüzey yöntemlerinde; kimyasal ve fiziksel dönüşümler, elektrot yüzeyi ile çok ince çözelti tabakaları arasında gerçekleşir. Ara yüzeyde gerçekleşen yöntemlerden olan potansiyometri ve voltametri; duyarlılık, seçicilik ve uygulanabilirlik gibi özellikleriyle yaygın bir kullanım alanı bulmuşlardır [17, 19,20].

Voltametri ve polarografi, elektroanalitik yöntemlerin en yaygın kullanılan türleridir.

1.10. Voltametri

Çalışmamızda uygulanan yöntem olan voltametri; inorganik, fiziko ve biyokimyasal tarafından çeşitli ortamlarda oluşan yükseltgenebilen ve/veya indirgenebilen (elektroaktif, elektrot tepkimesine giren) organik ve inorganik maddelerin çeşitli ortamdaki çözeltilerinden uygun koşullarda elde edilen akım şiddeti-gerilim eğrilerinin (voltamogram) karakteristiklerini inceleyen ve değerlendiren analiz tekniğidir [21, 22]. Ayrıca voltametri, yüzeydeki adsorpsiyon işlemlerinin araştırılması ve kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrot yüzeylerinde gerçekleşen elektron aktarım mekanizmalarının aydınlatılması gibi analitik olmayan amaçlar için de yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

Voltametri 1922 yılında Çekoslovak kimyacı Jaroslav Heyrovsky tarafından bulunan polarografiden geliştirilmiştir. Voltametrinin hala önemli bir dalı olan polarografi, diğer voltametri tiplerinden çalışma mikroelektrodu olarak damlayan cıva elektrodu kullanılması bakımından farklılık gösterir [23]. Heyrovsky polarografi keşfinden ve geliştirilmesinden dolayı 1959 yılında Nobel Kimya Ödülünü kazanmıştır.

Voltametricide kullanılan mikro elektrot, iç çapı 0,03-0,05 mm olan cam bir kapiller borudan akarak büyüyen ve belli bir büyüklüğe geldiği zaman koparak düşen bir cıva damlası ise, yöntem polarografi ve elde edilen akım-gerilim eğrisi ise polarogram olarak adlandırılır.

Polarografik yöntem damlayan cıvanın kolayca yükseltgenmesi nedeniyle daha çok indirgenme olaylarının, voltametri ise katı elektrotlar yardımı ile yükseltgenme olaylarının incelenmesinde kullanılmaktadır. Karbon elektrotlarla yapılan voltametri ise hem yükseltgenme, hem de indirgenme bölgesinde geniş bir çalışma aralığına imkân tanımaktadır.(~ -1.8V - +1.8V (sulu ortamda)) [24].

Voltametik çalışmalarda kullanılan elektrotlar kısaca; platin, altın, rutenyum gibi inert metaller [25] pirolitik grafit ve camsı karbon [26- 30] , ınko oksit, iridyum oksit gibi yarı iletken elektrotlardır. Tel, levha, disk biçiminde olan katı elektrotların sabit, döner veya titreşen tipleri vardır [25].

1960'lı yılların ortalarında klasik voltametik tekniklerle yapılan pek çok değişiklik, yöntemin duyarlılığını ve seçiciliğini büyük ölçüde arttırmış ve özellikle tıp, eczacılık, biyokimya ve evre çalışmalarında yönteme geniş ve giderek artan bir uygulama alanı sağlanmıştır [31-40].

1.10.1. Voltametik cihazlar

Voltametik analizde kullanılacak cihazlar, elektrokimyasal hücre, analit ve destek elektrolit adı verilen elektrolitin aşırısını içeren bir çözeltiye daldırılmış  elektrottan yapılmıştır. Tanım olarak;

- 1) alışma elektrodu; tasarımı yapılacak bir biyosensör bu üçlü sistemlerde kullanılabilmektedir. Bu elektrot, yüzeyinde analitin ykseltendiği veya indirgendiği elektrottur.
- 2) Referans elektrot; Referans elektrot, potansiyeli deney süresince sabit kalan bir elektrottur. Ag / AgCl veya doygun kalomel elektrot (DKE) kullanılabilir.
- 3)Yardımcı elektrot; Pt bir tel veya bir civa havuzu şeklinde olan ve elektriğin çözelti içinden çalışma elektrotuna aktarılmasını sağlayan karşıt elektrottur. Bu elektrot, çalışma elektrotu ile bir çift oluşturan fakat ölçülen potansiyelin büyüklüğünün tayininde rol oynamayan bir elektrottur.

Mikroelektrotlardaki hızlı ilerlemeler ve özellikle elektroanalitik cihazlara kullanıma hazır amplifikatörlerin yerleştirilmesi ile bu alandaki araştırmalarda önemli değişiklikler meydana geldi. Bu tür aletler iki akımdan oluşurlar, hücreye gerilim uygulayan bir polarize akım ve hücre akımının izlenmesi ile ölçülen akım. Modern voltametik analizlerin karakteristiği, hücre direncinden kaynaklanan hataları en aza indirgeyen çalışma elektrodunun potansiyostatik kontrolüdür. Potansiyostatik kontrollü üç elektrot sistemi ile hücre direncinin büyük bölümü ortadan kaldırılmıştır. Burada karşılaştırma elektrodu çalışma elektroduna mümkün oldukça yakındır. Yardımcı elektrot ise akım yolunun tamamlanması için çözeltiye yerleştirilmiş akım taşıyıcı elektrottur. Böylece akım yardımcı elektrot ve çalışma elektrot arasında çözelti boyunca akar. Çalışma elektrodundaki bütün noktalarda akım yolunun eşit olması için bu elektrotların simetrik olarak hücreye yerleştirilmesi önemlidir. Karşılaştırma elektrodunun çalışma elektroduna çok yakın olması nedeniyle karşılaştırma elektrodundan

hiçbir akım geçmez; bu da hücre direncinin dolayısıyla gerilimin (IR) en aza inmesini sağlar. Yalnız tüm çalışmalara karşın hücre direnci tam olarak yok edilmediğinden ölçülen gerilimlerde IR'nin de katkısı bulunmaktadır. Bilgisayar kontrollü aletler tüm analiz cihazlarında olduğu gibi voltametrik cihazlarda da vazgeçilmez bir unsur olmuştur. Bilgisayar kontrollü cihazlar ile analizlerde kesinlik, hız, kolaylık artmıştır [17, 20].

1.10.1 Voltametrik elektrokimyasal analizde kullanılan elektrotlar

Referans Elektrotlar

Elektrokimyasal analizler sırasında potansiyeli dış ortamdan etkilenmeyen ve analiz süresince sabit kalan elektrotlardır. Referans elektrotlar çalışılan maddelere karşı duyarsızdırlar. İdeal bir referans elektrotta aranan özellikler aşağıdaki gibidir;

- Kolay hazırlanabilmeli
 - Tersinirdir ve Nernst eşitliğine uyar
 - Potansiyeli zamanla sabit kalır
 - Çok küçük akımlara maruz bırakıldıklarında eski orijinal potansiyellerine geri dönerler
- Referans elektrotlar, sıcaklık değişimlerine karşı ufak değişimler gösterir.[41-45]

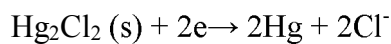
Referans Elektrot Çeşitleri

Standart hidrojen elektrot (SHE)

Elektrokimyada ilk olarak standart hidrojen elektrotlar kullanılmıştır. Hazırlanması güç olduğundan pratik çalışmalarda diğer referans elektrotlar öncelikle tercih edilir.

Kalomel referans elektrot

Doygun kalomel elektrotun hazırlanması oldukça kolay olduğundan çalışmalarda pratiklik sağladığı için yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Ancak kullanımı tüm sistemler için elverişli değildir. En büyük sakıncası büyük sıcaklık katsayılarına sahip olmalarıdır. Doygun kalomel elektrotun elektrot potansiyeli 25 °C' de standart hidrojen elektrotuna göre +0,244V' dur. Oluşan elektrot tepkimesi şu şekildedir;

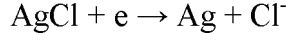


Gümüş – gümüş klorür referans elektrot

Gümüş – gümüş klorür referans elektrotları da doymuş kalomel elektrotlar gibi oldukça yaygın kullanılırlar. Gümüş – gümüş klorür elektrotu doymuş kalomel elektrotta göre daha yüksek sıcaklıklarda kullanılabilirler. Ayrıca gümüş iyonları civa (I) iyonlarına göre

daha az sayıda analitle reaksiyona girerler. Bir gümüş – gümüş klorür referans elektrot gümüş bir telin, elektrolitik yoldan AgCl ile kaplanarak Cl⁻ iyonu içeren bir çözeltiye daldırılmasıyla elde edilir. Doygun KCl çözeltisi kullanıldığı zaman 25 °C’ de standart hidrojen elektrotu göre potansiyeli +0,222 V’ dur.

Oluşan tepkime şu şekildedir;



Civa – civa (I) sülfat referans elektrot

Doygun kalomel elektrotu benzer. Elektrot potansiyeli sülfat iyonlarının aktifliği ile bulunur.

Çalışma Elektrotları

Zamanla potansiyeli doğrusal olarak değişen, yüzeyinde analitin yükseltgendiği veya indirgendiği mikroelettrotlardır. Voltametik tekniklerin performansı çalışma (indikatör) elektrotuna bağlıdır. Çalışma elektrotunun yüzeyinin kimyasal yapısı ve fiziksel özellikleri performansı etkilemektedir. Elektroanalitik yöntemler gelişmeye devam ederken çalışma elektrotlarını geliştirme çabaları da halen devam etmektedir. Elektroanalitik yöntemlerin verimini arttırabilmek için çalışma elektrotları şekil ve kimyasal yapıları bakımından geliştirilmeye çalışılmaktadır.

Yapımında platin veya altın gibi iletken bir metal, pirolitik grafit ya da camsi karbon; kalay oksit ya da indiyum oksit gibi yarı iletken veya bir civa filmi ile kaplanmış bir metal kullanılabilir. Çalışma elektrotları biyosensör tasarımına uygun bir şekilde geliştirilebilir.

Çalışma elektrodu tekrarlanabilir yanıtlar kadar sinyal/ gürültü karakteristiği de sağlar. Çalışma elektrodunun seçimi temel olarak iki faktör üzerine kurulur:

-Hedef analitin redoks davranışları.

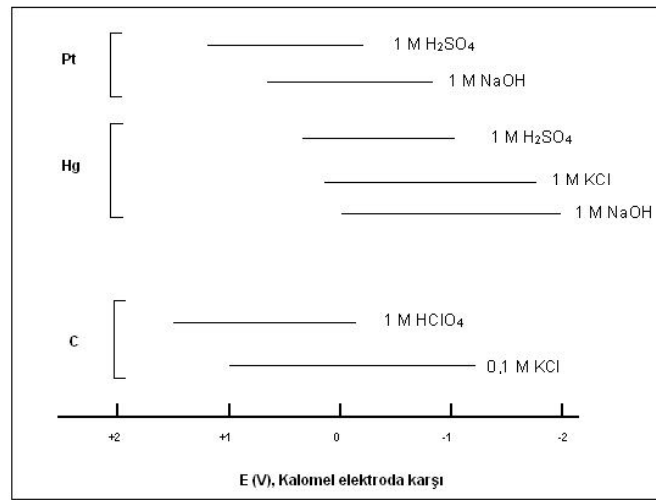
-Ölçüm için gerekli gerilim aralığının üstündeki artık akım

Çalışma elektrodu seçerken dikkate alınacak diğer faktörler; gerilim penceresi, elektrik iletkenliği, yüzey tekrarlanabilirliği, mekanik özellikler, fiyat, bulunabilirlik ve toksiklik sayılabilir. Bu tür elektrotların kullanıldığı gerilim aralığının saptanması çok önemlidir. Özellikle de bu gerilim aralığı, sulu çözeltilerde yalnızca elektrot malzemesine değil, aynı zamanda bu elektrotların daldırıldığı çözeltinin bileşimine bağlı olarak da değişir. Pozitif gerilim sınırları genellikle moleküler oksijen verecek şekilde, suyun yükseltgenmesi sonunda oluşan hidrojen kaynaklanır.

Elektroanaliz için geniş bir materyal aralığı çalışma elektrodu olarak kullanım olanağı bulunmaktadır. Civa, karbon ve soy metaller (özellikle platin ve altın) en çok kullanılanlardır [20].

Voltametrde sıklıkla kullanılan çalışma elektrotları aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir:

- Civa elektrotlar
- Katı elektrotlar
- Kimyasal modifiye elektrotlar
- Mikroelektrotlar



Şekil 1.3. Çeşitli çalışma elektrotlarına ait çalışma potansiyeli aralıkları [16].

a) Civa Elektrot

Civa elektrotlar elektrokimyasal analizde oldukça yaygın kullanılmaktadır. Büyük negatif potansiyel aralıklarında çalışılmasına imkân sağlar. Bunun yanında civa kolayca yükseltgenebilir. Bu özelliğinden dolayı anot olarak kullanılabilirdiği potansiyel aralığı oldukça düşüktür. En büyük üstünlüklerinden bir tanesi her seferinde yeni bir metal yüzeyi oluşturulmasıdır. Bunun yanında civa toksik bir metal olduğu için kullanımı zahmetlidir. Civa elektrotunun; disk elektrot, asılı civa damla elektrot, damlayan civa elektrot, durgun civa damla elektrot gibi çeşitleri vardır.

Önceki yıllarda damlayan civa elektrot bazı üstünlükleri nedeniyle voltametrik çalışmalarda sıkça kullanılmaktaydı. Bu üstünlükleri ise; her yeni damla ile yeni ve temiz bir metal yüzeyi oluşturulduğundan elde edilen akım önceki damlalardaki elektroliz olaylarının

etkisinde kalmaz, bu nedenle de tekrar edilebilir sonuçlar elde edilir. Elektrot yüzeyi pratikçe her zaman aynı kalır. Yine, civanın kimyasal açıdan inert oluşu ve civanın hidrojen indirgenmesine karşı gösterdiği yüksek aşırı gerilimden dolayı bağıl olarak büyük negatif gerilimlerde kullanılabilir ve bu elektrotla birçok indirgenme tepkimesi incelenebilir (Birçok metal iyonu cıva elektrot üzerinde tersinir olarak indirgenir. Cıva, protondan hidrojen gazı oluşmasına karşı büyük bir aşırı gerilim oluşturur. Bu nedenle, birçok madde asit ortamda dahi protondan önce indirgenebilir.). Elektrodun pasifleşmesi veya zehirlenmesi gibi olaylar meydana gelmez. Başka bir deyişle reaksiyonlar tekrarlanabilir türdendir.

Bütün bu üstün özelliklerine karşın bu elektrotun bazı sınırlamaları da vardır. Metalik civanın düşük pozitif gerilimde bile kolayca yükseltgenebilmesi, ($\sim +0.4V$) ve kalomel oluşturmaya cıva elektrodun kullanılmasını sınırlayan en önemli özelliklerden birisidir. Ayrıca kullanılan civanın temizlenmesinin oldukça zahmetli olması, damlama süresinin ayarlanmasının zorluğu, civanın damlatılmasında kullanılan kılcalların kolayca tıkanabilmesi, cıva buharlarının toksik olması ve bu nedenle tekniğin doğrudan dokuya uygulanamaması bu elektrotun kullanılmasındaki başlıca sorunlardır. Ayrıca kullanılan civanın çok saf olması istenir; ancak, bunun her zaman bulunması oldukça güçtür. Damlayan civanın başka bir mahsuru, klasik yöntemin duyarlılığını yaklaşık $10^{-5} M$ 'a sınırlayan faradayik olmayan artık akım veya yükleme akımı oluşmasıdır. Damlayan cıva elektrodun diğer dezavantajı da akım maksimumları vermesidir.

Damlayan cıva elektrotu yukarıda belirtilen sorunları ortadan kaldırmak için 1940'lı yılların sonunda Skobets ve arkadaşları tarafından başlatılan ve günümüze kadar süren katı elektrot çalışmaları bu yönetime geniş bir uygulama alanı sağlamıştır [41- 46].

Damlayan Cıva Elektrodu:

Bu elektrotla çok uzun bir damlama süresi elde etmek zordur. Ancak damlama süresi 18 dakika olan elektrotlar geliştirilmiştir [23].

Asılı Cıva Damla Elektrotu (ACDE)

Genelde bu elektrotun yapısında mikroiğne yer alır. Bu iğne yardımıyla damla büyüklüğü kontrol edilebilmektedir. Bazı ticari firmaların daha farklı elektrotları bulunmaktadır [47-51] ACDE, hem basit, hem ekonomik, hem de istenilen tekrar edilebilirliğe sahiptir. Bu elektrotla elde edilen eğriler de katı ve duran elektrotlarla elde edilen eğrilere benzemektedir. Burada Hg damlaları, bir cam çubuğa kaynatılmış. Pt telin

ucuna asılabilir. Bu Hg elektrodun rutin analizlerde kullanımı mikrosıringalıya oranla daha zordur.

Film Elektrotlar(Civa ince film elektrot) (CİFE)

Yüzey/hacim oranın büyük olması avantaj sağlar, duyarlılığı artırır. Eğer hacim büyük olursa, Hg yüzeyine difüzyon zaman alır ve ayırmagücü düşer. Elektrotun geometrik yapısı da duyarlılıkta rol oynayan önemli bir faktördür. CİFE'un yüzey alanının hacmine oranının çok büyük olması üstünlük sağlamaktadır. Hg filmin içinden dışarıya doğru difüzyon son derece hızlıdır. Bu da civa film elektrotun asılı civa elektrota üstünlüğüdür.

Film elektrodun bazı tiplerinde tekrar edilebilirliğin az olması bu elektrotun dezavantajıdır. Film elektrotlarının metaller arası bileşik oluşturma özellikleri vardır. İlk çalışmalarda Ag, Pt, Ni tel elektrotlar kullanılmıştır, bu elektrotlarda yüzey oksit filmi oluşmakta ve tekrar edilebilirlik az olmaktadır.

Hg filmleri iki aşamada hazırlanır [52]. İlk olarak Hg -0,2V'da (kalomel elektrota karşı) elektrot materyali üzerine kaplanır. Daha sonra potansiyel daha negatif yapılarak tayin edilecek diğer metaller bu film üzerine kaplanır [53]. Bazen de tayini yapılacak çözeltiye Hg katılır ve elektroliz sırasında hem Hg hem de madde elektrot yüzeyine kaplanır.

b) Katı Elektrotlar

Katı elektrotlar, değişik voltametrik tekniklerde çalışma elektrotu olarak yıllardır kullanılmaktadır. Elektroanalitik çalışmalarda katı elektrotlar genellikle cam elektrotlardan geliştirilir.

Katı elektrotlar 50 yıl önce elektroanalitik kimyada kullanılmaya başlanmış ve birçok değişik katı materyal çalışma elektrodu olarak kullanılmıştır. En sık kullanılanlar: karbon yapılı olanlar, Pt, Au'dır. Bazı özel çalışmalarda; Ag, Ni, Cu, Bi da kullanılmaktadır. Bunlar değişik şekillerde hazırlanmış olabilir: tubular (boru biçiminde), ring (halka biçiminde), makro ya da mikro şekildedir.

Katı elektrotlar, elektrokimyasal yönden inert bir potansiyel aralığına sahiptir. Yüksek sıcaklık ve basınca dayanıklıdır. Elektriksel iletkenlikleri iyidir. Uygulaması kolay, geliştirilebilir, nispeten ucuz ve az toksiktir. Bunlar da katı elektrotlara kullanım avantajı kazandırmaktadır. Küçük yapıları ve toksisitelerinin az olması nedeniyle vücut içi uygulamalarda da kullanılabilir ve zarar minimum düzeyde olmaktadır.

Katı elektrot yüzeyinin deneye hazırlanmasının tekrar edilebilirlik açısından önemi büyüktür. Deney süresince elektrot yüzeyine adsorblanmış veya birikmiş safsızlıklardan

dolayı katı elektrotlar son derece düzensiz davranış gösterirler. Katı elektrotlarda, civa elektrotta olduğu gibi elektrot yüzeyinin yenilenmesi söz konusu olmadığından tekrar edilebilir sonuçların alınabilmesi için katı elektrotların yüzeyinin her ölçümden önce temizlenmesi gerekir. Ön işlem adı verilen bu işlemler her metal için kendine özgü olmaktadır [54- 56].

Voltametrde değişik tipte katı elektrotlar kullanılmaktadır. Örneğin soy metal elektrotlar, çeşitli karbon elektrotlar, modifiye elektrotlar gibi.

a)Metal Elektrotlar

Çeşitli soy metaller bu elektrotların yapımında seçilebilir. En yaygın kullanıma altın ve platin sahiptir. Bazı özel uygulamalarda bakır, nikel, gümüş de kullanılabilir. Ayrıca çinko, indiyum, iridyum, rutenyum oksit gibi metal oksitlerinden de yararlanılmaktadır. Metal elektrotlar, istenilen bir elektron aktarım kinetiği ve geniş bir anodik gerilim aralığında çalışma sağlarlar. Düşük hidrojen aşırı gerilimine sahip olmaları, bu elektrotların katodik gerilim aralığında çalışmalarını sınırlamıştır. Ancak çalışma ortamının pH değerine bağlı olarak -0.2 V ve -0.5 V aralığındaki daha az negatif gerilimlerde kullanılabilir. Yüzey tabaka sorunlarının küçük olması nedeniyle susuz ortam çalışmalarında bu elektrotların kullanımı idealdir. Metal elektrotlar elektrokimyasal ya da kimyasal işlemlere sokularak modifiye edilebilir. Tiyol gruplarının özellikle altın ve platine ilgisi ve yüksek akım yanıtı nedeniyle son yıllarda biyosensör teknolojisinde kullanımını artırmıştır [57].

b) Karbon Elektrotlar

Karbon temelli katı elektrotlar; geniş bir gerilim aralığında çalışmaya olanak tanınması, zengin yüzey kimyasının olması, ucuzluğu, kimyasal inertliği, düşük artık akım vermesi, yüksek duyarlılığı nedeniyle elektrokimyasal analizlerde sık olarak kullanılır. Elektron aktarım hızları metal elektrotlardan daha yavaştır. Karbon, yüksek yüzey aktivitesi olması nedeniyle organik bileşikler tarafından kolayca kirletilebilir. Grafit tozundaki aromatik halkaların aktif oksijen grupları içermesine bağlı olarak çeşitli fonksiyonel gruplar (hidrojen, hidroksil, karboksil grupları ve hatta kinonlar) karbon yüzeyinde bağlar oluşturabilmektedir. Bu fonksiyonel grupların varlığı nedeniyle karbon yüzeyine birçok değişik madde tutturulabilir [57]. Katı elektrotların kullanıldığı voltametri, özellikle indirgenme olaylarına oranla az incelenmiş olan yükseltgenme tepkimelerindeki rolü ile biyoloji alanında ve dolayısıyla fizyolojik önemi olan pek çok bileşiğin farmakolojik etki mekanizmalarının açıklanmasında da başarıyla kullanılmaktadır. Bu amaçla geliştirilen ultramikroelektrotlar

canlı organizmada in vivo çalışmaların yapılmasına olanak sağlamaktadır [58, 24]. Bu yöntemdeki en önemli gelişmelerden biri de, biyosensörlerle biyolojik ortamda reaksiyona giren ve oluşan ürünlerin analizlerinin yapılabilmesidir. Bunlara örnek olarak; glikoz elektrotu, üre elektrotu v.b. verilebilir. Son yıllarda özellikle ilaç–DNA etkileşmelerinin incelenebilmesi ve yeni elektrot tasarımlarının yapılabilmesi için elektrokimyasal DNA biyosensörleri üzerindeki çalışmalar hızla artmaktadır [59-65]

Karbon elektrotlar ikiye ayrılır [66].

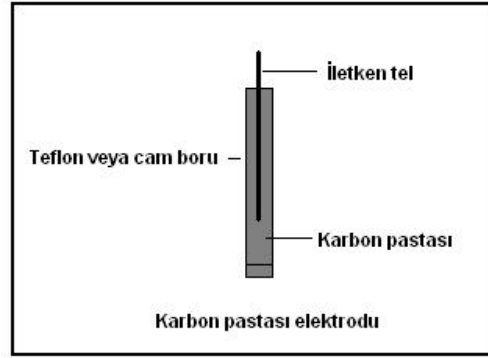
1. Homojen olanlar; camı karbon, grafit, elmas, fullerens, karbon-fiber, perde baskılı karbon [67].
2. Heterojen olanlar; karbon pasta ve modifiye karbon pasta elektrotlar,

Elmas elektrik akımını iletmez. Bor ile dope edilmiş elmas elektrodun zemin akımının düşük olması gibi üstünlükleri vardır ve ilaç analizlerinde son yıllarda kullanılmaya başlanmıştır. Grafit, yumuşak ve gözenekli bir materyal olduğu için yüksek adsorbsiyon kapasitesi vardır. Camı karbon ise mekanik olarak iyi bir iletkenliğe sahiptir. Camı karbon elektrokimyasal dedektör olarak en çok kullanılan dedektör tipidir. Fullurens, camı karbon veya grafit sp^2 tipinde hibritleşmiş karbonlardır. Bütün bu grup karbon materyalleri elektrot hazırlanmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Performanslarında dört kriter önemlidir:

- Geniş potansiyel aralığına sahip olmaları,
- Elektron transfer mekanizmaları,
- Stabilite ve geliştirilebilirlikleri,
- Adsorbsiyon (Analitik işlemlerde adsorbsiyon nadiren istenen bir durumdur; ancak, genellikle istenmez. Elektrot yüzeyine adsorbsiyon istenen bir durum olduğunda elektrotun modifikasyonu için kullanılır. Ancak bazen istenmeyen adsorbsiyon elektrot yüzeyinin kirlenmesine neden olmaktadır.)

c) Karbon Pastası Elektrotu

Karbon pastası elektrotu; %70 grafit ve % 30 bağlayıcı maddeden (bu oran sabit değildir, araştırmacılara bağlı olarak değişebilir) homojen olarak elde edilen karışımın, 2 – 4 mm. çapında camdan ya da teflondan yapılmış borulara sıkıştırılmasıyla hazırlanır. Elektriksel iletkenlik, bir ucundan iletken bir telin borunun 2/3' üne kadar uzatılmasıyla sağlanır.



Şekil 1.4. Karbon pastası elektrotunun şematik olarak gösterimi [16].

Karbon pastasının hazırlanmasında bağlayıcı madde olarak mineral yağ, parafin yağı, silikon yağı, bromonaftalen kullanılabilir. Bağlayıcı madde ve grafit karışımının elektrot etkinliği üzerine etkisi vardır. Örneğin bağlayıcı olarak kullanılan maddenin karışımdaki oranı arttıkça, elektrotun elektron transfer hızı azalmaktadır.

Karbon pastası elektrotu; hazırlanan karışıma, çalışmaya uygun maddelerin eklenmesiyle modifiye edilebilir. Ayrıca hazırlanmasının pratik ve ucuz olması, yüzey yenilenmesinin kolay olması gibi nedenlerden dolayı çalışmalarda sıklıkla tercih edilir.

d) Camsı Karbon Elektrot

Mikrometre boyutlu grafit tozu partiküllerinin, sert ve yapıştırıcı madde ile inert malzemeden yapılmış elektrot gövdesi içerisine sıkıştırılmasıyla elde edilir. Çalışmalarda genellikle tekrarlanabilir yüzeyler sağlanır. Kimyasal tepkimelere girmez. Geniş bir potansiyel aralığında çalışılmasına olanak sağlar. Karbon pastası elektrotlarına göre daha düzgün ve pürüzsüz elektrot yüzeyleri elde edilir. Fiziksel dayanıklılığı daha fazladır.

Camsı karbon elektrotlar, karbon yapıları arasında en yaygın olarak kullanılanlardır. Camsı karbon diğer karbon yapılarından farklı fiziksel özellikler taşır. Yüzeyinde daha ufak gözenekler bulunur ve bu özelliğinden dolayı diğer karbon türlerine göre daha çok kullanılır.

Yapılan pek çok çalışmada camsı karbon elektrottaki elektron transferinin metal elektrottakinden daha yavaş olduğu bulunmuştur. Camsı karbon elektrodun yapısı ve özellikleri ile elektroanalitik kimyadaki kullanımı Van der Linden ve Dieker tarafından hazırlanan bir derlemede açıklanmıştır [68].

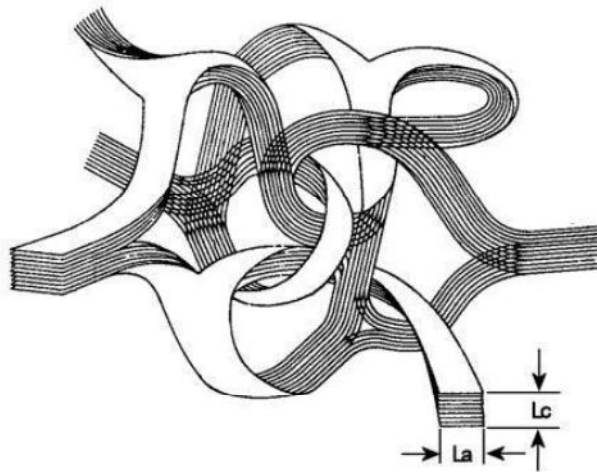
Camsı karbon elektrot materyali ilk defa Yamada ve Sato tarafından 1962 yılında geliştirilmiştir. Bu araştırmacılar, camsı karbon elektrodu inert bir gaz içerisinde fenol formaldehit reçinesini çok dikkatli bir şekilde ısıtma (300-1200°C) sonucunda elde

etmişlerdir. Ayrıca camı karbon elektrot; poliakrilonitrilin 1000-3000 °C sıcaklık aralığında basınç altında karbonizasyona uğratılması ile de elde edilebilir.

Camsı karbon yapısının, rastgele yerleşmiş ve karışık aromatik şerit moleküllerinden oluştuğu saptanmıştır. Diğer katı elektrotlarda olduğu gibi camı karbon elektrotla da aktivasyonu sağlamak ve tekrar edilebilir sonuçları elde edebilmek için çeşitli ön işlemler geliştirilmiştir. Bu işlemler parlatma [69-71] kimyasal ve elektrokimyasal [72], radyo frekans [73], düşük basınç altında sıcaklık uygulaması [74, 75] vakum-sıcaklık uygulaması [55], laser ışını ile uyarılma [76] ve metal oksit filmlerinin elektrot yüzeyinde kaplanması [77] olarak sınıflandırılabilir. Standart bir aktivasyon işlemi henüz saptanamamıştır. Çünkü aktivasyon işlemi kullanılan çözeltiye ve incelenecek maddeye bağlı olarak değişmektedir [78- 79].

Elektron transferi açısından aktivasyon işleminin amacı [71], yüzey kirliliklerinin uzaklaştırılması, yüzeydeki fonksiyonel grupların oluşturulması ve yüzey alanının büyütülmesi, serbest keskin uçlar oluşturulması ve mikro partikül oluşumunu sağlamaktır. Yüzeydeki fonksiyonel gruplar yükseltgenme derecesine göre değişir, az oksitlenirse hidroksil, kuvvetli oksitlenirse karboksil veya kinolik yapılar oluşabilir.

Şekil 1.5.'de camı karbonun yapısı görülmektedir [80].



Şekil 1.5. Camı karbon elektrodun amorf yapısı

e) Perde Baskılı Karbon Elektrotlar

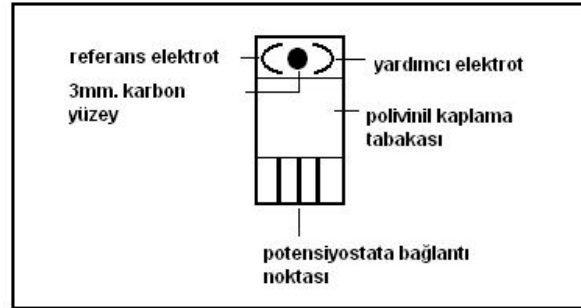
Perde baskılı elektrotlar tek kullanımlık elektrokimyasal sensörlerin üretimi için hızlı bir metottur. Perde baskılı elektrotların kullanım kolaylığı, taşınabilirliği ve ucuz üretim teknikleri nedeniyle tercih edilir. En önemlisi ucuzdur ve yüksek derece kesinlik elde edilir. Gelişen DNA mikroçip teknolojisine uygunluğu açısından oldukça etkin olan perde baskılı

karbon elektrotlar elektrokimyasal analizlerde son yıllarda oldukça tercih edilmektedirler. [81, 82].

Perde baskı teknolojisi; çeşitli mürekkeplerin, poliester esnek film, seramik ya da plastik materyaller üzerine baskısından oluşur. Karbon ve platin mürekkep formülasyonları, çalışma elektrodunun baskısında, gümüşe dayalı formülasyon ise karşılaştırma elektrodunun baskısında sıklıkla kullanılmaktadır. Karbon mürekkepleri, ucuz olmaları ve ölçümlerin düşük fon akımında ve geniş gerilim aralığında yapılmasını sağlamaları nedeniyle perde baskılı karbon elektrot hazırlamada sıklıkla kullanılmaktadır.

Tek kullanımlık perde baskılı elektrotlar kirlilikten kaçınma, enzimin yapısının bozulması ve elektrotun kirlenmesinden dolayı kaybolan yanıt problemlerini giderme gibi bazı avantajlara sahiptir. Perde baskılı elektrotların en önemli avantajı sadece bir kez kullanımdan dolayı devam eden yüzey problemleri ve yüzey kirlenmesini azaltmasıdır. Bu elektrot deneyimsiz kişilerin analitik çalışmalarında da ekonomik fayda sağlar. Bununla birlikte küçük taşınabilir araçla laboratuvar dışında da kullanılabilir

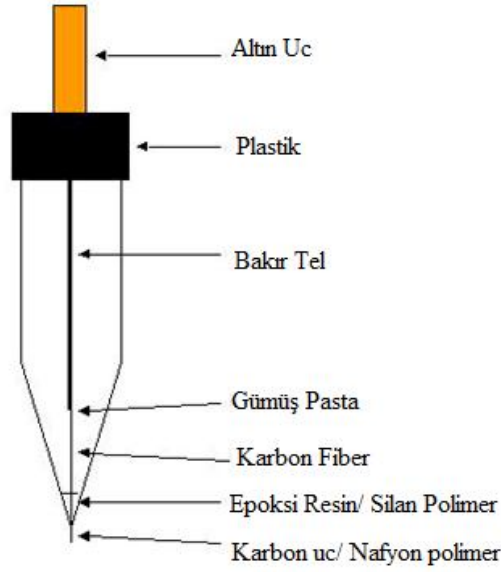
Uygulamada önemli bir kullanım alanına sahip olmalarına karşın, karmaşık yüzeylerde meydana gelen elektrot tepkimelerinin mekanizması hakkında yeterli bilgi vermemektedir. [83-85].



Şekil 1.6. Perde baskılı karbon elektrotun şematik olarak gösterimi [17].

f) Karbon-fiber Elektrot

Ultramikro elektrotlara artan ilgi, elektrokimyasal analizlerde karbon fiberlerin geniş bir alanda kullanılmasına yol açmıştı. Bu tür materyaller, polimer tekstil prolizlerinin yüksek sıcaklığa dayanıklı bileşiklere katalitik kimyasal gaz biriktirilmesi yoluyla bağlanmasıyla üretilmektedir. Birçok analitik uygulamada çapları 5–20 µm fiberler kullanılmakta ve bunlar istenilen radyal difüzyona olanak sağlamaktadır. Karbon-fiber elektrodun en önemli üstünlüğü, küçük ölçütleri nedeniyle çeşitli mikro çevresel (beyin gibi) ölçümlere olanak sağlamalarıdır [20].

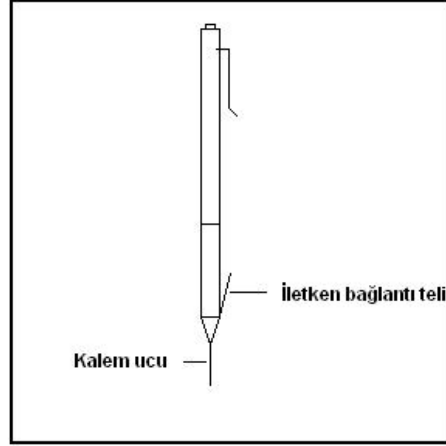


KF: Çapı 7 - 30 mikrometre arasında

Şekil 1.7. Karbon-fiber elektrotun şematik olarak gösterimi

g) Kalem Grafit Elektrot

Tüm katı elektrotlarla çalışılırken en bilinen sorun; analiz sırasında bazı bileşiklerin yükseltgenme ürünlerinin elektrot üzerinde ince bir film olarak birikmesi sonucu analitik yanıtın büyüklüğünün azalması, elektrot temizleme işlemleri uygulansa bile tekraredilebilirlik kayıplarının oluşmasıdır. Bu nedenle elektrot temizliği, elektrokimyasal tekniklerin analizlerde geniş çapta kullanılmasını kısıtlayıcı en önemli sorundur. 1990'lı yılların sonunda başlayarak el-yapımı kalem grafit (kalem ucu) elektrotlar (KGE) camı karbon ve karbon pasta elektrotlara tek kullanımlık özelliklerinin yanısıra çok düşük maliyetlerinden dolayı alternatif olmuşlardır [86, 87]. Elektrot olarak farklı sertlik ve çapta her yerde bulunabilen ticari mekanik kurşun kalem uçlarından yararlanılır. Kalem uçları, doğal grafitin kil ve balmumu karışımı içerisine dispersiyonu ve ardından ısıtıl işlem uygulanması ile üretilir. Kil yerine selüloz gibi organik temelli materyal kullanılıp oksijensiz atmosferde yakıldığı zaman selüloz karbon şekline dönüşür. Oluşan yapı son derece elastiktir. KG elektrotlar, ne karbon pasta ve pirolitik karbon kadar kırılğan, ne de camı karbon kadar serttir. Tek kullanımlık ve hazırlanmasının zahmetsiz ve ucuz olmasından dolayı son yıllarda kalem grafit elektrotuna olan ilgi daha fazla artmaktadır [87-91]. Ayrıca bu elektrot ile alınan sonuçlar daha tekrarlanabilir. Analizi yapılacak maddelerin, uygun elektrokimyasal teknikler kullanılarak daha düşük tayin sınırlarına ulaşılabilir. Kalem ucunun sertlik ve siyahlığı ticari olarak grafit ve kil oranlarının ve sıcaklığının değiştirilmesi ile modifiye edilmektedir.



Şekil 1.8. Kalem grafit elektrotun şematik olarak gösterimi

h) Fullerene Elektrotlar:

Fullerenes (C₆₀, C₇₀) karbon allotropları ailesindendir. Camı karbon ve grafit gibi sp² hibrit karbon yapısına dayanır. Fullerenlerin yapısı boşluklu, küre, elips ya da tüp şeklindedir. sp² karbonlarının, birleşen hexagonal yapılar karşı koymasına rağmen, fullerenler grafit benzemez ve grafit gibi düzlemsel yapılar oluşturmazlar.

Karbon nanotüpleri silindirik fullerenerlerdir ve iyi elektrik iletkenliği, mekanik dayanıklılığı ve geniş kullanım potansiyel aralığı nedeniyle oldukça kullanışlı bir elektrotur. Bu karbon tüpler çoğunlukla sadece birkaç nanometre genişliğindedir. Boru şeklinde yapıları birkaç nm çapında ve birkaç “nm” uzunluğundadır. Bu eşsiz moleküler yapı eşsiz makroskopik özellikleri, yüksek gerilme kuvvetini, yüksek elektrik iletkenliğini, ısıya karşı yüksek direnci de beraberinde getirir. Karbon nanotüplerin daha geniş yüzeyde daha küçük boyut, yüksek seçicilik, hızlı yanıt gibi avantajları vardır.

ı) Elmas Elektrotlar:

Elmas materyalleri karbon materyallerinin yeni bir sınıfını temsil eder ve elektrokimyasal uygulamalar için geleceğin umut verici materyalidir. Elmas (yoğunluğu 3,5) renksiz, saydam ve bilinen en sert maddedir, iletken değildir, kimyasal ve dış etkenlere karşı dayanıklıdır. Elmas bor karbür hariç diğer hiçbir cisim tarafından çizilemez. Elmasın saf karbondan meydana geldiğini 1814 yılında Davy bulmuştur. Elmas karbonun diğer çeşitlerinin çok yüksek basınç ve sıcaklık altında kalması sonucu meydana gelir.

Elmas; sertlik, en yüksek atomik yoğunluk, kimyasal reaksiyonlara girmeme, optik özellikler, ısı iletkenliği, elektriksel karakteristik gibi pek çok özelliğinden dolayı yüksek

performanslı materyaller arasında özel bir yere sahiptir. Bor ile dope edilmiş elmas (BDE); geniş elektrokimyasal potansiyel aralığı, düşük gürültü sinyali, elektro analitik uygulamalarda mekanik sağlamlık gibi özelliklere sahiptir [66, 92].

Elmas elektrotlar, kimyasal stabiliteleri nedeniyle elektroanalitik kimyada ilaç analizlerinde oldukça sık kullanılmaktadır. 2008 yılında Uslu, B., ve ark., Bor ile dope edilmiş elmas ve camı karbon elektrot kullanarak pefloxacin'in elektrokimyasal davranışını incelemişler ve geliştirdikleri yöntemi farmasötik preparatlara ve insan serumuna uygulamışlardır. Elmas elektrotların performansı yüksektir, kimyasal açıdan inerttir. Yüksek atomik dansiteleri vardır. Optik özellikleri, öz iletkenlikleri ve elektriksel karakterleri kullanımlarında avantaj sağlar [93].

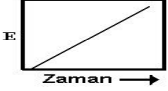
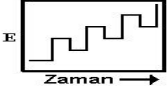
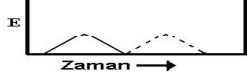
İnertliği ve stabil oluşları nedeniyle güçlü asidik ortamda dahi kullanılabilirler. Bu yönüyle klasik karbon elektrotlar ve diğer metal elektrotlardan daha üstündür. Geniş elektrokimyasal potansiyel aralığına sahip olmaları nedeniyle kimyasal çalışmalarda oldukça kullanışlıdır. Diğer elektrotlardan üstün yönleri şu şekilde sıralanabilir:

- Daha düşük derişimli maddeler dahi analiz edilebilir.
- Daha kısa sürede daha kesin sonuçlar verir.
- Sonuç stabildir.

Amorf elmas elektrotlar, nispeten daha ucuzdur ve kristal elmas elektrotlara göre bu yönüyle daha avantajlıdır.

1.10.2. Voltametrinde kullanılan uyarma sinyalleri

Elektrokimyasal hücreye değıştirilebilir potansiyelde sinyaller uygulanır. Bu uyarma sinyalleri, karakteristik akım cevaplarını oluşturur. Voltametrinde en çok kullanılan dört uyarma sinyalinin şekli, şekil 1.9.'de verilmiştir. Bunlar; doğrusal taramalı, diferansiyel puls, kare dalga ve üçgen dalgadı

İsim	Dalga Sekli	Voltametrinin tipi
(a) Doğrusal taramalı		POLAROGRAFI HİDRODİNAMİK VOLTAMETRİ
(b) Diferansiyel puls		DİFERANSİYEL PULS POLAROGRAFİSİ
(c) Kare dalga		KARE DALGA VOLTAMETRİSİ
(d) Üçgen		DÖNÜŞÜMLÜ VOLTAMETRİ

Şekil 1.9. Voltametrizde kullanılan potansiyel uyarma sinyalleri [94]

1.10.2.1 Doğrusal taramalı voltametri

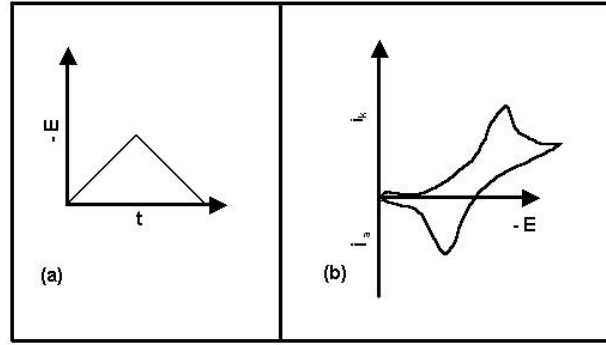
Doğrusal taramalı voltamogramlar, genelde „voltametrik dalga“ adı verilen sigmoidal şekilli (S şeklinde) eğrilerdir. Dik bir artıştan sonra gelen sabit akıma difüzyon kontrollü akım ya da sınır akımı (i_s) adı verilir. Çünkü bu akım, analizlenecek maddenin kütle aktarım işlemiyle elektrot yüzeyine taşınma hızıyla sınırlıdır. Sınır akımları analizlenecek maddenin derişimi ile doğru orantılı olup $i_s = k CA$ eşitliği ile verilir. Burada, CA analit derişimi, k ise bir sabittir. Nicel doğrusal taramalı voltametri bu ilişkiye dayanır. Difüzyon tabakasını aşırı basitleştiren varsayımlara dayanarak türetilmiş bu eşitlik; hareketli ve durgun tabakalar arasındaki arayüzeyin, konveksiyonla taşınmanın son bulunduğu, difüzyonla taşınmanın başladığı keskin bir kenar olduğu varsayımı temeline dayandırılmıştır.

Yarı-dalga gerilimi, akımın sınır akımının yarısına eşit olduğu gerilime denir ve $E_{1/2}$ ile gösterilir. Yarı-dalga gerilimi, yarı-tepkimenin standart gerilimi ile yakından ilgili olmakla birlikte ona eşit değildir.

1.10.2.2 Dönüşümlü voltametri

Normal polarografide potansiyel tarama hızı damla ömrüne göre çok yavaştır. Örneğin 5 mV/s tarama hızında damla süresi 1s ise bir damla ömrü esnasında potansiyeldeki değişme 5 mV kadardır. Tarama hızı bir damla ömrü için 100-200 mV/s civarında tutulursa ve belli bir potansiyelden sonra ilk taramanın tersi yönde tarama yapılırsa bu voltametrik metot dönüşümlü voltametri (DV) adını alır.

İlk olarak Nicholson ve Shain tarafından geliştirilen dönüşümlü (siklik) voltametri elektrokimyasal olayların incelenmesinde kullanılan önemli yöntemlerden birisidir [96]. Bu teknikte, gerilimin bir fonksiyonu olarak akım ölçülür. Sürekli değişen potansiyel değerlerine karşı belirli bir aralıkta akımdaki değişim grafiğe geçirilerek Dönüşümlü Voltamogram elde edilir. Yöntemde, karıştırılmayan bir çözeltideki elektrodun akım cevabı, üçgen şekilli dalga potansiyeli ile uyarılır. Bu uygulamada, potansiyel iki değer arasında devreder. Önce bir maksimuma doğru doğrusal olarak artar ve sonra aynı eğimle orijinal değerine doğrusal olarak azalır. Bu işlem, akım zamanın bir fonksiyonu olarak kaydedilirken defalarca tekrarlanabilir. Bir tam devir 100 ve/veya daha fazla saniye sürebilir ve/veya 1 saniyeden daha az sürede de tamamlanabilir. ileri ve geri yöndeki gerilim hızları aynı tutulabildiği gibi farklı tarama hızları da kullanılabilir.



Şekil 1.10. (a) Dönüşümlü voltametrde elektroda uygulanan gerilimin zamana karşı grafiği ;
(b) Dönüşümlü voltametrde elde edilen akım-gerilim eğrisi.

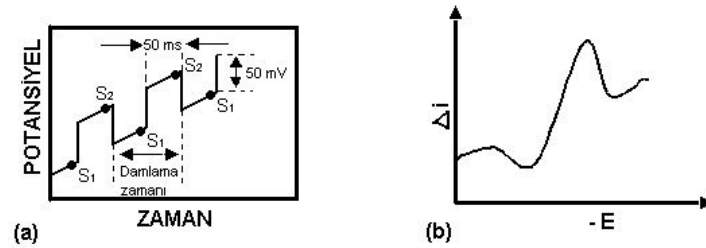
Doğru akımdaki gibi kapasitif akımın en küçük olduğu bölgede çalışılır. Duyarlılık 10^{-5} M ile sınırlıdır. Dönüşümlü voltametri, miktar tayinine dayalı bir yöntem değildir ama analizlenecek maddenin hangi potansiyelde nasıl davrandığı hakkında bilgi verir. Elde edilen bilgiler doğrultusunda o maddenin hangi potansiyelde optimum cevabı verebileceğini gösterir.

Dönüşümlü voltamogramların şekli ve yapısında seçilen potansiyel aralığının yanı sıra, seçilen tarama hızının, kaç defa tarama yapıldığının da etkisi vardır. Tarama hızı pratikte 10 mV/s'den birkaç yüz V/s ye kadar değiştirilebilir. Çok yüksek tarama hızlarında (birkaç bin V/s) çift tabaka yüklenmesi ve IR problemleri ortaya çıkar. Ancak mikroelettrot kullanıldığı zaman bu tür problemler minimuma indirilir. DV'de tarama hızı değiştirilerek pik yüksekliklerinin tarama hızı ile değişmesinden adsorpsiyon, difüzyon ve elektron aktarım reaksiyonuna eşlik eden kimyasal reaksiyon olaylarının varlığı ve tabiatı belirlenebilir. Ayrıca ileri ve geri tarama piklerinden elettrot reaksiyon mekanizması hakkında fikir edinilebildiği

gibi kinetik veriler de bulunabilir. Bu özelliklerinden dolayı dönüşümlü voltametri ilk defa çalışılan bir sistem için tercih edilen bir teknik olmuştur.

1.10.2.3. Diferansiyel puls polarografisi

Bu teknikle, yarı-dalga potansiyelleri 0,04-0,05 V kadar farklı olan maddeler için bile pik maksimumları elde edilebilmektedir. Diferansiyel puls polarografisi, çok duyarlı bir yöntemdir ve tayin sınırı 10^{-7} - 10^{-8} M arasındadır. 10 mV' luk veya 50 mV' luk bir puls civa damlasına uygulanır. Uygulanan pulsun belli bir zaman öncesi ve sonrasında, puls başına elde edilen akımdaki fark, doğrusal olarak artan potansiyelin fonksiyonu olarak kaydedilir. Gözlenen diferansiyel eğri pik şeklinde olup, yüksekliği konsantrasyonla doğru orantılıdır.



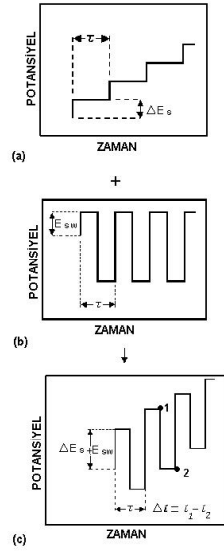
Şekil 1.11. Diferansiyel puls polarografisi için uyarma sinyalleri; (a) Analog cihazlarda diferansiyel puls voltametri için kullanılan uyarma sinyali; (b) Diferansiyel puls voltametrisinde elde edilen bir voltamogram [94].

Faradayik akımın yüksek, faradayik olmayan yükleme akımının ise düşük değerde olması duyarlılığın artmasıyla açıklanabilir. Örneğin potansiyel aniden 50 mV arttırıldığında, elektrodu çevreleyen yüzey tabakasında, eğer elektroaktif bir tür varsa, analit konsantrasyonunu yeni potansiyel tarafından istenen seviyeye düşürecek bir akım artışı gözlenir. Ancak bu potansiyel için gerekli olan denge konsantrasyonuna erişilince, akım difüzyonu karşılayacak bir seviyeye düşer ki buna difüzyon kontrollü akım denir. Puls polarografisinde akım ölçümü, bu akım artışı tamamen sona ermeden önce yapılır. Toplam akım, difüzyon akımından büyüktür. Damla değiştiğinde, çözelti yeniden analizlenecek madde yönünden homojen hale gelmektedir.

Gerilim pulsu ilk uygulandığı zaman damla üzerinde yük artışı nedeniyle faradayik olmayan akımda da bir dalgalanma olur. Bu akım zamanla azalır ve yüzey alanının çok az değiştiği damla ömrünün sonuna doğru sifıra yaklaşır. Dolayısıyla akımı bu anda ölçmek suretiyle faradayik olmayan artık akım büyük oranda azaltılır ve sinyal / gürültü oranı artar. Bunun sonucunda duyarlılık da artar.

1.10.2.4 Kare dalga polarografisi ve voltametrisi:

Son derece hızlı ve duyarlı olma üstünlüğü olan bir puls polarografi tekniğidir. Bir kare-dalga voltametresinde uyarma sinyalinin oluşumu şekil 1.12’de görülmektedir.



Şekil 1.12. Bir kare-dalga voltametresinde uyarma sinyalinin oluşumu [(a) daki uyarma sinyali (b)’deki puls taraması ile (c)’deki kare-dalga uyarma sinyalini elde edecek şekilde toplanıyor].

Voltamogramın tamamı 10 ms’den daha kısa bir sürede elde edilir. Damlayan cıva elektrodu ile tarama, bir damla ömrünün son birkaç saniyesi içinde, yükleme akımı hemen hemen sabitken gerçekleştirilir. Kare dalga voltametrisi asılı cıva damla elektrodu ve kromatografik dedektörler ile kullanılmaktadır.

1.11. İlaç-DNA Etkileşimi

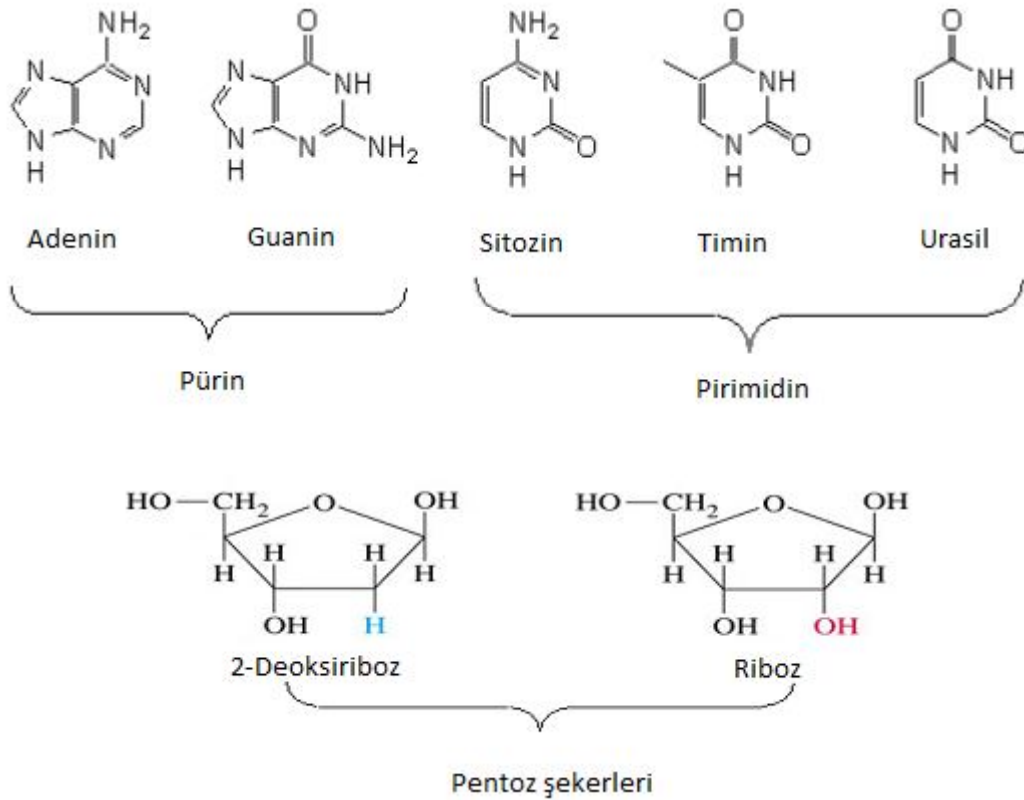
Canlı organizmaların yaklaşık % 99’unu lipitler, karbonhidratlar, proteinler ve su oluşturur. Geriye kalan % 1’lik kısmını oluşturan bileşiklerden nükleik asitler, genetik bilgi aktarımını sağlayan taşıyıcılardır. Nükleik asitler, nükleotid denilen birimlerden oluşan polimerlerdir. Nükleotid birimlerinin her biri ise üç bölümden oluşur;

1. Bir azotlu heterosiklik purin (adenin, A; guanin, G) veya pirimidin baz (timin, T; sitozin, C; urasil, U),

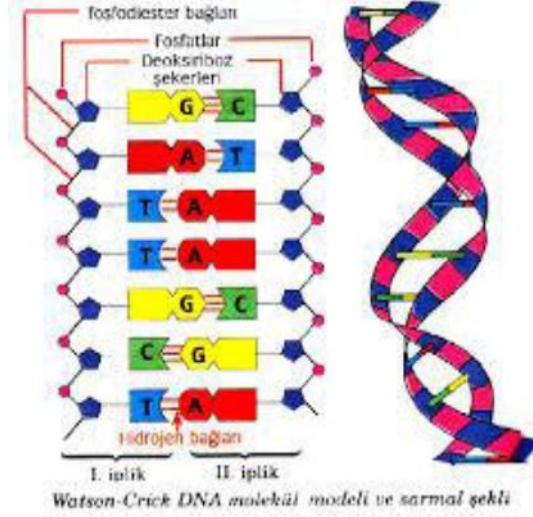
2. Beş karbonlu pentoz şeker,

3. Bir fosfat grubu.

Nükleik asitler, DNA (deoksiribonükleik asit) ve RNA (ribonükleik asit) olmak üzere iki gruba ayrılır. DNA hücre çekirdeği içinde, protein içerikli kromozomlardan oluşur. Kromozomların spesifik yerleşmesi ile kalıtım özelliklerini kuşaktan kuşağa taşıyan genler oluşur. DNA ve RNA her ikisi de fosfat grubu içerir, ancak içerdikleri azotlu bazlarda ve şeker yapısında farklılık vardır. DNA, 2-deoksiriboz ve A, G, C, T, RNA ise riboz ve A, G, C, U bazlarını içerir (Şekil 1.13). Nükleik asitler tek bir zincirden oluşabildikleri gibi birbirine sarılmış iki zincirden de oluşabilirler [95,96]. Tek sarmal nükleotidler karşılıklı hidrojen bağları ile bağlanarak merdiven görünümüne sahip çift sarmallı (heliks) zincir oluştururlar (Şekil 1.14).



Şekil 1.13. Nükleik asiti oluşturan kısımlar



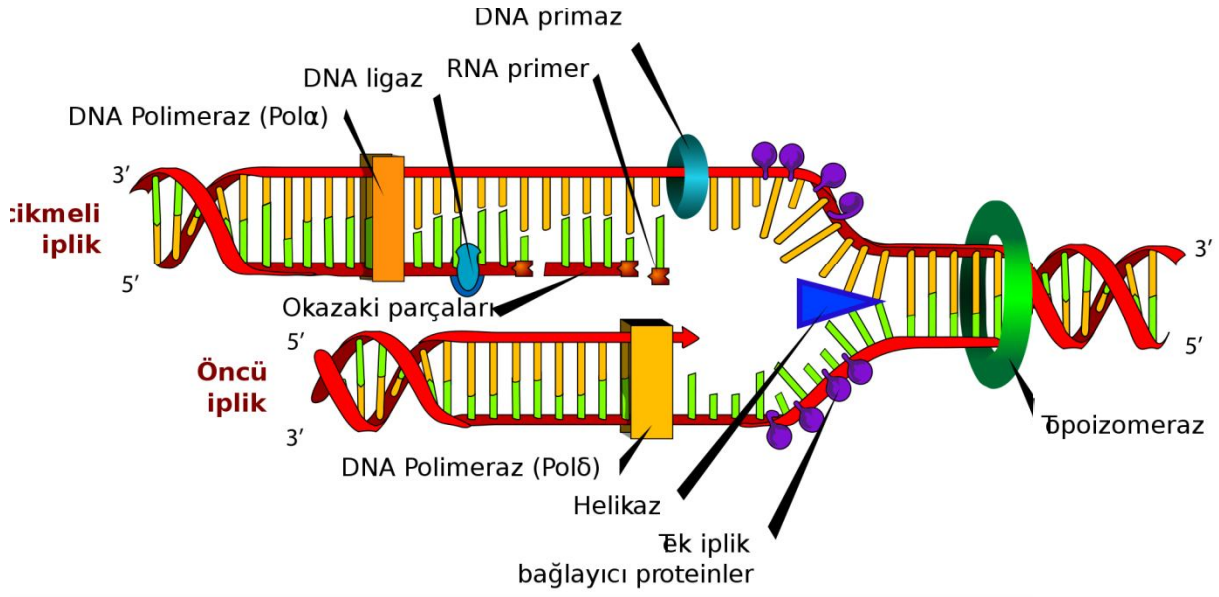
Şekil 1.14. DNA çift sarmalı

Genellikle DNA çift sarmallı olup baz çiftleri (A-T ve G-C) arasında hidrojen bağları vardır. RNA ise genelde tek sarmal yapıya sahiptir. DNA'nın bugün kabul edilen şekli çift sarmaldır ve yapı 1953 yılında Francis Crick ve James Watson tarafından önerildi. Bu da modern çağın en önemli olaylarından biri olarak kabul edilmektedir. Bu araştırmaları, Maurice Wilkins ve Rosalind Franklin'in DNA'nın X-ışını kırınımı çalışmaları ile Erwing Chargaff'ın nükleik asitlerde purin ve pirimidin bazlarının düzeni ile ilgili çalışmaları izledi. Bu bazların düzenine baz-eşleşme kuralı denir ve aşağıdaki gibi ifade edilir.

1. Adenin miktarı timin miktarına eşittir. (A=T)
2. Guanin miktarı sitozin miktarına eşittir. (G=C)
3. Purin bazları toplamı pirimidin bazları toplamın eşittir. (G+A=C+T)

İki sarmal yapısını koruyabilmek için, iki şerit arasında hidrojen bağ oluşumu ancak şeritlerden birindeki A'ya diğer şeritteki T'nin, ya da G'ye C'nin karşılık geldiği durumlarda olasıdır. C ile karşılıklı gelemmez, çünkü göreceli küçük moleküller (küçük halkalı) birbirlerine yeteri kadar yaklaşamayacaklardır. G ve A'nın da karşılıklı bulunmaları olası değildir. Çünkü moleküller fazla büyüktür (ikili halkalar).

DNA moleküllerinin kopyalanabilme yeteneği vardır. Yani kendilerinin tam kopyalarını yapabilirler. Bir DNA molekülünün kopyalanmasında kritik basamak, molekülün şeritlere açılmasıdır. Açılma olurken, hücre çekirdeğindeki serbest nükleotitler, iki tek şeridin açılmış kısımların bağlanır. Her biri, bir eski bir yeni şerit içeren yeni bir DNA ikili sarmalı oluşturur [97]. Şekil 1.15'de DNA'nın kopyalanması şematize edilmiştir.



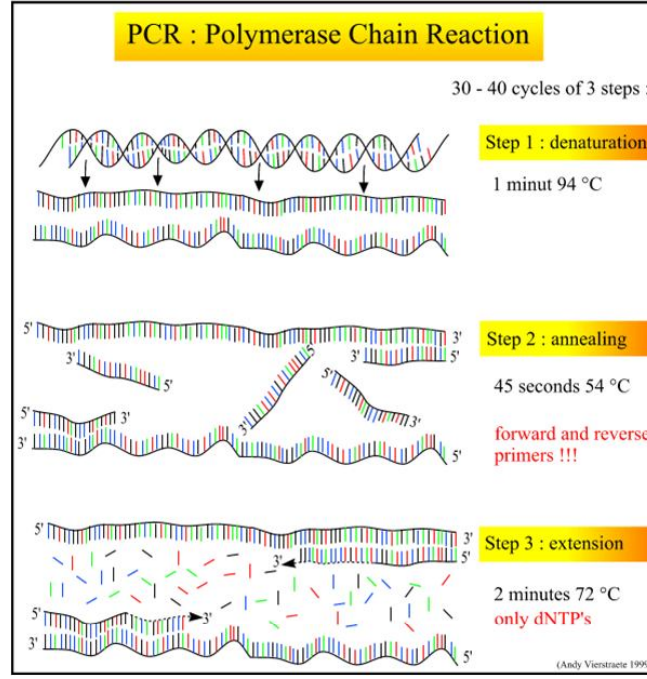
Şekil 1.15. DNA'nın kopyalanması

DNA'nın Bağlanma Türleri

DNA ile bir maddenin etkileşimi üç temel bağlanma modeli üzerinden gerçekleşmektedir. Bunlar interkalasyon, groove bağlanma ve elektrostatik dış bağlanmadır.

İnterkalasyon

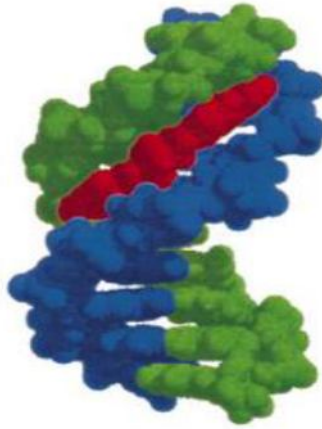
Özellikle düzlemsel yapıda kromoforlara sahip floresant bileşiklerin nükleik asit baz çiftleri arasına yerleşmesi ile interkalasyon bağlanma oluşur. Kromofor molekül ve baz çiftleri arasında Van der Waals kuvvetleri etkindir ve interkalasyon sonucunda DNA sarmalında genişleme ve küçük değişimler meydana gelir. Bu etkileşim çok küçük pirimidin-3', 5'-pürin seçiciliği gösterse de genellikle DNA zincirinden bağımsız olarak gerçekleşir. Şekil 1.16'da DNA'ya interkalasyon bağlanma türü verilmiştir.



Şekil 1.16. DNA'ya interkalasyon bağlanma türü

Groove (Oluk) Bağlanma

Groove bağlayıcılar genellikle AT (adenin, timin) seçiciliği gösteren moleküller olarak sınıflandırılabilir. Proteinler birincil olarak major groove etkileşimleri tercih ederken, küçük moleküller genellikle minor groove bağlanma gösterir. İnterkalasyon ile bağlanan yapılardan farklı olarak groove bağlayıcılar DNA yapısında belirgin bir değişime yol açmaz. Minor groove bağlayıcılar genellikle yarım ay şeklinde katyonik ligandlardır. Şekil 1.17'de DNA'ya minör oluk bağlanma türü verilmiştir.



Şekil 1.17. DNA'ya minör oluk bağlanma türü

Elektrostatik Dış Bağlanma

DNA sarmalı hem yapısını hem de fonksiyonlarını etkileyen negatif yüklü fosfat grupları içermektedir. Örneğin, floresant bir bileşik DNA çift sarmalına dış bağlanma ile bağlandığında genellikle karşı iyonları uzaklaştırır. Bunun sonucunda DNA yapısında ayrılmalar gerçekleşebilir. Bu tür etkileşimler genellikle seçici değildir [95].

Bu çalışmanın diğer bir çıktısı da metal kompleksleri sentezlenmiş olan antikanser ilaçlarının DNA ile etkileşimlerinin incelenerek, bu etkileşimler sonra biyosensör olarak kullanılıp kullanılamayacağının araştırılmasıdır.

Biyosensörler, genel olarak analizi yapılacak madde ile seçimli olarak etkileşime giren bir biyokimyasal kısım ile bu etkileşim sonrası oluşacak sinyalleri algılayabilen elektriksel iki kısımdan oluşan biyoanalitik aletlerdir. Bir biyosensörün biyokimyasal kısmı; enzim, hücre, doku, antikor, nükleik asit gibi biyolojik maddelerden oluşur [98, 99].

Bu çalışmada biyosensörün biyokimyasal kısmı olarak nükleik asit kullanılması tasarlanmıştır. Nükleik asitler genetik bilgilerin kodlandığı ve bunların nesilden nesile aktarılmasını sağlayan makro moleküllerdir. İki tip nükleik asit vardır. Bunlar DNA (deoksiribonükleik asit) ve RNA (ribonükleik asit) olarak isimlendirilirler. DNA bizim kullanımımız için daha idealdir. Bir biyosensör, birbiri içine geçmiş biri biyokimyasal diğeri elektrokimyasal özellikteki iki çevirici sistemden oluşmaktadır. Biyokimyasal kısım, analizi yapılacak madde ile etkileşime girerek onu tanır. Biyosensör, biyokimyasal kısmını oluşturan biyolojik materyel DNA olduğunda, DNA biyosensörü adını alır [100]. DNA biyosensörleri, dizisi belli hibridizasyon olaylarının izlenmesinde [101], DNA ile etkileşime giren bazı maddelerin (karsinojen maddeler, ilaçlar vb.) belirlenmesinde kullanılabilir [102]. Son yıllarda DNA' ya dayalı elektrokimyasal biyosensörler alanındaki gelişmeler oldukça dikkat çekicidir [99].

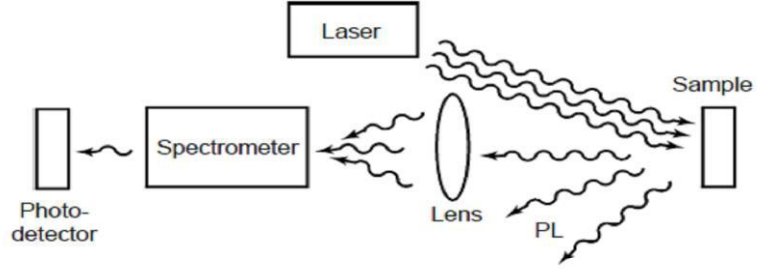
1.12. Fotoluminesans

Fotoluminesans ölçümünün temeli, malzemesinin yüksek enerjili UV foton yayan bir lazer ile uyarılıp iletim bandından valans bandına düşen elektronların saldırdığı fotonun karakterize edilmesidir. Salınan bu fotonun dalgaboyu doğrudan malzemenin yasak bant aralığı (Eg) enerjisi ile ilişkilidir ve enerjisi bu aralık enerjisi kadardır.

Yarıiletken malzemelerde optik uyarılma ile yaratılan elektron-hole(deşik) çiftleri

temel enerji durumlarına dönerken kaybettikleri bu enerjiyi ışıma olarak yayarlar. (Şekil 1.18)

Bazı durumlarda malzemenin katkılanmasından dolayı (n –tipi veya P tipi) veya içindeki safsızlık atomlarından kaynaklı valans bandı ve iletim bandı kenarında donör ve akseptör seviyeleri oluşabilir. Bu uyarılan malzemeden farklı dalga boylarında ışımanın da gelmesine sebep olabilir. Ancak asıl beklenen fotonun enerjisi yasak band aralığı enerjisi(E_g) kadardır.



Şekil 1.18 Fotolüminesans'ın çalışma prensibi

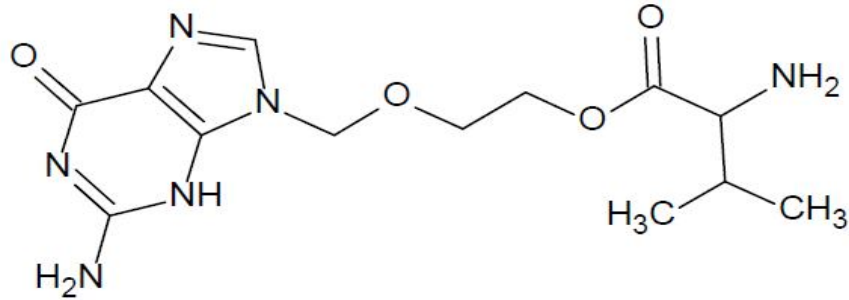
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Li ve ark., (2012) 2-asetilpirazin N(4)- feniltiyokarbazon'un Zn(II) ve Bi(II) metal komplekslerinin sentezini gerçekleştirmişlerdir, aynı zamanda kristal yapısını tayin edip in vitro ortamda biyolojik özelliklerini incelemişlerdir. $Zn(L)_2 \cdot H_2O$ ve $[Bi(L)(NO_3)_2(CH_3OH)]_2$ (L= 2-asetilpirazin N(4)-feniltiyokarbazon) formüllerine sahip iki yeni metal kompleksi sentezlenmiştir. Sentezlenen bu komplekslerin karakterizasyonu elementel analiz, IR, NMR, MS ve tek kristal X-ışını kırınımı teknikleri ile çalışmışlardır. Biyolojik çalışmaları in vitro ortamda bazı bakterilere ve lösemi hücrelerine karşı test etmişlerdir [103].

Badiger ve ark., (2011) 1,2, dihidroquinazolinon türevlerinin geçiş metal komplekslerini sentezlemiş ve analjezik ve anti-enflamatuar ajan olarak kullanabilirliklerini incelemişlerdir. Yeni 1,2-dihidroquinazolinone, 2-(2-hydroxy-phenyl)-3-[1-(2-oxo-2H-chromen-3-yl)-ethylideneamino]-2,3-dihydro-1H-quinazolin-4-one (L) ve bunun Mn(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) ve Zn(II) kompleksleri hazırlanmıştır. Bu kompleksleri elementel, spektral (Uv-Vis., IR, NMR (^1H , ^{13}C) ve kütle), iletkenlik, magnetik süsseptibilite ve termal metodlar kullanılarak karakterize edilmiştir. Fizikokimyasal çıktılar ligandın metale 3 dişli ONO sıralamasıyla davrandığını ve trigonal bipramidal geometriye sahip olduğunu göstermiştir. Ligand ve metal komplekslerinin anti-enflamatuar ve analjezik aktiviteleri in vivo ortamda değerlendirilmiştir. Test edilen bileşikler mükemmel aktivite göstermişlerdir [104].

Patel ve ark., (2010) Kinolon antibakteriyel ilaç olan siprofloksasin ile homodinükleer Zn(II) kompleksleri sentezlemişlerdir. Kompleks yapısı elementel analiz, TG analizleri ve çeşitli spektroskopik teknikleri kullanarak karakterize etmişlerdir. Metal iyonun iki su molekülü ile oktahedral geometri gösterdiği ileri sürülmüştür. DNA ile kompleksin etkileşimini absorpsiyon titrasyonu, vizkozite ölçümleri ve elektroforez tekniği kullanılarak tespit etmişlerdir. Komplekslerin DNA'ya daha güçlü bağlandığını önermişlerdir. DNA ile metal komplekslerinin bağlanmasını viskozite etkisi ile kontrol ederek doğrulamışlardır. Tüm ligandlar ve metal komplekslerinin antimikrobiyal aktiviteleri minimum inhibitör konsantrasyon yöntemi (MİK) ile incelenmiştir [105].

Gölcü ve ark., (2006) valasiklovir hidroklorit ve Cu(II) arasındaki kompleksleşmeleri değişik reaksiyon ortamlarında incelemişler ve sonuçlar, UV-Vis, IR, kütle spektrası, termal gravimetrik, manyetokimyasal, iletkenlik ve elemental analiz metotları ile değerlendirilmiştir. Job metodu kullanılarak bu komplekslerin kompozisyonlarını bulmuşlardır. Bu sonuçlar 1:1 ile 1:10 arasında değişmektedir. Bazik çözelti ortamında mavi renkli $\text{Cu}_2(\text{HL})_2\text{L}(\text{H}_2\text{O})_4$ oktahedral kompleksi oluşmuştur. Ayrıca MeOH ortamında yeşil renkli $\text{Cu}(\text{H}_2\text{L})\text{L}(\text{H}_2\text{O})_4$ kompleksi oluşmuştur. H_2L 'nin protonlanma sabiti ve Cu(II) kompleksinin kararlılık sabiti su ortamında potansiyometrik titrasyon yapılarak oda sıcaklığında azot gazı atmosferi altında ve 0.1 M iyonik şidette yapılmıştır. Bu çalışma sonucunda H_2L ligandının üç tane protonlanma sabitinin olduğu ortaya çıkmıştır. Ayrıca Cu^{+2} iyonu ile 1:1 ve 4:1 olmak üzere ki farklı kompleksleşme oranı bulunmuştur. Çalışmanın sonunda ise bulunan komplekslerin antimikrobiyal aktiviteleri birçok bakteriye karşı denenmiştir [106].



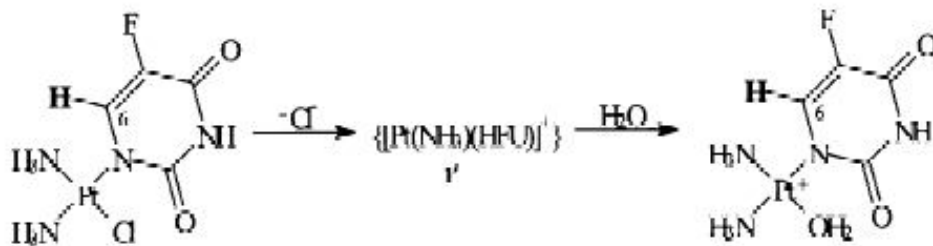
Şekil.2.1 Valasiklovir'in kimyasal yapısı

Demirezen ve ark., (2012) antiviral madde olan , trimethoprimin (TMP) ve Cu(II) kompleksinin sentezi elektrokimyasal olarak incelenmiştir. TMP Cu(II) kompleksi ($[\text{Cu}(\text{TMP})\text{Cl}_2]$) elektrokimyasal özelliklerini camısı karbon elektrot kullanarak voltametri (CV) olarak incelenmiştir. Dönüşümlü voltametri ile elde edilen sonuçlar TMP'nin camısı karbon elektrot üzerinde difüzyon kontrollü taşındığını göstermiştir. DNA-TMP bakır kompleksinin etkileşimi camısı karbon çalışma elektroduyla spektrofotometri (UV-Vis) ve voltametri (CV) kullanılarak elektrokimyasal olarak incelenmiştir [107].

Etcheverry ve ark., (2007) losartanın Cu(II) ile etkileşimini ve biyolojik etkilerini incelemişlerdir. Losartan, 2-n-butyl-4-chloro-5-hydroxymethyl-1-[(2'-(1H-tetrazol-5-yl)biphenyl-4-yl)methyl]imidazol'un sodyum tuzu olan antihipertansiz bir ilaçtır. Losartanın titreşimsel FTIR ve Raman spektrumları karşılaştırılmıştır. Losartanın Cu(II) kompleksleri sentezlenmiş ve mikro kristal tozu halinde karakterize edilmiştir. Ligandın metale tetrazolat grubunun N atomundan bağladığı IR spektrometresiyle belirlenmiştir. Ligand metal atomuyla bozulmuş tetragonal yapıda dimer oluşturmuş ve bu durum EPR spektrometresiyle kanıtlanmıştır. Antioksidan özellikleri ve hücreler üzerindeki etkileri incelenmiştir. Sentezlenen kompleks tümör hücreleri üzerinde Cu(II) iyonundan ve Losartandan daha fazla toksik etki gösterdiğini tespit etmişlerdir [108].

Ajibade ve ark., (2010) antimalarial ilaç olan amodiaquine, klorokin, quinacrine ve trimethoprimin kobalt(III) komplekslerini sentezlemişlerdir. Bu kompleksleri elementel analiz, iletkenlik, manyetik duyarlılık ölçümü, IR ve elektronik spektroskopi yöntemleri ile karakterize etmişlerdir. Komplekslerin in vitro antiplasmodial ve antitryponosomal aktiviteleri incelenmiş, quinacrinin ve amodiaquinin komplekslerinin aktivitelerinin klorokinden daha yüksek olduğunu gözlemişlerdir [109].

Xiaoyong Wang ve ark., (2003) başlangıç bileşikler olarak 5-fluorourasil (5-FU) ve cis-diamminedichloroplatinum(II) (cisplatin, CDDP) kullanarak, 5-FU-cisplatinle cis-[Pt(NH)(HFU)Cl] (1) ve cis-[Pt(NH)(HFU)] (2) hazırlanmıştır. Elde edilen komplekslerin yapılarını IR, ES-MS, ¹H-NMR spektroskopisi ile aydınlatmışlardır [110].

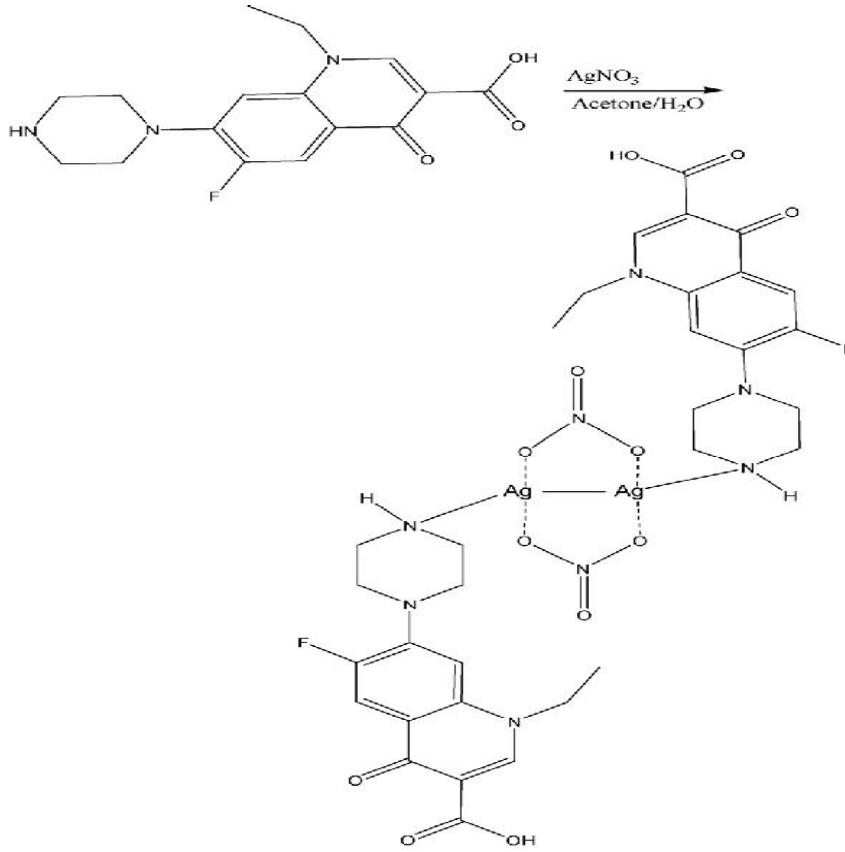


Şekil.2.2. cis-[Pt(NH)(HFU)] kimyasal yapısı

Sadhna Tyagi ve ark., (2002) 5-FU'nun Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II) metal iyonlarıyla etkileşimlerini çözelti ortamında potansiyometrik olarak incelemişlerdir. Ayrıca bu metal iyonlarını kullanarak üçlü karışık kompleksler sentezlemişlerdir. Katı fazda elde edilen tüm komplekslerin yapıları fizikokimyasal teknikler kullanılarak karakterize edilmiştir. İn

vivo ve in vitro ortamda yapılan antitümör aktivite çalışmalarında tüm komplekslerin antitümör aktiviteye sahip olduğunu göstermişlerdir [111].

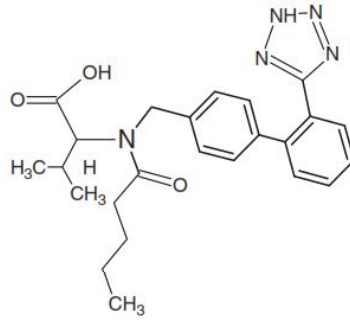
Abd El Wahed (2008) norfloksasinin geçiş metal komplekslerini sentezlemiş, termal, spektroskopik, kinetik özelliklerini incelemiş ve biyolojik aktivitelerine bakmıştır. Norfloksasinin Ag, Cu ve Au iyonlarıyla $[Ag_2(Nor)_2](NO_3)_2$, $[Cu(Nor)_2(H_2O)_2]SO_4 \cdot 5H_2O$ ve $[Au(Nor)_2.(H_2O)_2]Cl_3$ kompleksleri sentezlenmiştir. İzole edilmiş komplekslerin karakterizasyonunda elementel analiz, IR, ^1H NMR, Kütle, TG-DTG ve iletkenlik kullanılmıştır. Toz XRD ölçümleri komplekslerin amorf yapısını ispatlamıştır. Norfloksasin ligandı Ag(I) ve Au(III) metallerine piperidil halkasının azot atomunda nötr tek ısırmımlı olarak davranmıştır, ama Cu(II) kompleksinde kinolon grubunun karbonil oksijeninden ve karboksil grubunun oksijeninden bağlanmıştır [112].



Şekil.2.3 Norfloksasinin Ag(I) Kompleksinin Sentezi

Etcheverry ve ark., (2012) valsartanın (Şekil 2.4) çift çekirdekli Cu(II) komplekslerini sentezlemişler, karakterizasyonlarını yapmışlar ve sitotoksik özelliklerini de incelemiştir. Antihipertansif ilaç valsartan ve Cu(II) metal iyonu kullanılarak iki yeni çift çekirdekli metal

kompleksi su ve DMSO ortamında sentezlenmiştir. Bu iki kompleksin yapısı; $[\text{Cu}(\text{Vals})(\text{H}_2\text{O})_3] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ve $[\text{Cu}(\text{Vals})(\text{H}_2\text{O})_2\text{DMSO}]_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ Bu yapıları elementel analiz, termal analiz, spektrofotometrik titrasyon ve UV-Vis., FTIR, Raman ve ESR spektroskopisi kullanarak aydınlatmışlar. 100 μM konsantrasyon seviyesine kadar her iki ligandında osteoblastik etkisinin olmadığı test edilerek bulunmuştur. Her iki hücre kültürü içinde bu seviyenin üstünde valsartanın sitotoksik özelliğinin olduğunu tespit etmişler [113].



Şekil 2.4. Valsartan'ın kimyasal yapısı

Basavaiah ve ark., (2002) asiklovir'in ilaç şekillerinin tayininde basit bir spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. Yöntem, bileşiğin bazik ortamda Folin-Ciocalteu reaktifi ile reaksiyonuna dayalıdır. Renkli oluşumun 760 nm'de maksimum absorpsiyonu olduğunu bulmuşlar. Konsantrasyon aralığı, saptama sınırı ve tayin sınırı sırasıyla 50-450, 5.68 ve 18.95 $\mu\text{g mL}^{-1}$ dir [114].

Basavaiah ve ark., (2004) susuz ortamda asiklovir'in miktar tayini için spektrofotometrik, titrimetrik ve potansiyometrik bir yöntem geliştirmişlerdir. Yöntem, asetik asit içerisinde ilacın primer amin grubunun perklorik asitle nötralizasyonuna dayalıdır. Spektrofotometrik yöntemde ilaç perklorik asit-kristal viyole karışımının sabit miktarıyla muamele edilmiş ve menekşe rengin 570 nm'de absorbansı ölçmüşler. Konsantrasyon aralığı 5-55 $\mu\text{g mL}^{-1}$ olup saptama ve tayin sınırları sırasıyla 1.696 ve 5.654 $\mu\text{g mL}^{-1}$ olduğunu bulmuşlardır. Yöntem, asiklovirin tabletlerinin analizine de uygulamışlardır [115].

Abdel-Fattah ve ark., (2004) tarafından asiklovir ve amantadin hidroklorür için metal kompleksasyonuna dayalı bir spektrofotometrik tayin gerçekleştirmişlerdir [116].

Gölcü ve ark., (2011) Valasiklovir'in (VALA)'in tayini için basit ve seçici bir spektrofotometrik bir prosedür önermişler, tabletler ve biyolojik sıvılarda bu maddenin miktar tayinini gerçekleştirmişlerdir. Bu prosedür, spektrofotometrik ölçümleri için 4×10^{-6} - 6×10^{-5} M aralığında miktar tayinine izin veren, pH değeri 6.0 Britton-Robinson (BR) tampon çözeltisi içinde VALA tayini için önermişlerdir. Serum ve anne sütü örneklerinde prosedürün tekrarlanabilirliğini kanıtlamışlardır. Yöntemin hassaslığını ve doğruluğunu kontrol etmişlerdir. Standart ekleme yöntemini biyolojik sıvılar için kullanılmışlardır [117].

Sagar ve ark., (2003) ambroksol HCl'nin de aralarında bulunduğu bazı ilaçların miktar tayinleri için basit ve duyarlı bir spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir. İlaçların pH 1.5'da mavi yün boyası olan bir fenazin belirteci ile iyon-çifti kompleksleri oluşturulduktan sonra kloroform içine ekstraksiyonlarını gerçekleştirmişler. Elde edilen organik fazdaki renkli iyon-çifti kompleksinin 600 nm'deki maksimum absorbandsından yararlanılarak spektrofotometrik olarak miktar tayinlerini yapmışlardır [118].

Raza ve ark., (2007) zolmitriptanın farmasötik preparatlar ve ilaç dozaj şekillerinden spektrofotometrik olarak tayinini gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada zolmitriptanın %0.2'lik asetonitril ve 2,3-dikloro-5,6-disiyano-1,4-benzokinon karışımındaki transfer reaksiyonlarını incelemişlerdir. Sonuçlar analitik ve istatistiksel olarak valide etmişler. Sonuçlar, yöntemin doğru, duyarlı, kesin ve tekrarlanabilir olduğunu kanıtlamıştır [119].

Sun ve ark., (2004) ilaç şekillerinin hazırlanma aşamasının ara basamaklarındaki ürün içerisinde ve blister tabletlerdeki Ambroksol HCl'nin miktar tayini için yakın-infrared difüze yansımali analiz yönteminden (NIRDRA) yararlanmışlardır. Tüm ölçümler kurşun sülfür ve indiyumantimonür fotoiletken dedektörlü Fourier dönüşümlü cihazlar kullanılarak gerçekleştirmiştir. Araştırmada $12000-4000 \text{ cm}^{-1}$ aralığında taranan örneklerden % 1.17, 1.70 ve 1.78 bağıl standart sapma değerlerine sahip % 100, 100 ve 102'lik geri kazanım elde etmişlerdir. Kullanılan yöntem; hızlı, basit ve duyarlıdır [120].

Basavaiah ve ark., (2004) susuz ortamda asiklovir'in miktar tayini için titrimetrik, potansiyometrik ve spektrofotometrik bir yöntem geliştirmişlerdir. Yöntem, asetik asit içerisinde ilacın primer amin grubunun perklorik asitle nötralizasyonuna dayalıdır. Titrimetrik yöntemde dönüm noktası ya kristal viyole ile ya da potansiyometrik olarak belirlenmiştir. Her

iki titrimetrik yöntem de ilacın 2-20 mg aralığında miktarına uygulanmaktadır. Yöntem, asiklovir'in tabletlerden analizine uygulanmıştır [121].

Ghoneim ve ark., (2002) anti-inflamatuar etkili lornoksikamın tayinini adsorbtif sıyırma kare dalga voltametrisi ile damlayan civa elektrot kullanarak gerçekleştirmişlerdir. Yöntem serumda uygulanmıştır. Serumda kalibrasyon aralığı $5.00 \times 10^{-10} - 1.85 \times 10^{-8}$ M, tayin limiti 1.00×10^{-10} M bulunmuştur [122].

Uslu ve ark., (2005) tarafından gansiklovir, camısı karbon elektrot kullanılarak kare dalga voltametrisi ve diferansiyel puls voltametri teknikleri ile elektrokimyasal olarak incelenmiş ve farmasötik preparatlarla, serumda analizlerini gerçekleştirmişler. Gansiklovir'in camısı karbon elektrot kullanılarak elde edilen +1.15 V' luk anodik pik değeri analizlerde kullanılmıştır. Pik potansiyelinin, pH' ya tarama hızına ve başlangıç potansiyeline bağlı olarak değişiklik gösterdiği bulunmuş. Diferansiyel puls voltametrisi için 8.1×10^{-8} M derişime kadar, KDV için 4.52×10^{-8} M da pik verdiğini bulmuşlardır. Sonuç olarak her iki yöntem de analizi hassas, basit ve hızlı hale getirmiştir [123].

Castrol ve ark., (2004) ince-film civa elektrotunda 1-hidroksipirinin, biyolojik matrislerde (insan dışkısı) ki tayininde ucuz, duyarlı ve güvenilir bir yöntem olan dönüşümlü voltametri ve kare dalga voltametrisini kullanmışlardır. Analitik uygulamalar için optimum deneysel şartlar 0.01 M NaOH çözeltisinde -0.20 V biriktirme potansiyeli, 200 mVs^{-1} tarama hızı, 50 mV vuruş hızı, kare dalga tarayıcı modu kullanılarak sağlamışlar. 1-hidroksipirine elektrot tepkisi 100 ppb' ye kadar doğrusaldır. 10 dakikalık biriktirme süresinde tayin alt sınırını 0.23 ppb ($1.06 \times 10^{-9} \text{ molL}^{-1}$) olarak bulunmuşlardır [124].

Doğan ve ark., (2009), sefoperazonun farklı tampon çözeltide camısı karbon elektrodu ile sıklık, diferansiyel puls ve kare dalga voltametri teknikleri kullanılarak farklı pH değerlerinde elektrokimyasal özelliğini incelemişlerdir. Ayrıntılı bir oksidasyon mekanizması önerilmiş ve tartışılmıştır. Pik akım ve potansiyelleri pH üzerine, konsantrasyona, tarama hızı, farklı tamponlar da araştırılmıştır. Pik akımı ve konsantrasyon, diferansiyel puls (DPV) ve ilaç dozaj formları ve biyolojik sıvılarda sefoperazon için kare dalga voltametrik yöntemleri arasındaki doğrusal ilişkiye göre geliştirmişlerdir. Yöntemlerin doğruluğu, kesinliği, seçiciliği, duyarlılığı, gün içi ve günler arası tekrar edilebilirliğini istatistiksel olarak araştırmışlardır [125].

Doğan ve ark., (2011) Lorakarbef antibakteriyel aktiviteye sahip ve camı karbon elektrotta okside olduğunu Lorakarbefin elektro-kimyasal oksidasyon, siklik, lineer diferansiyel ve kare dalga voltametrik teknikler kullanılarak araştırmışlar. Dönüşümlü voltametri ile elde edilen sonuçlar lorakarbefin camı karbon elektrot üzerinde difüzyon kontrollü taşındığını göstermiştir. Pik akımları ve potansiyelleri pH üzerine, konsantrasyona, tarama hızı ve tampon bağımlılığı araştırılmıştır. Lorakarbef nicel belirlenmesi için pik akımı ve konsantrasyon, diferansiyel ve kare dalga voltametrik yöntemler (DPV ve OSWV) arasındaki doğrusal ilişkiye göre geliştirilmiştir. Koşulları optimize etmek için farklı parametreler ile test etmişlerdir. Yöntemlerin doğruluğu, kesinliği, seçiciliği ve duyarlılığını kontrol etmişlerdir [126].

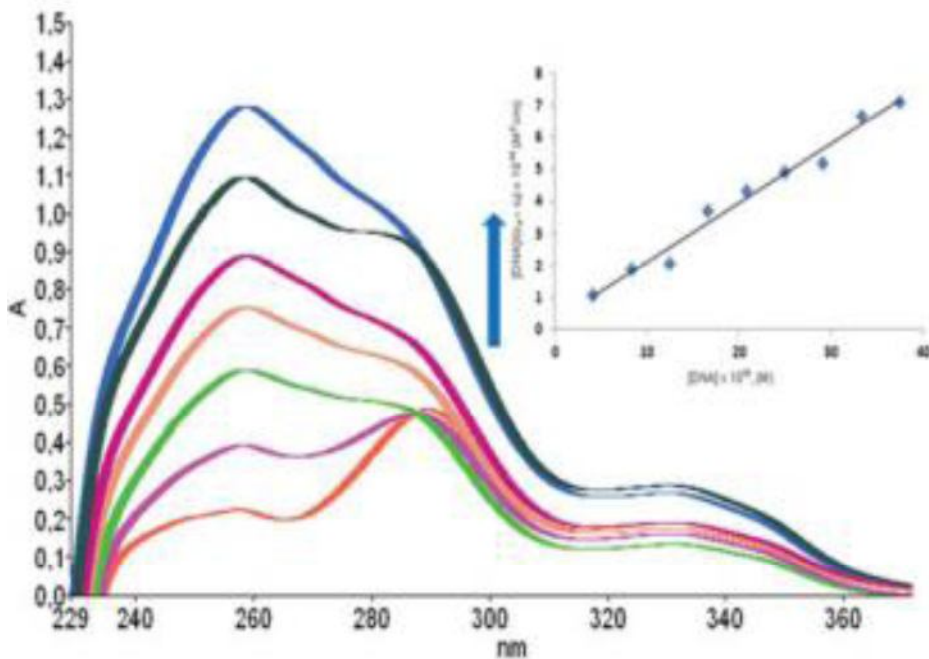
Mohammadi, Ali ve ark., (2013) amlodipin besilat ve atorvastatin kalsiyumun tayini için, çok çeperli karbon nano tüple voltametrik bir yöntem kullanılmıştır. Voltametri ile elde edilen sonuçlar camı karbon elektrot üzerinden incelendiğinde akımda artış gözlenmiştir. Diferansiyel puls voltametriyle yöntemin doğruluğu, hassaslığı ölçülmüştür. Anodik pik değeri diferansiyel puls voltametriyle analizlerde kullanılmıştır. pH 6 tampon çözeltisi hazırlanarak Amlodipin ve Atorvastatinin için, standart sapma 1.8-8.3% arasında, doğrusallık 2.5-100 mg / ml aralığında olduğu belirlenmiştir [127].

Komorsky ve ark., (2004) 5-aminosalisilik asit, siprofloksasin ve azitromisin grafit elektrot yüzeyi üzerinde kalitatif tespiti için kare-dalga ve siklik voltametri tarafından incelenmiştir. Siprofloksasin ve Azitromisin tamamen geri dönüşü olmayan elektrot reaksiyonlarda sırasıyla 1.2V ve 0.94V oksitlenmiştir. Ticari dozaj formülasyonları içinde, bu ilaçların tespiti bildirilmektedir [128].

Mohan ve ark., (2013) florokinon grubu içeren antibakterial ilaç olan sparfloksasinin heterosiklik yapılu ligandın tek çekirdekli Cu(II) kompleksini sentezlemişler ve karakterize etmişlerdir. Antimikrobiyal etkisini beş farklı mikroorganizmaya karşı test etmişler ve olumlu sonuçlar almışlardır. Viskosite titrasyonu ve absorpsiyon titrasyonu teknikleri kullanarak komplekslerin DNA ile etkileşimi incelemişler. Sonuçlar kompleksin DNA'ya yüksek bir bağlanma sabiti ile ve interkalayon yolu ile bağlandığını göstermiştir. Karşılaştırmalı çalışmalarda kompleksin DNA'ya ligand ve metal tuzlarından daha etkili bağlandığını göstermiştir. Bütün kompleksler LC50 hücrelerine karşı iyi bir stotoksiste göstermiştir [129].

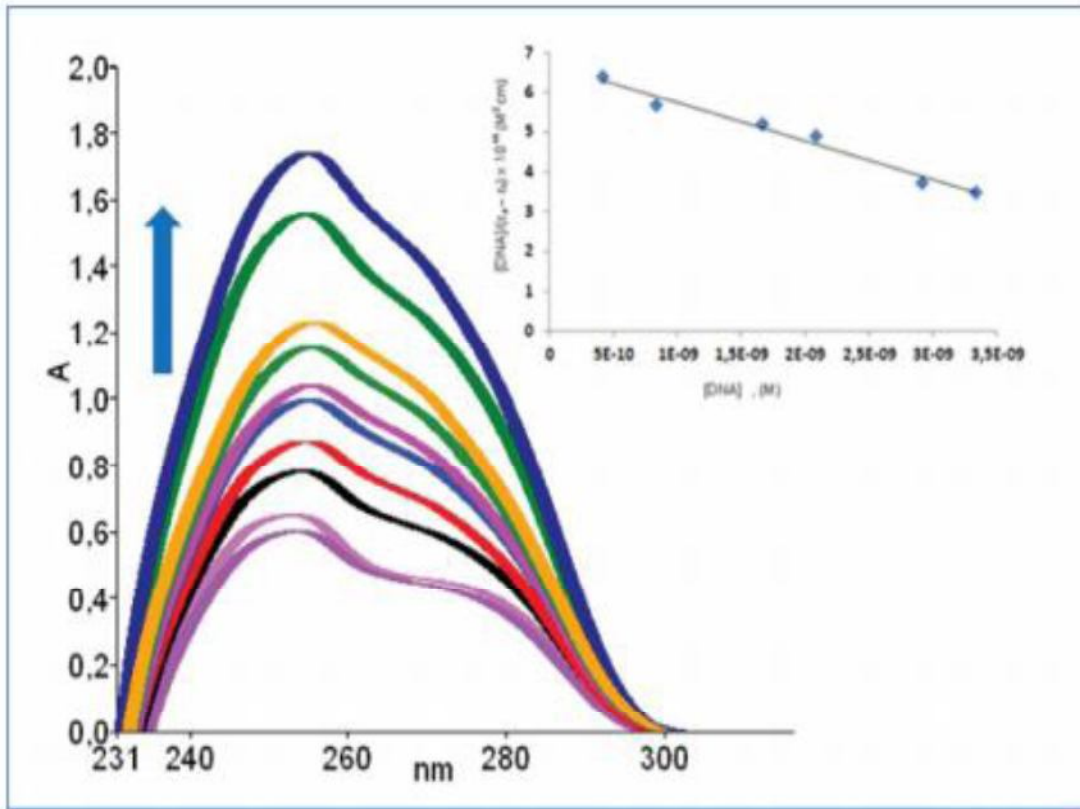
Imran ve ark., (2013) kanser tedavisinde artan bir ilgiye sahip olan metal komplekslerine bir örnek olarak talidomi bazlı ditiyokarbamet ligandının Cu(II), Ni(II), ve Ru(III) komplekslerini sentezlemişlerdir. Sentezlenen ligand ve kompleksler saflaştırılmış ve çeşitli kromatografik ve spektroskopik tekniklerle karakterize edilmiştir. DNA bağlanma sabitleri hesaplanmış ve DNA'ya güçlü bir şekilde bağlandıkları görülmüştür. Yapılan incelemelerde ligandın DNA'ya elektrostatik olarak bağlandığını bulmuşlar [130].

Golcu ve ark. (2014)'ye göre Ofloksasin'in (OFL) Cu(II), Zn(II), Pt(II), Ru(III) ve Fe(II) geçiş metal kompleksleri sentezlenmiş, sentezlenen kompleksler, fizikokimyasal, spektroskopik ve elementel analiz yöntemleri kullanılarak karakterize edilmiştir. Komplekslerin termal bozunma davranışları, azot gazı kullanılarak TG ve DTA teknikleri ile araştırılmıştır. Antibakteriyel özellikleri incelenen komplekslerin aynı zamanda camısı karbon elektrot kullanılarak dönüşümlü voltametri ile elektrokimyasal özellikleri aydınlatılmıştır. Sentezlenen komplekslerin calf thymus DNA'ya bağlanma kabiliyetleri UV spektroskopisi ile incelenmiş olup çalışma sonucunda bu yeteneğin komplekslerde var olduğu görülmüş ve komplekslerin calf thymus DNA'ya bağlanma sabitleri hesaplanmıştır. Şekil 2.5'de 1×10^{-5} M $[\text{Cu}(\text{OFL})\text{Cl}_2](\text{H}_2\text{O})$ 'nin artan konsantrasyonlardaki ctDNA ile etkileşiminin UV spektrumu verilmiştir [131].



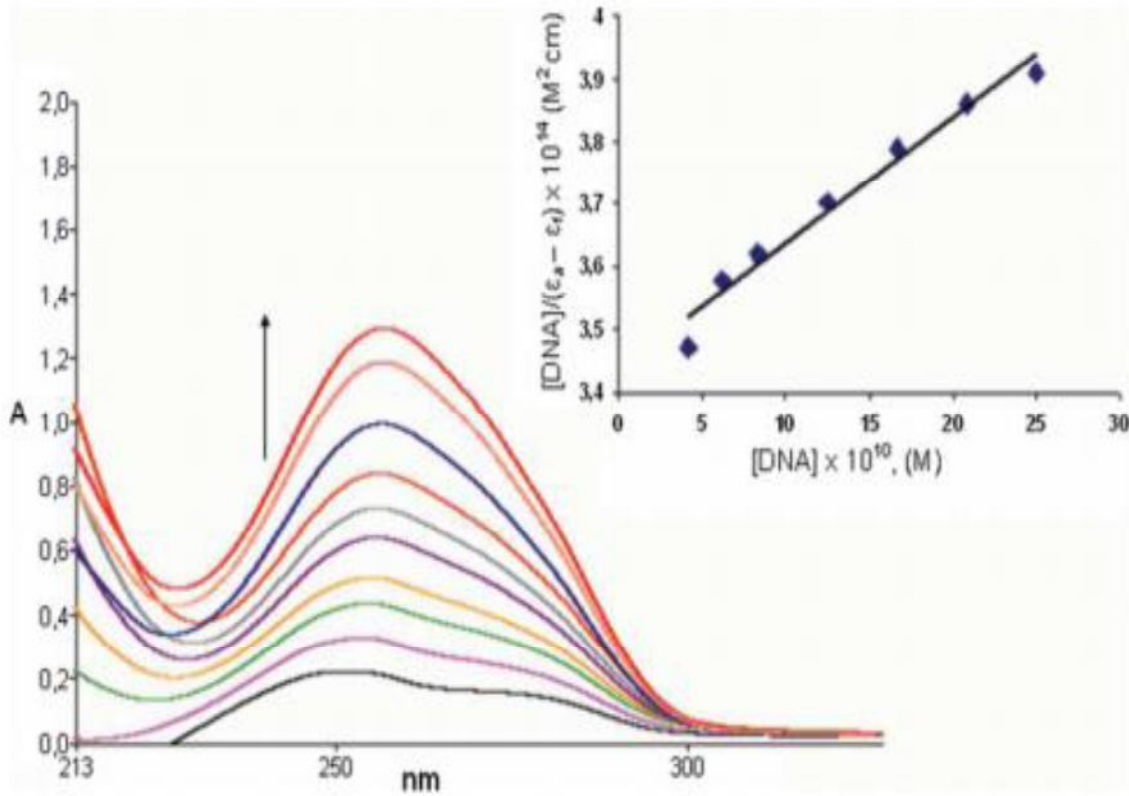
Şekil 2.5. 1×10^{-5} M $[\text{Cu}(\text{OFL})\text{Cl}_2](\text{H}_2\text{O})$ 'nin tampon çözelti varlığında artan ct-DNA konsantrasyonundaki UV-Vis spektrumu

Avcıoğlu ve ark., (2013), asiklovirin Cu(II), Zn(II), Pt(II) , Fe(III) ve Ru(III) komplekslerini sentezlemişler ve analitik ve spektroskopik yöntemlerle karakterize etmişlerdir. Ayrıca bu komplekslerin elektrokimyasal, manyetik ve termal özelliklerini incelemişlerdir. Komplekslerin biyolojik aktiviteleri ve onların DNA ile bağlanma özelliklerini UV-Vis spektroskopisi kullanarak incelemişlerdir. UV çalışmaları, komplekslerin DNA ile etkileşimlerinin ct-DNA ile etkilenebildiğini göstermiştir. Asiklovirin ve bunun metal komplekslerinin ct-DNA ile bağlanma sabitlerini hesaplamışlardır. Sentezlenen komplekslerin antimikrobiyal aktiviteleri agar disk yöntemi ile minimum inhibe edici konsantrasyonunda test etmişlerdir. Komplekslerin antiviral aktivitelerini BHV-1'e karşı araştırmışlardır [132].



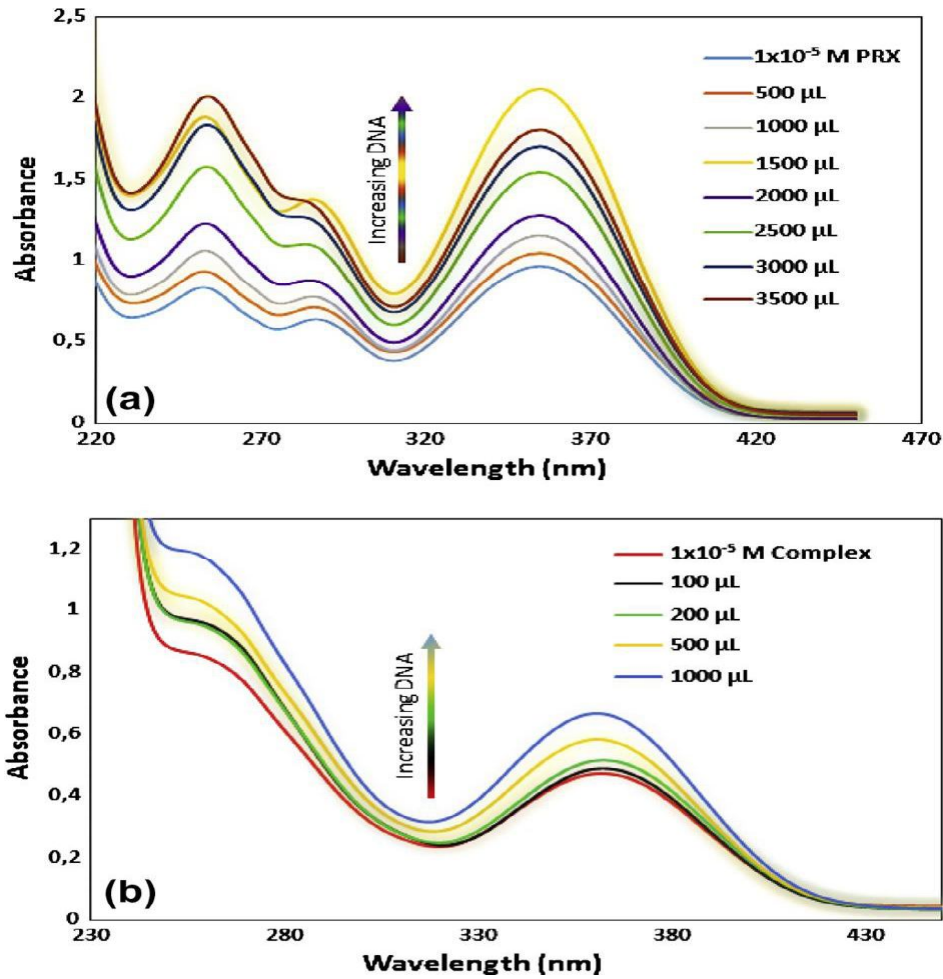
Şekil 2.6. 1×10^{-5} M $[\text{Zn (ASK)Cl}_2]5\text{H}_2\text{O}$ 'nin artan ct-DNA konsantrasyonundaki UV-Vis spektrumu

Tarınç ve ark., (2013), antiviral bir ilaç olan valasiklovirin Cu(II) kompleksini sentezlemişler ve elektrokimyasal özelliklerini karakterize etmişler. Sentezlenen bu kompleksi camı karbon elektrot kullanarak dönüşümlü voltometri tekniği ile elektrokimyasal davranışını incelemişlerdir. Bu metal kompleksinin redoks özellikleri pH değerine bağlı olarak difüzyon kontrollü bir özellik gösterdiğini bulmuşlardır. Akım ve potansiyellerinin bağımlılığı, pH, konsantrasyon, tarama hızı tampon çözelti içinde araştırılmıştır. Yükseltgenme ve indirgenme mekanizması incelenmiştir. Bu valasiklovirin bakır kompleksi çift sarmal olan ct-DNA ile etkileşimi UV-vis spektrumunda ve elektrokimyasal davranışı karbon elektrot kullanılarak dönüşümlü voltometri (CV) tekniği ile incelemişler. Buna ek olarak kompleksin antiviral aktivitesini sıgır virüsü tip 1'e karşı incelemişlerdir [133].



Şekil 2.7. 1×10^{-4} M $[\text{Cu}(\text{VAL})\text{Cl}_2]$ in tampon çözelti içerisinde artan ct-DNA konsantrasyonundaki UV-Vis spektrumu

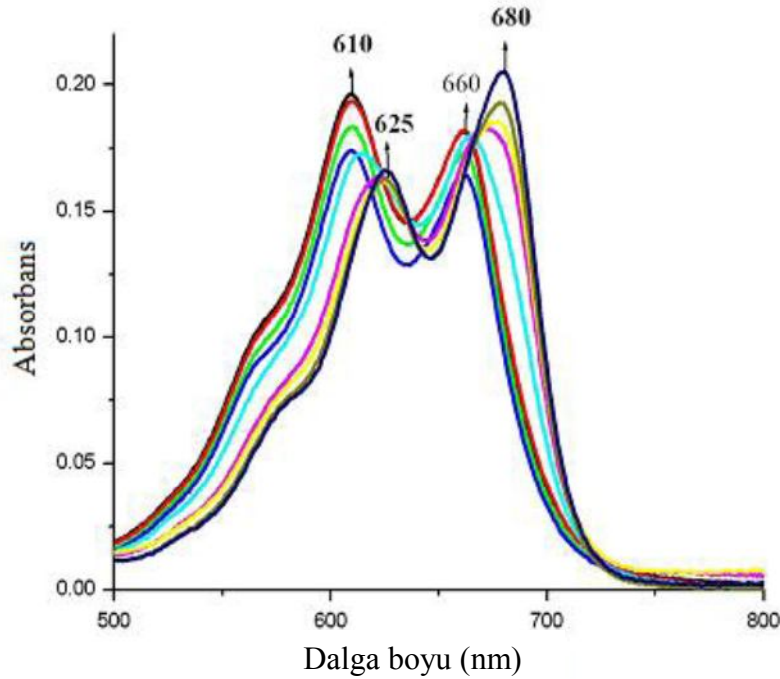
Çeşme ve ark., (2015) bu çalışmada, NSAİD ilaçdan piroksikamin bakır(II), çinko(II) ve platin(II) metal komplekslerini sentezlemişlerdir. Komplekslerin yapılarını spektroskopik ve analitik olarak karakterize etmişlerdir. Sentezlenen komplekslerin termal davranışlarını incelemiş ve camı karbon elektrot kullanarak komplekslerin elektrokimyasal özellikleri araştırmışlardır. FSdsDNA kullanarak UV spektrumu ile DNA ile etkileşimini araştırmışlar. DNA ile bağlanma sabitleri hesaplanan komplekslerin SEM görüntülerini elde etmişlerdir. C6 ve HeLA hücre hatlarını kullanarak antikanser aktiviteleri incelenmiştir [134].



Şekil.2.8 1×10^{-5} M PRX (a) ve 1×10^{-5} M $[\text{Pt}(\text{PRX})_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}]$ (b)'nin artan konsantrasyonundaki elektronik absorpsiyon spektrumu

Tiwari Sweetly, ve ark., (2008) DNA ile antikanser ilaç adriamycin etkileşimi voltametik DNA biyosensör kullanılarak incelenmiştir. Adriamycin'in bağlama mekanizması DNA modifiye camı karbon elektrotta (GCFE) diferansiyel puls voltametrisi (DPV) kullanarak ile belirlendi. Fosfolipid membranlar ve proteinleri ile yakın temas içinde olan in-vivo DNA-ilac kompleks mekanizması oluşumu, benzer olarak bulmuşlardır [135].

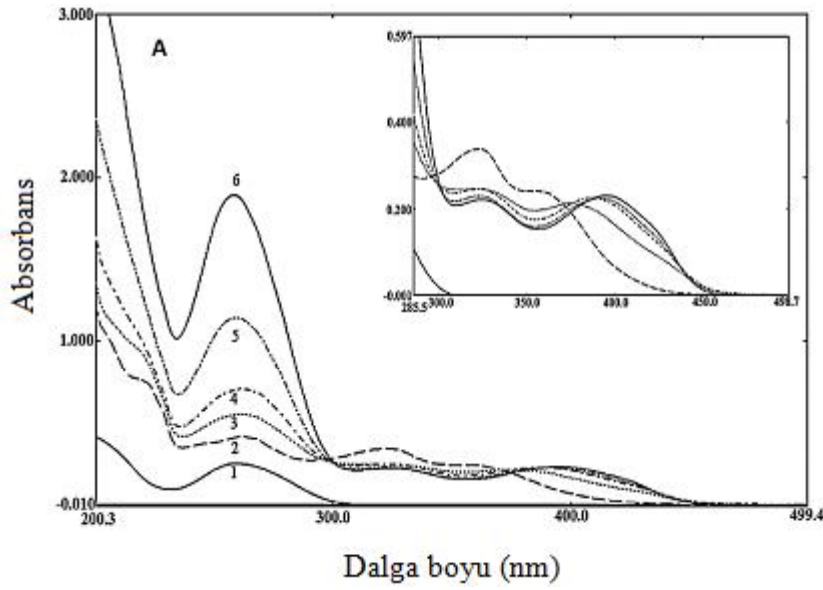
Dogra ve ark. (2013), antikanser ilaç olan Mitoksantren'in (MTX) DNA ile etkileşimini absorpsiyon, floresans ve circular dichroism (CD) spektroskopisi ile incelemişlerdir. DNA ve MTX'in farklı oranda etkileşmesini sağlayıp, bağlanma sabitlerini $1.8 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ ve $1.38 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ olarak bulmuşlardır [136]. Şekil 2.9'da Mitoksantron'un kimyasal yapısı verilmiştir.



Şekil 2.9. Mitoksantron'un farklı oranlarda DNA ile etkileşiminin absorpsiyon spektrumu

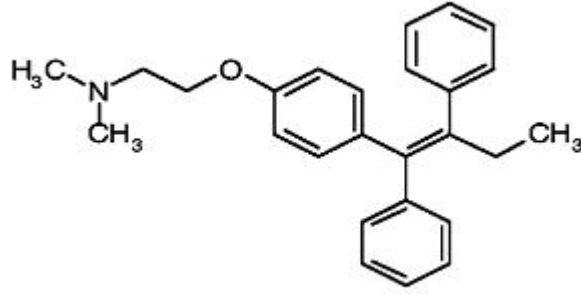
Topal ve ark. (2014), antikanser ilaç olan Lapatinib'in (LPT) çift zincirli DNA (dsDNA) ile etkileşimini elektrokimyasal ve spektroskopik tekniklerle incelemişlerdir. Bu çalışmada Lapatinib'in elektro-oksidasyon mekanizması, bir camı karbon elektrot (GCE) kullanılarak çeşitli voltametik tekniklerle incelenmiştir. Bu çalışmaya pH etkisi dönüşümlü voltametri ile belirlenmiş, sonuç olarak birinci ve ikinci piklerin sırasıyla difüzyon ve

adsorpsiyon piki olduğu belirlenmiştir. Ayrıca çift zincirli calf thymus DNA (ct-dsDNA) ile ilaç arasındaki elektrokimyasal etkileşim çalışmaları biyosensör dizaynı için yapılmıştır. LPT ve ct-dsDNA arasındaki etkileşim mekanizmasının daha iyi anlaşılabilmesi için spektrofotometrik çalışmaları yapılmıştır. LPT ve DNA arasındaki bağlanma sabiti elektrokimyasal, UV-visible spektroskopisi ve floresans spektroskopileri için sırasıyla $6.03 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, $4.20 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ ve $3.50 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Elektrokimyasal ve spektroskopik çalışmalar dsDNA sarmalına LPT girişimini doğrulamıştır [137]. Şekil 2.10’de LPT-DNA etkileşiminin UV-vis spektrumu verilmiştir.



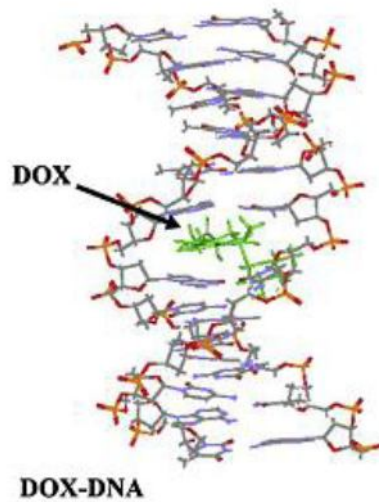
Şekil 2.10. (1) Sadece $2.95 \times 10^{-5} \text{ M}$ ct-dsDNA (2) sadece $2.58 \times 10^{-5} \text{ M}$ LPT (3-6) $2.95 \times 10^{-6} \text{ M}$ - $4.72 \times 10^{-5} \text{ M}$ aralığındaki DNA’nın UV-vis spektrumu

Bourassa ve ark. (2014), antineoplastik ilaçlar olan Tamoksifen, 4-hidroksitamoksifen ve Endoksifen’in DNA’ya bağlanmasını, FT-IR, CD, UV-vis ve floresans spektroskopisi metotlarıyla karakterize etmişlerdir. Yapılan analizler sonucu Tamoksifen ve onun metabolitlerinin DNA’ya hidrofobik ve hidrofilik yollarla bağlandığı görülmüş ve bağlanma sabitleri $K_{\text{Tam-DNA}} = 3.5(\pm 0.2) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, $K_{4\text{-hidroksitam-DNA}} = 3.3(\pm 0.4) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, ve $K_{\text{Endoks-DNA}} = 2.8(\pm 0.8) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. İlaçların bağlanma enerjisi sıralarının ise 4-hidroksitamoksifen>Tamoksifen>Endoksifen şeklinde olduğu tespit edilmiştir. Yüksek ilaç konsantrasyonlarında ise DNA’nın β -konformasyonunda bir değişiklik meydana gelmediği görülmüştür [138]. Şekil 2.11’de Tamoksifen’in kimyasal yapısı verilmiştir.



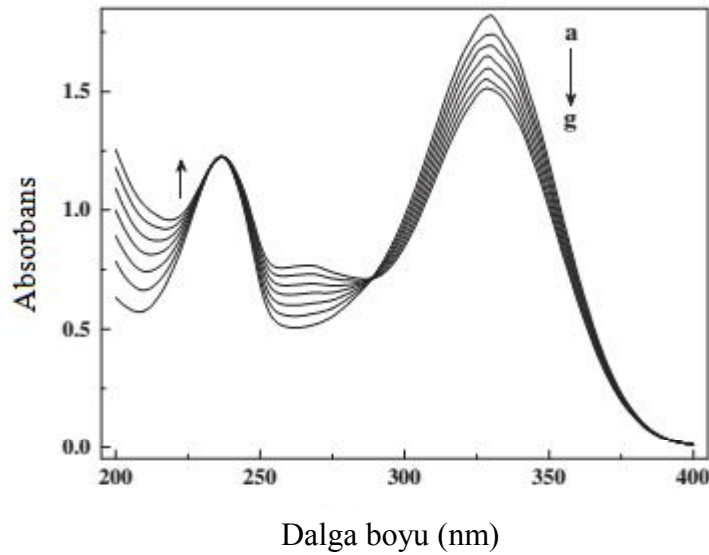
Şekil 2.11. Tamoksifen'in kimyasal yapısı

Agudelo ve ark. (2014), antitümör etkisi olan Doksorubisin (DOX) ve onun analogu N-(trifloroasetil) Doksorubisin'in (FDOX) DNA ile reaksiyonunu, FT-IR, CD, floresans spektroskopisi ve moleküler biçimlendirme yöntemlerini kullanarak incelemişlerdir. Spektroskopik çalışmalar sonucunda bağlanma sabitleri hesaplanmış ve buna göre $K_{DOX-DNA}=2.5(\pm 0.5) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ve $K_{FDOX-DNA}=3.4(\pm 0.7) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Doksorubisin'in DNA'ya bağlanması ile DNA'nın konformasyonunda büyük değişimler gözlenirken, FDOX ile DNA etkileşiminde DNA'nın yapısında herhangi bir değişim olmamıştır. Dolayısıyla bu çalışma, Doksorubisin'in antitümör aktivitesinin, DNA'nın yapısında meydana getirdiği değişimden kaynaklanabileceğini düşündürmüştür [139]. Şekil 2.12'de Doksorubisin-DNA etkileşiminin moleküler yerleştirme çalışmaları ile şematize edilmesi verilmiştir.



Şekil 2.12. Doksorubisin-DNA etkileşiminin moleküler yerleştirme çalışmaları ile şematize edilmesi

Radi ve ark. (2014), antineoplastik ilaç olan Dakarbazin'in DNA ile bağlanmasını voltametrik ve spektroskopik yöntemlerle incelemişlerdir. Çalışmada kullanılan screen-printed karbon elektrotun, ilaç ve DNA'nın etkileşimi ile bir biyosensör dizaynı için uygun olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca UV spektroskopisi çalışmaları sonucunda ilaç ile DNA'nın bağlanma sabitleri hesaplanmıştır [140]. Şekil 2.13'de 100.0 μM Dakarbazin ile 0-60 μM konsantrasyon aralığındaki DNA'nın UV-vis absorpsiyon spektrumu verilmiştir.



Şekil 2.13. 100.0 μM Dakarbazin ile 0-60 μM konsantrasyon aralığındaki DNA'nın UV-vis absorpsiyon spektrumu

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Tablo 3.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasal Adı	Kapalı Formülü	Firma Adı
5-fluorourasil	$C_4H_3FN_2O_2$	Deva
Bakır(II) klorür dihidrat	$CuCl_2 \cdot 2H_2O$	Merck
Sodyumhidroksit	$NaOH$	Merck
Sülfirikasit	H_2SO_4	Merck
Sodyum dihidrojenfosfat	$NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$	Merck
di-Sodyum Hidrojenfosfat	$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$	Merck
Etanol	C_2H_5OH	Merck
Metanol	CH_3OH	Merck
Dietil eter	$C_2H_5OC_2H_5$	Merck
Aseton	C_3H_6O	Merck

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

Infrared (IR) spektrofotometresi: Perkin Elmer Spectrum 400, K.S.Ü, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, K.Maraş.

UV-VİS Spektrofotometresi: Perkin Elmer Lambda 45, K.S.Ü, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, K.Maraş

Element analizler: LECO CHNS 932, İnönü Üniversitesi, Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi Laboratuvarı, Malatya.

Kütle Spektrofotometresi: AGILENT 1100 MSD (LC/MS-APCI), İnönü Üniversitesi, Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi Laboratuvarı, Malatya.

^1H -NMR spektrofotometresi: Bruker 300 Mhz sıvı NMR spektrofotometresi İnönü Üniversitesi, Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi Laboratuvarı, Malatya.

Elektrokimyasal analiz: BAS 100W (Bioanalytical System, USA), K.S.Ü, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, K.Maraş.

Rotary Evaporatör: Heidolph, K.S.Ü, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, K.Maraş.

Erime noktası: “Electrothermal 9200” , K.S.Ü, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, K.Maraş.

Termal Analiz: STA 6000 Perkin Elmer, Simultaneus Thermal Analyzer, K.S.Ü, , Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, K.Maraş.

Fotoluminesans spektrofotometresi: HORIBA Jobin Yvon marka Triax 550 CCD, K.S.Ü, , Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, K.Maraş.

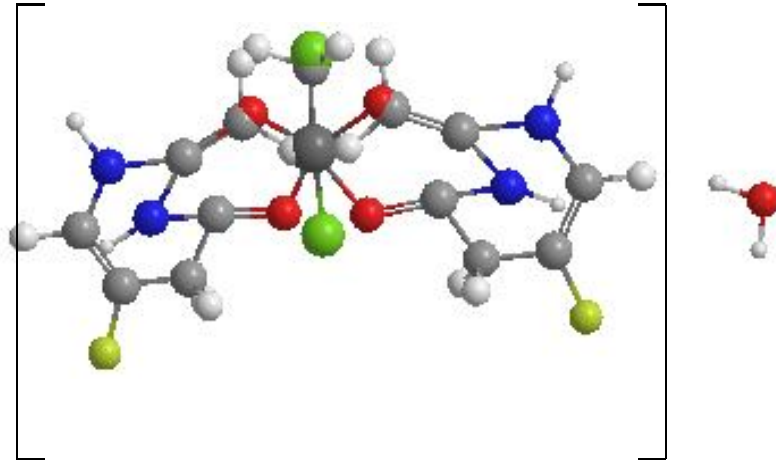
3.2. Metod

3.2.1. 5-FU’nun metal kompleksinin sentezi

Tez kapsamında antineoplastik ilaç etken maddesi olan 5-FU Cu(II) iyonu ile etkileştirilerek yeni metal bazlı bir ilaç sentezlenmiştir.

3.2.1.1. [Cu(5-Fu)₂Cl₂(H₂O)] kompleksinin sentezi

1 mmol (0.1301 gr) 5-FU alındı. (1/4, v/v) 10 mL suda çözüldü. Kaynama noktasına kadar ısıtıldı. Üzerine 1 mmol CuCl₂.2H₂O (0.179 gr) 10 mL sudaki çözeltisi damla damla ilave edildi. 24 saat süre ile reflüks edildi. Çöken ürün süzülerek alındı. Metanol, su ve hegzan ile yıkandı ve vakumlu etüvde kurutuldu.



Şekil.3.1 [Cu(5-Fu)₂Cl₂(H₂O)] kompleksinin kimyasal yapısı.

3.2.2. Antikanser aktivite çalışmaları

Besi yeri olarak % 10 fetal bovin serum ve % 2 streptomisin-penisilin içeren DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) kullanılmış ve analizler inkübatör içinde (% 5 CO₂, % 100 nem) 37 °C' da yapılmıştır. İlk olarak kuyucuklara 50 µL besi yeri konulan E-Plate 96 15 dk. steril kabinde ve 15 dk. inkübatörde bekletilmiş ve sonrasında inkübatör içindeki istasyona yerleştirilmiş ve arka plan (background) okuması yapılmıştır. Sonrasında kuyucuklara her bir kuyucukta $2,5 \times 10^4$ adet HeLa hücresi olacak şekilde 100 µL hücre süspansiyonu koyulmuştur. Bundan sonra plaka yarım saat steril kabinde ve oda koşullarında bekletilerek hücrelerin kuyucuk tabanına yerleşmesi beklenmiştir. Bu plaka istasyona yerleştirilerek 80 dk. boyunca 10 dakika aralıklarla ölçüm yapılmıştır. Bu sürede hücreler kuyucuk tabanına yerleşerek normal büyüme periyoduna girmiştir. Bundan sonra istasyondan çıkarılan plakanın kuyucuklarına steril DMSO ve besi yeri kullanılarak hazırlanan kompleks çözeltilerinden kuyucuklardaki son derişimler saf maddeler için 100, 50 ve 10; ekstreler için 240, 200, 150 µg/mL olacak şekilde çözeltiler eklenmiş ve sonrasında besi yeri ile kuyucuklardaki son hacim 200 µL'ye tamamlanmıştır. Eklemelerden sonra plaka derhal istasyona yerleştirilmiş ve 48 saat boyunca 10 dakika aralıklarla analiz gerçekleştirilmiştir. Testler üçer tekrarlı yapılmış ve grafikler standart sapma çubukları ile verilmiştir.

3.2.3. 5-FU'nun miktar tayini çalışmaları

3.2.3.1. 5-FU'nun spektrofotometrik miktar tayini çalışmaları

Bu çalışmada 5-FU'nun etken maddesini UV-Vis spektrofotometrik teknik ile incelenmiş ve bu çalışmalar sonucunda geliştirilen yöntem ile 5-FU'nun ticari preparatlarından ve biyolojik sıvılardan miktar tayini yapılmıştır.

3.2.3.1.1. Standart maddenin stok çözeltisi

Deneylerde kullanılan etken maddeden gerekli olan miktar hassas şekilde tartılıp, asetonitril ve distile su (1:1) çözücü karışımı içerisinde 1×10^{-2} veya 1×10^{-3} M derişimde stok çözelti hazırlanmıştır.

3.2.3.1.2. Biyolojik sıvıların stok çözeltisi

Deneylerde kullanılan biyolojik sıvılardan (serum, idrar ve anne sütü) safsızlıkları ve proteinleri uzaklaştırmak için asetronitril kullanılmıştır. Safsızlıkları ve proteinleri uzaklaştırılan biyolojik sıvıların 1×10^{-3} M lık stok çözeltileri hazırlanmıştır.

3.2.3.1.3. Spektrofotometrik yöntemin biyolojik sıvılara uygulanması

10 ml'lik ağzı kapaklı ölçülü deney tüplerine $1 \cdot 10^{-3}$ M lık stoktan belirli hacimlerde alınarak istenen konsantrasyonlardaki çözeltiler, uygun tampon çözelti ile tamamlanarak hazırlanmıştır. Her konsantrasyon için $n=3$ alınmıştır. Ve kalibrasyon eğrisi bu 3 değerin ortalaması alınarak çizilmiştir.

3.2.3.1.4. Geri kazanım çalışmaları

Bu amaçla belirli miktarda hazırlanmış olan biyolojik sıvıların (serum, idrar ve anne sütü) stok çözeltilerinden alınmış (daha önce içindeki miktar geliştirilen yöntemle belirlenmiş) ve üzerine belirli miktarda saf madde ilave edilen karışımı belli bir hacimde uygun tampon çözelti ile tamamlandıktan sonra kalibrasyon grafiği içerisinde yer alan bir derişime karşılık gelen hacimdeki çözeltinin absorbanları ölçülmüştür.

3.2.4. 5-FU'nun elektrokimyasal çalışmaları

Bu çalışmada 5-FU'nun camısı karbon elektrot kullanılarak elektrokimyasal davranışının ve yükseltgenme özelliklerinin dönüşümlü, diferansiyel puls (DP), kare dalga (KD) voltametrisi teknikleri ile incelenmiştir.

3.2.4.1. Standart maddenin stok çözeltisi

5-FU, Deva İlaç A.Ş'den temin edildi. Deneylerde kullanılan 5-FU gerekli olan miktar hassas şekilde tartılıp, distile su içerisinde 1×10^{-3} veya 1×10^{-5} M derişimde stok çözelti hazırlanmıştır

3.2.4.2. Tampon çözeltiler ve hazırlanışları

Deneylerde tampon çözelti olarak, asetat, fosfat ve Britton–Robinson tamponları kullanılmıştır.

Asetat tamponu için 1 M asetik asit çözeltisi hazırlanmış ve 5 M NaOH ile istenen pH değerlerine ayarlanmıştır. Bu tamponla pH 3.70- 5.70 aralığında çalışılmıştır.

Fosfat tamponu için 0.2 M H_3PO_4 (pH 2.00-4.00 aralığı için) 0.2 M $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ (pH 6.00-9.00 aralığı için) ve 0.2 M $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ (pH 10.00-12.00 aralığı için) çözeltileri hazırlanmış ve istenen pH'a 5M NaOH ile ayarlanmıştır.

Britton – Robinson tamponu için 0.04 M H_3BO_3 , 0.04 M derişik H_3PO_4 ve 0.04 M glasiyel CH_3COOH içeren 1000 mL çözelti bidistile su kullanılarak hazırlanmış ve 5.0 M NaOH çözeltisi ile istenen pH değerine ayarlanmıştır. Bu tamponla pH 2–12 aralığında çalışılmıştır.

3.2.5. Komplekslerin termal davranışları

Tüm komplekslerin sıcaklığa bağlı olan kütle kayıpları, termogravimetrik analiz (TG-DTG) ve diferansiyel termogravimetrik yöntemleriyle incelenmiştir. Ayrıca, kompleksler ve referans madde olarak kullanılan Al_2O_3 arasındaki ısı alışverişi yani ekzotermik ve endotermik reaksiyonlar, diferansiyel termal analiz (DTA) yöntem kullanılarak incelenmiştir.

3.2.6. Tampon Çözeltiler ve Hazırlanışları

İlaç-FSdsDNA etkileşim çalışmalarında tampon olarak Tris-HCl (pH=7 0.02 M) kullanılmıştır. Kullanılan 0.02 M Tris-HCl tampon çözeltisi litresinde 3.152 g (0.02 mol) Trizma HCl içermektedir. Çözeltinin pH'sının 7 değerine ayarlanması 0.1 N NaOH ve/veya 0.1 N HCl ilavesiyle pH metre ile ölçülerek gerçekleştirilir. Ayrıca çözeltiye pH ayarlandıktan sonra NaCl derişimi 0.02 M olacak şekilde 1.168 g NaCl eklenmiştir.

3.2.6.1. FSdsDNA Çözeltisinin Hazırlanışı

FSdsDNA stok çözeltisi, FSdsDNA'dan 0.0048 gr alınıp, balon jode saf su ile çözülerek, 100 ml'ye saf su ile tamamlanmasıyla hazırlanmıştır.

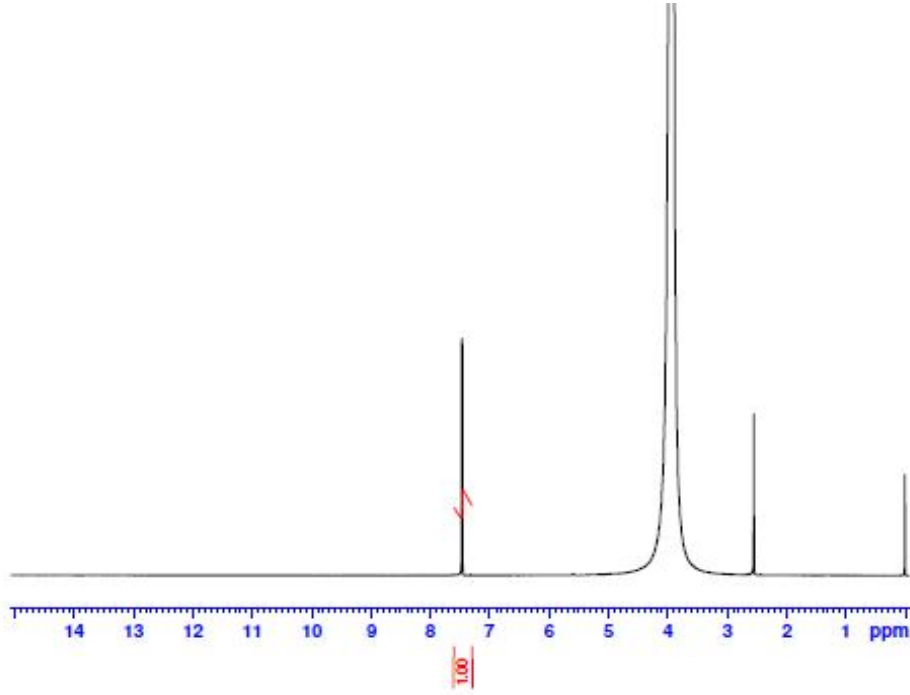
3.2.6.2. İlaç-FSdsDNA Etkileşim Çalışmaları

İlaç-FSdsDNA etkileşim çalışmaları UV-vis spektrofotometresinde ilaç etken maddesi ile FSdsDNA çözeltisinin çeşitli konsantrasyonlarda ölçümleri alınarak gerçekleştirilmiştir. Ölçümler, ilaç etken maddesinin (1 ml) stok çözeltisi üzerine, artan konsantrasyonlarda FSdsDNA çözeltisi eklenip, 10 ml'ye Tris HCl ile tamamlanmasıyla yapılmıştır. İlaç-FSdsDNA etkileşim çalışmaları sonucunda ilaç için kalibrasyon denklemi, korelasyon katsayısı (R^2) ve FSdsDNA'ya bağlanma sabiti (K_b) hesaplanmıştır.

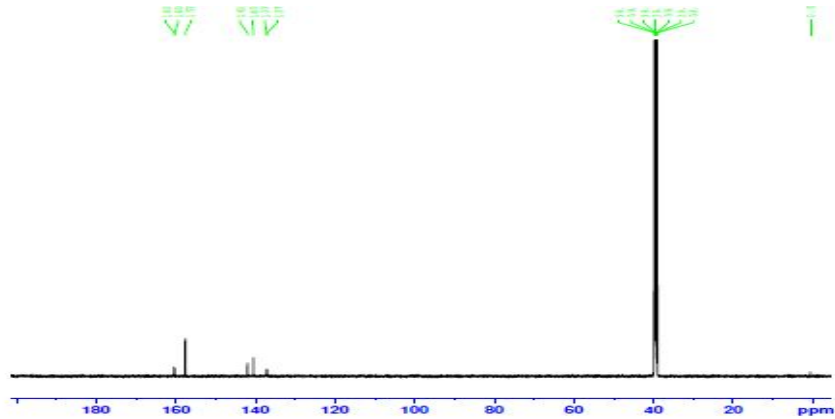
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. 5-FU'nun ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR Analizleri

Ligand karakterli olan 5-FU ilaç etken maddesi DMSO ortamında çözülmüştür. Ligandın ^1H -NMR spektrumları Şekil 4.1 ve 4.2'de verilmiştir



Şekil 4.1. 5-FU ilaç etken maddesinin ^1H -NMR spektrumu



Şekil 4.2. 5-FU ilaç etken maddesinin ^{13}C -NMR spektrumu

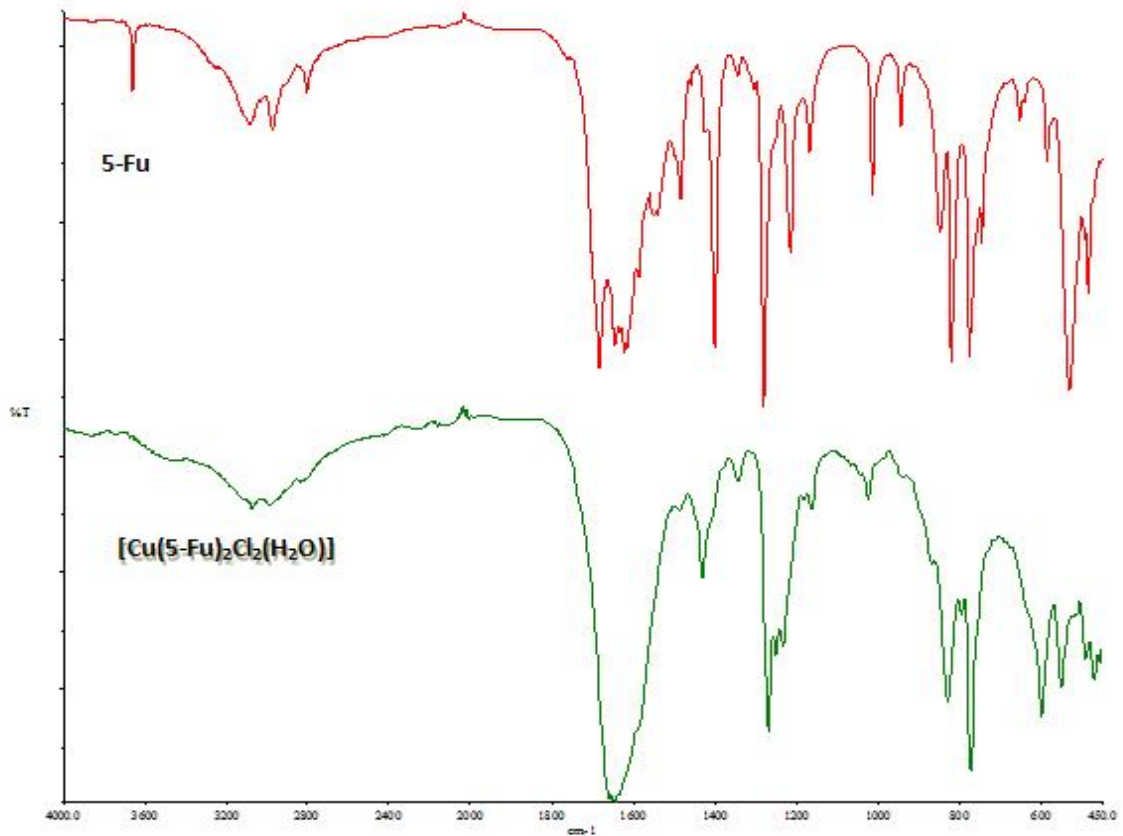
4.2. 5-FU ve Cu(II) Kompleksinin Spektroskopik ve Analitik Sonuçları

Sentezlenen bakır komplekse ait bazı analitik ve fiziksel veriler Tablo 4.1.' de verilmiştir.

Tablo 4.1. 5-FU' nun bakır kompleksinin analitik ve fiziksel sonuçları

Bileşik	Formül Kütlesi	Renk	Erime Noktası	Element (Bulunan)	Analizi;	Teorik
	g/mol		(°C)	C	H	N
[Cu(5-Fu) ₂ Cl ₂].H ₂ O	412.65	Mavi	245	23.26 (23.61)	1.94 (2.07)	13.57 (13.92)

4.2.1. 5-FU ve Cu(II) kompleksinin IR sonuçları



Şekil 4.3. 5- FU ve [Cu(5-Fu)₂Cl₂].H₂O kompleksinin FT-IR spektrumları

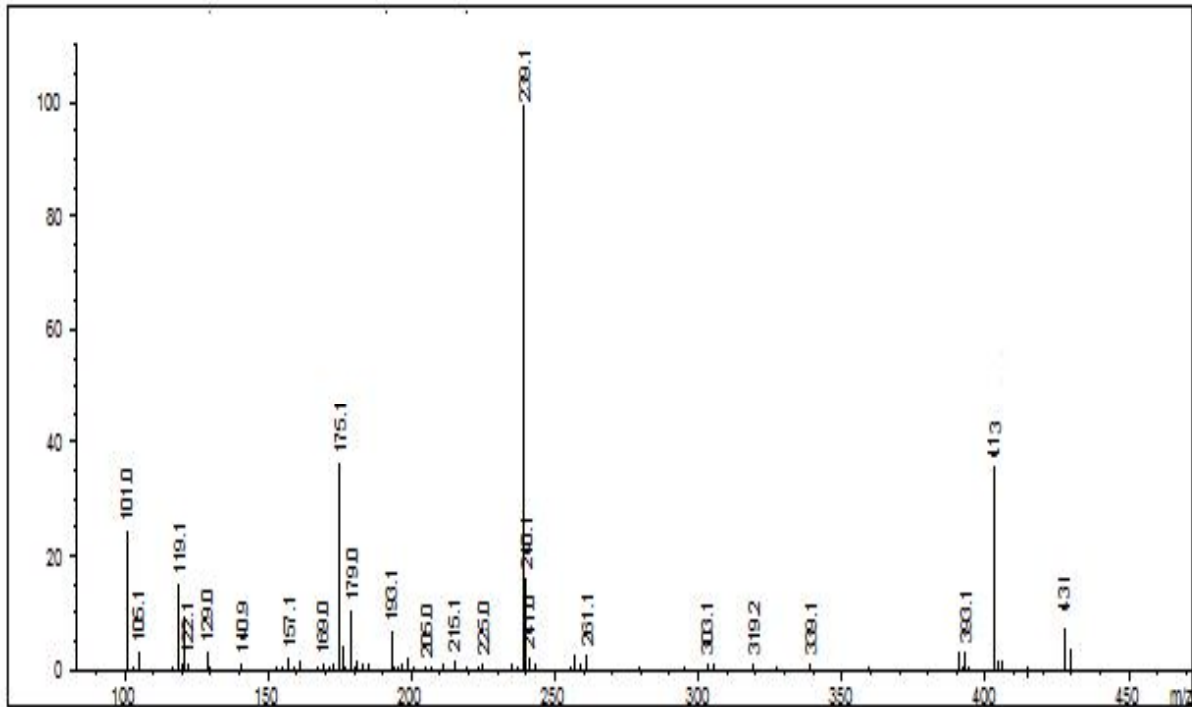
Sentezlenen bakır kompleksinin IR değerleri Tablo 4.2' de verilmiştir.

Tablo 4.2. 5-FU' nun ve $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$ kompleksinin IR sonuçları (cm^{-1})

Bileşik	$\nu(\text{O-H})$	$\nu(\text{N-H})$	$\nu(\text{C=O})$	$\nu(\text{C=O}),$ $\nu(\text{C=C})$	$\nu(\text{C-F})$	$\nu(\text{M-N})$	$\nu(\text{M-O})$
5-Fu	-	3082	1682	1621	1400	-	-
$[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$	3031	2974	1660	1587	1431	603	437

4.2.3. 5-FU ve Cu(II) Kompleksinin kompleksinin kütle analizleri

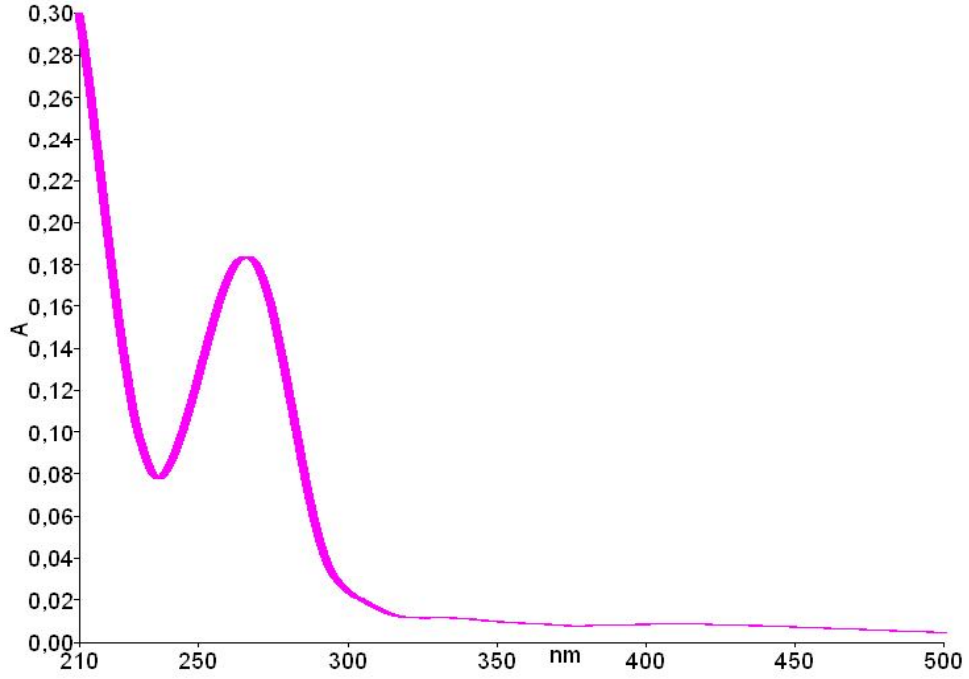
Kompleksin kütle spektrumları APCI-LC/MS yöntemi ile alınmış ve Cu(II) kompleksine ait olan spektrum Şekil 4.4' de verilmiştir. Kütle spektrumunda da görüldüğü gibi kompleksin $[\text{M}+1]^+$ moleküler iyon pikleri m/z, verilen yapılarla uyum içerisindedir.



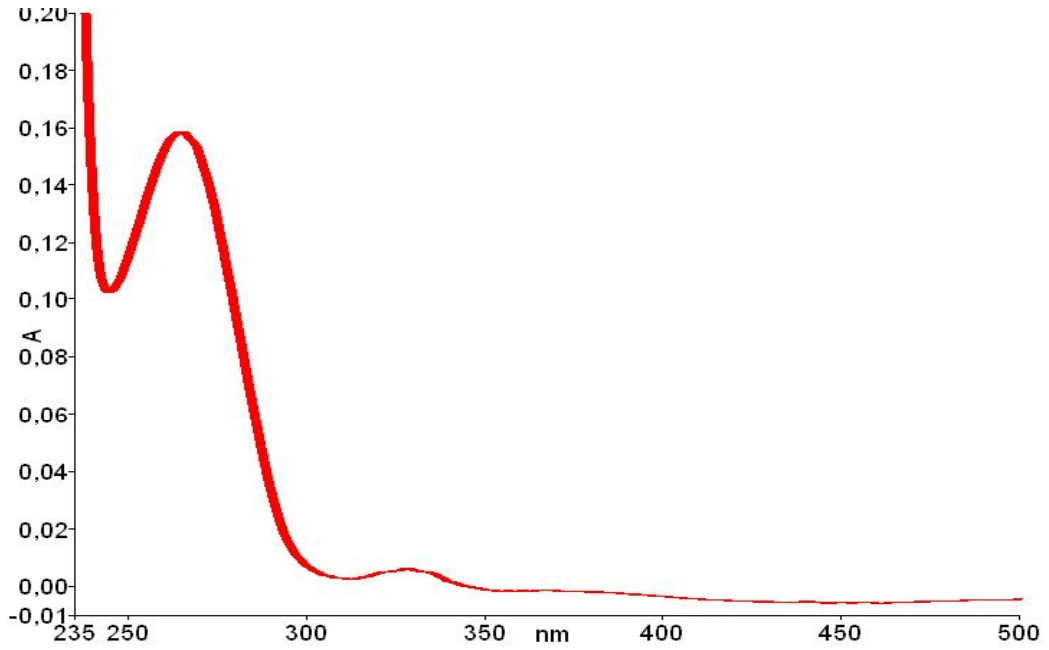
Şekil 4.4. $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$ kompleksinin kütle spektrumu

4.2.4. 5-FU ve Cu(II) Kompleksinin uv-vis spektrofotometrik bulgular

Çalışma maddesi olan 5-FU ve metal kompleksinin spektrofotometrik teknik kullanılarak DMSO çözücü ortamında spektrumu alınmıştır. Şekil 4.5 ve 4.6’da verilmiştir.



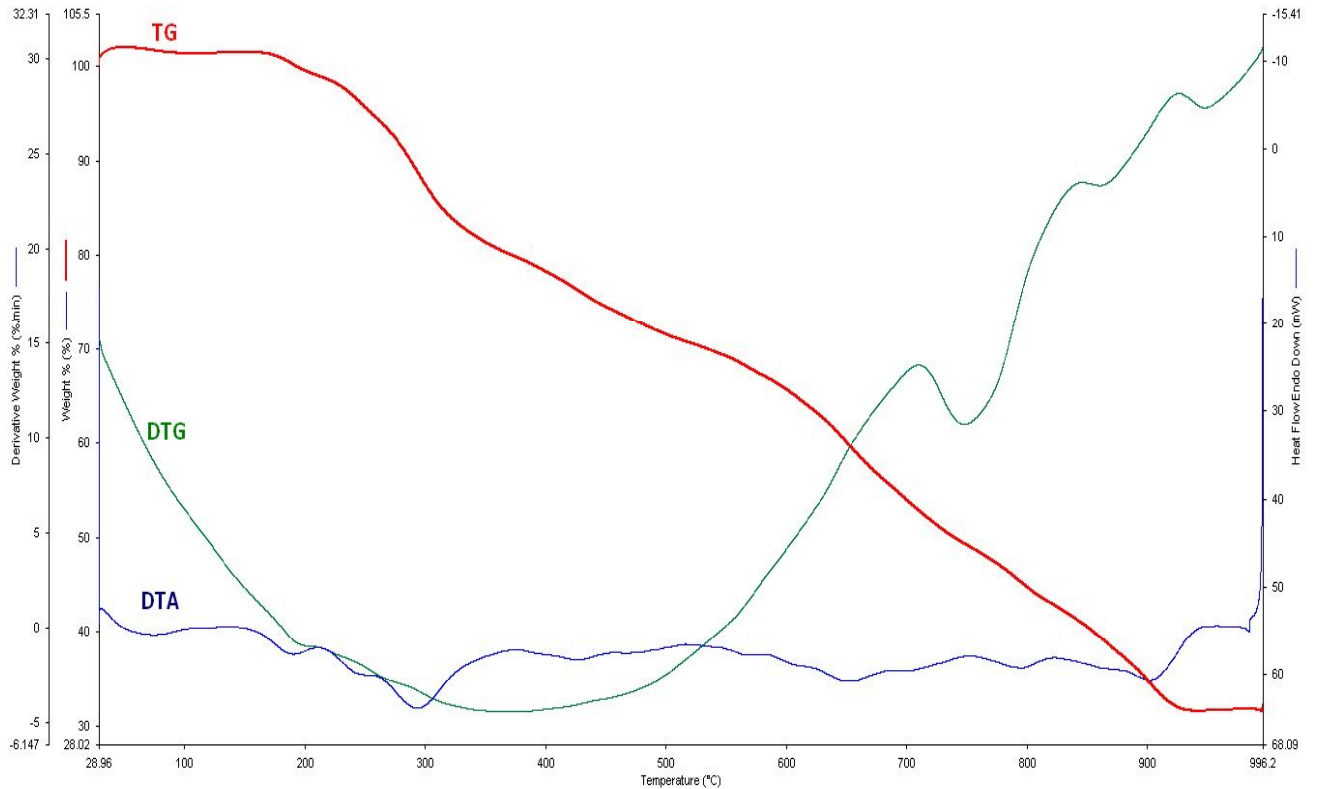
Şekil 4.5. 1×10^{-5} M 5-FU ilaç etken maddesinin UV-Vis spektrumu



Şekil 4.6. 1×10^{-5} M $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ kompleksinin DMSO çözücü ortamında UV-Vis spektrumu

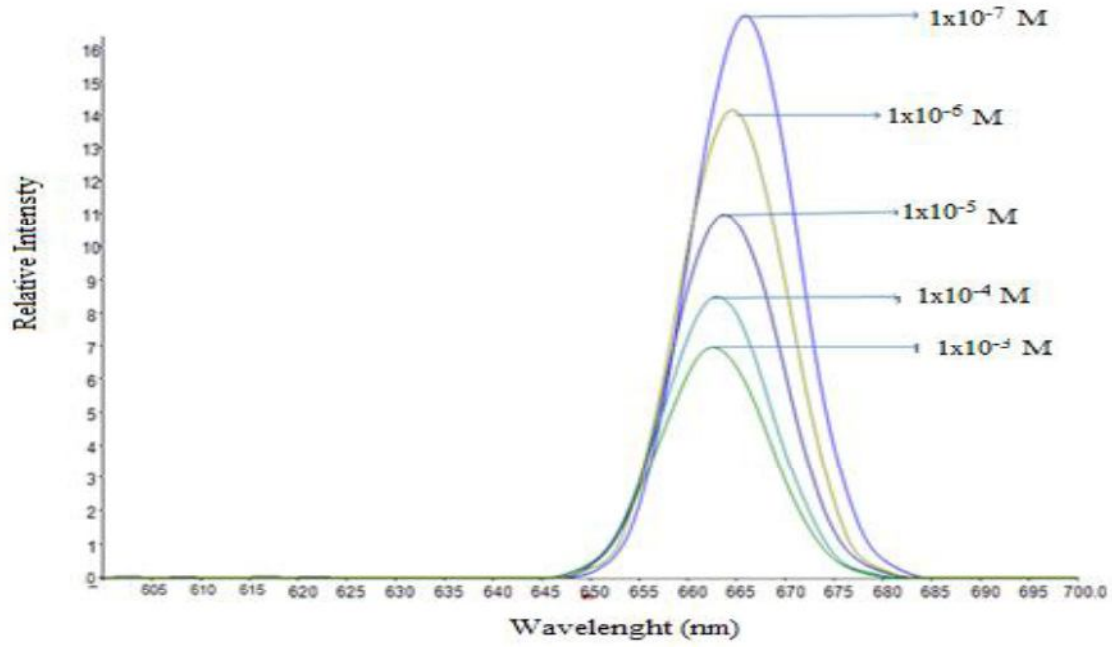
4.2.5. 5-FU ve Cu(II) kompleksinin termal özellikleri

5-FU ve Cu(II) kompleksinin termal davranışları, DTA-TG tekniği ile incelenmiştir. Kompleks yaklaşık olarak 50-150 °C’de ilk kütle kaybına uğramışlardır. TG diyagramındaki kütle kayıpları da bunu doğrulamaktadır. Bu kütle kaybı koordinasyon küresinin dışındaki su moleküllerine aittir. Sıcaklık 300-450 °C’ye ulaştığında kompleks tamamen bozulmaya başladığı anlaşılmaktadır. 800 °C’nin üstünde ise kompleks yaklaşık olarak %90 kütle kaybına uğrayarak son ürün olan metal oksite dönüşmüştür. İlk kütle kaybı koordinasyon küresinin dışındaki su moleküllerinin kaybından dolayı oluşmaktadır. Sıcaklık daha da arttıkça koordinasyon küresinin içindeki metale direk olarak bağlı olan Cl⁻ iyonlarının artık kompleksten koptuğu ve buna bağlı olarak kütle kayıplarının olduğu eğrilerden anlaşılmaktadır. Sıcaklık 900°C’nin üzerine çıktığında ise nihai ürün olan metal-oksit oluşmaktadır. Komplekse ait DTA-TG eğriler Şekil 4.7’de verilmiştir.

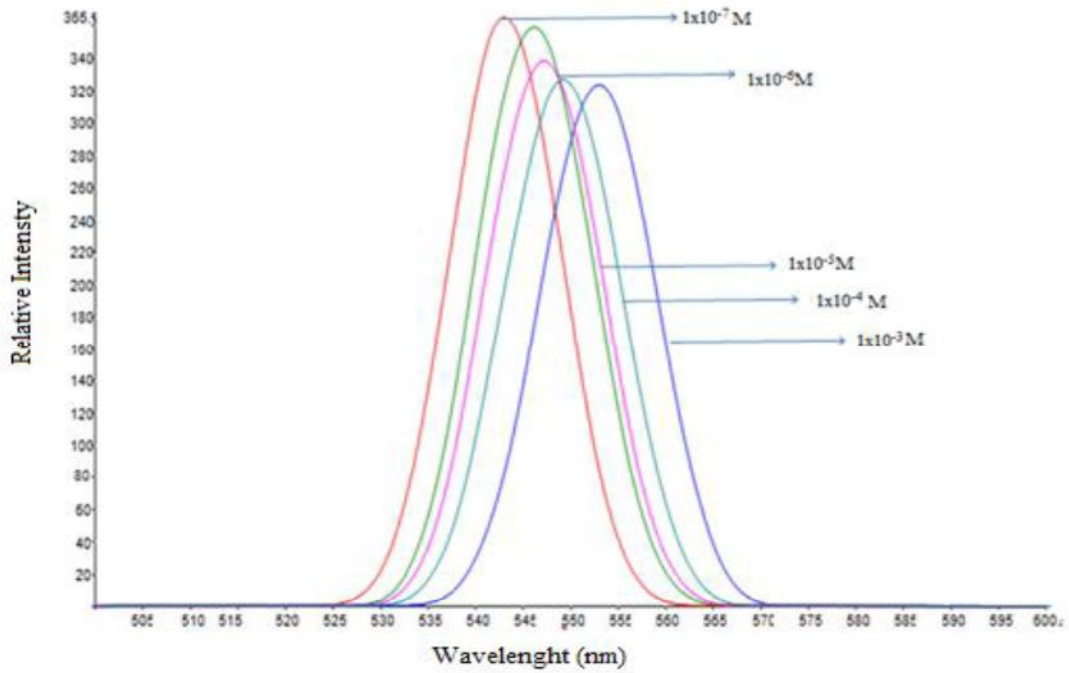


Şekil 4.7. [Cu(5-Fu)₂Cl₂].H₂O kompleksinin DTA-TG eğrisi.

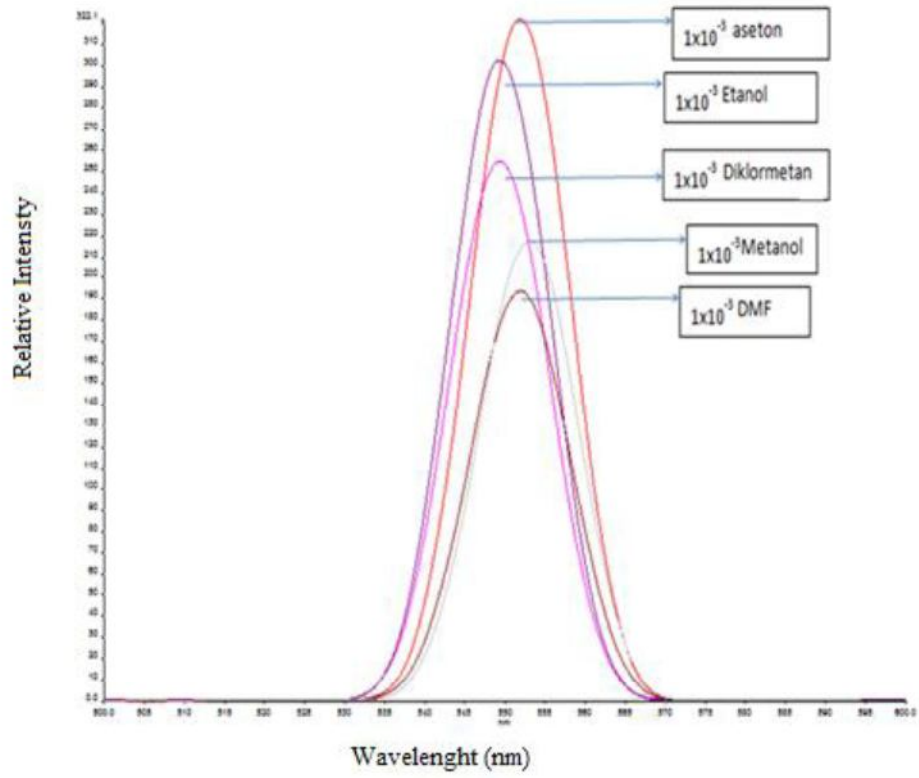
4.2.6. 5-FU ve Cu(II) kompleksinin fotolüminesans bulguları



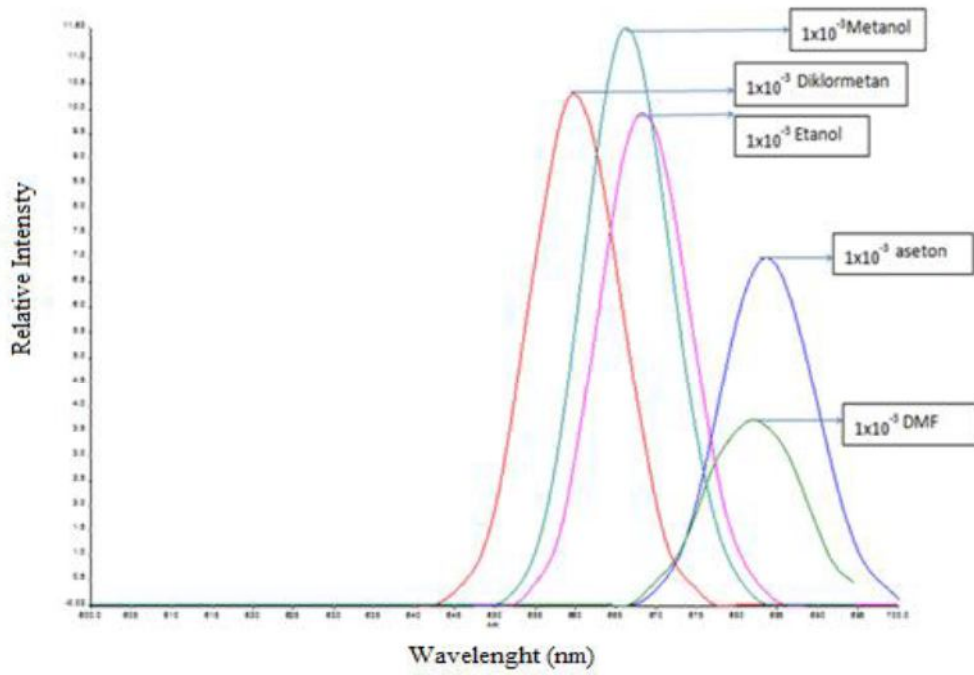
Şekil 4.8. 5-FU'nun 1×10^{-3} - 1×10^{-7} M konsantrasyon aralığındaki emisyon spektrumu (H₂O çözücü ortamında)



Şekil 4.9. 5-FU'nun 1×10^{-3} - 1×10^{-7} M konsantrasyon aralığındaki exitasyon spektrumu (H_2O çözücü ortamında)



Şekil 4.10. 1×10^{-3} M 5-FU'nun farklı çözücülerdeki emisyon spektrum

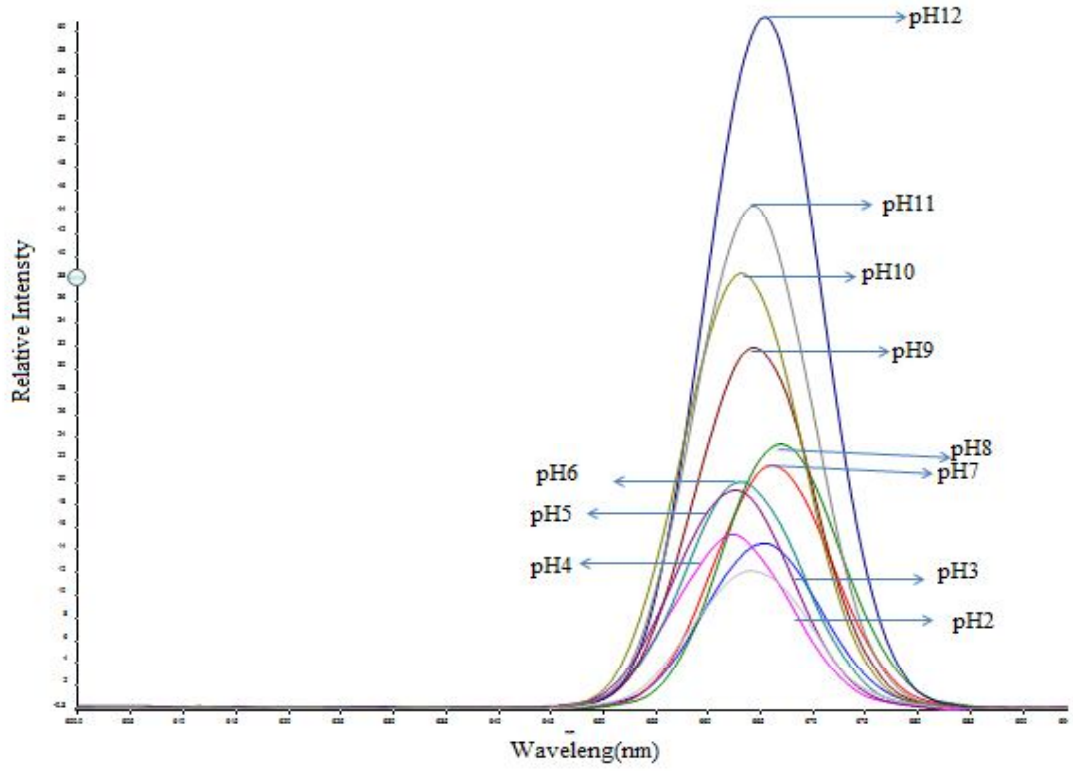


Şekil 4.11. 1×10^{-3} M 5-FU'nun farklı çözücülerdeki exitasyon spektrumu

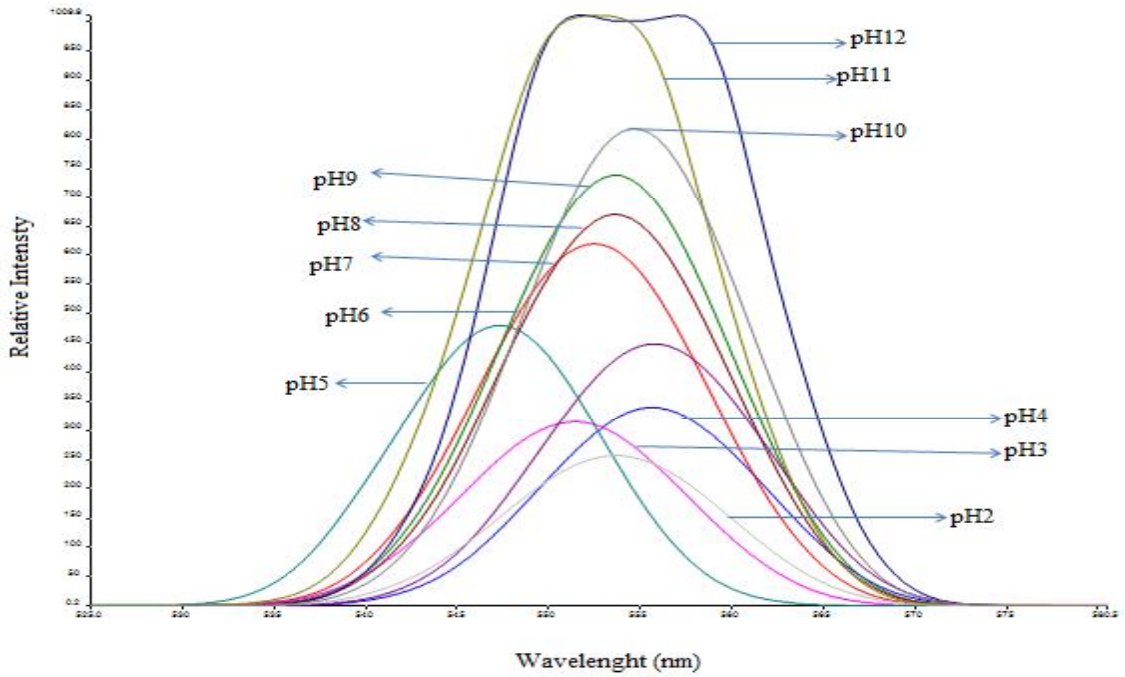
Tablo 4.3. 5-FU'nun farklı konsantrasyon ve farklı çözücü ortamlarında ki emisyon ve excitation değerleri (λ_{max})

Bileşik	Derişim(M)	çözücü	Excitation	Emisyon
5-FU	1×10^{-3}	H ₂ O	542.46	661.70
5-FU	1×10^{-4}	H ₂ O	546.21	662.46
5-FU	1×10^{-5}	H ₂ O	547.40	663.48
5-FU	1×10^{-6}	H ₂ O	548.68	664.59
5-FU	1×10^{-7}	H ₂ O	552.93	665.87
5-FU	1×10^{-3}	Aseton	551.91	683.65
5-FU	1×10^{-3}	Etanol	549.53	668.34
5-FU	1×10^{-3}	Asetonitril	551.91	682.12
5-FU	1×10^{-3}	Metanol	553.01	666.21
5-FU	1×10^{-3}	Diklormetan	549.36	659.95

5-FU' nun su çözücü ortamında 1×10^{-3} - 1×10^{-7} M deışiminde fotolüminesans özellikleri incelenmiş, emisyon spektrumu Şekil 4.8' de, excitation spektrumu Şekil 4.9 'da verilmiştir. Emisyon spektrumuna bakıldığında 1×10^{-7} M konsantrasyon da maksimum absorbans gözlenmiş ve derişim 1×10^{-3} M' a doğru kaydıkça absorbans pikinin azaldığı fakat dalgaboyunun aynı kaldığı gözlenmiştir



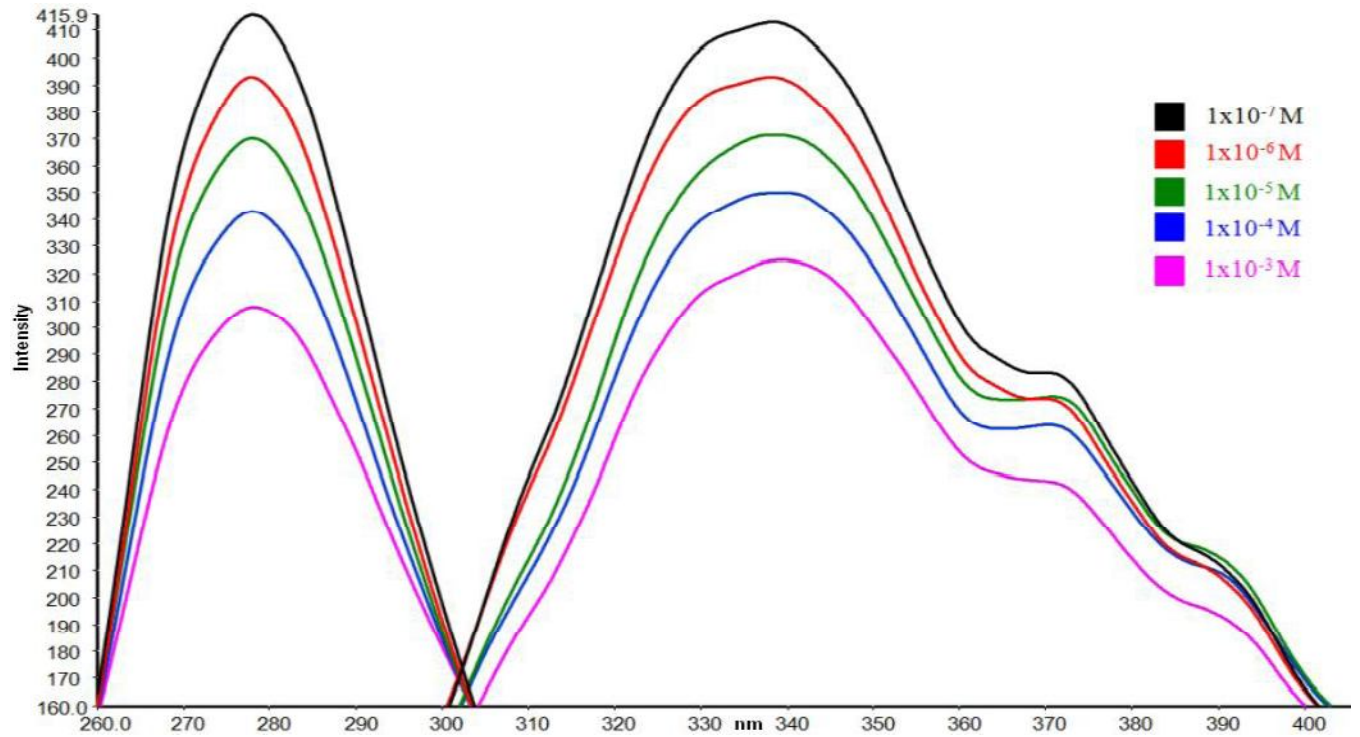
Şekil 4.12. $1 \times 10^{-3} \text{ M}$ 5-FU çözeltisinin fosfat tamponundaki pH 2-12' lardaki emisyon spektrumları



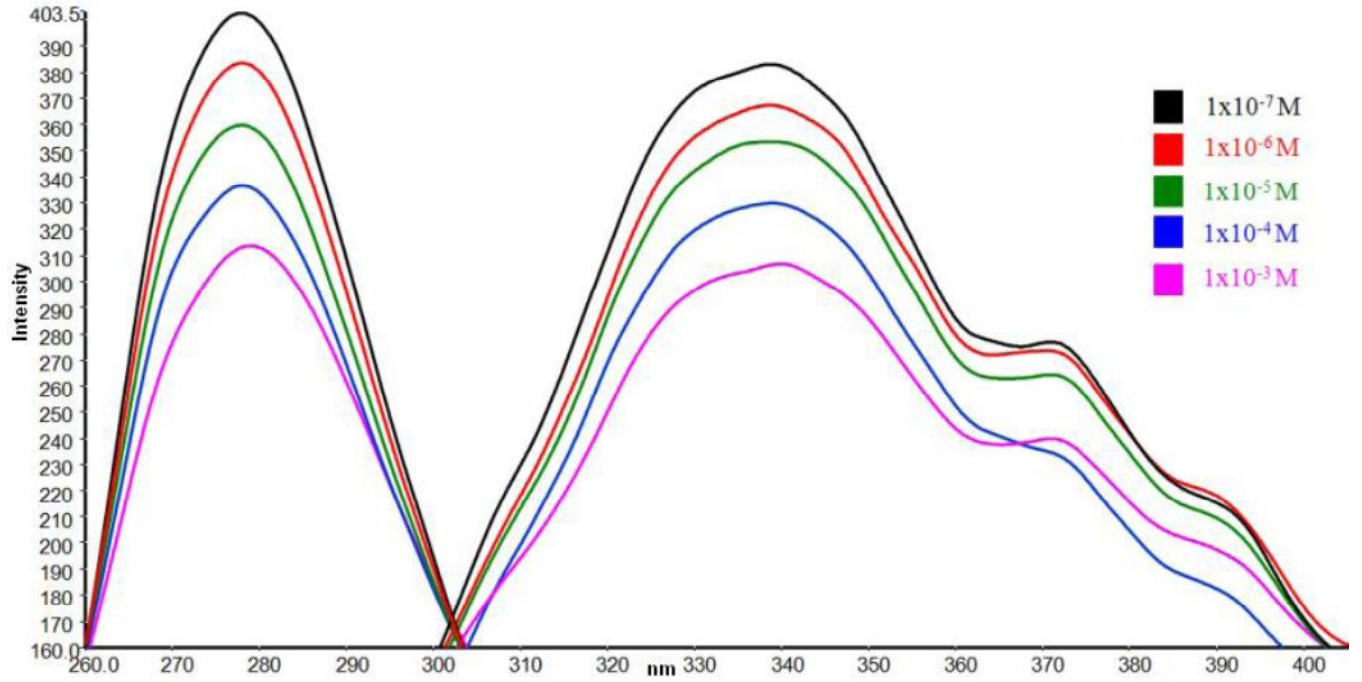
Şekil 4.13. $1 \times 10^{-3} \text{ M}$ 5-FU çözeltisinin fosfat tamponundaki pH 2-12' lardaki excitation spektrumları

5-FU'nun ve metal kompleksinin fotolüminesans özellikleri farklı konsantrasyonlarda incelenmiştir. Elde edilen sonuçlarda 5-FU'nun excitation değerleri 269-278 nm aralığında gözlenmiştir. Ölçülen emisyon spektrumu değerleri ise 336-342 nm aralığında elde edilmiştir. 5-FU'nun farklı konsantrasyon DMSO çözücü ortamında 1×10^{-3} - 1×10^{-7} M derişiminde fotolüminesans özellikleri incelenmiş, emisyon ve excitation spektrumları Şekil 4.14 ve Şekil 4.15 'da verilmiştir.

Tablo 4.4'da 5-FU'nun ve $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ kompleksinin farklı konsantrasyon ve farklı çözücü ortamlarındaki emisyon ve excitation değerleri verilmiştir.



Şekil 4.14. 5-FU 1×10^{-3} - 1×10^{-7} M konsantrasyon aralığındaki fotolüminesans spektrumu



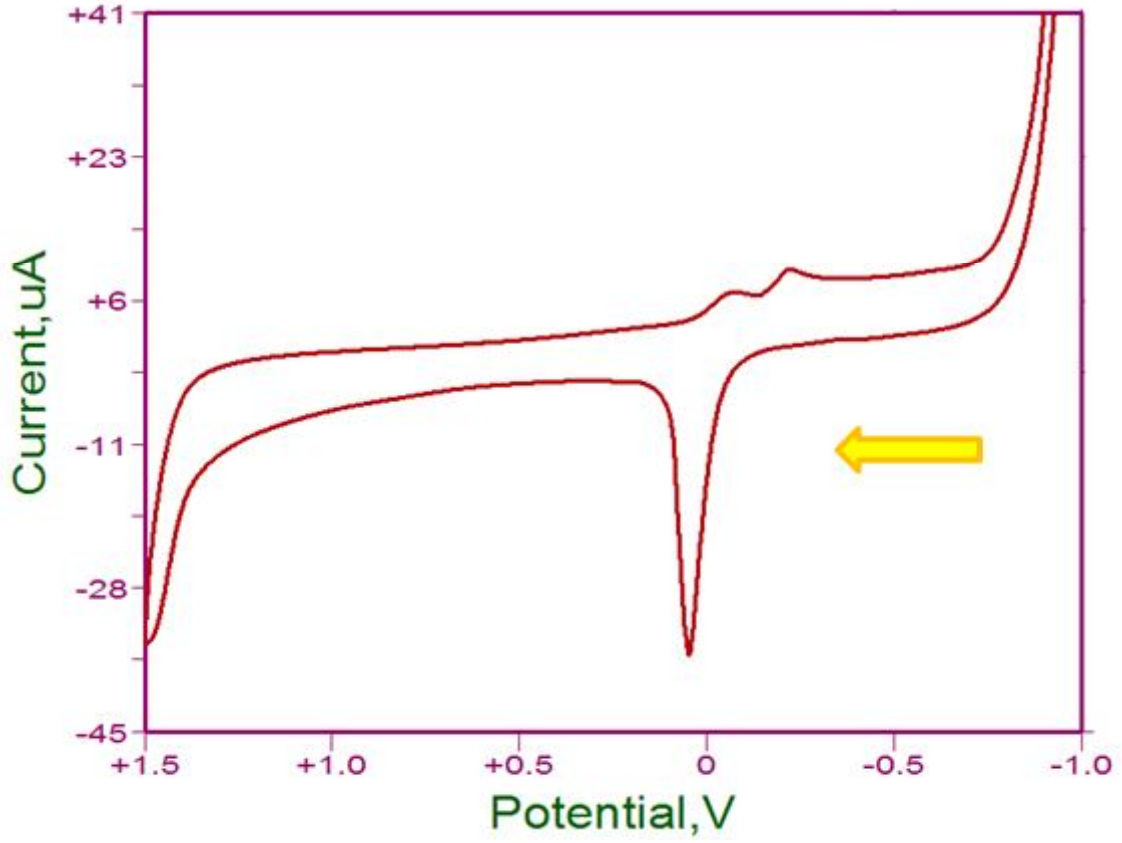
Şekil 4.15. [Cu(5-Fu)₂Cl₂].H₂O kompleksinin 1x10⁻³-1x10⁻⁷ M konsantrasyon aralığındaki fotolüminesans spektrumu

Tablo 4.4. 5-FU ve [Cu(5-Fu)₂Cl₂].H₂O kompleksinin farklı konsantrasyon ve farklı çözücü ortamlarındaki emisyon ve excitation değerleri

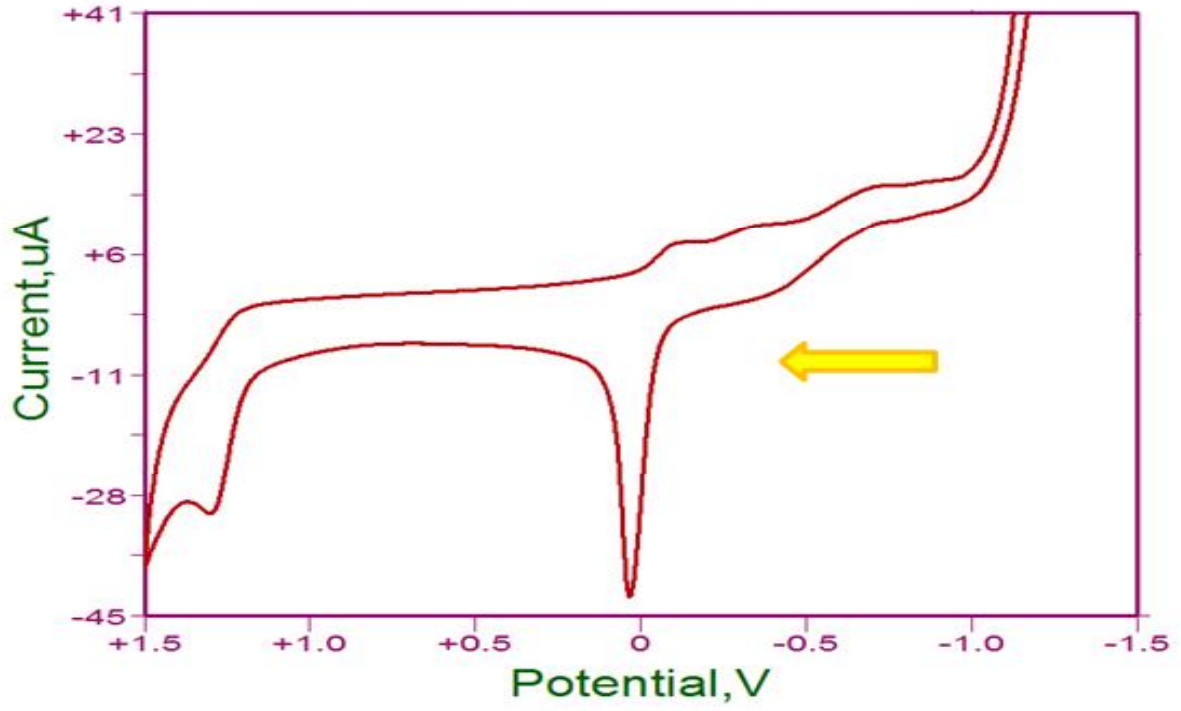
Bileşik	Derişim	Çözücü	Excitation	Emisyon
5-Fluorourasil	1x10 ⁻³	DMSO	278	339
5-Fluorourasil	1x10 ⁻⁴	DMSO	278	338
5-Fluorourasil	1x10 ⁻⁵	DMSO	277	339
5-Fluorourasil	1x10 ⁻⁶	DMSO	277	342
5-Fluorourasil	1x10 ⁻⁷	DMSO	278	338
[Cu(5-Fu) ₂ Cl ₂].H ₂ O	1x10 ⁻³	DMSO	278	338
[Cu(5-Fu) ₂ Cl ₂].H ₂ O	1x10 ⁻⁴	DMSO	278	340
[Cu(5-Fu) ₂ Cl ₂].H ₂ O	1x10 ⁻⁵	DMSO	277	338
[Cu(5-Fu) ₂ Cl ₂].H ₂ O	1x10 ⁻⁶	DMSO	278	338
[Cu(5-Fu) ₂ Cl ₂].H ₂ O	1x10 ⁻⁷	DMSO	278	339

4.2.7. 5-FU ve Cu(II) kompleksine ait elektrokimyasal bulguları

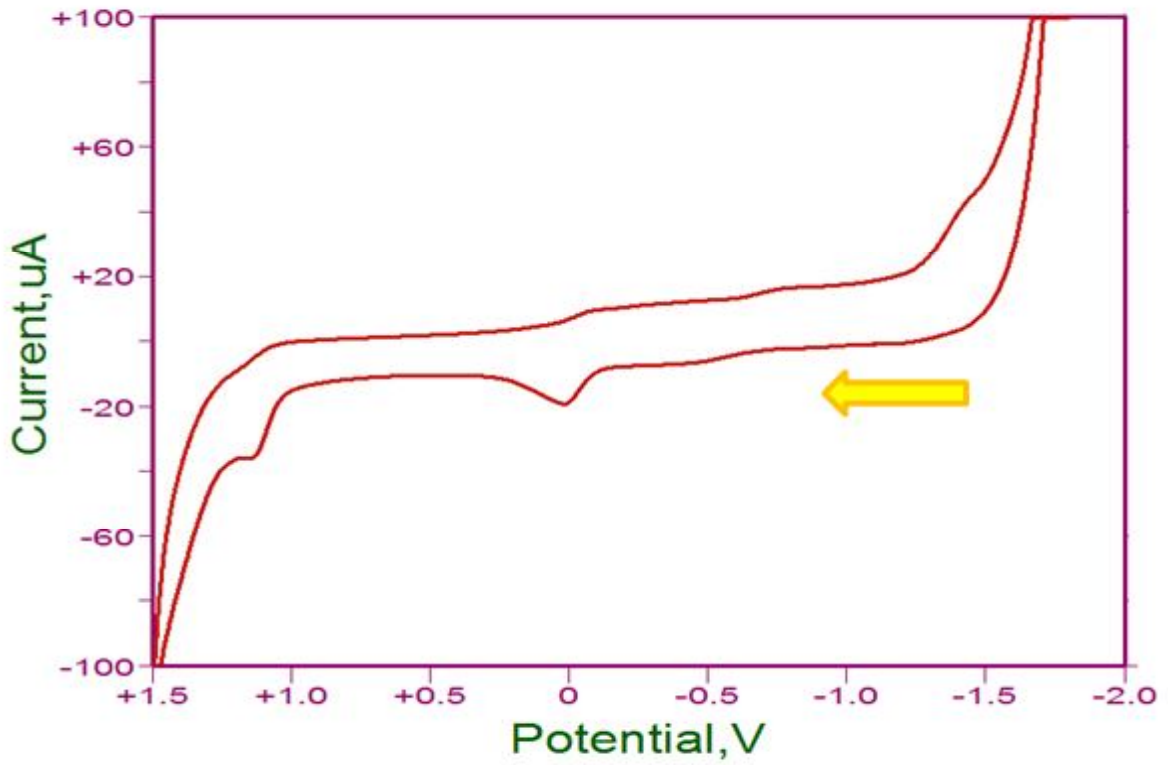
Elektrokimyasal çalışmalarda dönüşümlü voltametri tekniği kullanılarak, pH 2-12 aralığında, fosfat tamponu kullanılarak incelenmiş ve ilgili veriler Şekil 4.16-4.25 'de verilmiştir.



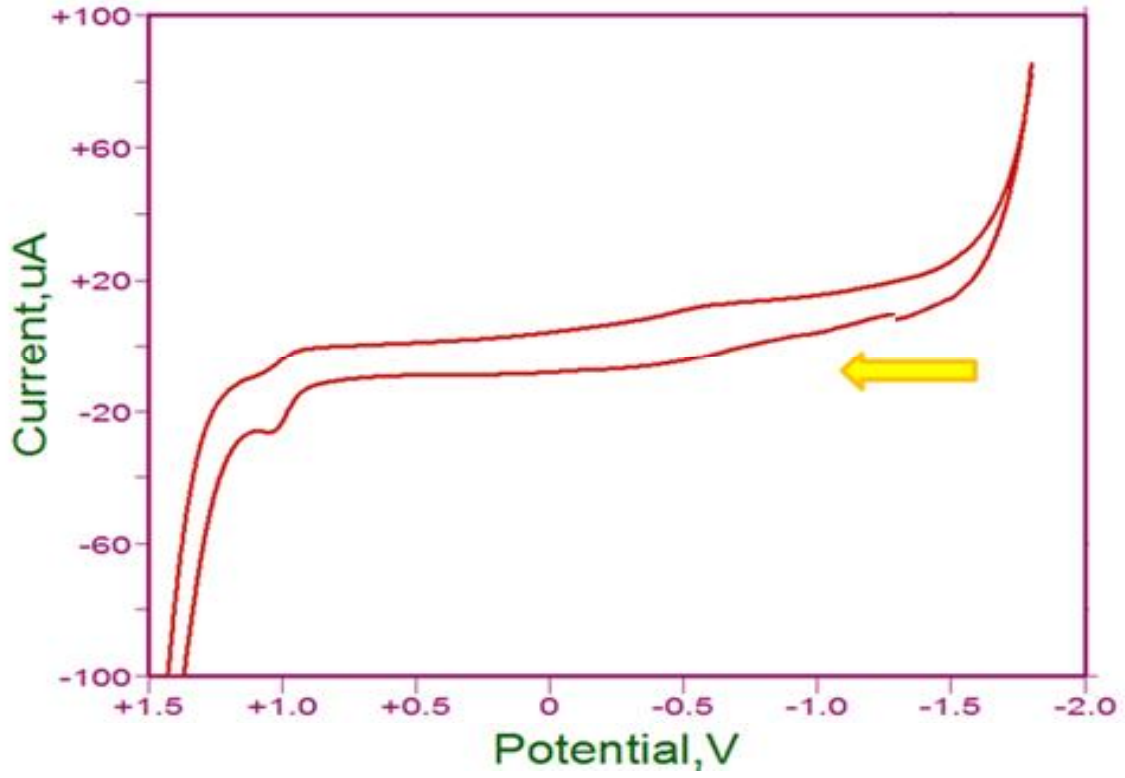
Şekil 4.16. 3×10^{-4} M $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ kompleksinin dönüşümlü voltamogramı (pH 2)



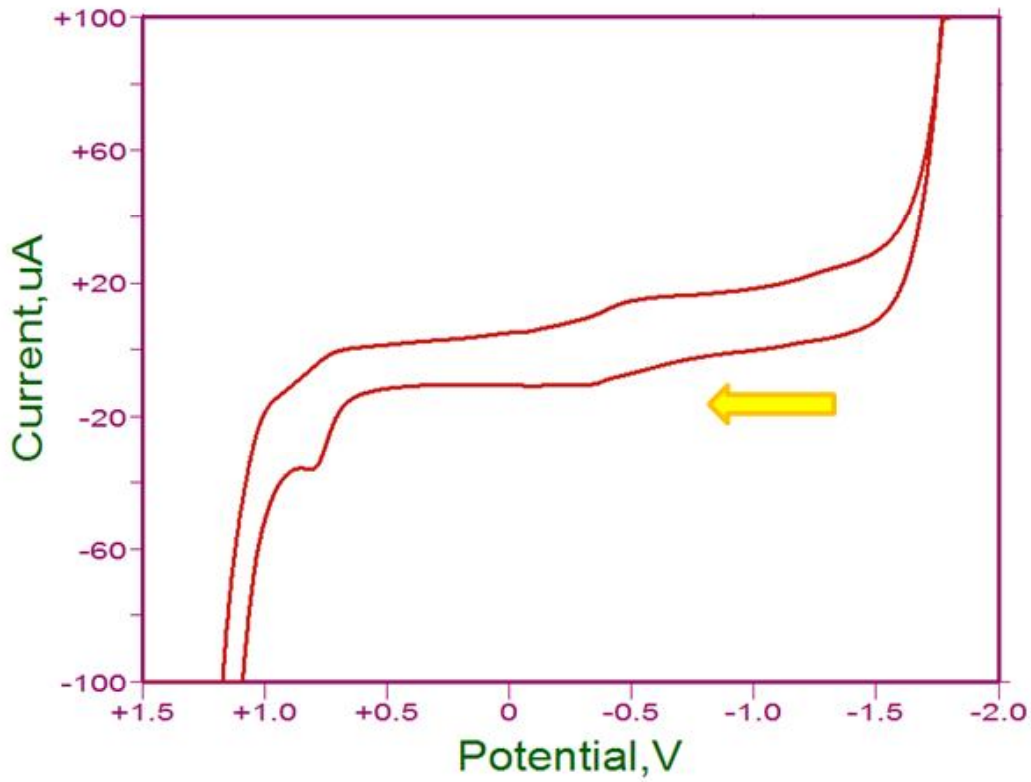
Şekil 4.17. 3×10^{-4} M $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ kompleksinin dönüşümlü voltamogramı (pH 5)



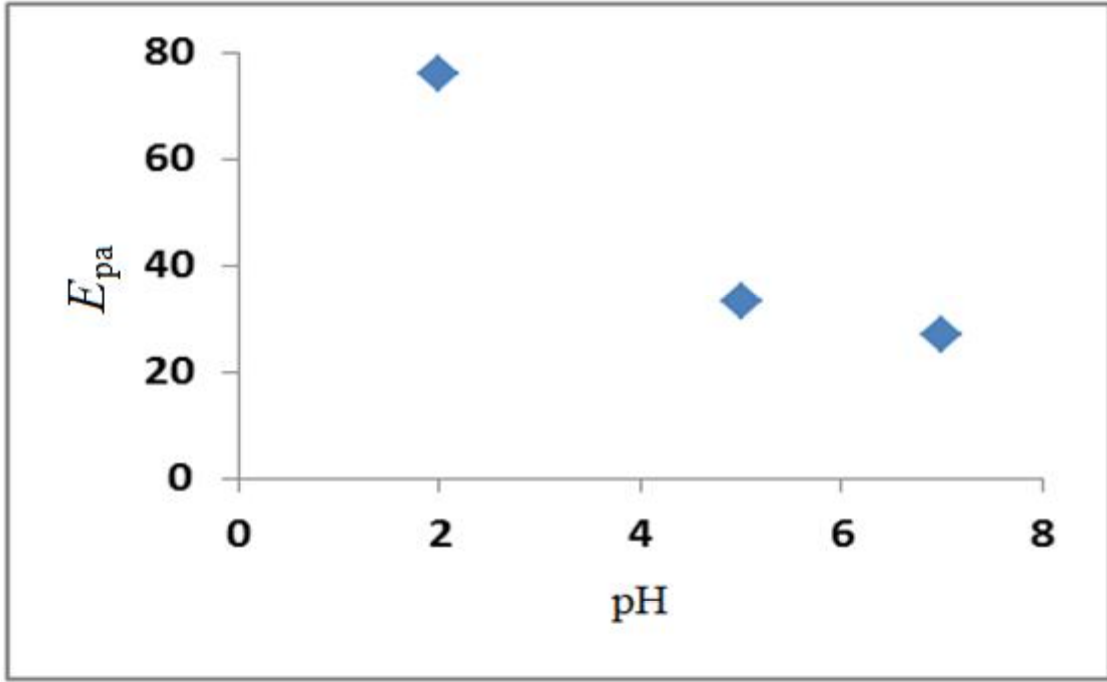
Şekil 4.18. 3×10^{-4} M $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ kompleksinin dönüşümlü voltamogramı (pH 7)



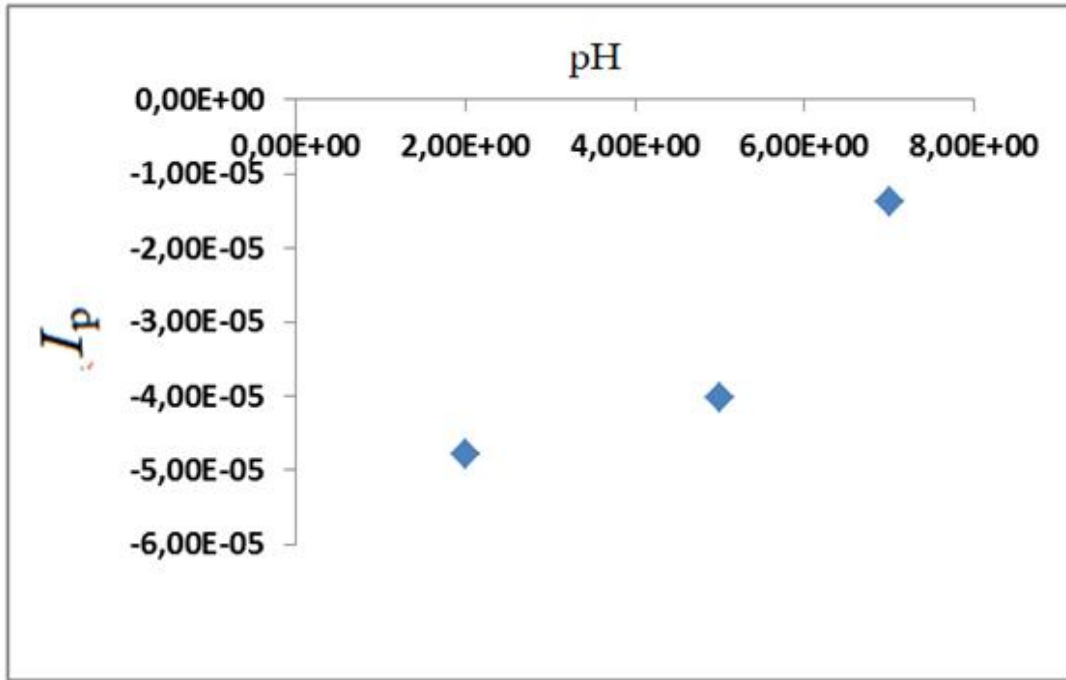
Şekil 4.19. 3×10^{-4} M $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ kompleksinin dönüşümlü voltamogramı (pH 9)



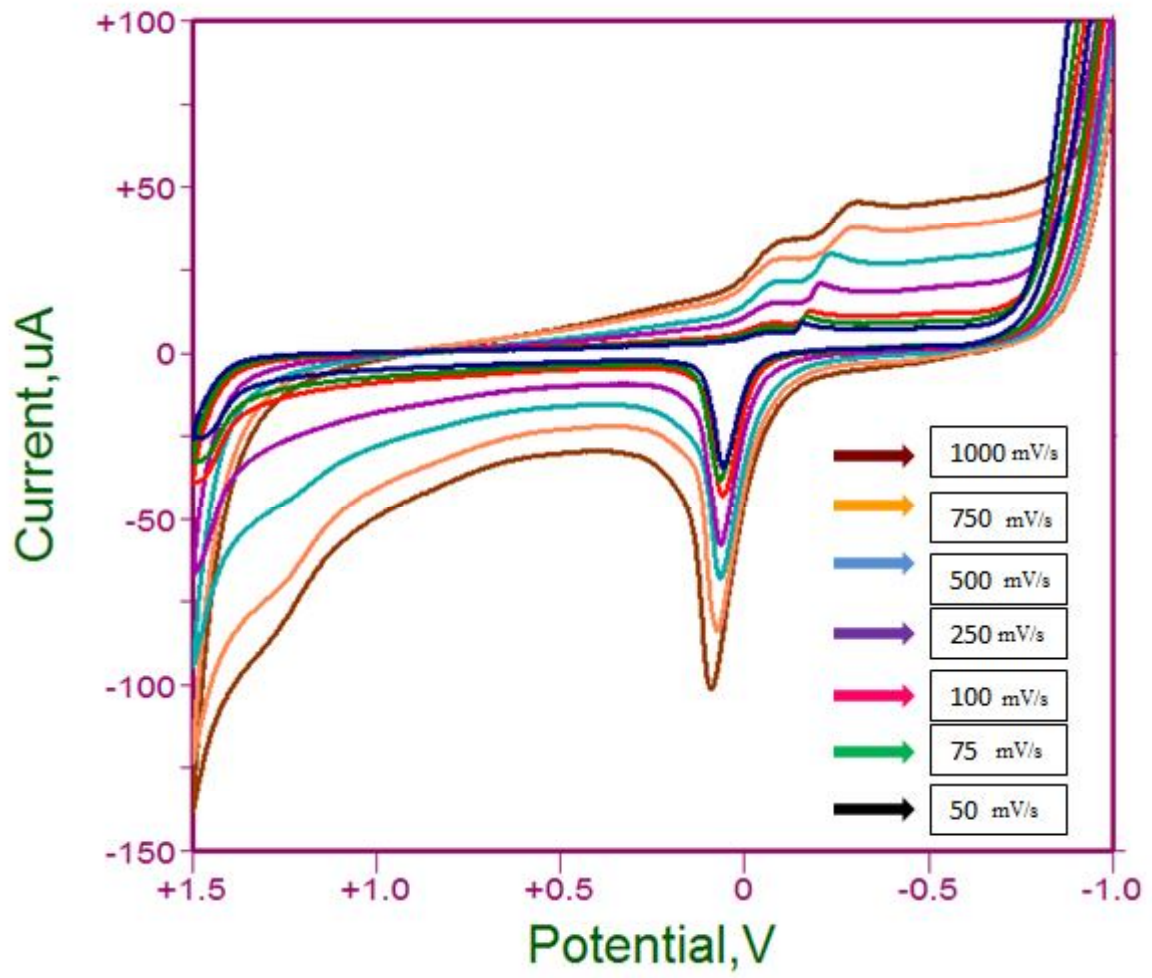
Şekil 4.20. 3×10^{-4} M $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ kompleksinin dönüşümlü voltamogramı (pH 12)



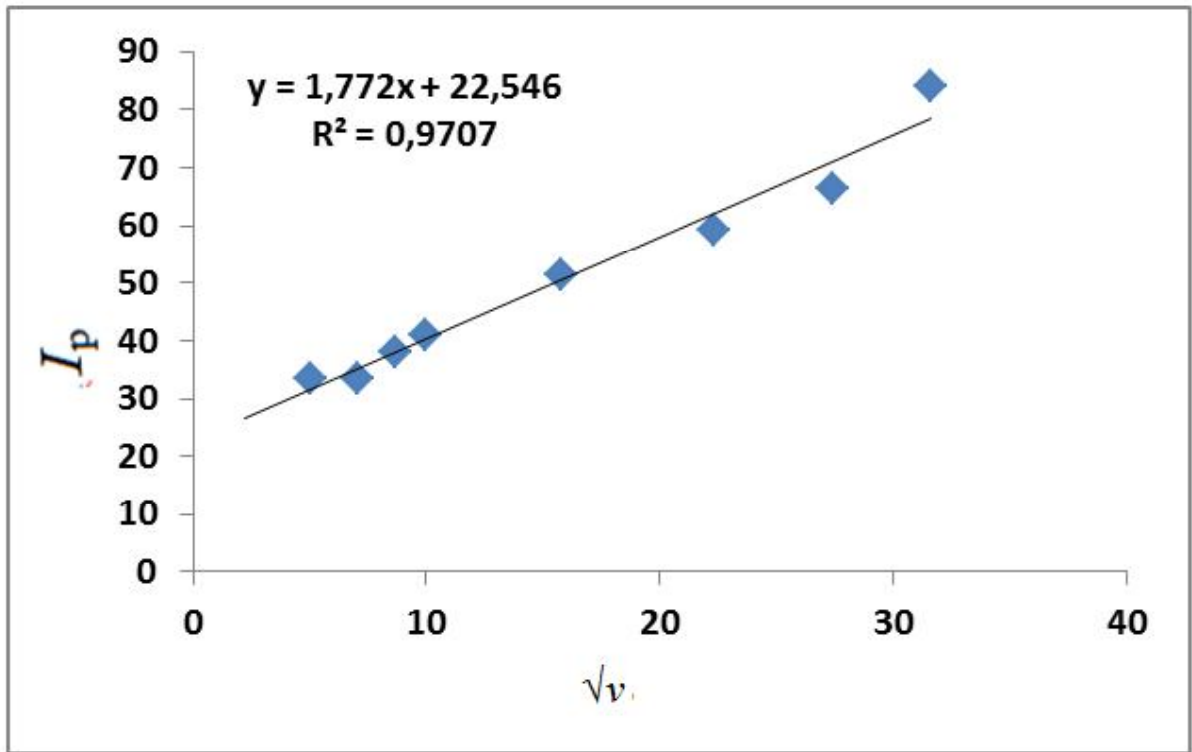
Şekil 4.21. 3×10^{-4} M $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ kompleksinin E_{pa} -pH diyagramı



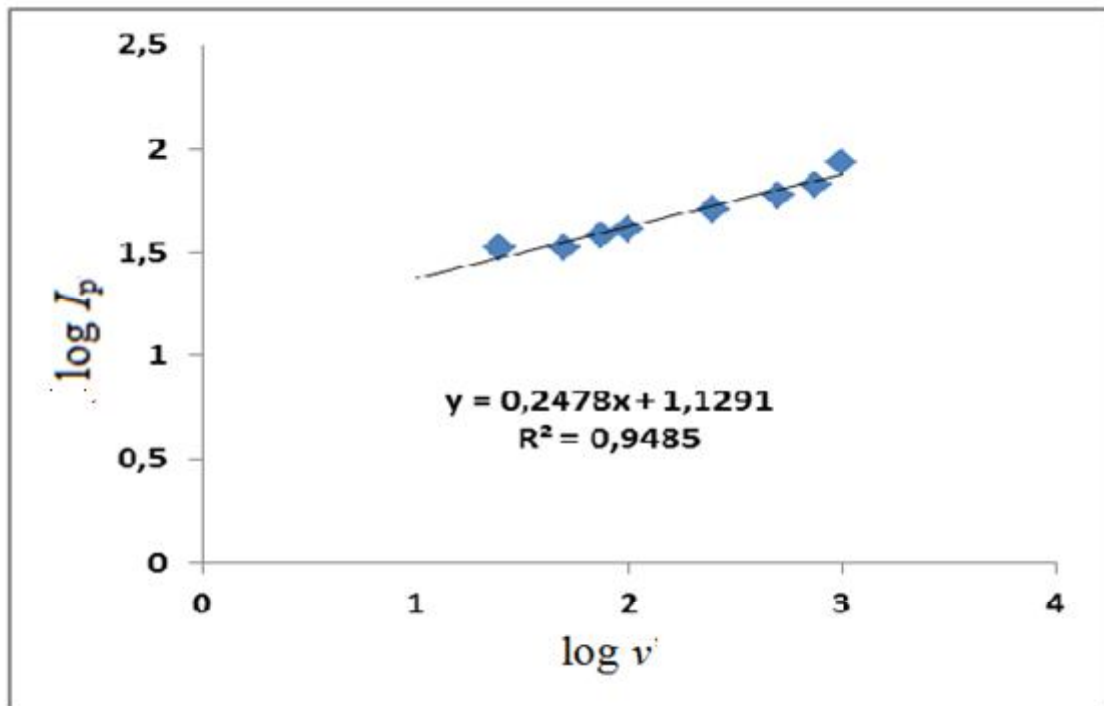
Şekil 4.22. 3×10^{-4} M $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ kompleksinin I_p -pH diyagramı



Şekil 4.23. 3×10^{-4} M $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ kompleksinin hız voltamogramı (pH 2)

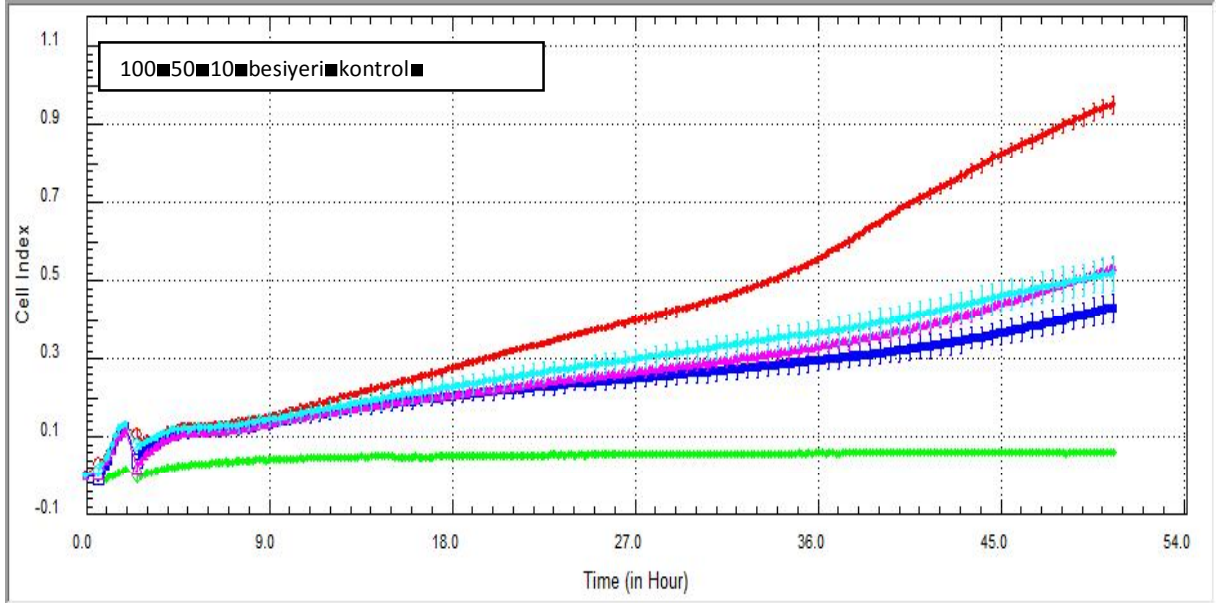


Şekil 4.24. 3×10^{-4} M $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ kompleksinin I_p - $\sqrt{v}$ diyagramı (pH 2)

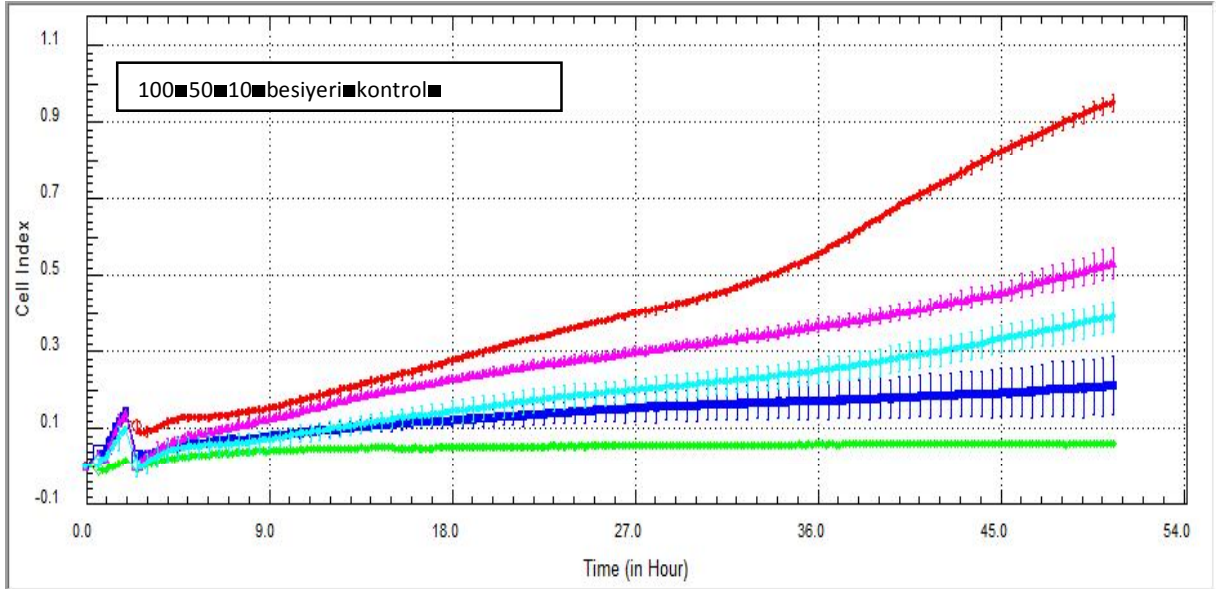


Şekil 4.25. 3×10^{-4} M $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ kompleksinin $\log I_p$ - $\log v$ diyagramı (pH 2)

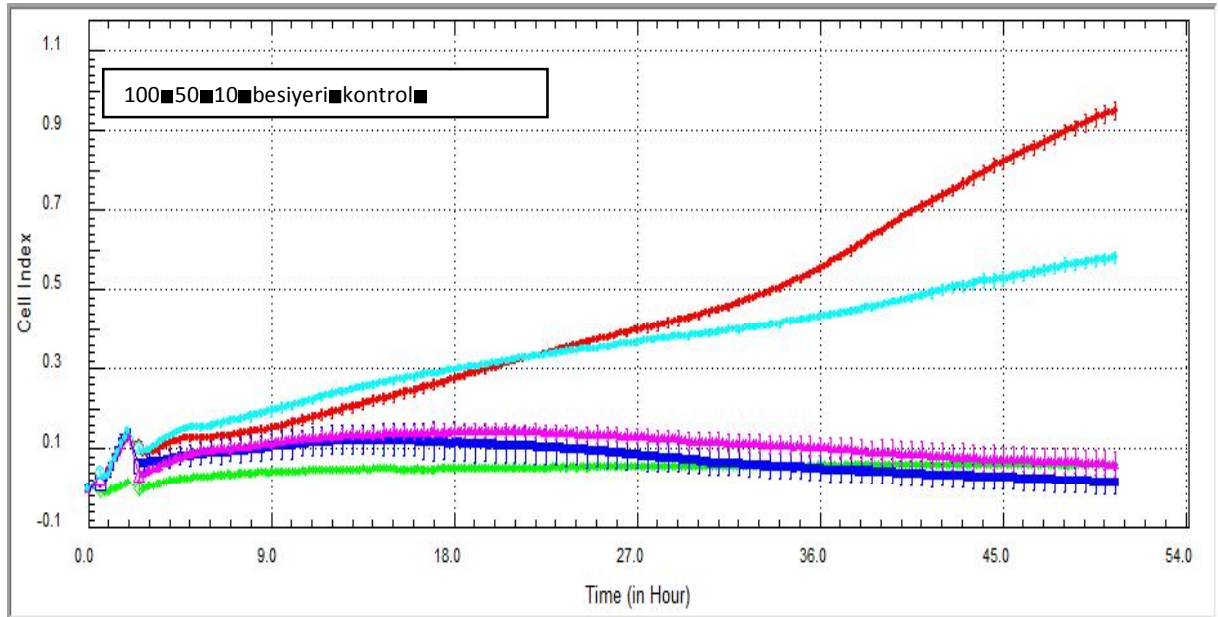
4.3. Antikanser Aktivite Çalışmaları



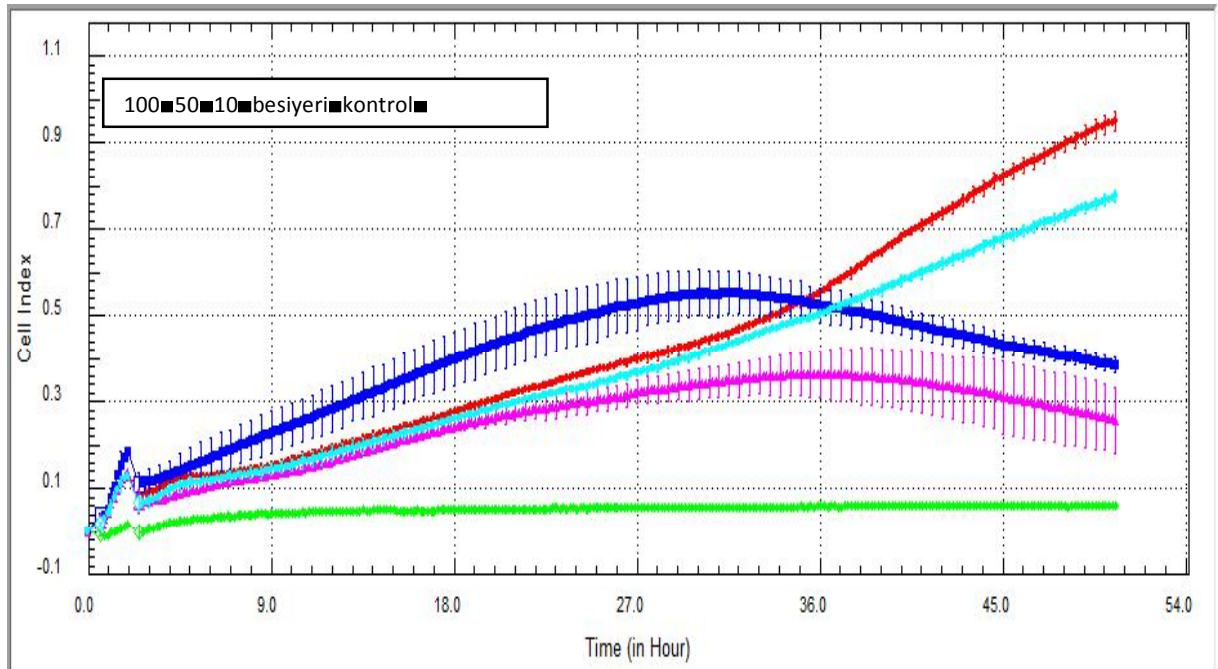
Şekil 4.26. 5-FU'nun antikanser aktivitesine ait veriler



Şekil 4.27. $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$ kompleksinin antikanser aktivitesine ait veriler

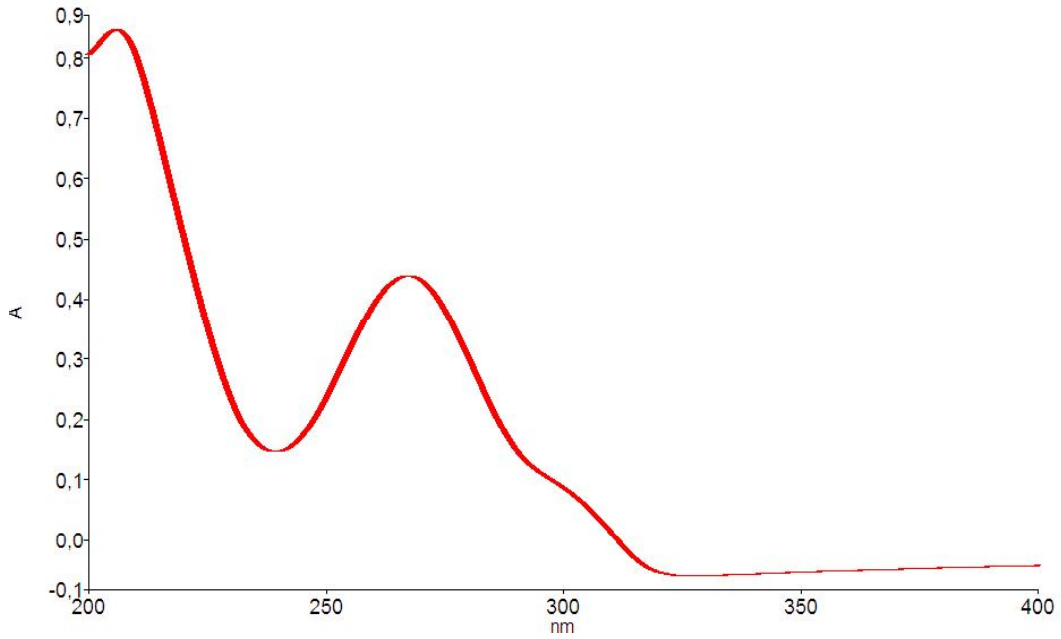


Şekil .4.28. Oksaliplatinin antikanser aktivitesine ait veriler



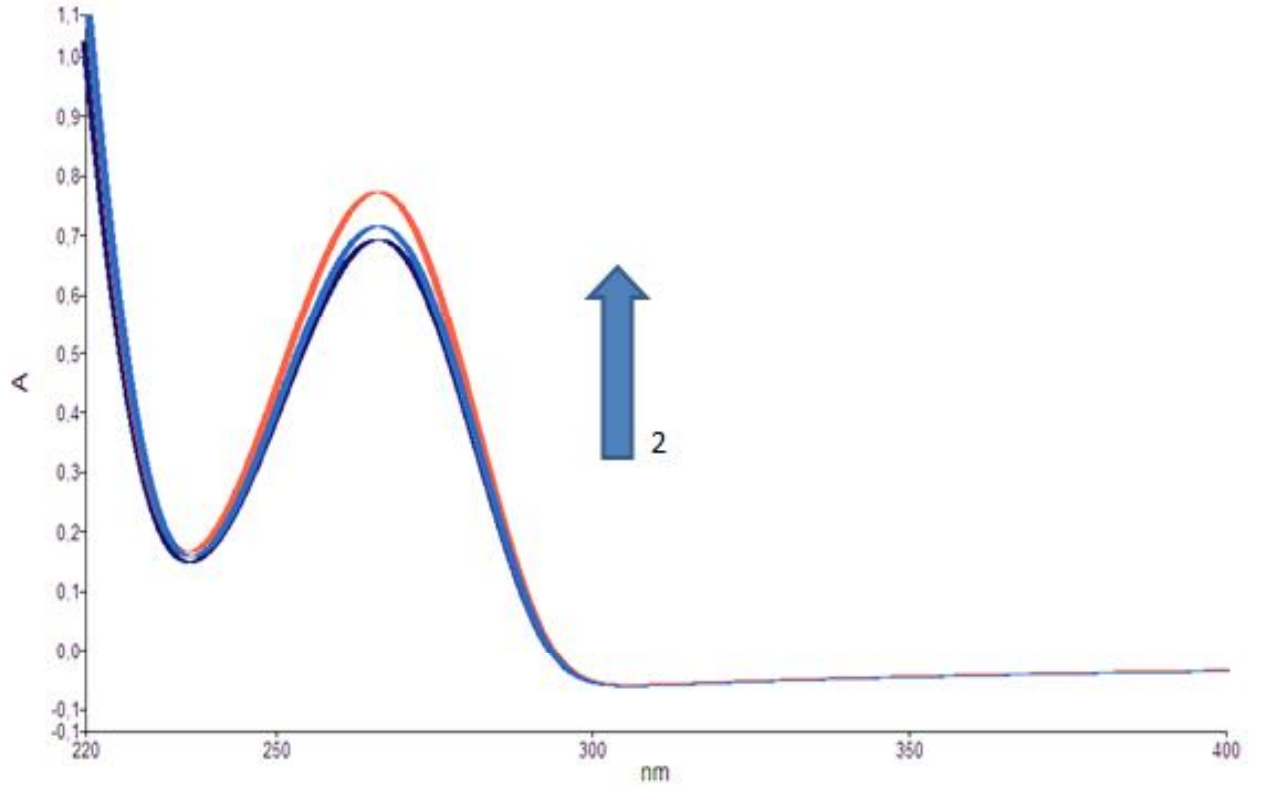
Şekil 4.29. Karboksiplatinin antikanser aktivitesine ait veriler

4.4. 5-FU'nun spektrofotometrik miktar tayin çalışmaları

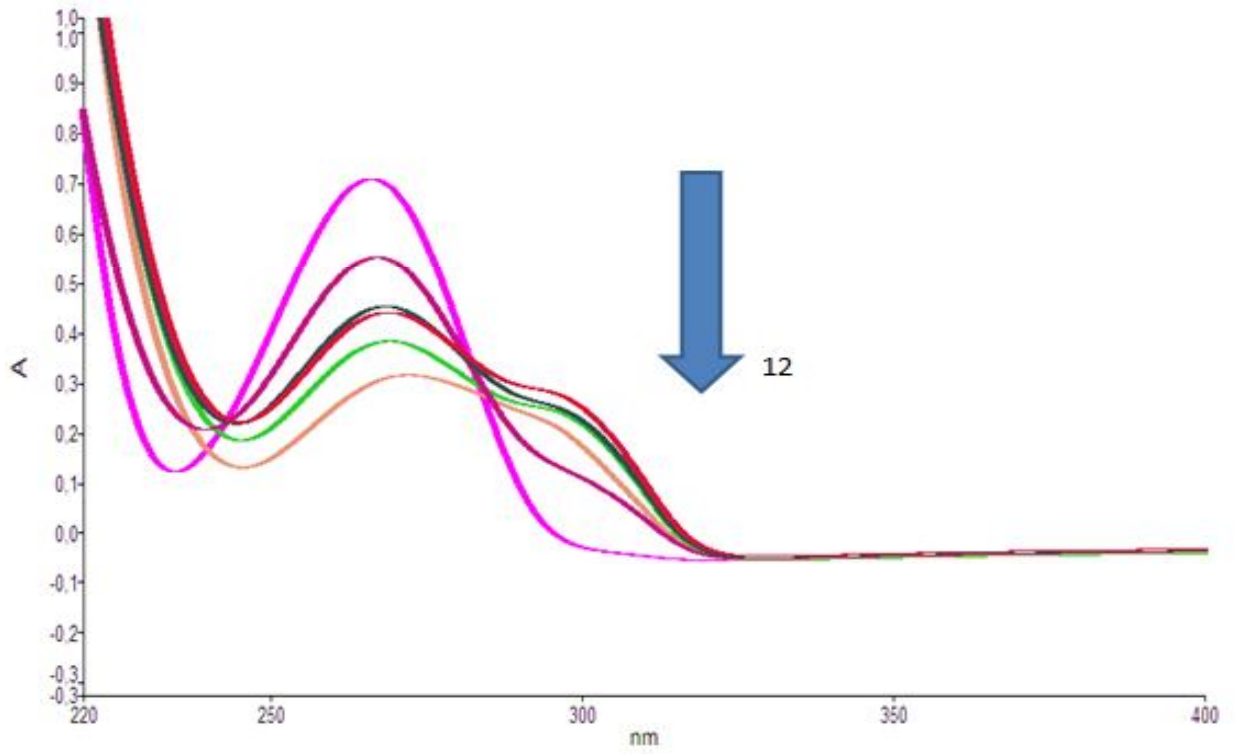


Şekil 4.30. 1×10^{-4} M 5-FU'nun saf su içerisinde UV-Vis spektrumu

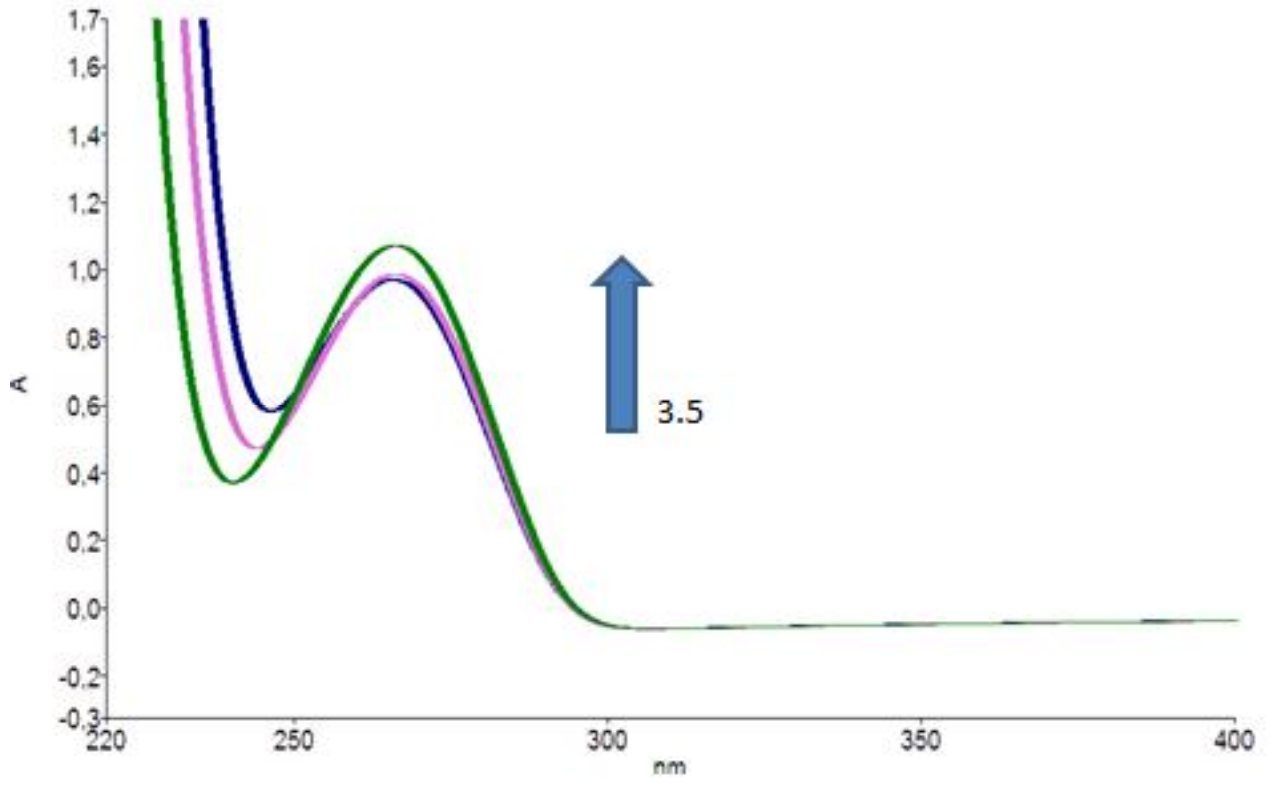
Çalışma maddesi olan 5-FU'nun spektrofotometrik teknik kullanılarak farklı ortamlarda ve pH değerlerinde miktar tayini çalışmaları yapılmıştır. Bu teknikte absorbans değerinin en yüksek olduğu ortamı seçebilmek için pH 2.00-12.00 arasındaki Britton-Robinson (BR) tamponu, pH 2.00-12.00 arasında fosfat tamponu, pH 3.70-5.70 arasında asetat tamponu ve 0.5 M H_2SO_4 çözeltisi kullanılmıştır. Şekil 4.31- 4.35 arasında ilgili spektrumlar verilmiştir.



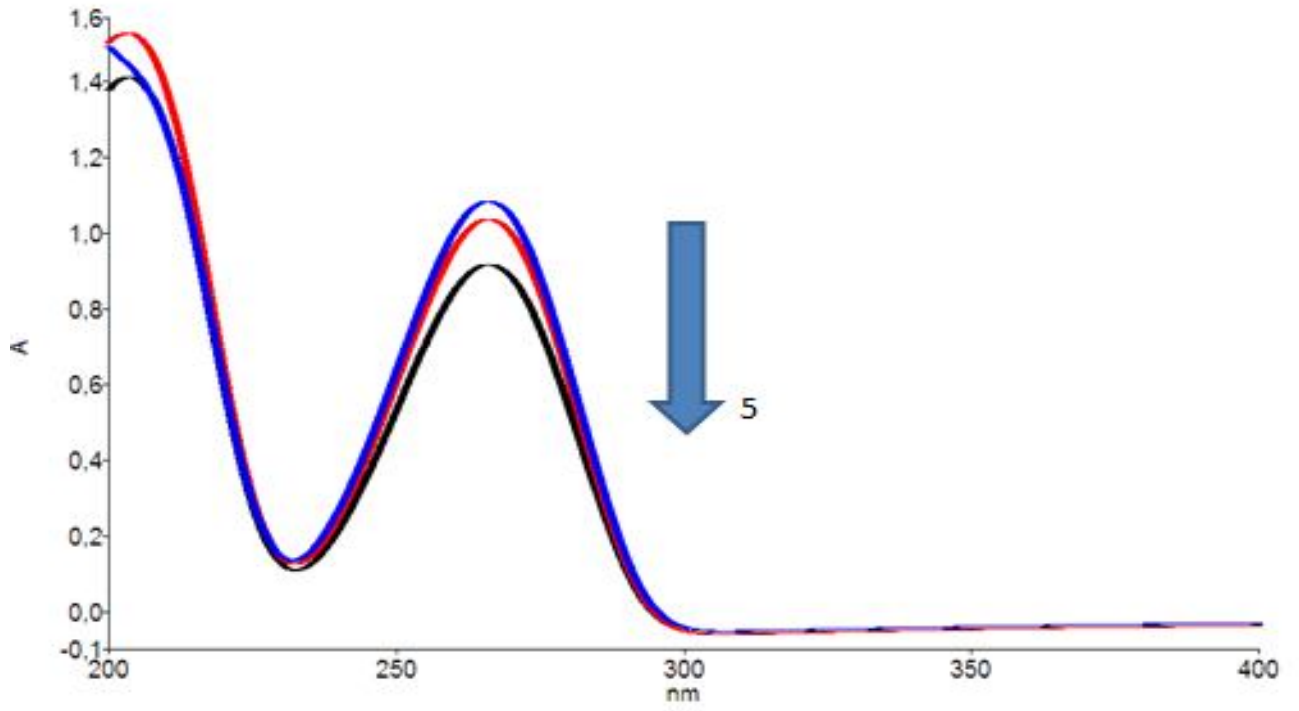
Şekil 4.31. 1×10^{-4} M 5-FU'nun pH 2-4 BR tamponundaki spektrumları



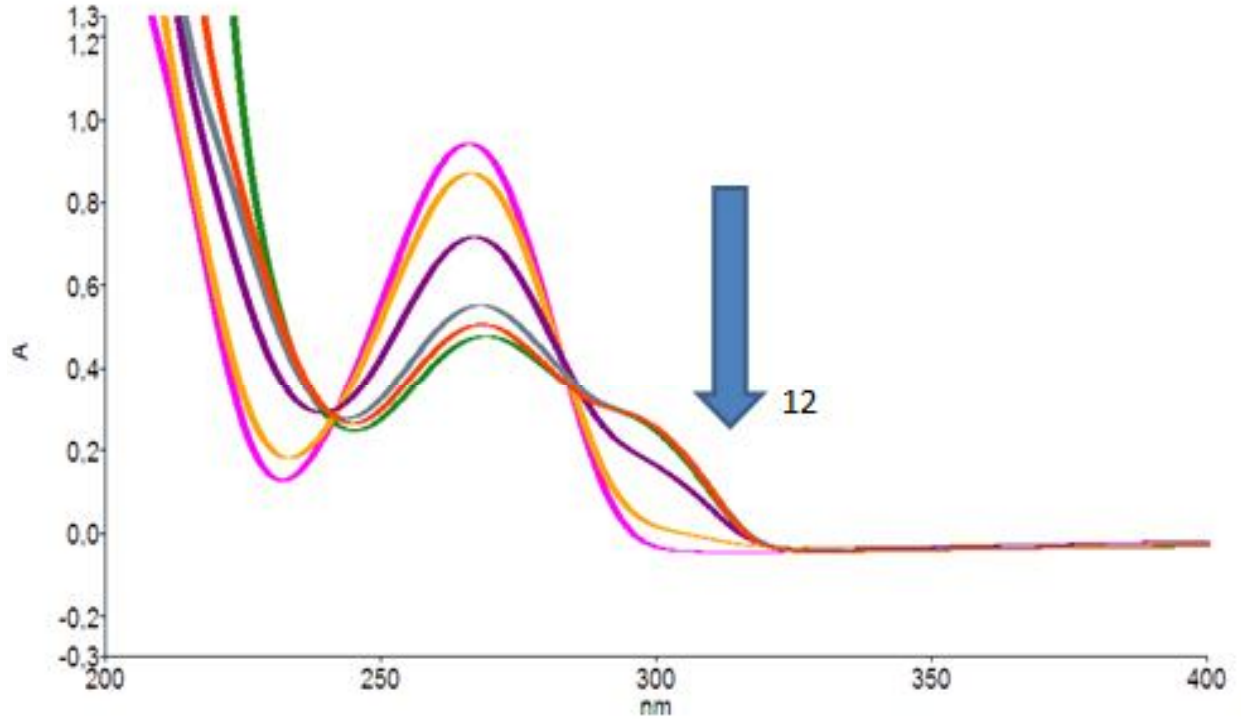
Şekil 4.32. 1×10^{-4} M 5-FU'nun pH 5-12 BR tamponundaki spektrumları



Şekil 4.33. 1×10^{-4} M 5-FU'nun pH 3.5- 5.5 Asetat tamponundaki spektrumları

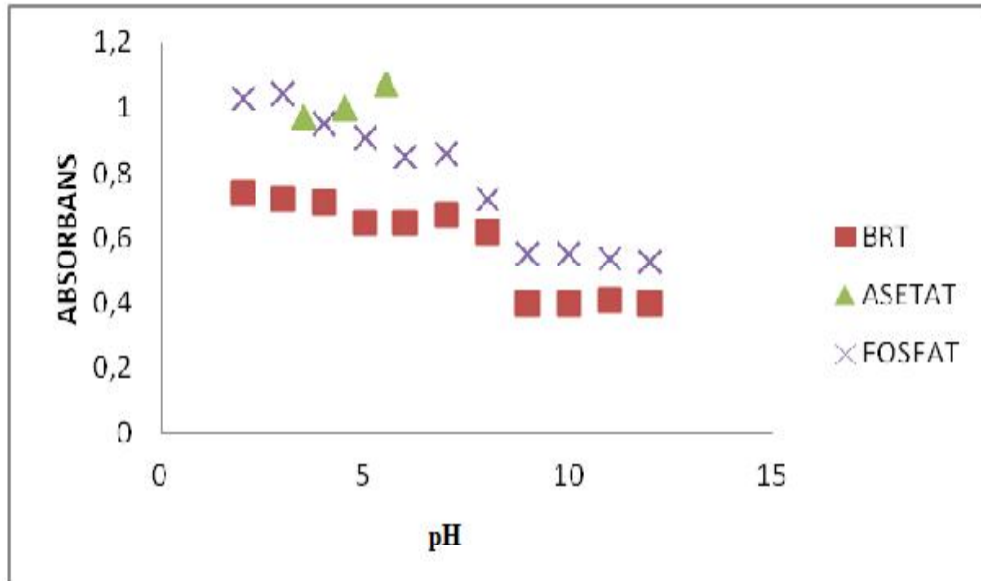


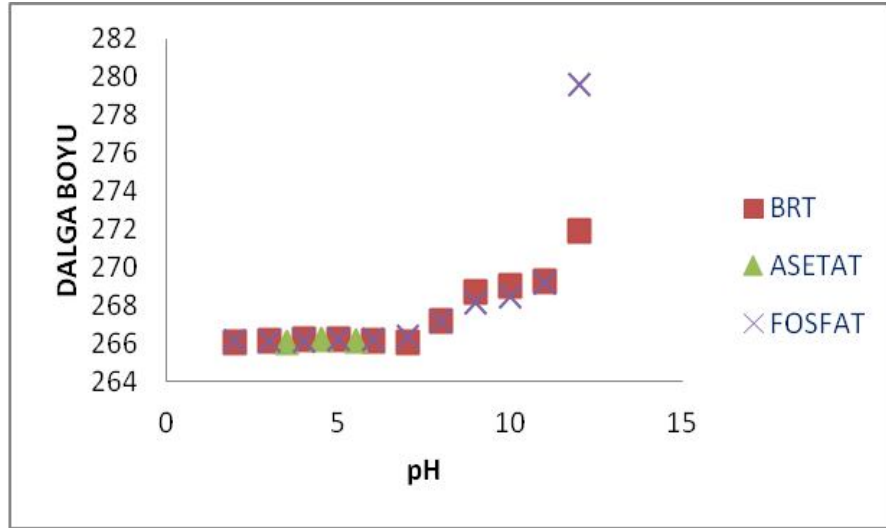
Şekil 4.34. 1×10^{-4} M 5-FU'nun pH 2-5 Fosfat tamponundaki spektrumları



Şekil 4.35. 1×10^{-4} M 5-FU'nun pH 6-12 Fosfat tamponundaki spektrumları

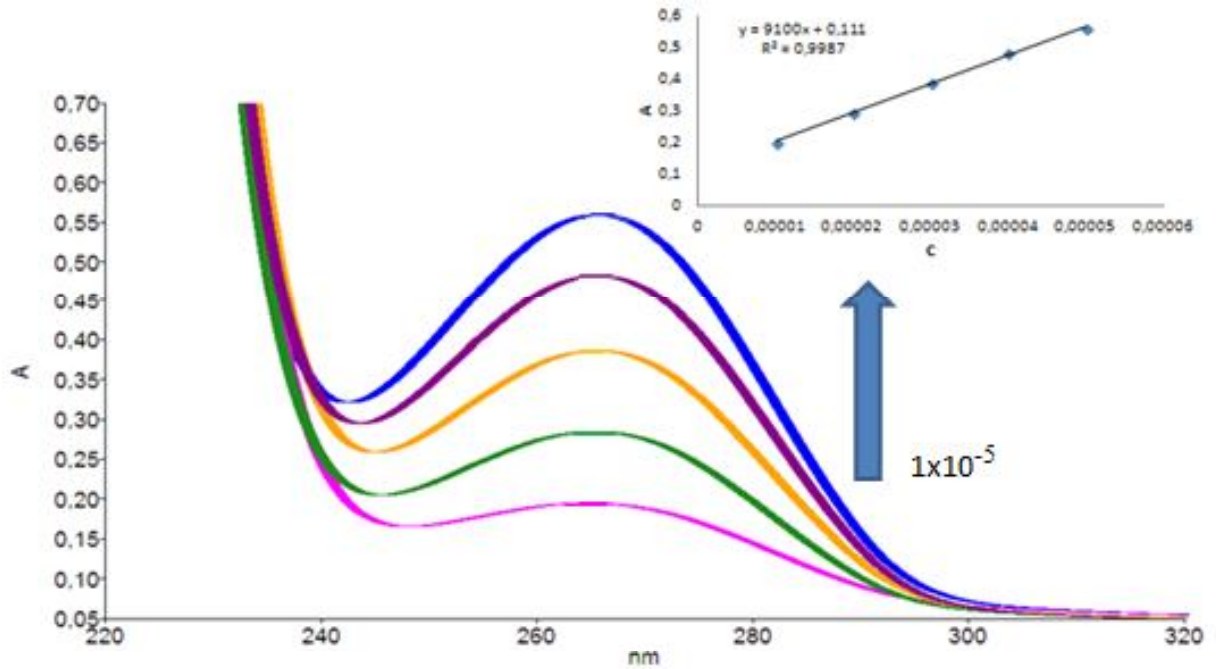
pH'in absorbansa ve dalga boyuna etkisini daha rahat görebilmek için bütün pH'ları ve ortamları bir arada gösteren (Absorbans-pH) A-pH, Dalgaboyu-pH eğrileri Şekil 4.32'de verilmiştir.



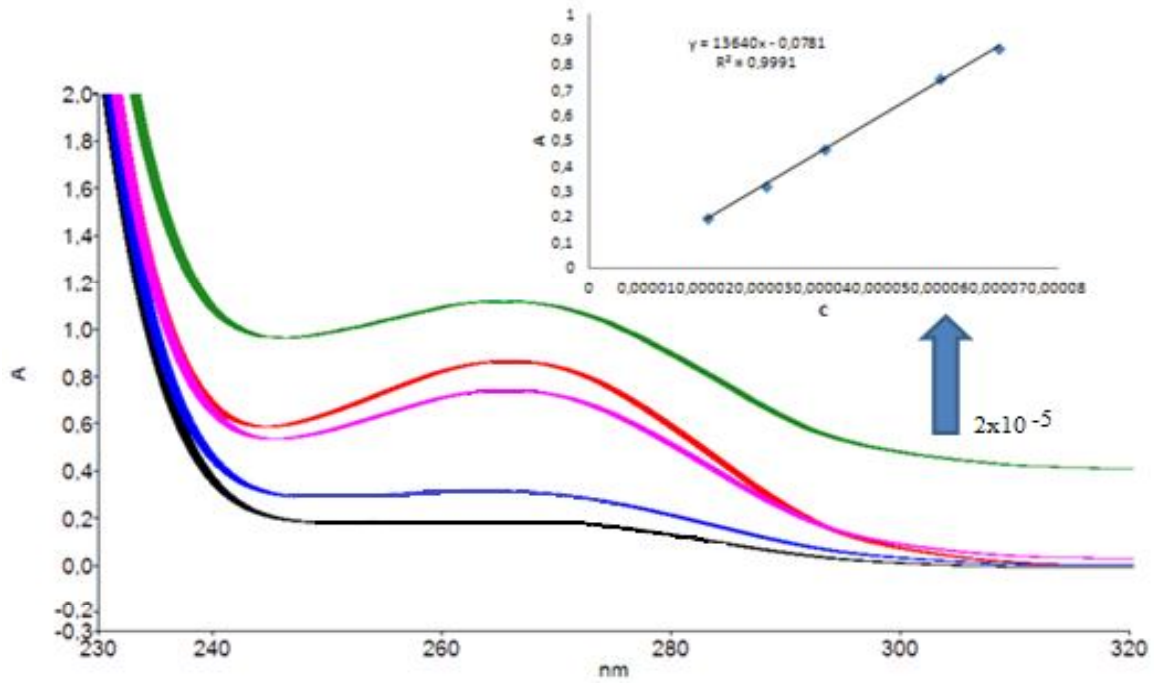


Şekil 4.36. 1×10^{-4} M 5-FU'nun spektrumlarından okunan pH değişiminin absorbans (a) ve dalga boyu (b) üzerindeki etkileri; (□) Britton-Robinson (0.04M); (x) fosfat (0.2M) ve (Δ) asetat tamponları (0.2M)

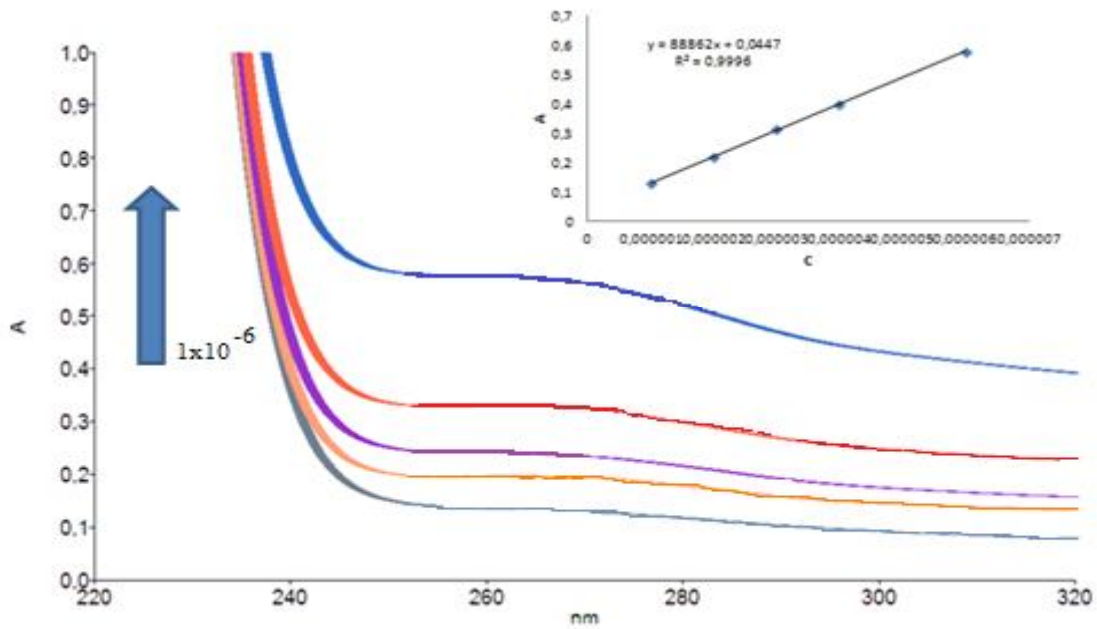
Elde edilen verilerden en yüksek akım piki asetat tanponunda pH 5.5' de elde edilmiştir. Bu nedenle spektrofotometrik miktar tayini çalışmaları bu pH değerinde yapılmıştır.



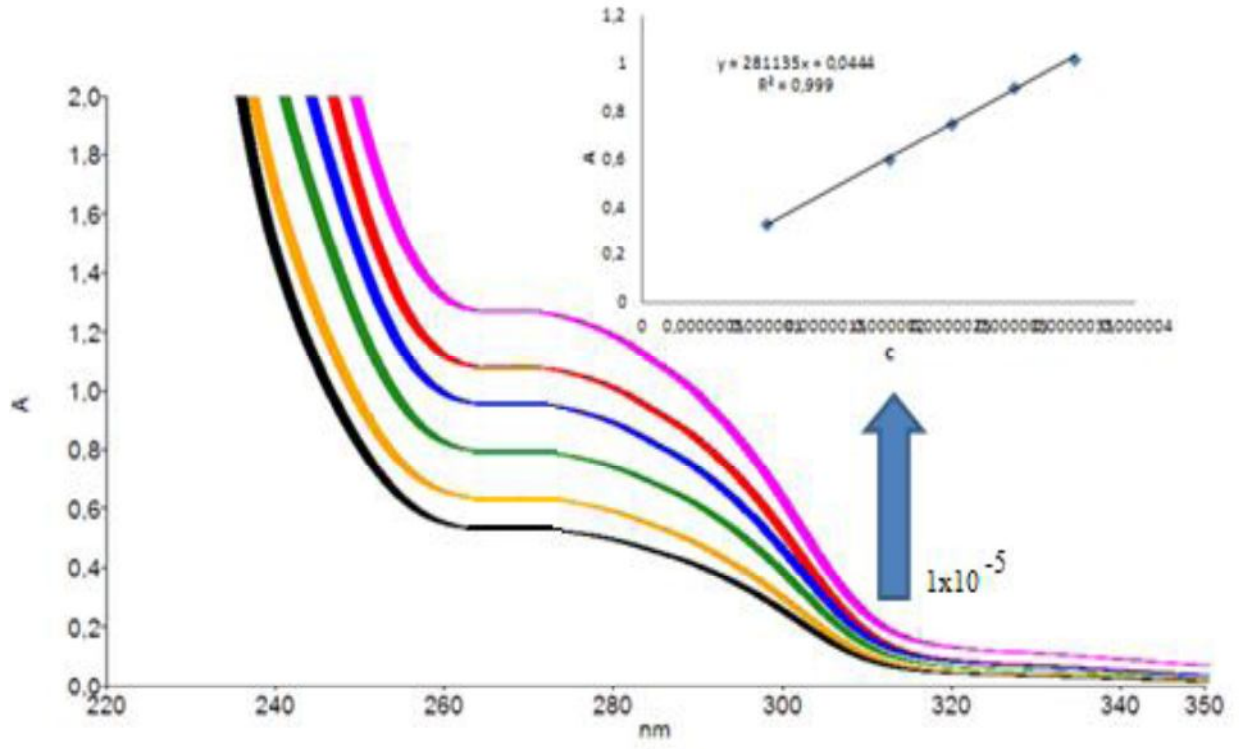
Şekil 4.37. 5-FU'nun pH 5.5 Asetat tamponu çözeltisi içinde 1×10^{-5} – 5×10^{-5} M derişim aralığında elde edilen spektrumları



Şekil 4.38. 5-FU'nun pH 5.5 asetat tamponu ve serum örneği içerisindeki kalibrasyon doğrusu (2×10^{-5} – 6×10^{-5} M)



Şekil 4.39. 5-FU'nun pH 5.5 asetat tamponu ve anne sütü içindeki kalibrasyon doğrusu (1×10^{-6} – 8×10^{-6} M)



Şekil 4.40. 5-FU'nun pH 5.5 asetat tamponu ve idrar içindeki kalibrasyon doğrusu (1×10^{-5} – 4×10^{-5} M)

5-FU için geliştirilen miktar tayini yöntemi 5-FU'nun serum, idrar ve anne sütünden tayin edilebileceğini göstermiş ve elde edilen sonuçlar Tablo 4.5' de verilmiştir.

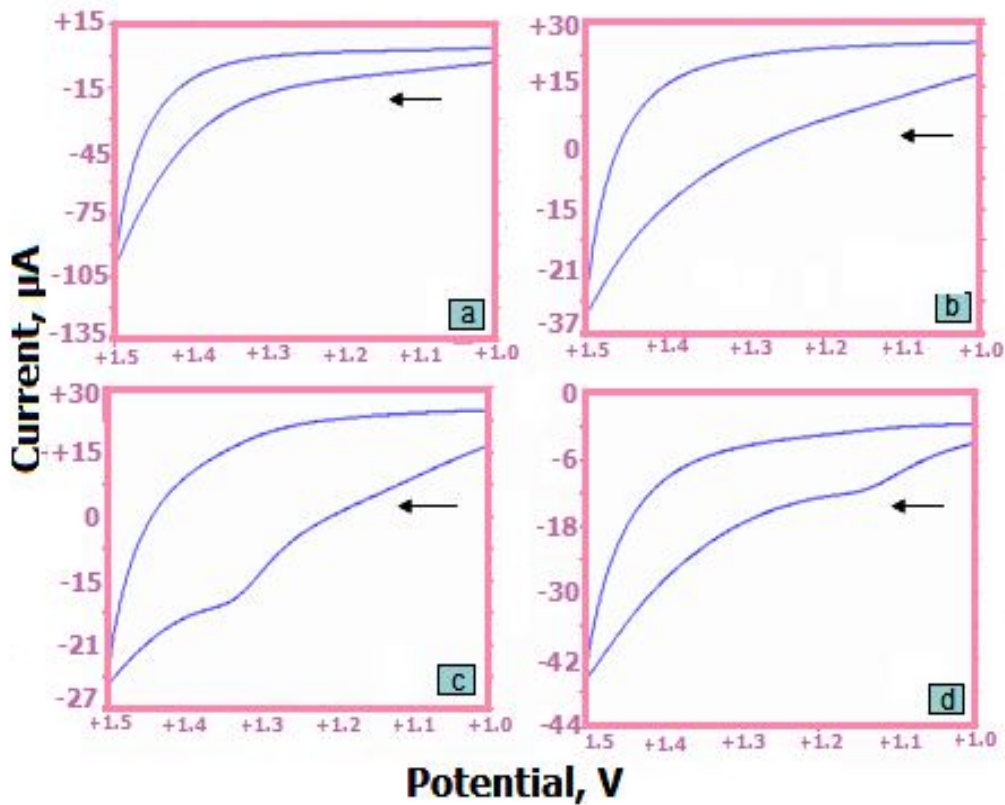
Tablo 4.5 . 5-FU'nun pH 5.5 asetat tamponu ortamındaki UV-Vis tekniği ile elde edilen kalibrasyon eğrisine ait regrasyon analizi sonuçları ve gerekli parametreleri

Spektrofotometrik Metod				
	Saf madde	Serum	Anne sütü	İdrar
Dalga boyu (nm)	265.27	266.23	266.72	279.28
Doğrusallık aralığı (M)	1×10^{-5} - 5×10^{-5}	2×10^{-5} - 7×10^{-5}	1×10^{-6} - 8×10^{-5}	1×10^{-5} - 5×10^{-5}
Eğim (μM)	0.91×10^4	1.36×10^4	8.88×10^4	2.81×10^4
Kesişim	0.11	-0.78	0.04	0.04
Korelasyon Katsayısı	0.99	0.99	0.99	0.99
Teşhis Sınırı (M) * (LOD)	1.90×10^{-6}	1.26×10^{-6}	1.94×10^{-7}	6.66×10^{-8}
Tayin Alt Sınırı (M) * (LOQ)	6.34×10^{-6}	4.23×10^{-6}	6.49×10^{-7}	2.22×10^{-7}
Absorbansın gün içi tekrarlanabilirliği (%BSS) **	1.14	1.26	2.23	0.54
Absorbansın günler arası tekrarlanabilirliği (%BSS) ***	2.01	1.41	3.46	0.97
Dalga boyunun gün içi tekrarlanabilirliği (%BSS) **	0.04	0.07	0	0
Dalga boyunun gün içi tekrarlanabilirliği (%BSS) ** *	0.01	0.05	0	0

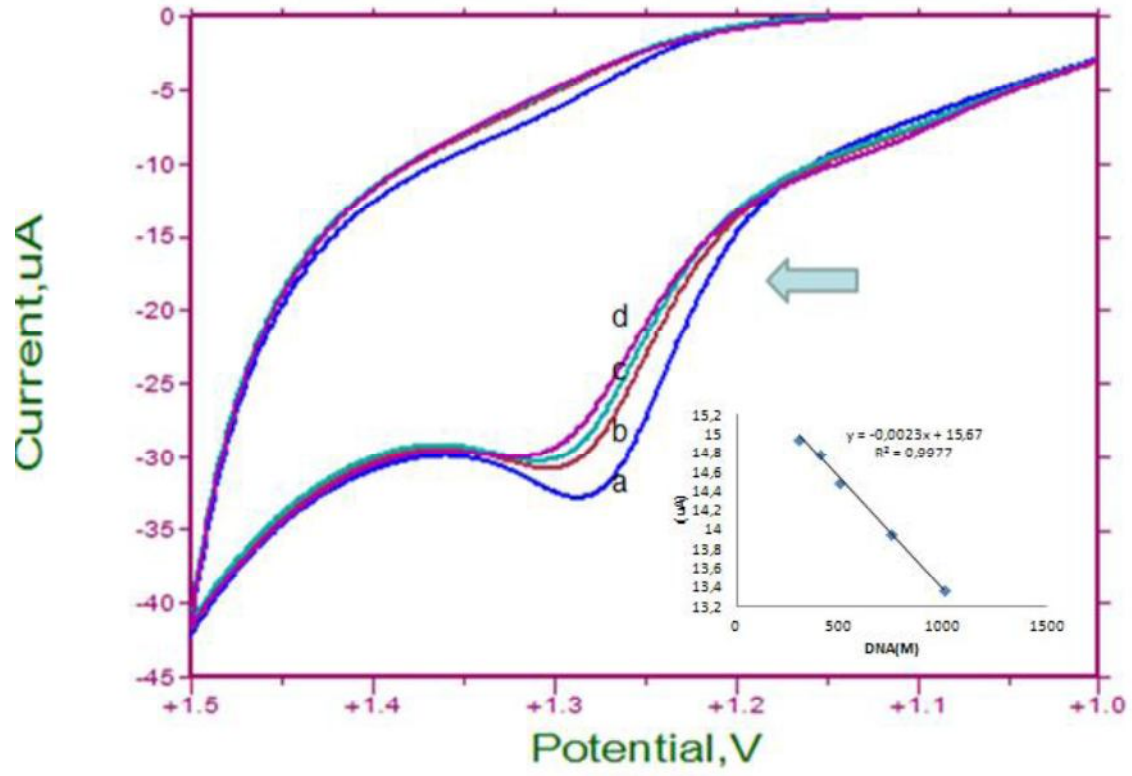
(*)Yakalama ve tayin alt sınırı hesabı için gerekli standart sapma sonuçları belirli bir konsantrasyonun 3 değerinden elde edilmiştir. (**) Ortalama değerler farklı çözeltilerin aynı günde ölçümlerinden elde edilen ortalama değerleri (***) Farklı günlerde (1 haftalık süre içerisinde) hazırlanan çözeltilerin ölçümlerinden elde edilen ortalama değerleri

4.5. 5-FU'nun Elektrokimyasal Miktar Tayini Çalışmaları

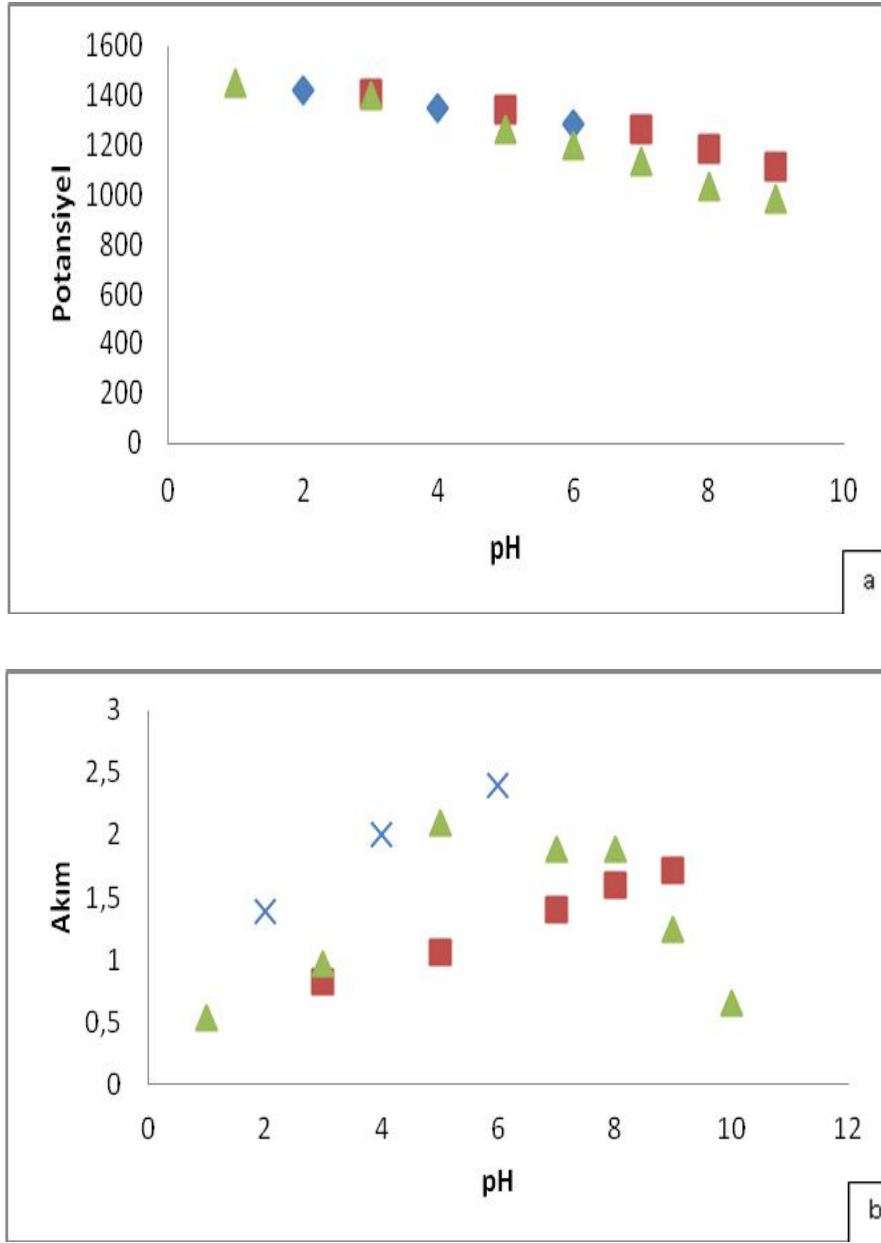
5-FU için DV, DPV ve KDV teknikleri ile 0.5 M H₂SO₄, pH 2.00-12.00 Britton-Robinson, pH 2.00-7.00 fosfat ve pH 3.70-5.70 asetat tampon çözeltileri ile çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar Şekil 4.41-4.46'da verilmiştir.



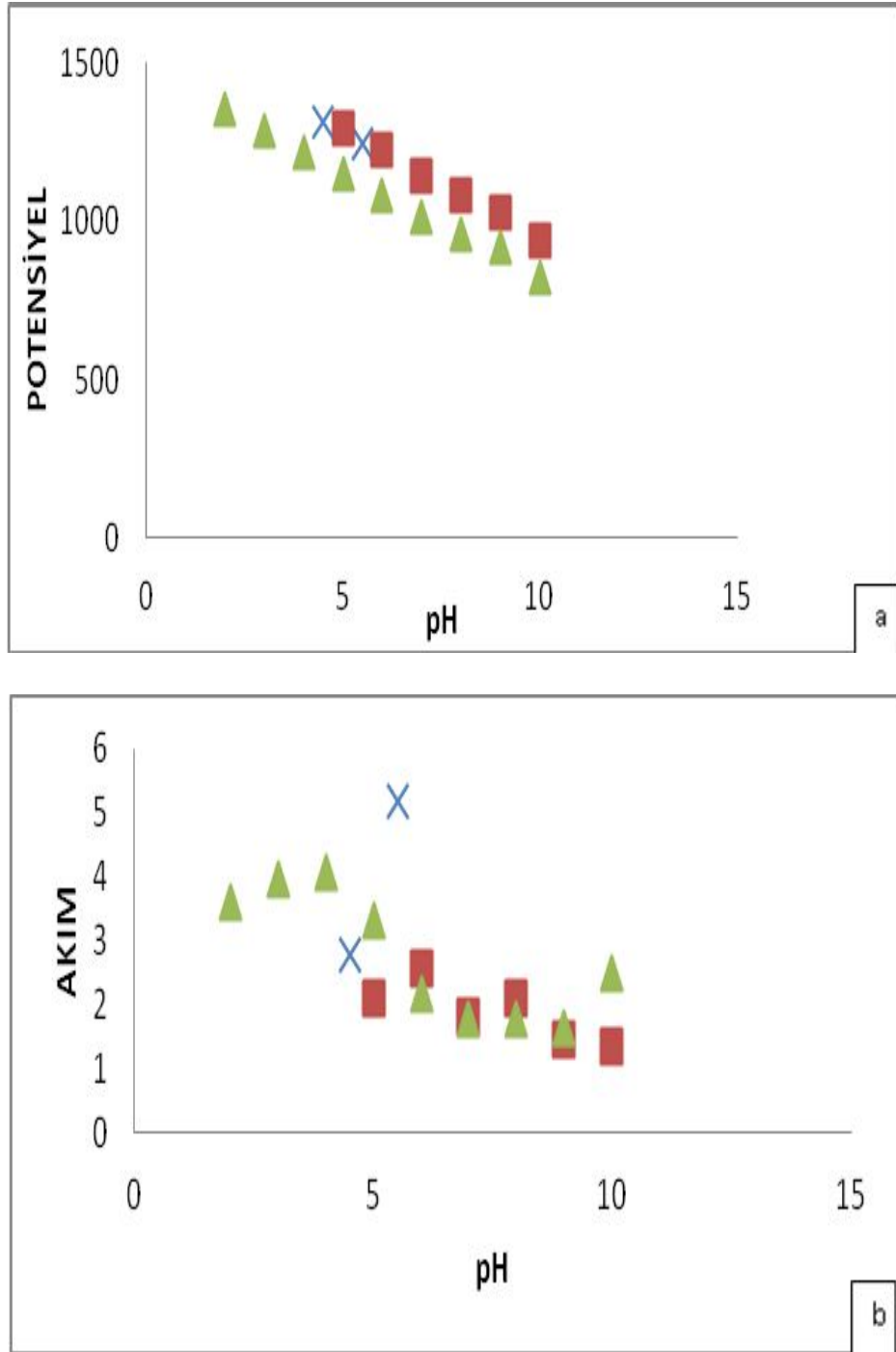
Şekil 4.41. 1×10^{-4} M 5-FU'nun farklı tampon çözeltiler içerisindeki dönüşümlü voltamogramları (a) 0,5 M H₂SO₄ çözeltisi (b) pH 2 Fosfat tamponu (c) pH 5 BR tamponu (d) pH 8 BR tamponu



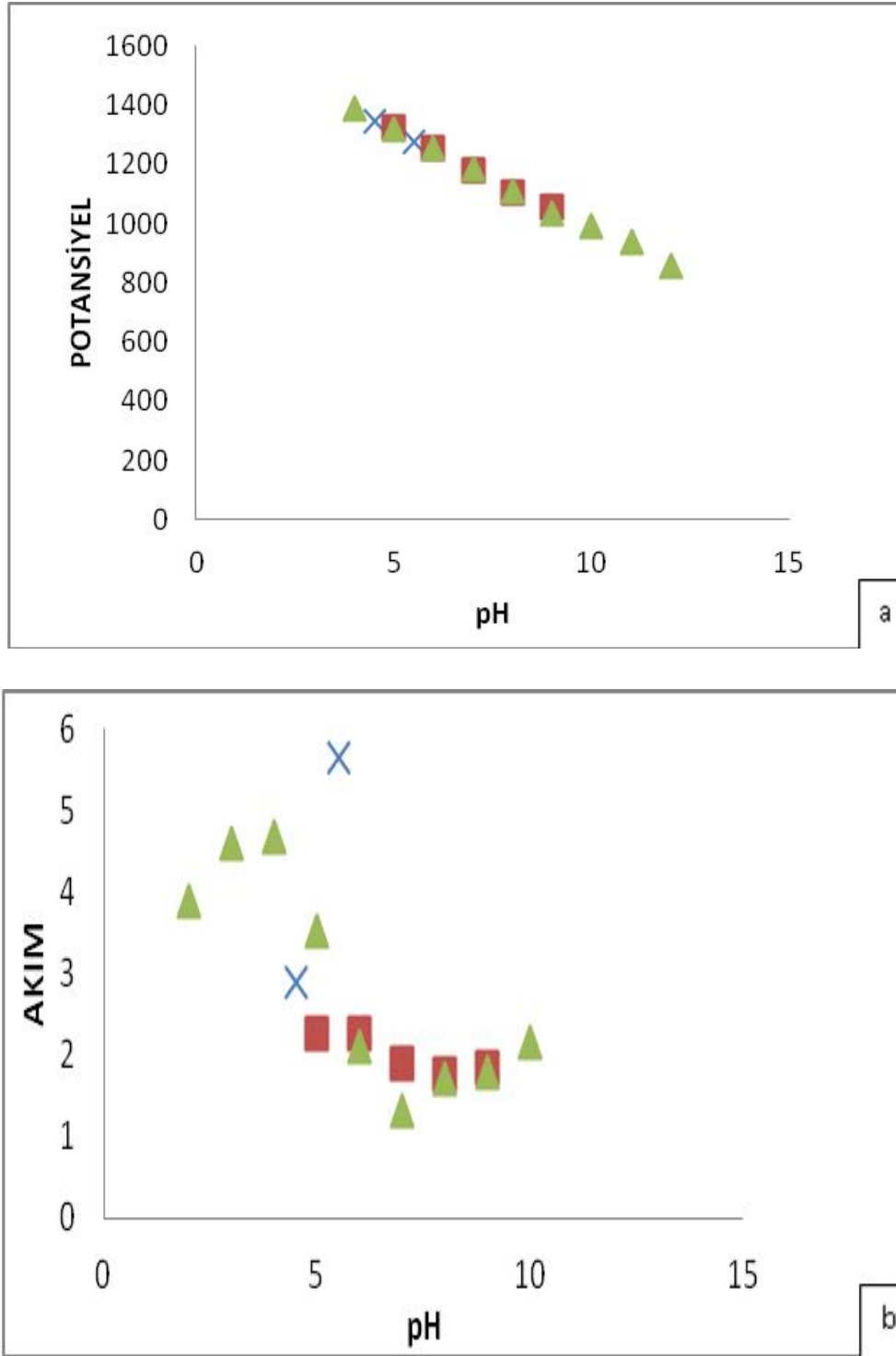
Şekil 4.42. 1×10^{-4} M 5-FU in farklı tampon çözeltiler içerisindeki dönüşümlü voltamogramları (a) 0,5 M H_2SO_4 çözeltisi (b) pH 2 Fosfat tamponu (c) pH 5 BR tamponu (d) pH 8 BR tamponu



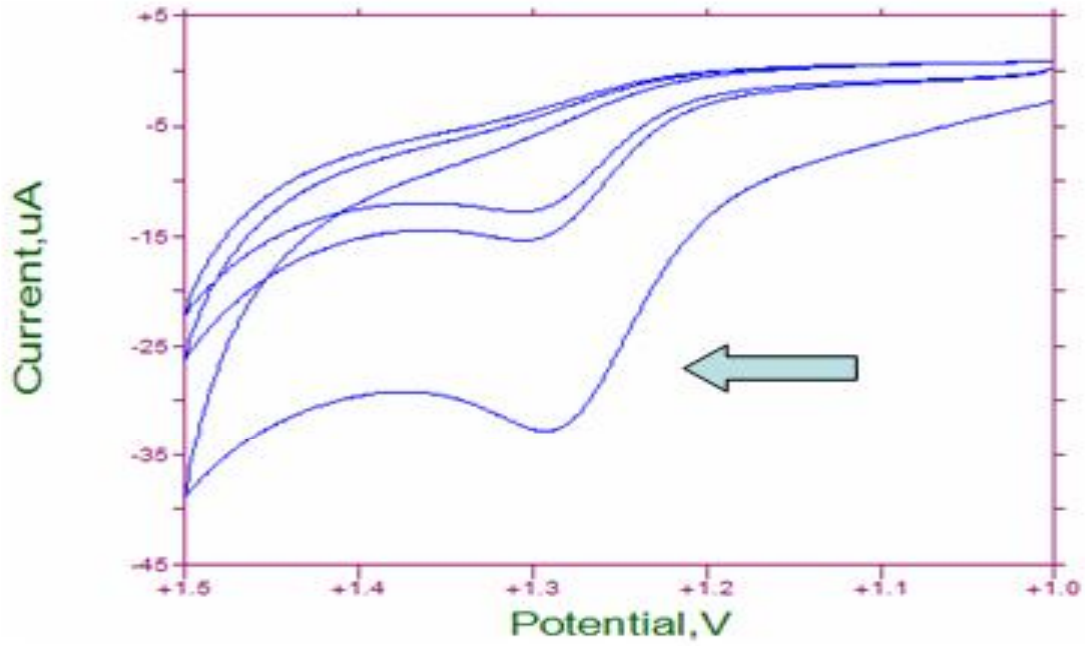
Şekil 4.43. DV voltamogramlarından okunan 1×10^{-4} M 5-FU çözeltisine ait pH değişiminin potansiyel (a) ve akım (b) üzerindeki etkileri; 0.04 M Britton-Robinson (Δ), 0.2 M asetat ($\diamond$) ve 0.2 M fosfat tamponları ($\square$)



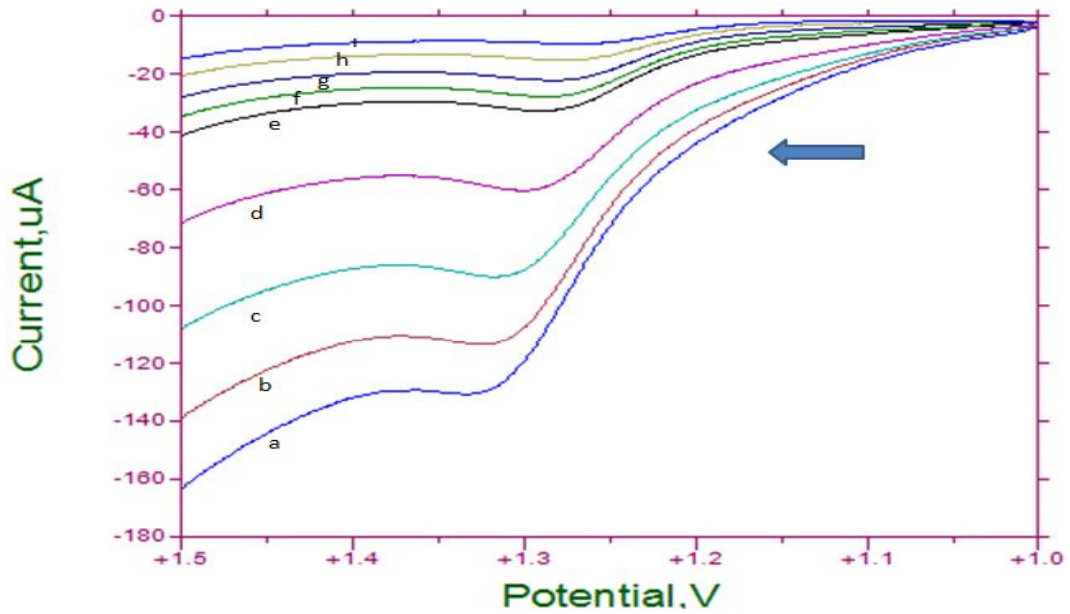
Şekil 4.44. DPV voltamogramlarından okunan 1×10^{-4} M 5-FU çözeltisine ait pH değişiminin potansiyel (a) ve akım (b) üzerindeki etkileri; 0.04 M Britton-Robinson (Δ), 0.2 M asetat ($\times$) ve 0.2 M fosfat tamponları ($\square$)



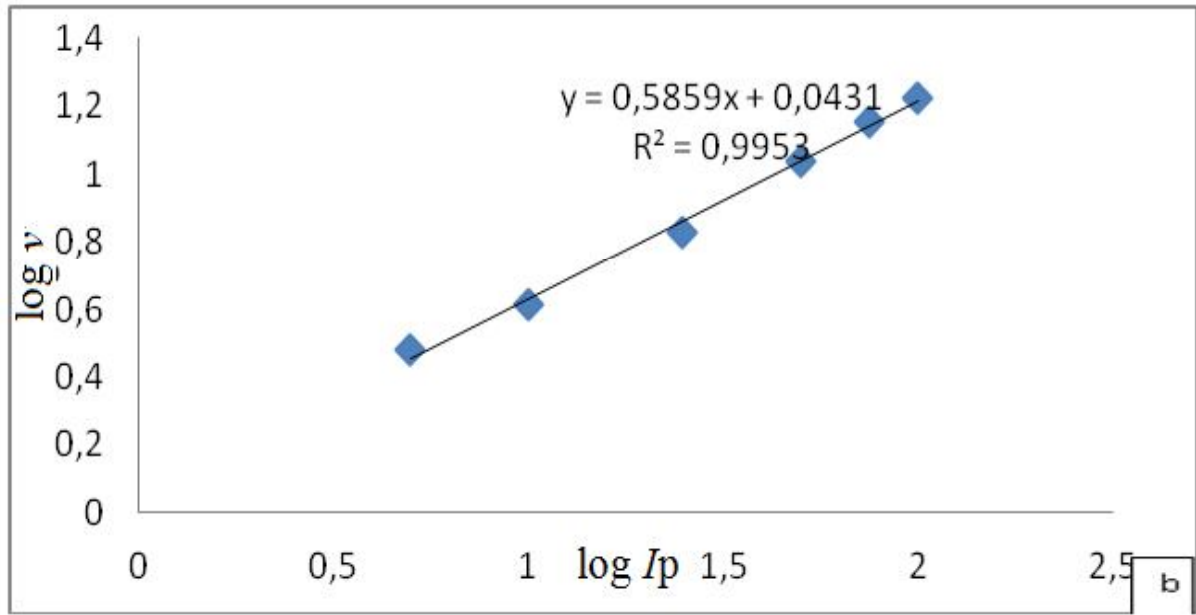
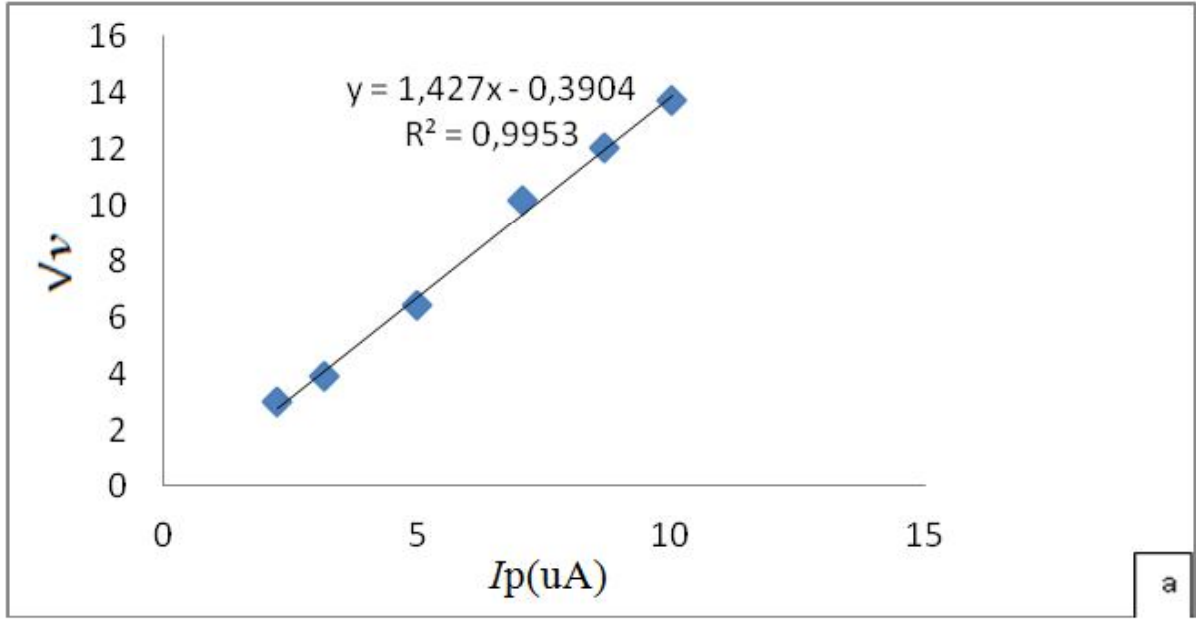
Şekil 4.45. KDV voltamogramlarından okunan 1×10^{-4} M 5-FU çözeltisine ait pH değişiminin potansiyel (a) ve akım (b) üzerindeki etkileri; 0.04 M Britton-Robinson (Δ), 0.2 M asetat ($\circ$) ve 0.2 M fosfat tamponları ($\square$)



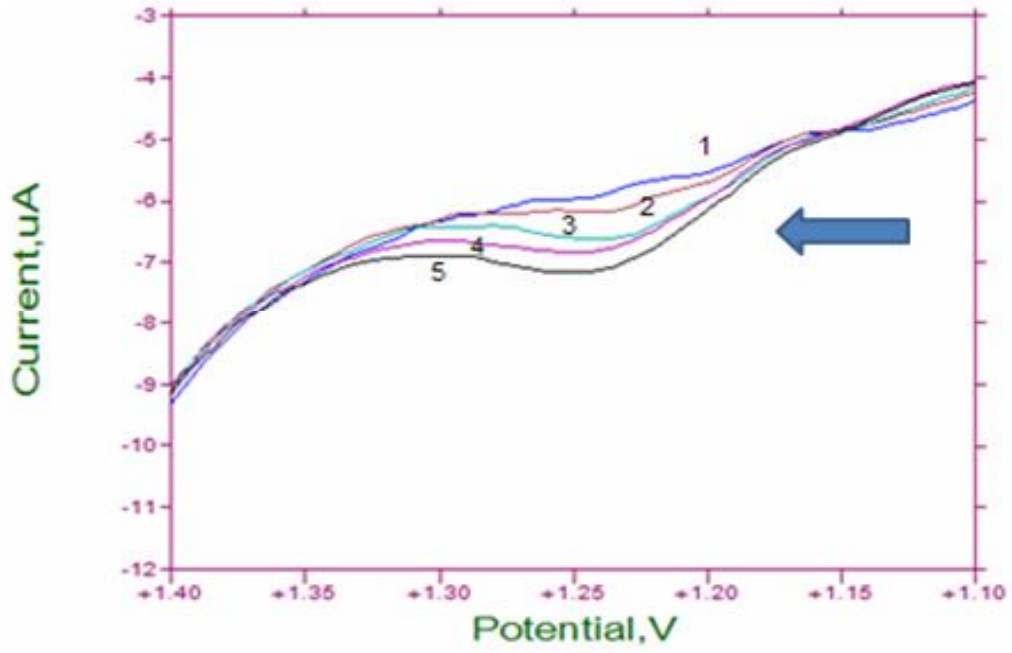
Şekil 4.46. 5×10^{-4} M 5-FU çözeltisinin pH 5.5 asetat tamponu içerisinde tekrarlanan dönüşümlü voltamogramı (segment sayısı 6)



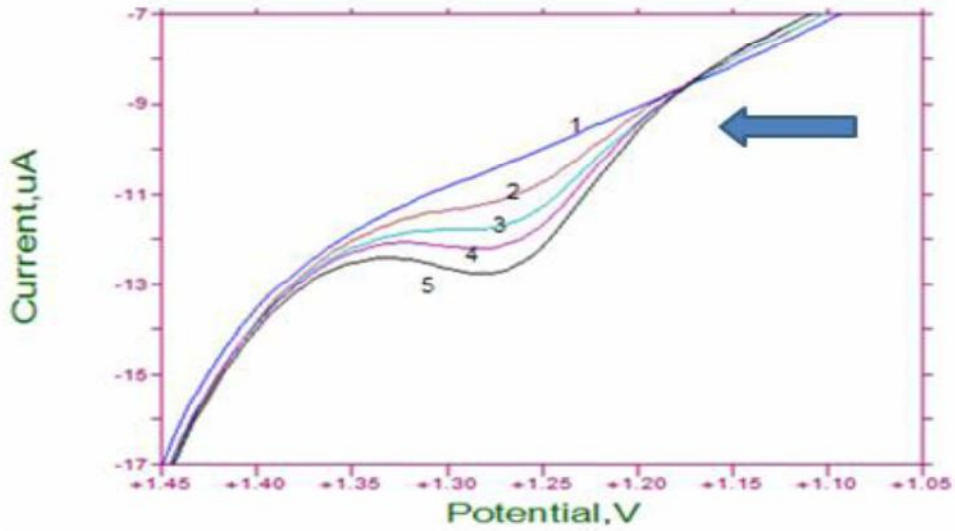
Şekil 4.47. 5×10^{-4} M 5-FU' nun pH 5.5 de farklı tarama hızlarına ait voltamogramlar Tarama hızı (a) 1000 mV s^{-1} (b) 750 mV s^{-1} (c) 500 mV s^{-1} (d) 250 mV s^{-1} (e) 100 mV s^{-1} (f) 50 mV s^{-1} (g) 25 mV s^{-1} (h) 10 mV s^{-1}



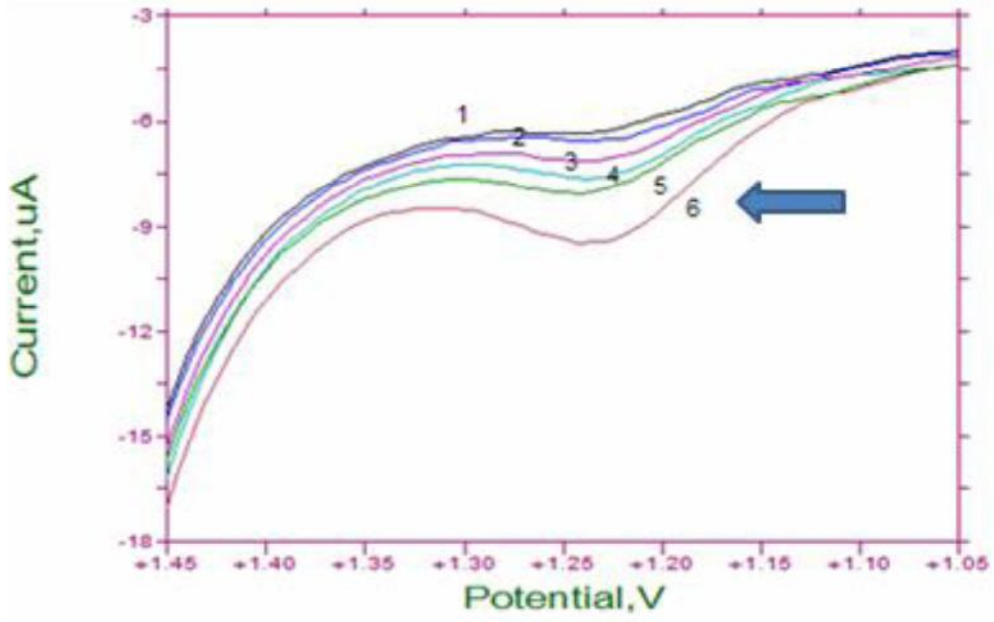
Şekil 4.48. 5×10^{-4} M 5-FU çözeltisinin pH 5.5 asetat tamponunda pik akımının v 'ye (a) $\log I_p$ nin $\log v$ 'ye (b) etkisi



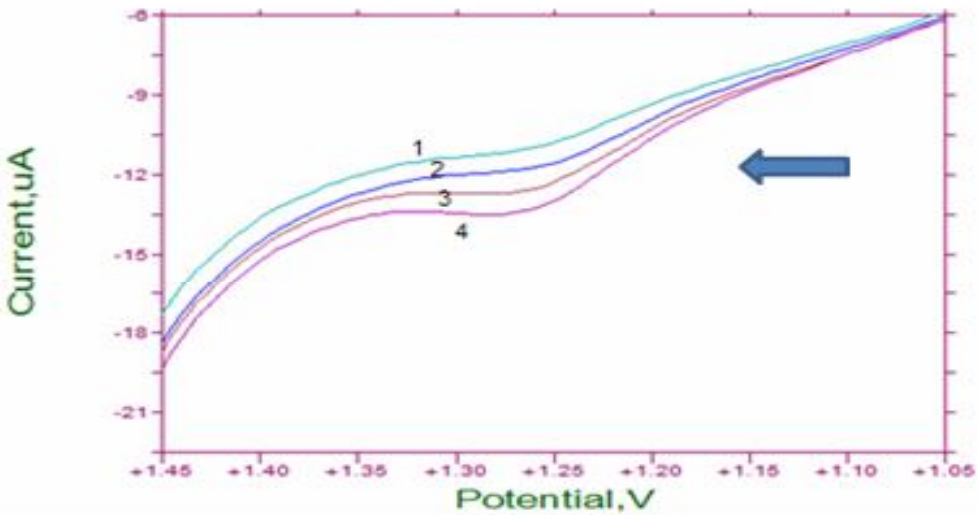
Şekil 4.49. DPV'nin 5-FU çözeltisinin pH 5.5 asetat tamponunda anne sütü kalibrasyonuna ait voltamogramlar [(1) destek, (2) $2 \times 10^{-5} \text{M}$, (3) $4 \times 10^{-5} \text{M}$, (4) $6 \times 10^{-5} \text{M}$, (5) $8 \times 10^{-5} \text{M}$]



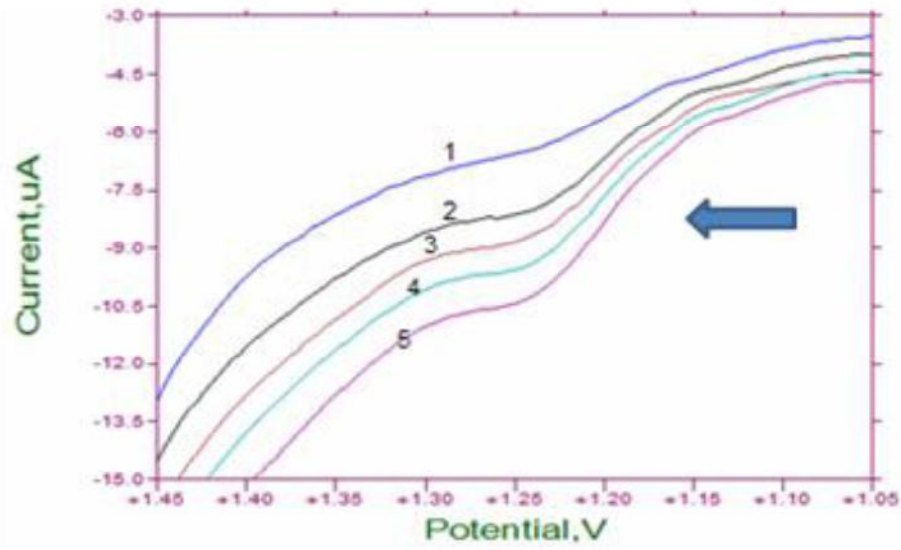
Şekil 4.50. KDV'nin 5-FU çözeltisinin pH 5.5 asetat tamponunda anne sütü kalibrasyonuna ait voltamogramlar [(1) destek, (2) $2 \times 10^{-5} \text{M}$, (3) $4 \times 10^{-5} \text{M}$, (4) $6 \times 10^{-5} \text{M}$, (5) $1 \times 10^{-4} \text{M}$]



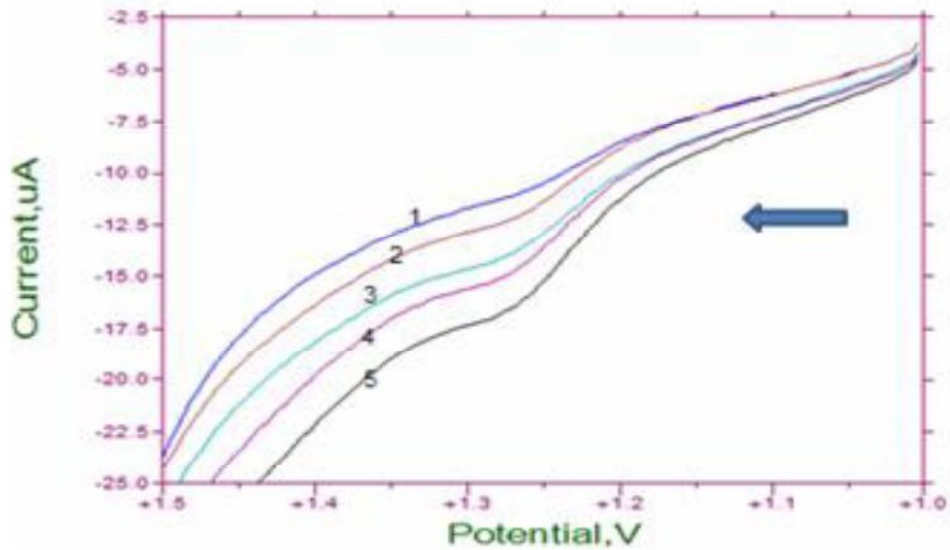
Şekil 4.51. DPV'nin 5-FU çözeltisinin pH 5.5 asetat tamponunda serum kalibrasyonuna ait voltamogramlar [(1) 2×10^{-5} M, (2) 4×10^{-5} M, (3) 6×10^{-5} M, (4) 1×10^{-4} M, (5) 2×10^{-4} M]



Şekil 4.52. KDV'nin 5-FU çözeltisinin pH 5.5 asetat tamponunda serum kalibrasyonuna ait voltamogramlar [(1) 2×10^{-5} M, (2) 4×10^{-5} M, (3) 6×10^{-5} M, (4) 1×10^{-4} M]



Şekil 4.53. DPV'nin 5-FU çözeltisinin pH 5.5 asetat tamponunda idrar kalibrasyonuna ait voltamogramlar [(1) 2×10^{-5} M, (2) 4×10^{-5} M, (3) 6×10^{-5} M, (4) 8×10^{-5} M, (5) 1×10^{-4} M]



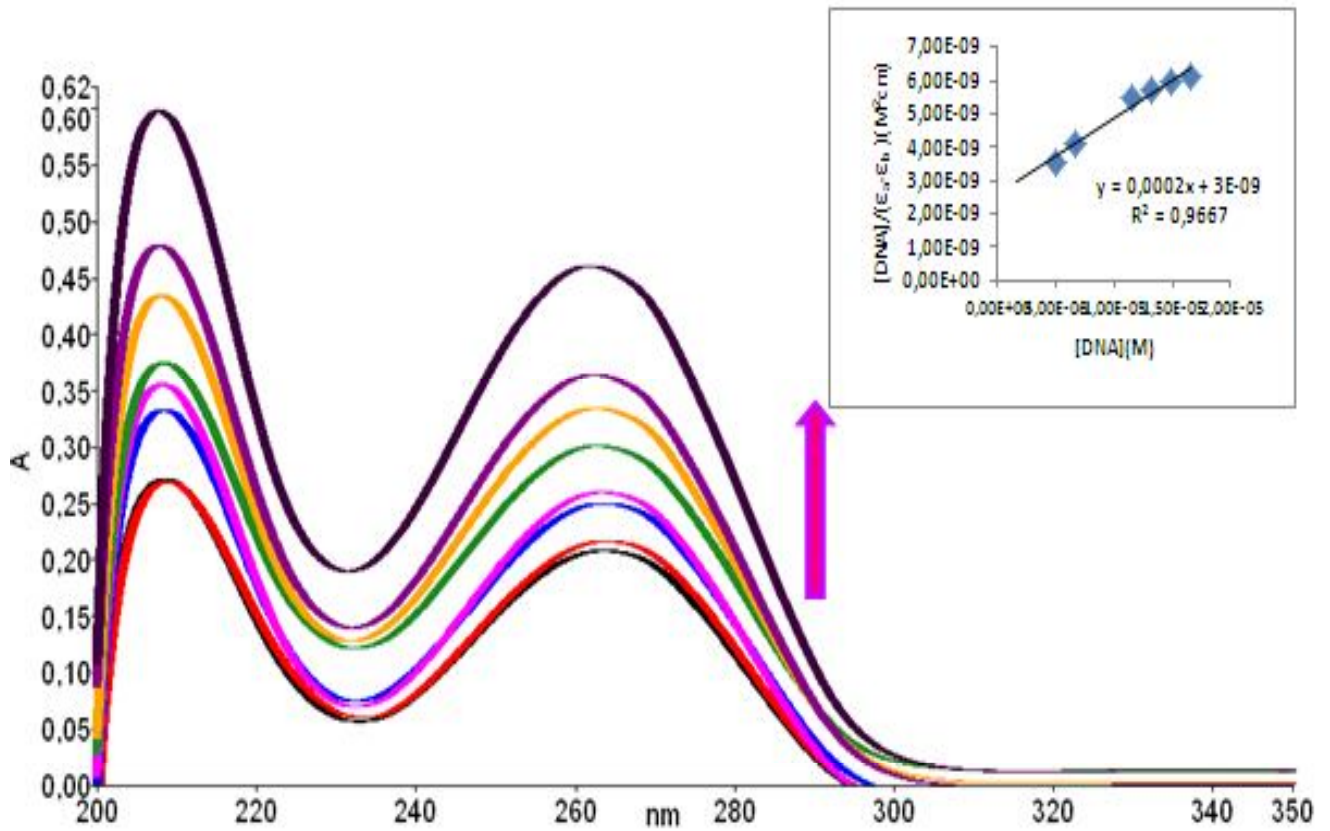
Şekil 4.54. KDV'nin 5-FU çözeltisinin pH 5.5 asetat tamponunda idrar kalibrasyonuna ait voltamogramlar [(1) 2×10^{-5} M, (2) 4×10^{-5} M, (3) 6×10^{-5} M, (4) 1×10^{-4} M]

Tablo 4.6. 5-FU' nun DPV ve KDV teknikleri ile elde edilen kalibrasyon eğrisine ait regresyon analizi sonuçları ve gerekli validasyon parametreleri

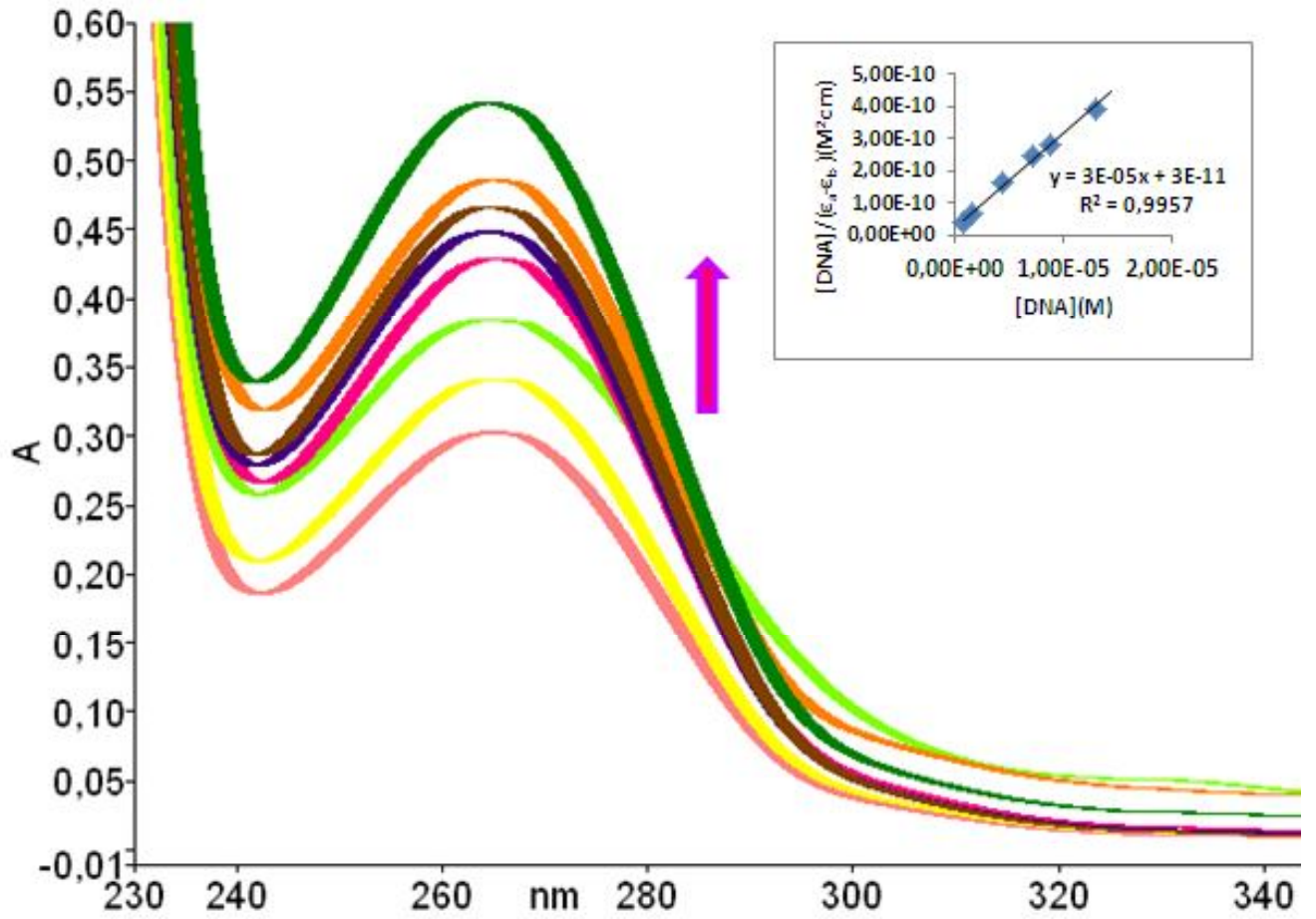
	DPV				KDV			
	Standart çözelti	Serum	İdrar	Anne sütü	Standart çözelti	Serum	İdrar	Anne sütü
Ölçüm yapılan potansiyel (V)	1.232	1.232	1.240	1.236	1.220	1.224	1.232	1.232
Doğrusallık aralığı (M)	2×10^{-5} - 4×10^{-4}	2×10^{-5} - 2×10^{-4}	2×10^{-5} - 1×10^{-4}	2×10^{-5} - 1×10^{-4}	2×10^{-5} - 4×10^{-4}	2×10^{-5} - 2×10^{-4}	2×10^{-5} - 1×10^{-4}	2×10^{-5} - 1×10^{-4}
Eğim ($\mu A.M^{-1}$)	3.28×10^4	1.09×10^4	0.83×10^4	1.06×10^4	3.50×10^4	1.54×10^4	1.44×10^4	1.24×10^4
Kesişim (μA)	0.31	0.26	0.03	0.19	0.40	0.30	0.14	-0.03
Korelasyon katsayısı	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99
Yakalama sınırı (M)*	1.37×10^{-6}	7.97×10^{-7}	1.50×10^{-6}	1.67×10^{-6}	5.28×10^{-6}	7.78×10^{-7}	1.34×10^{-6}	1.51×10^{-6}
Tayin alt sınırı (M)*	4.57×10^{-6}	2.65×10^{-6}	5.01×10^{-6}	5.57×10^{-6}	1.76×10^{-5}	2.59×10^{-6}	4.46×10^{-6}	5.04×10^{-6}
Akımın gün içi tekrarlanabilirliği (%BSS)**	0.49	0.27	0.66	0.16	0.13	0.10	0.66	0.49
Potansiyelin günler arası tekrarlanabilirliği (%BSS)**	0.18	0.37	0.27	0.18	0.18	0.36	0.27	0.18
Akımın günler arası tekrarlanabilirliği (%BSS)***	0.91	0.30	0.81	0.71	0.81	0.20	0.60	0.45
Potansiyelin günler arası tekrarlanabilirliği (%BSS)***	0.18	0.32	0.26	0.16	0.18	0.15	0.17	0.18

(*) Yakalama ve tayin alt sınırı hesabı için gerekli standart sapma sonuçları belirli bir konsantrasyonun 3 değerinden elde edilmiştir. (**) Ortalama değerler farklı çözeltilerin aynı günde ölçümlerinden elde edilen ortalama değerleri (***) Farklı günlerde (1 haftalık süre içerisinde) hazırlanan çözeltilerin ölçümlerinden elde edilen ortalama değerleri

4.6. 5-FU'ya Ait DNA-İlaç, DNA-Kompleks Çalışmalar



Şekil 4.55. 2×10^{-5} M 5-FU çözeltisinin tris-HCl (pH 7) tampon çözelti ortamında artan fish sperm DNA konsantrasyonlarındaki UV spektrumu.



Şekil 4.56. 1×10^{-5} M $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})]$ kompleksinin tris-HCl (pH 7) tampon çözelti ortamında artan fish sperm DNA konsantrasyonlarındaki UV spektrumu.

Tablo. 4.7 . 5- FU ve $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})]$ kompleksinin K_b sabitleri

Bileşik	$K_b \text{ M}^{-1}$
5-Fu	6.6×10^4
$[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$	1.0×10^4

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez kapsamında gerçekleştirilen çalışmalarda antikanser ilaç etken maddesi olan 5-FU kullanılmıştır. Bu tez kapsamında 5 farklı konu çalışılmıştır.

1- Antineoplastik ilaç etken maddesi olan 5-FU, Cu(II) iyonu ile etkileştirilerek yeni metal bazlı bir ilaç sentezlenmiştir. Metal bazlı bu ilacın yapısını aydınlatmak için analitik (erime noktası, elemental analizi, itk) ve enstrümental tekniklerden (UV, IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ ve MS) yararlanılmıştır.

2- 5-FU'nun spektrofotometrik yöntemle biyolojik sıvılardan miktar tayini için validasyon parametreleri belirlenmiştir.

3- 5-FU'nun camı karbon elektrot kullanılarak elektrokimyasal davranışı ve yükseltgenme özellikleri dönüşümlü (CV), diferansiyel puls (DP), kare dalga (KD) voltametrisi teknikleri ile incelenmiş ve bu çalışmalar sonucunda geliştirilen voltametrik yöntemlerin 5-FU'nun ticari preparatlardan, insan serumundan, anne sütünden ve üründen miktar tayini yapılabileceği kanıtlanmıştır.

4- 5-FU'nun ve yeni sentezlenen metal bazlı ilacın DNA'yla etkileşimi incelenmiş ve bağlanma sabitleri hesaplanmıştır.

5- Sentezlenen yeni metal bazlı ilacın C6 ve Hela hücre hatlarından belirgin bir aktivite gösterdiği kanıtlanmıştır.

Sentezlenen yeni metal bazlı ilacın FT-IR spektrumları alınmış ve elde edilen spektral değerleri Tablo 4.2'de verilmiştir. Kompleksin infrared spektrumu 3031 cm^{-1} bandla $\nu(\text{-OH})$ grubuna, 1660 cm^{-1} bandla $\nu(\text{-C=O})$ grubuna ait titreşimlerdir. Metal iyonların koordine olan donör karakterdeki grupların titreşiminde, önemli oranlarda kaymalar gözlenmektedir. Dalga sayılarında gözlenen bu önemli kaymalar donör karakterdeki oksijen ve azot atomlarının metal iyonlarına koordine olduğunu göstermektedir. Karakteristik bantlarda gözlenen kaymalar $\nu(\text{M-N})$ titreşimi 603 cm^{-1} bandla, $\nu(\text{M-O})$ titreşimi ise 437 cm^{-1} bandla gözlenmiştir. Yeni metal bazlı ilaca ait spektrumlar bulgular kısmında Şekil 4.3'de yer verilmiştir.

Metal bazlı ilacın termal davranışları, DTA-TG tekniği ile incelenmiş ve metal bazlı ilaca ait olan spektrumlar Şekil 4.7 'de verilmiştir. Metal bazlı ilacın yaklaşık olarak $150\text{-}200^\circ\text{C}$ 'de ilk kütle kaybına uğramışlardır. TG diyagramındaki kütle kayıpları da bunu doğrulamaktadır. Bu kütle kaybı koordinasyon küresinin dışındaki su molekülüne aittir. Sıcaklık $300\text{-}350^\circ\text{C}$ 'ye ulaştığında kompleksin tamamen bozulmaya başladığı anlaşılmaktadır. 900°C 'nin üstünde ise ilaç yaklaşık olarak %90 kütle kaybına uğrayarak son ürün olan metal oksite dönüşmüştür. İlk kütle kaybı koordinasyon küresinin dışındaki su

moleküllerinin kaybından dolayı oluşmaktadır. Sıcaklık daha da arttıkça koordinasyon küresinin içindeki metale direk olarak bağlı olan Cl^- iyonlarının artık kompleksten koptuğu ve buna bağlı olarak kütle kayıplarının olduğu eğrilerden anlaşılmaktadır. Sıcaklık $900^\circ C$ 'nin üzerine çıktığında ise nihai ürün olan metal-oksitler oluşmaktadır.

5-FU'nun ve $[Cu(5-Fu)_2Cl_2].H_2O$ kompleksinin fotolüminesans özellikleri farklı konsantrasyonlarda incelenmiştir. Elde edilen sonuçlarda 5-FU'nun exacition değerleri 277-278 nm aralığında gözlenmiştir. Ölçülen emisyon spektrumu değerleri ise 338-342 nm aralığında elde edilmiştir. 5-FU'nun DMSO çözücü ortamında 1×10^{-3} - 1×10^{-7} M deşiminde fotolüminesans özellikleri incelenmiş, emisyon ve excitation spektrumları verilmiştir. 5-FU'nun ve kompleksin farklı konsantrasyon ve farklı çözücü ortamlarındaki emisyon ve excitation değerleri gözlemlenmiştir.

Kompleksin elektrokimyasal davranışları DV tekniği ile asetonitril:su (1:1,v/v) ortamında incelenmiştir. Bu incelemelerde hem yükseltgenme hem de indirgenme yönünde çalışılmıştır. Tüm elektrokimyasal çalışmalarda camısı karbon elektrot kullanılarak fosfat tamponunda (pH=2-12) ölçümler alınmıştır. pH'ın metal bazlı ilaca etkisi incelenerek, I_p 'e karşı pH grafiği çizildiği zaman maksimum akım pikinin asidik bölgede olduğu görülmektedir

DV tekniği ile metal bazlı ilacın en yüksek pik akım pikinin elde edildiği destek elektrolitinde 5-1000 mv/s aralığında yapılan hız taraması sonucunda, $\log I_p$ ve $\log v$ arasında doğrusal bir ilişki saptanmıştır. Metal bazlı ilaca ait $\log I_p$ - $\log v$ arasında doğrusal ilişkiler aşağıdaki gibi olup, regrasyon katsayıları hemen hemen 1'e yakındır.

$$\log I_p (\mu A) = 0.46 \log v (mVs^{-1}) + 0.6061 \quad 5-Fu \quad r=0.99$$

$$\log I_p (\mu A) = 0.24 \log v (mVs^{-1}) + 1.1291 \quad [Cu(5-Fu)_2Cl_2].H_2O \quad r=0.97$$

Potansiyel tarama hızının logaritması ile akım pikinin logaritması arasındaki doğru denkleminin eğim değerlerinin 0.24-0.50 arasında olması ve bu değerlerin teorik değer olan 0.5'e yakın olması elektrolit ortamındaki komplekslerin elektrot yüzeyine difüzyonla taşındığını kanıtlamaktadır.

5-FU'nun spektrofotometrik olarak ticari prepatlarından ve biyolojik sıvılardan miktar tayinine ışık tutması amacıyla spektrofotometrik çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla yapılan analitik çalışmaların kantitatif değerlendirilmesi, analitik kimyada yaygın olarak kullanılmaktadır. Elde edilen spektroskopik verilerden başarı ile validasyon parametreleri belirlenmiş fakat ticari prepatlarda uygulanmıştır. Bu doğrudan yola çıkılarak biyolojik sıvılarda miktar tayin çalışmaları yapılmıştır.

5-FU'nun redoks reaksiyonlarında kullanılan elektronlarının elektrokimyasal mekanizması incelenmiştir. Tüm elektrokimyasal çalışmalarda reaksiyon için camısı karbon

elektrot kullanılmıştır. İlacın elektrokimyasal davranışları DV tekniğiyle incelenmiştir. Bu incelemelerde hem yükseltgenme hem indirgenme yönünde çalışılmıştır. Fosfat, BR, Asetat tamponlarında ölçümler alınmıştır.

5-FU için DV, DP ve KD teknikleri ile 0.1 M H₂SO₄, pH 2.00-12.00 Britton-Robinson, pH 2.00-12.00 fosfat ve pH 3.70-5.70 asetat tampon çözeltileri ile çalışmalar yapılmıştır. DP ve KD eğrilerinin akım piki-pH eğrileri incelendiği zaman, DP ve KD tekniği için en yüksek akım değeri pH 5.5 asetat tamponu destek elektroliti ile ulaşıldığı görülmektedir.

Olayın özelliğini anlayabilmek için seçilmiş olan ortamda yapılan hız taraması deneylerini değerlendirmek için I_p - ν , I_p - ν ve $\log I_p$ - $\log \nu$ ilişkileri incelenmiştir. DV tekniği ile, 5-FU'nun pH 5.5 asetat tamponu destek elektrolitinde; 5-1000 mVs⁻¹ hız tarama aralığında incelemeler yapılmıştır.

Hız taramasına ait sonuçlara göre 5-FU'nun elektrot yüzeyine difüzyon kontrollü olarak taşındığı bulunmuştur. pH 5.5 asetat tamponunda 5x10⁻⁴ M derişimde, 5-1000 mVs⁻¹ aralığında yapılan hız taraması sonucunda; pik akımının ve ν arasında doğrusal bir ilişki saptanmıştır.

$$I_p(\mu A)=1.42\nu-0.39 (r:0.99)$$

Elde edilen doğru denklemi;

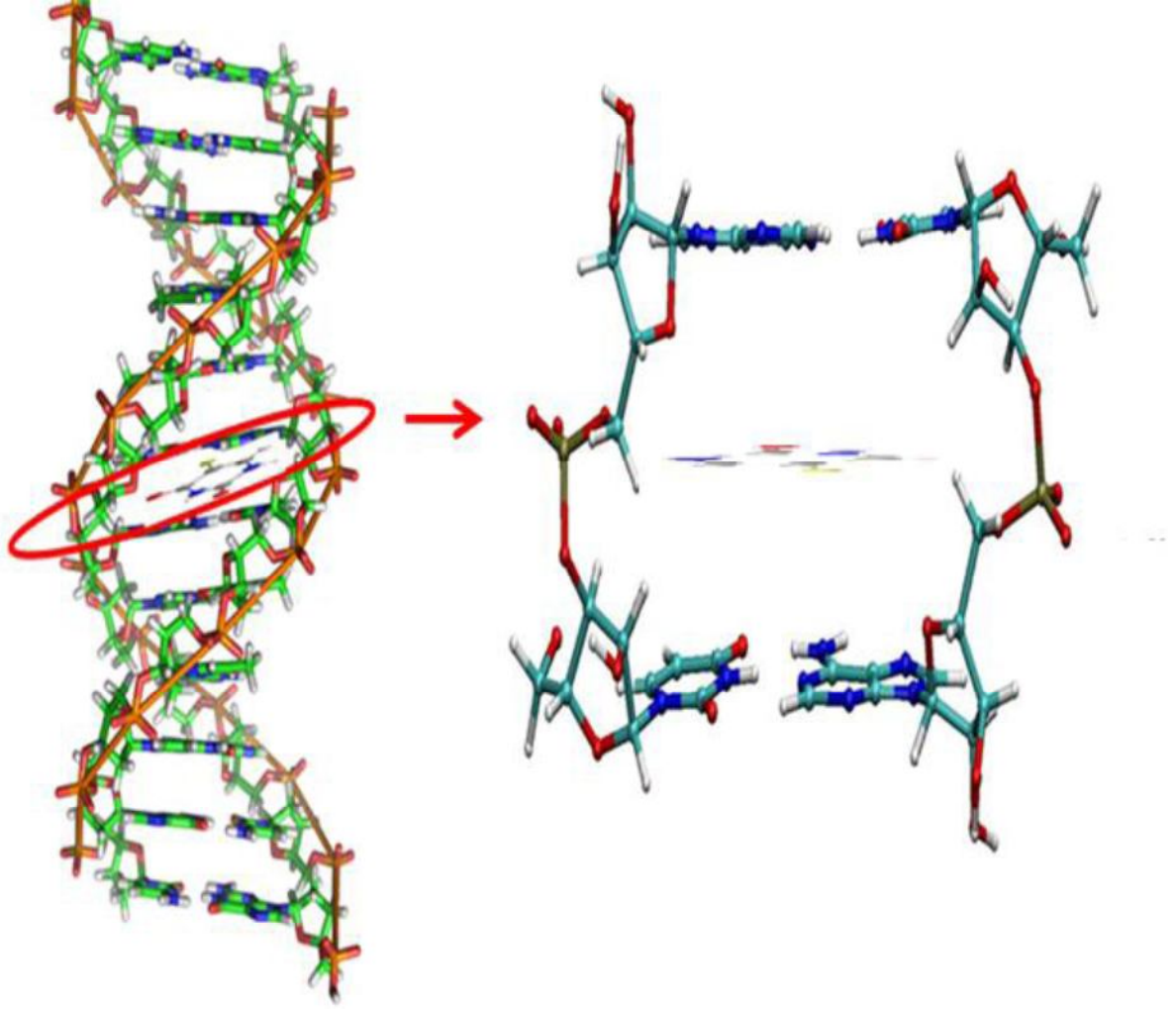
$$\log I_p(\mu A)=0.58\log \nu (mVs^{-1})+0.04 (r:0.99)$$

Elektrokimyasal çalışmalardan elde edilen sonuçlar, 5-FU'nun voltametrik olarak miktar tayinini uygun olduğunu göstermektedir. Ancak tez kapsamında miktar tayini yapılamamıştır.

Absorbsiyon spektroskopisi, herhangi bir maddenin DNA'ya etkisini araştırmak için en çok kullanılan tekniklerden birisidir. Maddenin DNA ile hangi bağlanma türü ile bağlandığını aydınlatmak için, kromofor grupların dalga boyu ve absorpsiyonu etkilemesi sonucu ortaya çıkan kaymalardan yola çıkılmaktadır. Buna göre maddenin DNA ile etkileşimi, elektrostatik veya kısmi interkalasyon biçiminde ise, hiperkromik etki gözlenir. Bu etkileşim sonucunda ilaçlarda bulunan kromofor gruplar dalga boyunda kaymalara neden olmaktadır. Bu kaymalar, ilaçların FSdsDNA'ya bağlanma türlerini (interkalasyon, elektrostatik ve minör oluk) açıklamak için yardımcı olmaktadır. Ayrıca maksimum absorpsiyonların kırmızıya kayması, elektron çifti bulunduran en yüksek molekül orbitali (HOMO) ve boş en düşük molekül orbitali (LUMO) enerji seviyeleri arasındaki farkın azaldığını ve metal bazlı ilacın DNA ile etkileştiğini gösterir.

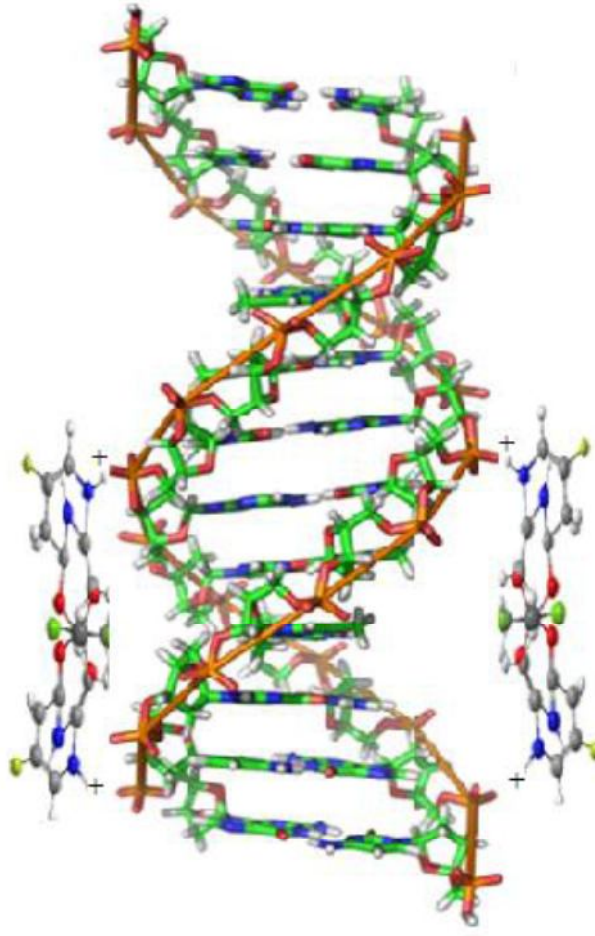
5-FU'nun UV-Vis çalışmaları ile elde edilen spektrumunda 265 nm' de tek absorpsiyon piki gözlenmiştir. Ortama artan miktarda FSdsDNA ilave edildiğinde, maksimum absorpsiyon

şiddetleri artmış (0,18’den 0,48 A değerine) (hiperkromik etki), bandın maksimum dalga boyu şiddeti 261 nm olarak ölçülmüş olup 4 nm’lik maviye kayma (265 nm’den 261 nm’ye doğru) (hipsokromik etki) şeklinde gözlenmiştir. Sonuç olarak artan absorbans (hiperkromik etki) ve maviye kayma (hipsokromik etki) 5-FU’nun FSdsDNA’ya kısmi interkalasyon yoluyla bağlandığını göstermektedir. Şekil 5.1’de 5-FU’nun FSdsDNA’ya kısmi interkalasyon bağlanma türü ile bağlanması görülmektedir.



Şekil 5.1. 5-FU’nun FSdsDNA’ya kısmi interkalasyon bağlanma türü ile bağlanması

[Cu(5-Fu)₂Cl₂].H₂O kompleksinin UV-Vis çalışmaları ile elde edilen spektrumunda 264 nm’ de tek absorpsiyon piki gözlenmiştir. Ortama artan miktarda FSdsDNA ilave edildiğinde, maksimum absorbans şiddeti artmış (hiperkromik etki) (0.16’dan 0.54 A değerine), bandın maksimum dalga boyu 264 nm olarak sabit kalmıştır. Böylelikle oluşan hiperkromik etki [Cu(5-Fu)₂Cl₂].H₂O kompleksinin FSdsDNA’ya elektrostatik olarak bağlandığını göstermiştir. Şekil 5.2’de [Cu(5-Fu)₂Cl₂].H₂O kompleksinin FSdsDNA’ya elektrostatik bağlanma türü ile bağlanması görülmektedir.



Şekil 5.2. $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$ kompleksinin FSdsDNA'ya elektrostatik bağlanma türü ile bağlanması

Bu verilerden hareketle, 5-FU ve Cu(II) kompleksinin fish sperm DNA'ya bağlanma sabitleri (K_b , binding constant),

$$[\text{DNA}] / (\epsilon_a - \epsilon_f) = [\text{DNA}] / (\epsilon_b - \epsilon_f) + 1 / K_b(\epsilon_a - \epsilon_f)$$

formülü kullanılarak hesaplanmıştır. Formülde kullanılan terimlerin izahı aşağıda verildiği gibidir.

$[\text{DNA}]$: fish sperm DNA konsantrasyonu

$$\epsilon_a = A_{\text{gözlenen}} / [\text{Kompleks}]$$

ϵ_a = Fish sperm DNA ile etkileşmemiş kompleksin molar absorptivite katsayısı

ϵ_b = Fish sperm DNA ile etkileşmiş kompleksin molar absorptivite katsayısı

Tez kapsamında çalışılan 5-FU'nun ait bağlanma sabiti 6.6×10^4 ; $[\text{Cu}(5\text{-Fu})_2\text{Cl}_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$ kompleksine ait bağlanma sabiti 1.0×10^4 olarak bulunmuştur. Şu anda tüm DNA araştırmalarında kıyas maddesi olarak kullanılan etidyum bromürün bağlanma sabiti 6.58×10^4

olarak değerlendirildiğinde, gelecekte DNA'ya hedefli ilaç ve ilaç metal kompleksi olarak sentezlenen maddelerin kullanılabilirliğinin araştırılmasına yönelik yeni birer bağlanma sabitleri literatürlere kazandırılmıştır.

Yapılan çalışmanın, ilacın FSdsDNA'ya bağlanma mekanizmaları belirlenerek, yeni dizayn edilecek ilaç için en az yan etkili ilacın sentezlenmesine ışık tutacağı düşünülmüştür. Bunun yanında yan etkiler azaltılırken, ilacın etki spektrumu genişletilebilecektir. Böylece az miktarda ilaç ile daha fazla antikanser etkisi elde edilebilecektir.

Yapılan analizler ile yapısı aydınlatılan kompleksin herhangi bir hücre morfolojisine sebebiyet verip vermediğini anlamak amacıyla *in-vitro* ortamda antikanser aktiviteleri incelenmiştir. *In vitro* olarak yapılan çalışmada antikanser aktivitelerini belirlemek için (Sıçan beyin tümörü (C6), insan rahim kanseri (HeLa) kullanılmıştır. Bu hücre hatlarının proliferasyonunu durdurduğu, dolayısıyla da oldukça önemli antikanser aktiviteye sergiledikleri görülmüştür. Bulunan sonucun karboplatin ve oksaliptatinle karşılaştırılması ile sentezlenen metal bazlı ilaçların kanser tedavisinde kemoterapik ajan olarak kullanılabilmesi ihtimali doğmuştur.

KAYNAKLAR

- [1] Türker, F.A., Kayaalp, S.O., “Kanser kemoterapisinin esasları ve antineoplastik ilaçlar”, Kayaalp, S.O. (Eds), Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji Ankara, Feryal Matbaacılık, 380-415 , (2002).
- [2] Gate, L., Tew, K.D.: glutathione S-transferases as emerging targets, *Expert Opin. Ther Targets*, 5(4), 477-489 (2001)
- [3] Tutkun A, İnanlı S, Caymaz O, Ayanoğlu E, Duman D. Cardiotokxicity of 5-flourouracil. *Auris Nasus Larynx* (2001); 28:193-96.
- [4] Mycek M.J, Harvey R.A, Champe P.C. (Çev. Oktay Ş.) *Farmakoloji*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, (1998): 373-401.
- [5] Salmon S.E, Sartorelli A.C. (Çev. Küçükhüseyin C) *Kanser kemoterapisi*. Katzung B.G. (Çev. Özüner Z.) *Temel ve klinik farmakoloji*. İstanbul: Barış Kitabevi, (1995): 1098-1144.
- [6] Correale P, Cerretani D, Marsili S, Pozzessere D, Petrioli R, Messinese S, Sabatino M, Roviello F, Pinto E, Francini G, Giorgi G. gemcitabine increases systemic 5-flourouracil exposure in advanced cancer patients. *European Journal of Cancer* (2003); 39: 1547-1551.
- [7] Xian C.J, Howard G.S, Cool J.C, Foster B.K. Effects of acute 5- flourouracil chemotherapy and insulin-like growth factor-1 pretreatment on growth plate cartilage end metaphyseal bone in rats. *Bone* (2004); 35:739- 749.
- [8] Toyoda K, Shibutani M, Sato H, Uneyama C, Takahashi M, Hayashi Y, Hirose M. Lack of Carcinogenicity and increased survival in F344 rats treated with 5-flourouracil for two years. *Food and chemical toxicology* (2000); 38:187-193.
- [9] Kuilenburg Andre B.P. Dihydropyrimidine dehydrogenase and the efficacy and toxicity of 5- flourouracil. *European Journal of cancer* (2004); 40: 939-950.

- [10] Chabner B.A, Ryan D.P, Paz-Ares L, Garcia-Carbanera R, Calabresi P. Chemotherapy of neoplastic diseases. In: Hardman J.G, Limbird L.E, Gilman A.G. Goodman&Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. New York: McGraw-Hill,(2001):1989-1459.
- [11] Ferguson M.J, Ahmed F.Y, Cassidy J. the role of pro-drug therapy in the treatment of cancer. Drug resistance updates (2001); 4:225- 232.
- [12] Kayaalp O.S. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. Ankara,Hacettepe-Taş Kitapçılık (2000); 372-400.
- [13] Yıldız, A., Genç, Ö., enstrümental Analiz, Hacettepe Yayınları A-64, sayfa;289-384 (1993).
- [14] Gündüz, T., Koordinasyon Kimyası, Bilge Yayıncılık, Ankara (1993).
- [15] Topal, D.B., Bazı Antiviral ve Antineoplastik ilaç etken maddelerinin DNA ile Etkileşimi ve Elektrokimyasal Analizleri. Doktora Tezi. Ege Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü. Ankara. 343s (2011).
- [16] Yalçın, G., Bazı Kimyasal Maddelerin DNA ile Etkileşmesinin Biyosensörle ile Algılanması. Yüksek lisans tezi. Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir (2007).
- [17] Skoog, D.a., Holler, F.L., Nieman, T.A., Principles of Intrumental Analysis. (Çeviri Editörleri: Kılıç, E., Köseoğlu, F., Yılmaz, H., Enstrümental Analiz ilkeleri) 1. baskı. Bilim Yayıncılık Ltd.ğti, Ankara (1998).
- [18] Bard, A. J., Faulkner L. R. Electrochemical Methods, Fundamentals and Applications, John Wiley & Sons, Canada (1980).
- [19] Yıldız, A., Genç, Ö., Enstrümental Analiz, Hacettepe Yayınları A-64:289-384 (1997).

- [20] Wang,J., Kawde, A.n., Sahlin, E., Renewable pencil electrodes for highly sensitive stripping potentiometric measurements of DNA and RNA. *Analyst*, 125: 5-7 (2000).
- [21] Bocris, J.o.m., Reddy, A.k.n. Modern Electrochemistry. Vol:2 London : Mc Donald Co Ltd (1970).
- [22] Yıldız, A., Genç, Ö., Enstrümental Analiz. Ankara, Hacettepe Üniversitesi Yayınları 1.Baskı, s: 352 (1993).
- [23] Bond, A.M., Modern Polarographic Methods in Analytical Chemistry, New York Marcel Dekker Inc (1980).
- [24] Tunçel, N., Ayrıl, M.N., Biryol, Ş., in vivo ve in vitro elektrokimyasal oksijen tayini. *Doğa Bilim Dergisi*, 8: 82 – 89 (1984).
- [25] Biryol, Ş., Kabasakaloğlu, M., Şentürk, Z., Investigation of mechanism of the electrochemical oxidation of bamipine hydrochloride by voltammetry. *Analyst*, 114: 181 – 184 (1989).
- [26] Panzer, R.E., Behaviour of carbon electrodes in aqueous and non – aqueous system. *J. Electrochem. Soc.*, 119 – 864 (1972).
- [27] Shearer, C.M., Christenson, K., Mujherji, A., Papariello, C.J., Peak voltammetry at glassy carbon electrode of acetaminophen dosage forms. *J. Pharm. Sci.* 61: 1627 (1972).
- [28] Tjaden, U.R., Lankelma, J., Poppe, H., Muusze, R.G., anodic coulometric detection with a glassy carbon electrode in combination with reversed phase high performance liquid chromatography. *J.Chromatogr.* 125: 275 – 286 (1976).

- [29] Özkan, S.A., Özkan, Y., Şentürk, Z., Electrochemical reduction of metronidazole at activated glassy carbon electrode and its determination in pharmaceutical dosage forms. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 17: 3299 – 3305 (1998).
- [30] Şentürk, Z., Özkan, S.A., Özkan, N., Electroanalytical study of nifedipine using activated glassy carbon electrode. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 16: 801 – 807 (1998).
- [31] Patriarche, G.J., Chateau – Gosselin, M., Vandenbalck, J.L., Polarography and related electroanalytical techniques in pharmacy and pharmacology. *Electroanal. Chem.* 11: 141 – 189 (1979).
- [32] Brezina, M., Zuman, P., Polarography in Medicine. Biochemistry and Pharmacy. New York, Interscience Publishers(1958).
- [33] Greef, R., Peat, R., Peter, L.M., Pletcher, D., Robinson, J., Instrumental Methods in Electrochemistry, London, Ellis Harwood Series in Physical Chemistry (1990).
- [34] Şentürk, Z., Özkan, S.A., Uslu, B., Biryol, I., Anodic voltammetry of fluphenazine at different solid electrodes. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 15: 365 – 370 (1996).
- [35] Özkan, S.A., Şentürk, Z., Biryol, Ş., Voltammetric determination of ornidazole in pharmaceutical dosage forms based on reduction at an activate glassy carbon electrode. *Int.J. Pharm.* 157: 137 – 144 (1997).
- [36] Yılmaz, N.Özkan, S.A., Uslu, B.,Şentürk, Z., Biryol, Ş. “Determination of terbutaline based on oxidation by voltammetry” *J.Pharm.Biomed.Anal.*,17:349-355 (1998).
- [37] Özkan S.A. Uslu B., Electrochemical study of fluvastatin sodium—analytical application to pharmaceutical dosage forms, human serum, and simulated gastric juice.*Anal.Bioanal.Chem.* 372: 582-586 (2002).

- [38] Uslu, B., Özkan, S.A., Şentürk, Z., Electrooxidation of the antiviral drug valacyclovir and its square-wave and differential pulse voltammetric determination in pharmaceuticals and human biological fluids. *Anal. Chim. Acta* , 555: 341-347 (2006).
- [39] Tian, X., LI, F., Zhu, L., Ye, B. study on the electrochemical behavior of anticancer herbal drug rutin and its interaction with DNA. *J. Electroanal. Chem.* 621:1-6 (2008).
- [40] Dogan-Topal, B., Uslu, B., Özkan, S.A., voltammetric studies on the HIV-1 inhibitory drug Efavirenz: the interaction between dsDNA and drug using electrochemical DNA biosensor and adsorptive stripping voltammetric determination on disposable pencil graphite electrode, *Biosensors&Bioelectronics*, 24: 2358-2364 (2009).
- [41] Skoog, D. A., West, D.A., Holler, F.J. Analitik Kimyanın Temelleri Çeviri editörleri; Prof. Dr. Esmâ Kılıç, Prof. Dr. Fitnat Köseoğlu, Bilim Yayıncılık, 7. Baskı, 303-495 (1996).
- [42] Yıldız, A., Genç, Ö., Enstrümental Analiz. Ankara, Hacettepe Üniversitesi Yayınları 1.Baskı, s: 352 (1993).
- [43] Evans, A., potentiometry and ISE , ACOL, London, s.106-198 (1991).
- [44] Pietrzyk, D.J.; Frank, C.W. *Analytical Chemistry*, 2.Baskı, *Academic press*: s.226-239 (1979).
- [45] Tomschik, M., Jelen, F., Havran, L., Trnkova, L., Nielsen, P.E., Palecek, E. Reduction and oxidation of peptide nucleic acid and DNA at mercury and carbon electrodes, *J. Electroanal. Chem.*, 476: 71-80 (1999).
- [46] Adams, R.N., Mc Clure, J.H., Morris, J.B. chrono – potentiometric studies at solid electrodes. *Anal. Chem.*, 30: 471 (1958).
- [47] Solak, A.O., Temizer, A., Altınöz, S and Özer, D., determination of ranitidine with adsorptive stripping voltammetry., *J.Fırat Uni.*, 3: 23-29 (1988).

- [48] Kır, S., Onar, A. N. and Temizer, A., adsorptive stripping voltametric determination of midazolam as a method for quality control. *Anal. Chim. Acta* , 229: 145-147 (1990).
- [49] Altınöz , S., Temizer, A., differential puls adsorptive stripping voltammetric determination of ceftriaxone at a static mercury drop electrode. *J. Pharm. Sci.*, 79: 351- 355 (1990a).
- [50] Altınöz , S., Temizer, A., and Beksac, S., Determination of ceftriaxone in biological material by differential pulse adsorptive stripping voltammetry. *Analyst*, 115: 873-74 (1990b).
- [51] Altınöz , S., Özer, D., Temizer, A., and Bayraktar, Y., Determination of ranitidine in a biological material by using differential pulse adsorptive stripping voltammetry. *Anal Lett.*, 25: 111-118 (1992).
- [52] Christian, G.D., A. stripping pulsed voltammetry. *J. Electroanal. Chem.*,23: 1-7 (1969).
- [53] Matson W.R., Roe, D.K. and Carrit, D.E. solvent extraction and spechtrometric determination” *Anal. Chem.*, 37: 1595-1603 (1965).
- [54] Wang, J., Hutchins, L.D., Activation of glassy carbon electrodes by alternating current electrochemical treatment. *Anal. Chim. Acta.*, 167: 325–334 (1985a).
- [55] Fagan, D.T., Hu, I.F., Kuwana, T., vacuum heat treatment for activation of glassy carbon electrode. *Anal. Chem.* 57:2759-2763 (1985).
- [56] Özkan, S.A., Biryol, Ş., Şentürk, Z., An activation method for glassy carbon electrode. *Tr. J.Chem.* 18: 34-38 (1994).
- [57] Kadayıfçılar, K.P. Çeşitli Bulaşıcı ve Kalıtsal Hastalıklara Neden Olan Gen Dizilerini İçeren PCR Ürünü Örnekler Kullanarak Elektrokimyasal DNA

Biyosensörleriyle Bu Hastalıkların Saptanması. Yüksek lisans tezi. Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir (2003).

- [58] Lane, R.F., Hubbard, A.T., differential double pulse voltammetry at chemically modified platinum electrodes for in vivo determination catecholamines. *Anal. Chem.* 48: 1287 – 1293 (1976).
- [59] Erdem A., Ozsoz M., electrochemical DNA biosensors based on DNA drug interactions. *Electroanalysis*. 14: 965-974 (2002).
- [60] Palecek E., Jelen F., electrochemistry of nucleic acids and development of DNA sensors. *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 32: 261-270 (2002).
- [61] La-Scalea MA., Serrano Shp, Ferreira El., Brett A.M.O. voltammetric behavior of benznidazole at a DNA-electrochemical biosensor. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 29:561-568 (2002)
- [62] Kerman K., Meric B., Özkan D., Kara P., Erdem A., Ozsoz M., Electrochemical DNA biosensor for the determination of benzo[a]pyrene-DNA adducts. *Anal. Chim. Acta.* 450: 45-52 (2001).
- [63] Ibrahim MS., Shehatta Is., Al-Nayeli Aa., Voltametric studies of the interaction of lumazine with cyclodextrins and DNA. *J. Pharm. Biomed.*, 28: 271-225 (2002).
- [64] Özkan, S.A., Uslu, B., Aboul-Enein, H.Y. analysis of pharmaceuticals and biological fluids using modern electroanalytical techniques. *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 33:155-181 (2004).
- [65] Rauf, S., Gooding, J.J., Akhtar, K., Ghauri, M.A., Rahman, M., Anwar, M.A., Khalid, A.M. electrochemical approach of anticancer drugs-DNA interaction. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 37: 205-217 (2005).

- [66] Uslu, B., Özkan SA. electroanalytical application of carbon based electrodes to the Pharmaceuticals. *Anal.Lett.* 40: 817 – 853 (2007a).
- [67] Panzer, R.E., Behaviour of carbon electrodes in aqueous and non – aqueous system. *J. Electrochem. Soc.*, 119 – 864 (1972).
- [68] Van Der Linden, W.e., Dieker, J.W., glassy carbon as electrode material in electroanalytical chemistry. *Anal. Chim. Acta.*, 199: 1–24 (1986).
- [69] Rusling, J.F., Variations in electron-transfer rate at polished glassy carbon electrodes exposed to air. *Anal. Chem.*, 56:575-578 (1984).
- [70] Thornton, D.c., Corby, K.t., Spendel, V.a., Jordan, J., Robbat, A., Rutstorm, D.J., EROS, M., RITZLER, G.,. Pretreatment and validation procedure for glassy carbon voltammetric indicator electrodes. *Anal. Chem.*, 57:150-155 (1985).
- [71] Hu, I.F., Karweik, D.H., Kuwata, T., Activation and deactivation of glassy carbon electrodes. *J. Electroanal. Chem.*, 188: 59-72 (1985).
- [72] Taylor, R.J., Humpffay, A.A. electrochemical studies on glassy carbon electrodes. *Electroanal. Chem. and Interfacial Electrochem.*, 42:347- 354 (1973).
- [73] Evans, J.F., Kuwana, T., radiofrequency oxygen plasma treatment of pyrolytic graphite electro surface. *Anal. Chem.* 49: 1632 – 1635 (1977).
- [74] Stutts, K.J., Kovach, P.M., K.g, W.g., Whitman, R.M. Enhanced electrochemical reversibility at heat treated glassy carbon electrodes. *Anal. Chem.* 55: 1632 – 1634 (1983).
- [75] Wightman R.m., Deakin, M.r., Kovach, P.m., Kuhr, W.g., Stutts, K.J., Methods to improve electrochemical reversibility at carbon electrodes, *J. Electrochem. Soc.*, 131: 1578 – 1583 (1984).

- [76] Hershenhart, E., Mc Creey, R.L., Knight, R.D., in situ cleaning and activation of solid electrode surface by pulsed laser light. *Anal. Chem.* 56: 2256 – 2257 (1984).
- [77] Cox, J.A., Gadd, S.e., Das, B.K., Modification of glassy carbon with a stable film containing iridium oxide and palladium. *J. Electroanal. Chem.* 256:199-205 (1988).
- [78] Shearer, C.m., Christenson, K., Mujherji, A., Papariello, C.J., Peak voltammetry at glassy carbon electrode of acetaminophen dosage forms. *J. Pharm. Sci.* 61: 1627 (1972).
- [79] Özkan, S.A., Erk, N., Uslu, B., Yılmaz, N., Biryol, i., Study on electrooxidation of cefadroxil monohydrate and its determination by differential pulse voltammetry. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 17: 3299 – 3305 (2000).
- [80] Pravda, M., Application of electrochemical sensors and detection system in biomedical analysis. Thesis presented to fulfil the requirements for the degree of doctor in Pharmaceutical Sciences. Vrije Universiteit, Brussel (1998).
- [81] Lucarelli, F., Palchetti, I., Marazza, G., Mascini, M. Electrochemical DNA biosensor as a screening tool for the detection of toxicants in water and wastewater samples, *Talanta*, 56: 949-957(2002).
- [82] Marazza, G., Chianella, I., Macsini, M. *Anal. Chim. Acta*, 387: 297-307 (1999).
- [83] Hart, J.P., recent developments in the design and application of screen printed electrochemical sensors for biomedical, environmental and industrial analyses. *TrAC*, 16: 89-103 (1997).
- [84] Prudenziati, M., Handbook of Sensors and Actuators 1; Volume-1: Thick film sensors. Elsevier Science B.V., Oxford, UK (1994).

- [85] Meriç, B., Elektrokimyasal Hibridizasyon İndikatörleri Kullanılarak DNA Dizilerinin Saptanması. Yüksek lisans tezi. Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir (2001).
- [86] Bond, A.M., Mahon, P.J., Schiewe, J., Vicente-Beckett, V., An inexpensive and renewable pencil electrode for use in field-based stripping voltammetry. *Anal. Chim. Acta*, 345: 67-74 (1997).
- [87] Wang, J., Kawde, A.N., Pencil-based renewable biosensor for label-free electrochemical detection of DNA hybridization. *Anal. Chim. Acta*, 431:219-224 (2001).
- [88] Erdem, A., Ozkan, A.D., Karadeniz H., Kara, P., Sengonul, A., Sayiner, A.A., Ozsoz, M., Electrochemical genomagnetic assay for the detection of hepatitis B virus DNA in polymerase chain reaction amplicons by using disposable sensor technology. *Electrochem. Commun.* 7: 815-820 (2005b).
- [89] Karadeniz H., Gulmez, B., Sahinci, F., Erdem, A., Kaya, G.I., Unver, N., Kivcak, B., OZSOZ, M., Disposable electrochemical biosensor for the detection of the interaction between DNA and lycorine based on guanine and adenine signals. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 33: 295 (2003).
- [90] Masawat, P., Liawruangrath, S., Vaneesorn, Y., İawruangrath, B., Design and fabrication of a low-cost flow-through cell for the determination of acetaminophen in pharmaceutical formulations by flow injection cyclic voltammetry. *Talanta*. 58: 1221-1234 (2002).
- [91] Gao, W., Song, J., Wu, N. voltammetric behavior and square-wave voltammetric determination of trepibutone at a pencil graphite electrode. *J. Electroanal. Chem.* 576: 1-7(2005).
- [92] Uslu, B., Özkan, S.A. Solid Electrodes in Electroanalytical Chemistry: Present Applications and Prospects for High-throughput Screening of Drug

Compounds, *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening, CC&HTS*, 10: 495-513(2007b).

- [93] Uslu, B., Dogan-Topal, B., Özkan, S.A., Electroanalytical investigation and determination of pefloxacin in pharmaceuticals and serum at boron-doped diamond and glassy carbon electrodes, *Talanta*, 74: 1191-1200(2008).
- [94] Karadeniz H., DNA analizlerine yönelik elektrokimyasal genosensörün tasarımı ve uygulamaları, Yüksek lisans tezi. Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir (2004).
- [95] Lakowicz, J.R., Principles of Fluorescence Spectroscopy, 3rd Edition, Bölüm 21, DNA Technology, Springer Science, New York, s. 705, (2006).
- [96] Goransson, E., Karlsson, I., Oxblad, C., DNA Technology 2005, Chalmers University of Technology, s.4-14(2005).
- [97] Gökoğlu, E., Seferoğlu, Z., Akbay, N. Nükleik asitlerin tayininde kullanılabilecek yeni floresant uçların sentezlenmesi ve etkileşimlerinin spektrofotometrik yöntemle incelenmesi, TÜBİTAK TBAG Proje 107T391, s.1-84 (2009).
- [98] Coulet, P. R. What is a Biosensor?, Chapter 1; Biosensor principles and applications, Editörler; L.J.Blum, P.R. Coulet, Marcel Dekker Inc., New York, 1-6, (1991).
- [99] Pividori, M.I., Merkoçi, A., Alegret, S. Electrochemical genosensor design: immobilisation of oligonucleotides onto transducer surfaces and detection methods, *Biosensors and Bioelectronics*, 15: 291-303, (2000).
- [100] Mikkelsen, S. Sequence-selective DNA Sensors for the diagnosis of inherited diseases (Voltametric), A.B.D Patent no: 5,312,527, (1994).

- [101] Tomschick, M., Jelen, F., Havran, L., Trnkova, L., Nielsen, P.E., Palecek, E.
Reduction and oxidation of peptide nucleic acid and DNA at mercury and carbon electrodes, *J. Electroanal. Chem.*, 476: 71-80, (1999).
- [102] Steinbach, P.B., Hurtubise, R.J. Fluorescence of tetrols, tetrols complexed with DNA and benzo[a]pyrene-DNA adducts in methanol / water solutions, *Appl. Spect.*, 54: 287-293, (2000).
- [103] LI M.X., Zhang L.Z., Yang M., Niu J.Y., Zhou J., Synthesis, crystal structures, *in vitro* biological evaluation of zinc(II) and bismuth(III) complexes of 2-acetylpyrazine N(4)- phenylthiosemicarbazone, *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, baskıda, (2012).
- [104] Badiger D.S., Nidavani R.B., Hunoor R.S., Patil B.R., Vadavi R.S., Chandrashekhara V.M., Muchchandi I.S., Gudasi B.K., Transition Metal Complexes of 1,2-dihydroquinazolinone derivative, an emerging class of analgesic and anti-inflammatory agents, *Applied Organometallic Chemistry*, 25, 876-882, (2011).
- [105] Patel n.m., dosi p.a., bhatt s.b., ‘Antibacterial, DNA interaction and superoxide dismutase activity of drug based copper(II) coordination compounds’, *Polyhedron*, vol.29, 17., 3238-3245 (2010).
- [106] Golcu, A. Dolaz M.M., Demirelli, H., Digrak, M. Serin, S., .spectroscopic and analytic properties of new copper (II) complex of antiviral drug valacyclovir. *Transition Metal Chemistry*, 31:658 (2006).
- [107] Demirezen N., Tarinc D., Polat D., Cesme M., Golcu A., Tumer M. Synthesis of trimethoprim metal complexes: Spectral, electrochemical, thermal, DNA-binding and surface morphology studies., *Spectrochimica Acta Part A- Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, (2012). 94, 243-255
- [108] Etcheverry Susana B.; Ferrer Evelina G.; Naso Luciana; et al. *bioorganic & medicinal chemistry* Volume: 15 Issue: 19 Pages: 6418-6424 (2007).

- [109] Ajibade p.a., kolawole g.a., 'Cobalt(III) Complexes of Some Antimalarial Drugs: Synthesis, Characterization, and in vitro Antiprotozoal Studies'. Synthesis and Reactivity in Inorganic Metal–Organik and Nano-Metal chemistry, Volume 40 Issue: 4 Pages: 273-278 (2010).
- [110] Xiaoyong Wang , Jun Lin , Xianming Zhang , Qin Liu , Qiang Xu , Ren-XiangTan , Zijian Guo Journal of Inorganic Biochemistry 94 (2003) 186–192
- [111] Sadhna Tyagi,Sukh Mahendra Singh,Sujan Gencaslan, W.S. Sheldrick and Udai P. Singh Metal Based Drug Vol. 8, No. 6, (2002).
- [112] Abd El-Wahed, M.G., Refat M.S., El-Meghorbel S.M., Metal Complexes of Antiuraethic Drug: Synthesis, Spectroscopic Characterization and Thermal Study on Allopurinol Complexes, Jornal of Moluculer Structure, 888; 416 (2008).
- [113] Etcheverry S.B., di Virgillo A.L., Nascimento O.R., Williams P.A.M., Dinuclear copper(II) complexes with valsartan. Synthesis, Characterization, and Cytotoxicity, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 107, 25-33, (2012).
- [114] Basavaiah, K; Prameela, H.C., Simple spectrophotometric determination of acyclovir in bulk drug and formulations. *Il Farmaco*, 57:443-449 (2002).
- [115] Basavaiah, K., Prameela, H.C., Quantitative methods for the assay of acyclovir in non-aqueous medium. *Indian J Chem. Technol.*, 11:759-763 (2004)
- [116] Mustafa, A., Abdel-Fattah, S.A., Toubar, S.S., Sultan, M.A., Spectrophotometric determination of acyclovir and amantadine hydrochloride through metals complexation. *Zhurnal Analiticheskoy Khimii*, 59:40-46 (2004).

- [117] Tarinc, D, Golcu A ,simple Spectrophotometric Procedure for Determination of Valaciclovir in Dosage Forms and Biological Fluids , *Department of Chemistry* (2011)
- [118] Sagar, G.V., Sastry, B.S., Acidic dyes as ion-pairing reagents for the determination of ambroxol in pharmaceutical formulations. *Inter. J. Chem. Sci.*, 1: 49-52 (2003).
- [119] Raza, A; Ansari, Tm; Niazi, Sb; A novel spectrophotometric method for the determination of zolmitriptan in pharmaceutical formulations. *Journal of the Chinese Chemical Society*. 54(6):1413-1417 (2007).
- [120] Sun, M., Xiang, B., An, D., A near-infrared diffuse reflectance analysis method for non-invasive quantitative analysis of ambroxol hydrochloride tablets. *Yaoxue Xuebao*, 39: 60-63 (2004).
- [121] Basavaiah,K., Prameela,H.C., Quantitative methods for the assay of acyclovir in non-aqueous medium. *Indian J Chem.Technol.*, 11:759-763 (2004).
- [122] Ghoneim, M.m., Beltagi, A.M., Radi, A., Square-wave adsorptive stripping voltammetric determination of the anti-inflammatory drug lornoxicam. *Anal. Sci.*, 18: 183-186 (2002).
- [123] Uslu, b., Doğan, b. ve Özkan, s.a. Electrochemical studies of ganciclovir at glassy carbon electrodes and its direct determination in serum and pharmaceuticals by square wave and differential pulse voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, 537 (2005): 307-313.
- [124] Castrol, a.a., wagener, a.l.r., Farias, p.a.m. ve Bastos, m.b. Adsorptive stripping voltammetry of 1-hydroxypyrene at the thin-film mercury electrode-basis for quantitative determination of PAH metabolite in biological materials. *Analytica Chimica Acta*, 521 (2004): 201-207.

- [125] Dogan, B , Golcu, A , Dolaz, M , Ozkan, SA Electrochemical Behaviour of the Bactericidal Cefoperazone and its Selective Voltammetric Determination in Pharmaceutical Dosage Forms and Human Serum. *Current Pharmaceutical Analysis*. 179-189 (2009) .
- [126] Doğan Topal B, Golcü A, Ozkan S, electrochemical Investigation and Determination of the Antibacterial Loracarbef by Voltammetric Methods *Department of Analytical Chemistry* (2011).
- [127] Mohammadi, A, Moghaddam, Abdolmajid Bayandori, Eilkhani-zadeh, Kordestan Electro-oxidation and simultaneous determination of amlodipine and atorvastatin in commercial tablets using carbon nanotube modified electrode, *Micro & Nano Letters* 413-417 (2013).
- [128] Sebojka Komorsky-Lovrić, Biljana Nigović Identification of 5-aminosalicylic acid, ciprofloxacin and azithromycin by abrasive stripping voltammetry, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 36 :81–89 (2004).
- [129] Mohan N.P., Hardik N.J., Chintan R.P., Cytotoxic, antibacterial, DNA interaction and superoxide dismutase like activities of sparfloxacin drug based copper(II) complexes with nitrogen donor ligands, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 104, 48-55, (2013).
- [130] Imran, A., Waseem A.W., Kishwar S., Ming-Fa H., Design and synthesis of thalidomide based dithiocarbamate Cu(II), Ni(II) and Ru(III) complexes as anticancer agents, *Polyhedron*, 56, 134-143, (2013).
- [131] Golcu.A., Ofloxacin Metal Complexes: Synthesis, Characterization, Analytical Properties, and DNA Binding Studies *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic, and Nano-Metal Chemistry*, 44:1509–1520, 2014
- [132] Avcioğlu. V ., Golcu A., Synthesis of Acyclovir Metal Complexes: Spectral, Electrochemical, Thermal, and DNA Binding Studies Synthesis

and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic, and Nano-Metal Chemistry
45, 581–590, (2015)

- [133] Tarinc D., Golcu A., Tumer M., Karaoglu T., Ozsoz M., Electrochemical Investigation and DNA-Binding Studies of Valacyclovir-Copper(II) Complex *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic, and Nano-Metal Chemistry*, 43:140–148, (2013)
- [134] Cesme M., Golcu A., Demirtas İ., New metal based drugs: Spectral, electrochemical, DNA-binding, surface morphology and anticancer activity properties *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 135 887–906 (2015).
- [135] Tiwari Sweetey; Pitre K. S. Indian journal of chemical technology Volume: 15 Issue: 6 Pages: 593-59 (2008)
- [136] Dogra, S., Awasthi, P., Nair, M., Barthwal, R. Interaction of Anticancer Drug Mitoxantrone with DNA Hexamer Sequence d-(CTCGAG)₂ by Absorption, Fluorescence and Dichroism Spectroscopy, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, Sayı 123, s.48–54 (2013).
- [137] Topal, B.D., Bozal-Palabiyik, B., Ozkan, S.A., Uslu, B. Investigation of Anticancer Drug Lapatinib and its Interaction with dsDNA by Electrochemical and Spectroscopic Techniques, *Sensors and Actuators B*, Sayı 194, s.185–194 (2014).
- [138] Bourassa, P., Thomas, T.J., Tajmir-Riahi, H.A. Locating the Binding Sites of Antitumor Drug Tamoxifen and Its Metabolites with DNA, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Sayı 95, s.193–199 (2014).
- [139] Agudelo, D., Bourassa, P., Bérubé, G., Tajmir-Riahi, H.A. Intercalation of Antitumor Drug Doxorubicin and Its Analogue by DNA Duplex: Structural Features and Biological Implications, *International Journal of Biological Macromolecules*, Sayı 66, s.144–150 (2014).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı, soyadı : Fatma ÇELLO ATAŞ
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 08.06.1989 Gaziantep
Medeni hali : Evli
Telefon :
Faks :
e-posta : fatmacello@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	KSÜ /Kimya Bölümü	2015
Lisans	KSÜ/ Kimya Bölümü	2011
Lise	Şahinbey Cumhuriyet Lisesi	2005

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
-----	-----	-------

Yabancı Dil

İngilizce