T.C
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

KARBON TÜREVLERİ İLE MODİFİYE EDİLMİŞ YÜZEY BASKILI ELEKTROTLARIN RASEMİK İLAÇ AYIRIMINDA KULLANILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Arzu YILDIRIM
DANIŞMAN: Doç. Dr. Hilal ÇELİK KAZICI

VAN-2020

T.C
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

KARBON TÜREVLERİ İLE MODİFİYE EDİLMİŞ YÜZEY BASKILI ELEKTROTLARIN RASEMİK İLAÇ AYIRIMINDA KULLANILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Arzu YILDIRIM

VAN-2020

KABUL VE ONAY SAYFASI

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Doç.Dr. Hilal ÇELİK KAZICI danışmanlığında, Arzu YILDIRIM tarafından sunulan "KARBON TÜREVLERİ İLE MODİFİYE EDİLMİŞ YÜZEY BASKILI ELEKTROTLARIN RASEMİK İLAÇ AYIRIMINDA KULLANILMASI" isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince …./…./…….. tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile başarılı bulunmuş ve yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan:	İmza:
Üye:	İmza:
Üye:	İmza:
Üye:	İmza:
Üye:	İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun …../…../…… tarih ve ……..sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza

…….

Enstitü 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 bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

İmza

Arzu YILDIRIM

ÖZET

KARBON TÜREVLERİ İLE MODİFİYE EDİLMİŞ YÜZEY BASKILI ELEKTROTLARIN RASEMİK İLAÇ AYIRIMINDA KULLANILMASI

YILDIRIM, Arzu
Yüksek Lisans Tezi, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı
Danışman: Doç. Dr. Hilal ÇELİK KAZICI
Kasım 2020, 66 Sayfa

Bu tez çalışmasında, multidisipliner bilimde önemli bir yer teşkil eden kiral bileşiklerin enantiyomerlerini ayırt etmek için karbon tabanlı elektrotlar ile elektrokimyasal sensör çalışmaları gerçekleştirildi. Bu amaç doğrultusunda son yıllarda üstün özelliklerinden dolayı elektrokimyasal sensör uygulamalarında büyük bir ilgi uyandıran karbon materyalinin, kimyasal indirgeme metodu ile grafen oksit / β-siklodekstrin (GO/β-CD) ve karbon nanotüp / β-siklodekstrin (CNT/β-CD) gibi türevleri sentezlendi. Karbon tabanlı elektrokatalizörünün karakterizasyonları X-ışını kırınımı (XRD) ile elektrot yüzeyleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile karakterize edildi. Elde edilen karbon tabanlı materyaller, yüzey baskılı karbon elektrotların (SPCE) yüzeyine modifiye edilerek grafen oksit/yüzey baskılı karbon elektrot (GO/SPCE), karbon nanotüp / yüzey baskılı karbon elektrot (CNT/SPCE) , grafen oksit / β-siklodekstrin (GO/ β -CD/SPCE) ve yüzey baskılı karbon elektrot / β-siklodekstrin (CNT/ β -CD/SPCE) üretildi. Elektrokatalizörlerin etkinlikleri dönüşümlü voltametri (CV) teknikleri ile karakterize edildi.

Elektrokimyasal çalışmalarda enantiyoseçici kiral sensör olarak kullanılan elektrotların kiral bileşiklere karşı enantiyoseçici kiral ayırt etme çalışmaları gerçekleştirildi ve sırasıyla rasemik halde bulunan antidepresan ilaç etken maddelerinden Fluosektinve ağrı kesici ateş düşürücü ilaç etken maddelerinden Ketoprofen, enantiyomerlerinin elektrokimyasal olarak birbirinden ayırt edilmesi sağlandı.

Anahtar kelimeler: İlaç, Karbon, Kiralite, Rasemik, Voltametri

ABSTRACT

THE USE OF SURFACE - PRINTED ELECTRODES MODIFIED WITH CARBON DERIVATIVES IN RACEMIC DRUGS SEPARATION

YILDIRIM, Arzu
M. Sc., Thesis, Chemistry Engineering Department
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Hilal ÇELİK KAZICI
November 2020, 66 Pages

In this thesis, carbon-based electrodes and electrochemical sensor studies were carried out to distinguish the enantiomers of chiral compounds that have a significant role in multidisciplinary science. For this purpose, derivatives of carbon material such as graphene oxide / cyclodextrin (GO / β-CD) and carbon nanotube / β-cyclodextrin (CNT / β CD) were synthesized by chemical reduction method which has attracted great interest in electrochemical sensor applications due to its superior properties in recent years. The characterizations of the carbon-based electrocatalyst were characterized by X-ray diffraction (XRD) with the electrode surfaces by scanning electron microscopy (SEM).The carbon-based materials obtained which graphene oxide / surface printed carbon electrode (GO / SPCE), carbon nanotube / surface printed carbon electrode (CNT / SPCE), graphene oxide /-cyclodextrin (GO / β -CD / SPCE) and surface printed carbon electrode / β-cyclodextrin (CNT / β-CD / SPCE) were produced by modifying the surface of the surface-printed carbon electrodes (SPCE).The efficiencies of the electrocatalysts were characterized by cyclic voltammetry (CV) techniques.

Enantioselective chiral differentiation studies were carried out against chiral compounds of electrodes used as enantioselective chiral sensors in electrochemical studies and respectivelyFluosectin which is an antidepressant drug active ingredient in racemic form and Ketoprofen which is an active and pain killer antipyretic drug, enantiomers were distinguished electrochemically from each other.

Keywords: Carbon, Chirality, Drug, Racemic, Voltammetry

ÖNSÖZ

Tez çalışmamın gerçekleştirilmesinde, planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren, bana ayırdığı değerli zamanı ve sağladığı destek için minnettar olduğum, güler yüzünü ve samimiyetini esirgemeyen değerli tez danışmanım Doç. Dr. Hilal ÇELİK KAZICI'ya teşekkür ederim.

Tezimin başlangıcından bitimine kadar bana inanan, benden yardımlarını esirgemeyen, her zaman yanımda olan, bildiklerini paylaşan ve bildiklerimi öğreten, tüm zamanımı birlikte geçirdiğim kıymetli laboratuvar grubum 'Sensör Lab' ekibine teşekkür ederim.

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca yardım, bilgi ve tecrübeleri ile bana sürekli destek olan Kimya Mühendisliği bölümündeki tüm hocalarıma teşekkür ederim.

Son olarak da; bu tez çalışmam sürecinde bana moral ve motivasyon kaynağı olan, gösterdikleri sabır ve verdikleri her türlü destek için ailem ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET i
ABSTRACT iii
ÖNSÖZ v
İÇİNDEKİLER vii
ŞEKİLLER LİSTESİ xi
1. GİRİŞ 1
1.1. . Biyolojik Aktif Bileşiklerde Kiralitenin Önemi 2
1.2. Stereokimya 3
1.2.1. Stereoizomeri 3
1.2.2.İlaç yada biyolojik aktif bileşiklerde kiral seçicilik 7
1.3. Siklodekstrinler 8
1.4.İlaçlarda Stereokimya 10
1.5.Kiral İlaçlar, Farmakokinetik ve Farmakodinamik Özellikleri 10
1.5.1. İbuprofen[(±)-2-(4-İzobutilfenil) propiyonik asit] 11
1.5.2.Penisilamin(D-Penisillamin) 11
1.5.3.Ketamin 12
1.5.4.Ketoprofen (Benzoil-α-metilbenzen asetik asit) 12
1.5.6.Fluoksetin 13
1.5.7.Metoprolol 14
1.5.8. Propranolol 15
1.6. Grafit ve Karbon Nanotüp Nedir? 16
1.6.1. Grafen nedir? 18
1.6.2. Grafen oksit ve karbon nanotüpnedir? 19
1.7.Sensörler 20
1.8.Elektrokimyasal Yöntemler 21
1.8.1. Voltametrik yöntemler 22
1.9. Yüzey Baskılı Karbon Elektrotlar (SPCE) 26
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ 29
3. MATERYAL VE YÖNTEM 33

Sayfa

3.1. Kullanılan Kimyasallar....33
3.2. Kullanılan Cihazlar....34
3.2.1. Elektrokimyasal analiz cihazı....34
3.2.2. Elektrokimyasal hücre....34
3.2.3. Elektrot....35
3.2.4. pH metre....35
3.2.5. Mikropipet....35
3.2.6. Ultra saf su....35
3.2.7. Ultrasonik banyo....35
3.3. Kullanılan Çözeltiler....36
3.4. Nanopartiküllerinin Sentezi....36
3.5. Modifiye Elektrot Hazırlama....37
4. BULGULAR VE TARTIŞMA....39
4.1. CNT Destekli Katalizörlerin Karakterizasyonu....39
4.1.1. CNT/β-CD katalizörü için XRD (x-ışın kırınımı) analizi....39
4.1.2. GO/β-CD katalizörü için XRD (x-ışın kırınımı) analizi....40
4.1.3. CNT/β-CD katalizörü için SEM Analizi....41
4.1.4. GO/β-CD katalizörü için SEM Analizi....43
4.2. CNT Destekli Katalizörlerin Elektrokimyasal Karakterizasyonu....44
4.2.1. Elektrot şartlama çalışmaları;....44
4.2.2.CNT/α-CD/NGCE, CNT/β-CD/NGCE ve CNT/γ-CD/NGCE ile elektrokimyasal karakterizasyonlar....48
4.2.3. CNT/β-CD/NGCE elektrodu ile R-Fluoksetinin ve S-Fluoksetinin enantiyomerlerinin tanımlanması....52
4.2.4.GO/α-CD/NGCE, GO/β-CD/NGCE ve GO/γ-CD/NGCE ile elektrokimyasal karakterizasyonlar....54
4.2.5. GO/β-CD/NGCE elektrodu ile R-Ketoprofen ve S-Ketoprofen enantiyomerlerinin tanımlanması....57
5. SONUÇ....59
KAYNAKLAR....61
ÖZ GEÇMİŞ....66

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge1. 1 Siklodekstrin türleri ve özellikleri 9

Çizelge1. 2 Karbon allotroplarının özelliklerinin kıyaslanması 17

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 1. 1 Aynı molekül formülüne sahip fruktozun izomerik formları 3

Şekil 1. 2 Maleik asit ile fumarik asit izomerdir (geometrik izomer ya da cis-trans izomer) 4

Şekil 1. 3 Kiral maddelerin ayna görüntüsü 5

Şekil 1. 4 Karvon bileşiğinin enantiyomerleri 5

Şekil 1.5 (I) ve (II) birbirlerinin enantiomeridir, (III) ve (IV) ise (I)'in diastereoisomerleridir 7

Şekil 1. 6 İlaç-reseptör etkileşme 7

Şekil 1. 7 Siklodekstrin türevlerinin yapısı 8

Şekil 1. 8 İbuprofen'in enantiyomerik (R ve S) yapısı 11

Şekil 1. 9 Penisillamin'in enantiyomerik (R ve S) yapısı 12

Şekil 1. 10 Ketamin'in enantiyomerik (R ve S) yapısı 12

Şekil 1. 11 Ketaprofen'in enantiyomerik (R ve S) yapısı 13

Şekil 1. 12 Fluoksetin'in enantiyomerik (R ve S) yapısı 14

Şekil 1. 13 Metoprolol'un enantiyomerik (R ve S) yapısı 14

Şekil 1. 14 Aynı etken maddeyi içeren (metoprolol) iki farklı ilaç 15

Şekil 1. 15 Propranolol'un enantiyomerik (R ve S) yapısı 16

Şekil 1. 16 Grafen'in yapısı ve özellikleri 18

Şekil 1. 17 Grafen ile CNT yapısı ve özellikleri 20

Şekil 1. 18 Sensörün çalışma mekanizması 20

Şekil 1. 19 Dönüşümlü voltametri için uyarma sinyali 23

Şekil 1. 20 Kare dalga voltametrisi için uyarma sinyali 24

Şekil 1. 21 Diferansiyel puls voltametrisi için uyarma sinyali 25

Şekil **Sayfa**

Şekil 1. 22 Yüzey baskılı karbon elektrot..... 27

Şekil 3.1Elektrokimyasal ölçümlerde kullanılan hücre düzeneği……..34

Şekil 4.1 CNT ve CNT/β-CD katalizörlerine ait x-ışın kırınım desenleri……..40

Şekil 4.2 GO/β-CD katalizörüne ait x-ışın kırınım desenleri…….41

Şekil 4.3 Kiral seçici grubun farklı derişimlerindeki CNT/ (200-600)β-CD katalizörlerine ait SEM görüntüleri..... 42

Şekil 4.4 400 mg (a) GO/α-CD ve (b) GO/β-CD için SEM görüntüleri 44

Şekil 4.5 Elektrot Şartlandırma (0.1 M pH 8 PO_4 tamponunda 10 mv/s-1 hızda -1.4 +1.4 V aralığında yapılan ölçüm sonuçları)..... 45

Şekil 4.6 pH 7, 0.1 M PO_4 tamponunda 10 mv/s-1 hızda -1 +1 V aralığında farklı H_2O_2 miktarları ile tekrarlı aktivasyon işlemi 46

Şekil 4.7 pH 8, 0.1 M PO_4 tamponunda 10 mv/s-1 hızda -1.4 +1.4 V aralığında 10 dk'lık aktivasyon işlemi ve ardından -1 +1 V aralığında farklı H_2O_2miktarları ile yapılan ölçüm sonuçları 46

Şekil 4.8 pH 8, 0.1 M PO_4 tamponunda 10 mv/s-1 hızda -1.4 +1.4 V aralığında 10 dk'lık aktivasyon işlemi ve ardından -1.4 +1.4 V aralığında farklı H_2O_2 miktarları ile yapılan ölçüm sonuçları 47

Şekil 4.9 NGCE (Nafyonlu), CNT/NGCE'nin 0.2 mM (R, S) Fluoksetin 0.1 M fosfat tampon çözeltisi (pH 7) içeren çözeltideki dönüşümlü voltamogamları 48

Şekil 4.10 CNT/α-CD/NGCE, CNT/β-CD/NGCE ve CNT/γ-CD/NGCE'nin 0.2 mM (R, S) Fluoksetin 0.1 M fosfat tampon çözeltisi (pH 7) içeren çözeltideki dönüşümlü voltamogamları 49

Şekil 4.11 Farklı derişimlerdeki CNT/ (200-600)β-CD/NGCE 0.2 mM (R, S) Fluoksetin 0.1 M fosfat tampon çözeltisi (pH 7.0) içeren çözeltideki dönüşümlü voltamogamları 50

Şekil 4.12 Farklı derişimlerdeki (R, S) Fluoksetinin (0-0.3 mM) CNT/ (400)β-CD/NGCE elektrodu ile 0.1 M fosfat tampon çözeltisi (pH 7.0) içeren çözeltideki dönüşümlü voltamogamları 51

Şekil 4.13 Farklı pH derişimlerindeki (R, S) Fluoksetinin (0.2 mM) CNT/ (400)β-CD/NGCE elektrodu ile 0.1 M fosfat tampon çözeltisi içeren çözeltideki dönüşümlü voltamogamları..... 52

Şekil **Sayfa**

Şekil 4.14 (R) Fluoksetinin (0.05 mM) ve (S) Fluoksetinin (0.05 mM), CNT/ (400)β-CD/NGCE elektrodu ile 0.1 M fosfat tampon çözeltisi (pH 7) içeren çözeltideki dönüşümlü voltamogamları 53

Şekil 4.15 GO/NGCE'nin 0.1 mM (R, S) ketoprofen 0.1 M fosfat tampon çözeltisi (pH 7) içeren çözeltideki dönüşümlü voltamogamları 54

Şekil 4.16 GO/α-CD(400mg)/NGCE, GO/β-CD(400mg)//NGCE ve GO/γ-CD(400mg)//NGCE'nin 0.1 mM (R, S) Ketoprofen 0.1 M fosfat tampon çözeltisi (pH 7) içeren çözeltideki dönüşümlü voltamogamları 55

Şekil 4.17 Farklı derişimlerdeki (R, S) Ketoprofenin (0-02 mM) GO/ (400) β-CD/NGCE elektrodu ile 0.1 M fosfat tampon çözeltisi (pH 7) içeren çözeltideki dönüşümlü voltamogamları 56

Şekil 4.18 Farklı pH derişimlerindeki (R, S) Ketoprofenin (0.1 mM) GO/ (400)β-CD/NGCE elektrodu ile 0.1 M fosfat tampon çözeltisi içeren çözeltideki dönüşümlü voltamogamları 57

Şekil 4.19 (R, S) Ketoprofenin (0.05 mM) ve (S) Ketoprofenin (0.1 mM), GO/ (400)β-CD/NGCE elektrodu ile 0.1 M fosfat tampon çözeltisi içeren çözeltideki dönüşümlü voltamogamları 58

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	**Açıklama**
A	Amper
µA	Mikroamper
mA	Miliamper
mg	Miligram
ml	Mililitre
M	Molarite
mM	Milimolar
µM	Mikromolar
mV	Milivolt
µL	Mikrolitre

Kısaltmalar	**Açıklama**
CV	Dönüşümlü voltametri
DPV	Diferansiyel puls voltametrisi
KDV	Kare dalga voltametrisi
CDα	Siklodekstrin alfa
CDβ	Siklodekstrin beta
CDγ	Siklodekstrin gama
CNT	Karbon nanotüp
GO	Grafen oksit
rGO	İndirgenmiş grafen oksit

Kısaltmalar	Açıklama
SPCE	Yüzey Baskılı Karbon Elektrot
HPLC-UV	Yüksek Performanslı Sıvı Kromotografisi
NP	Nanopartikül
CE	Kılcal elektroforez
Hg	Civa
PIM	Polar iyonik mobil faz
R	R enantiyomeri
S	S enantiyomeri
Ag	Gümüş
Pt	Platin
Cl	Klor
DAR	Darifenasinin
TlCl	Talyum klorür
$AgNO_3$	Gümüş Nitrat
FDA	A.B.D. Gıda ve İlaç Dairesi
NGCE	Nafyonlu Camsı Karbon Elektrot
PBS	Fosfat Tampon Çözeltisi

1. GİRİŞ

Günümüzde enantiyomeri temel alınarak saf ilaçlara ve besin katkı maddeleri ile tarımda kullanılan kimyasallara olan ihtiyaç zamanla daha çok artmaktadır. Tek enantiyomerden oluşan etken maddelerin tek izomerlerinin elde edilmesine bağlı olarak ilaçların beklenilen olumlu ya da olumsuz yan etkilerinin olmamasından dolayı enantiyomerik ilaçlara karşı olan ilgiyi artırmaktadır. Rasemik karışımlarda enantiyomerler birçok değişkenli etkiler gösterebilmektedir. İki enantiyomer eş zamanlı kullanıldığında birbirlerinden bağımsız olarak değişik tedavi etkisine sahip olabilirlerveya her iki enantiyomerin bir arada bulunması tedaviye pozitif etki de sağlayabilir (Sheldon, 1993).

Tek bir enantiyomer sentezinin öneminin ortaya çıkmasına neden olan en etkili örneklerden biri ' Thalidomide ' isimli ilaçtır. 1957 yılında piyasaya çıkan bu ilaç hamile kadınların sabah bulantısını önlemek amacıyla kullanılmaya başlanmıştır. Daha sonra zamanla uykululuk hali, halsizlik, kabızlık, deride kızarıklıklar, ciddi baş ve mide ağrıları, ellerde ve ayaklarda uyuşma, baş dönmesi, sinirlilik, titreme, kulak çınlaması, depresyon vb. olumsuz etkiler oluşturmuştur. Ancak ilaç, tüketilmeye devam edilmiştir. Bir sene içerisinde ise thalidomide içen anneler, çok sayıda doğumsal anomalli bebek doğmaya başlamışlar ve 1961 senesine gelindiğinde dünyada 10.000'den fazla sakat, kolları ve bacakları olmayan yani bazı uzuvları eksik veya gelişmemiş çocuk doğumunda artışlar ortaya çıkmıştır. Önceleri radyasyon ve benzeri kirliliklerle bağdaştırılan doğumlara bu ilacın neden olduğu anlaşılınca 1961 yılının Aralık ayında ilaç toplatılmıştır. Tarihe ve literatüre, bu ilaç 'Thalidomide Faciası' olarak kayıtlara geçmiştir. Daha sonra yapılan araştırmalar sonucunda rasemik olarak kullanılan bu ilacın (S) enantiyomerinin, anne karnındaki bebeklerde kemik gelişimi bozukluklarına neden olduğu ve buna bağlı olarak sakat bebeklerin dünyaya geldiğini göstermiştir (Blaschke, 1979). Bu nedenle araştırmacılar biyolojik aktif bileşiklerde kiralitenin önemini ve etkilerini araştırmaya başlamışlardır.

1.1. Biyolojik Aktif Bileşiklerde Kiralitenin Önemi

Çoğu bileşik, enantiyomerlerin farklı biyolojik aktivitelere sahip olabilecekleri bilinmesine rağmen bileşikler, rasemik karışımlar halinde pazarlanmaktadır. Bu, örneğin protein bağlama, taşıma, metabolizma gibi farklılıklar nedeniyle olabilmektedir (Stevenson ve Williams, 1998).

İlaç endüstrisi, rasemat yerine tek bir enantiyomer içeren kiral ilaçların üretim ve satışına çok fazla ilgi duymaktadır. Enantiyomerlerin çeşitli biyolojik aktiviteler sergilemesi, optikçe aktifolanürünlere ilgiyi arttırmıştır. Optikçe aktif saf enantiyomerler, rasemik karışımlardan daha az zararlı etkiye sahiptir ve hedefe spesifiktirler (Mustaranta ve ark., 2001; Tüzün, 1994). Bir molekülün optikçe aktif olabilmesi için simetri olmaması gerekmektedir. Yani her moleküldeki bir karbon atomuna dört farklı atom yada grup bağlanması gerekir. Bu amaçla, bileşiklerin elektrokimyasal tekniklerle redoks davranışlarının araştırılması, bu moleküllerin biyolojik redoks reaksiyonlarına değerli bilgiler sunma potansiyeline sahiptir.Rasemik karışımlarda enantiyomerler birbirinden bağımsız etkiler sergileyebilmektedir. İstenen aktiviteyi sağlamada, her iki enantiyomerin bir arada bulunması tedavi için avantaj sağlayabilir ya da pasif olan enantiyomer ciddi zararlı etkilere sebep olabilirken, bir arada bulunan iki enantiyomer farklı tedavi etkisine sahip olabilmektedir (Minguillon, 2012).

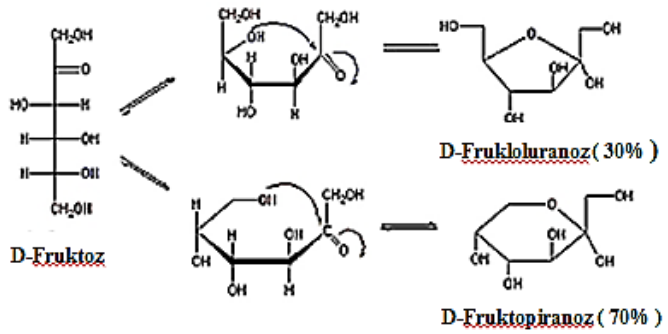
1992 yılında A.B.D. Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ve Avrupa Komisyonu, rasemik karışım formunda piyasaya sunulan bütün tescilli ilaçların içeriğindeki her iki enantiyomerin araştırılmasını ve tanımlanmasını istemişlerdir. Araştırmaların ışığında uygun enantiyomer seçilip ilaç etken maddesi olarak kullanılmış ve ilaçların rasemat şeklinde üretimine son verilmeye başlanmıştır (Garcia, 2001).

Araştırmacılar atomların, uzayda bir molekül içinde birbirine göre nasıl düzenlenmiş olduklarını streokimya başlığı altında araştırmaya başlamışlardır.

1.2. Stereokimya

Üç boyutlu incelenen moleküllerin yapıları stereokimya olarak bilinmektedir. Atomların uzayda birbirine göre bir molekül içinde nasıl düzenlendiklerini araştırır. Enantiyoseçiciliği daha iyi anlayabilmek için bazı stereokimyasal terimlerin iyi bilinmesi gerekmektedir.

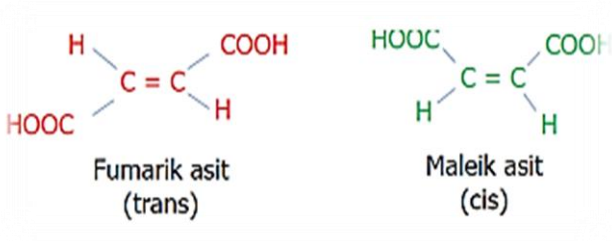
Moleküllerin birbirlerine göre uzaydaki konumu incelendiğinde çeşitli dizilimleri bulunmaktadır. Bu farklılık ise moleküler izomerizm olarak açıklanır. İzomerler genelde ikiye ayrılmaktadır. Birincisi, atomların bağlanma düzeni farklı olsa bile aynı molekül formülü ile gösterilen bileşik olanyapısal 'İzomerler'dir. İkincisi ise 'Stereoizomerler' olarak adlandırılan aynı bağlanma düzenine sahip bileşiklerdeki atomların uzayda çeşitli yönelimlerin neden olduğu izomeri şekilleridir (Fessenden, 1998).



Şekil 1.1. Aynı molekül formülüne sahip fruktozun izomerik formları.

1.2.1. Stereoizomeri

Karbon atomunun dört bağlı yapısını içeren molekül, karbona dört farklı molekül grubunun bağlanması ile bir kiral merkezi olur ve sonuç olarak stereoizomerler meydana gelir. Bir molekül, yapısında n tane farklı kiral merkez bulunduruyosa 2n tane stereoizomeri var demektir. Stereoizomerlerde atomların uzaydaki yönelimleri farklı olduğundan dolayı moleküller uzayda döndürülseler dahi birbirine dönüşemezler (Hart, 1995).



Şekil 1.2. Maleik asit ile fumarik asit izomerdir (geometrik izomer ya da cis-trans izomer).

Stereoizomerler, enantiyomerler (optik izomerizm) ve diastereoizomerler (cis-trans izomerler, geometrik izomerizm) olarak iki gruba ayrılırlar.

1.2.1.1. Enantiyomerler

Kendisinin yer değişikliğiyle elde edilemeyen bir ayna görüntüsünü meydana getirebilen yada bu ayna görüntüsüne sahip olan cisimleri, bilhassa molekülleri tanımlamak amacıyla ‘kiral’ terimi kullanılır. Kimyada böyle moleküllere enantiyomer yada enantiyomerizm yada kiralite özelliği gösterir denir. Eşit oranda her bir enantiyomerin mol sayısını bulunduran bir karışım “Rasemik karışım” olarak adlandırılır.

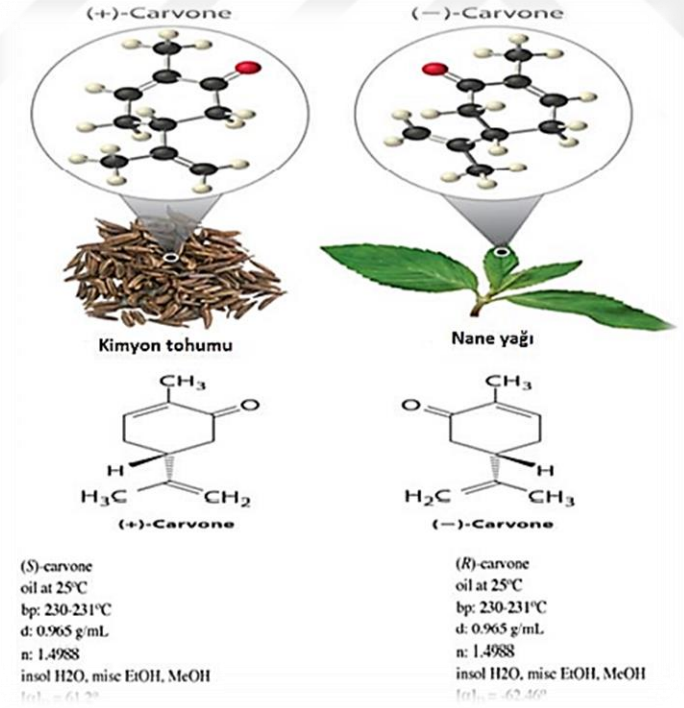
Polarize ışık düzlemini çevirebilen maddelerin optikçe aktif yapıya sahip oldukları söylenmektedir. Eğer bir molekülün hakiki görüntüsüyle beraber ayna görüntüsü üstüste çakışabiliyorsa polarize ışık düzlemini çeviremiyor denilmektedir. Bu durumda optikçe inaktif olarak karakterize edilmektedir (Solomons, 1992). Bir cismin gerçek görüntüsünün ayna görüntüsü ile üstüste gelmemesi özelliğine kiralite denilmektedir. Eğer bir molekülün hakiki görüntüsü ayna görüntüsüyle çakışamıyorsa kiral, çakışabiliyorsa akiral olarak adlandırılmaktadır (Smith, 2001).



Şekil 1.3. Kiral maddelerin ayna görüntüsü.

Enantiyomerler, kimyasal özellikleri bakımından benzerlik gösterirken biyolojik özellikleri açısından farklı özellikler gösterirler. Reaksiyon sırasında da hızları hem farklı olabilir hem de farklı ürünler verebilirler.

Örneğin, Karvonun (R)-enantiyomeri nane kokusu vermesine karşın, (S)-enantiyomeri kimyon kokusu verir. Zencefil ise rasemik karvon içermektedir (Tüzün,1996) .

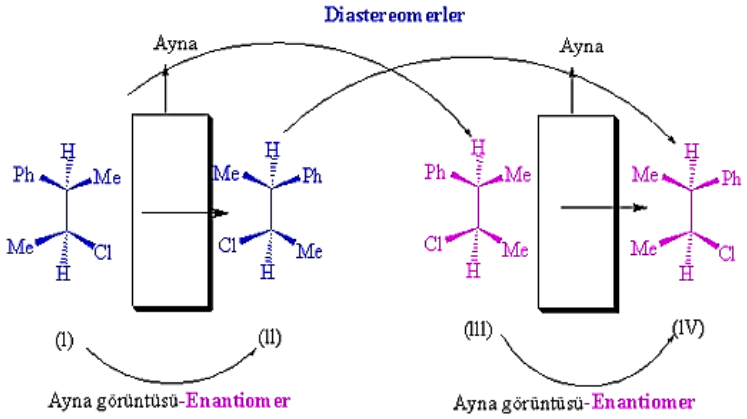


Şekil 1.4. Karvon bileşiğinin enantiyomerleri.

Enantiomerler, birbirinin ayna görüntüsü olup üst üste çakıştırılamayan, polarize ışığın titreşim düzlemine ters yönde ve uygun bir şekilde eşit ölçüde çeviren stereoizomerlerdir. Eğer bir molekülde bir kiral merkez bulunuyorsa, stereoizomer sayısı ikidir ve bunlar birbirinin ayna görüntüsüdür (Anonim, 2007). Enantiomerler sadece kiral özellikleri açısından birbirlerinden ayrılabilirler. Düzlem polarize ışığı aynı miktarlarda ancak zıt yönlerde çevirmektedir. Erime noktası, kaynama noktası ve normal çözücülerdeki çözünürlükleri gibi asimetrik olmayan özellikleri aynıdır. Bu nedenle enantiomerler, kristallendirme ve damıtma gibi kiral olmayan niteliklere dayanan metotlarla birbirinden ayrılamazlar. Enantiomerlerin birbirinden ayrılması, kiral reaktifler ile tepkimeye sokularak meydana gelen diasteromer çiftlerinin tradisyonel metotlarla birbirinden ayrılmasını içermektedir (Hart, 1995).

1.2.1.2. Diastereoizomerler

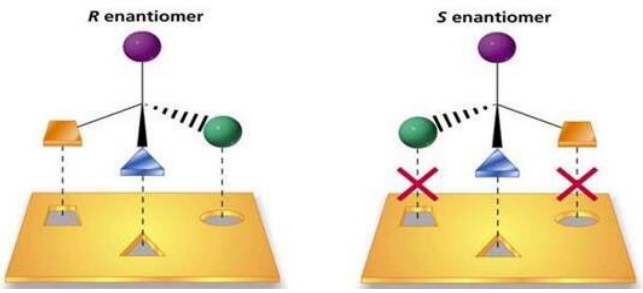
Stereoizomerlerin ayna görüntüsüne sahip olmayan çiftleridir. Molekülde çok sayıda asimetrik karbon atomu bulunmaktadır. Diasteromerlerin, polarize ışığı çevirme yönleri, bütün kimyasal ve fiziksel özellikleri birbirinden farklıdır. Fiziksel ve kimyasal bakımından enantiyomerler birbirleri ile benzerlik gösterirken diastereomerler büyük farklılıklar gösterebilirler. Diastereomerlerin, farklı erime noktaları, kaynama noktaları ve fiziksel sabitleri vardır.Birden fazla kiral merkez taşıyan moleküllerde, birbirinin ayna görüntüsü olmayan yani enantiomer olmayan stereoizomerlere ‘diastereomerler‘denilmektedir. Sahip oldukları kiral merkezlerin sadece tümünde değil aynı zamanda en az birinde farklı konfigürasyonu bulunan stereoizomerlerdir. Özetle, diastereomerler iki farklı kimyasal bileşik gibi davranmaktadırlar. Bundan dolayı bu farklılıklardan faydalanılarak diasteromerlerin birbirlerinden ayrılması mümkün olabilmektedir (Hart, 1995).



Şekil 1.5. (I) ve (II) birbirlerinin enantiomeridir, (III) ve (IV) ise (I)'in diastereoisomerleridir.

1.2.2. İlaç yada biyolojik aktif bileşiklerde kiral seçicilik

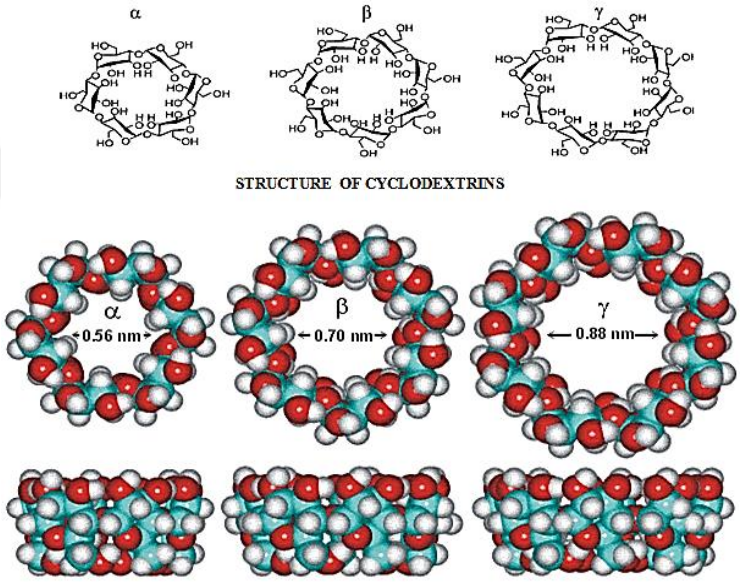
Kiral tanıma veya kiral seçicilik, bir kiral molekülün enantiyomerlerinin canlı sistemlerdeki kimyasal bileşikler yada kiral alıcılar ile seçici olarak etkileşmesidir. Özellikle biyolojik etkileşimlerde kiral seçicilik dominant bir rol oynamaktadır. Canlı sistemlerde bir kiral molekülün enantiyomerlerini ayırabilen yapılar enzim ve reseptörlerdir. Canlı sistemlerde iç ve dış ortamda oluşan elektriksel, kimyasal, fiziksel vb. gibi bütün değişiklikler serbest sinir uçları yada sinirlerin bağlı oldukları duyu almaçları yani reseptörler tarafından algılanmaktadır. Fizyolojik fonksiyonları farklılık gösterse de reseptörlerde hepsinin kiral moleküller olması ortak olan noktalarıdır. Bundan dolayı reseptörlerin uyarıcı moleküllerine bağlanmalarında enantiyoseçici davranmaları beklenir (Kujovic, 2016).



Şekil 1.6. İlaç-reseptör etkileşme.

1.3. Siklodekstrinler

Siklodekstrinler (CD), nişastanın çeşitli mikroorganizmalardan bulgulanan siklodekstrin, glikosiltransferaz (CGTase) enzimiyle birlikte enzimatik parçalanması sonucunda elde edilen siklik oligosakkaritlere denir. α-1,4 glikozid bağlarıyla bağlı azami 6 glukoz ünitesinden meydana gelen halkalı moleküllerdir. D- glukoz ünitelerinin sayılarına göre Siklodekstrinler 6, 7 veya 8 glukozun birbirleriyle bağ yapması sonucu oluşan siklik şekerlerdir. 6 glukozlu yapıda olanlarına α, 7 glukozlu olanlarına β ve 8 glukozlu olanlarına γ-Siklodekstrinler olarak nitelendirilirler. Siklodekstrinler, içi boş kesik koni görünümlü moleküllerdir. Siklodekstrinler oldukça çok sayıda hidrojen alıcısına ve vericisine sahip olan moleküllerdir. Hidroksil gruplarının dizilişinden dolayı silindirik görünümlü molekülün iç boşluğu suyu sevmeyen (hidrofobik), dış yüzeyi ise suyu seven (hidrofilik) özelliktedir (Gürsoy, 2001; Del Vale, 2003).



Şekil 1.7. Siklodekstrin türevlerinin yapısı.

Siklodekstrinler içerdikleri hidroksil grupları nedeniyle suda çözünmektedirler. Siklodekstrinlerin moleküler ağırlıkları ve suda çözünürlükleri birbirinden farklıdır. Siklodekstrin türleri ve özellikleri tablo 1.1’ de verilmiştir (Del Vale, 2003). En az çözünen β- Siklodekstrin (β CD), en çok çözünen γ- Siklodekstrin (γ CD)’dir.

Çizelge 1.1. Siklodekstrin türleri ve özellikleri.

Özellik	α-siklodekstrin	β-siklodekstrin	ɤ-Siklodekstrin
Glikopiranoz ünitesi sayısı	6	7	8
Moleküler ağırlık (g / mol)	972	1135	1297
25ºC'de suda çözünürlük (%w/v)	14.5	1.85	23.2
Dış çap (Å)	14.6	15.4	17.5
Kavite çapı (Å)	4.7-5.3	6.0-6.5	7.5-8.3
Torus yüksekliği (Å)	7.9	7.9	7.9
Kavite hacmi (Å ^{3})	174	262	427

Siklodekstrinler ilaç endüstrisinde çoğunlukla ilaçların sudaki çözünürlüğünü arttırmak amacıyla kullanılırlar. Bu yapı kovalent bağ olmaksızın süpermoleküler etkileşimlerle ilaç molekülünü içine almakta fark edilebilir bir kabiliyete sahiptir. Bu nedenle az çözünen ilaçların biyoyararlılığını ve kararlılığını arttırma eğilimi sergilerler (Loftsson ve ark., 2005).Son yıllarda siklodekstrinle modifiye edilmiş polimerik sistemler, hidrofobik ilaç salınım sistemlerinde geniş bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır (Liu ve Fan, 2005; Li ve ark., 2004). Siklodekstrinlerin polimerik ilaç taşınma sistemleri ile birleşmesi, ilaç-polimer etkileşimini değiştirebilir ve sonuç itibariyle ilaç salınım mekanizmasını modifiye edebilirler. Suda az çözünen ilaçların siklodekstrin ile çözünür bir duruma getirilmesi ve hidrojel ile kontrollü bir biçimde verilmesi, ilacın etkinliğini arttırabilir ve tedavinin kalitesini yükseltebilir.

Bir ilaç molekülünün hücre membranlarından taşınabilmesi için hem suda yeterli bir ölçütte çözülebilmesi hem de hücre membranından geçiş sağlayabilecek derecede bir hidrofobik yapıya sahip olması gerekmektedir. CD'ler membranlardan ilaç geçişini kolaylaştırıp arttırdıkları için önemli bir avantaja sahiptirler. Genel itibariyle hidrofobik yapıda olan ilaç moleküllerini çözelti içinde tutarak membranlardan geçmesini sağlayan siklodekstrinler, taşıyıcılar olarak nitelendirilmektedirler. CD'ler biyolojik membranlardan ilacın geçişini sağlayarak geçirgenlik arttırıcılar gibi görev yapmaktadırlar. İlaç aktif maddelerin birçoğu suda yeterli oranlarda çözünmezler. Tradisyonel metotlar, çözünmeyen ilaçlar için uygulanan surfaktanlar kullanımı, organik çözücüler ve pH aralığının birleşiminden meydana gelmektedir. Bu tür metotlar

tahriş edicidir ve başka olumsuz reaksiyonlara neden olmaktadırlar. CD'ler ise ilaç aktif maddelerinin kararlı olmasını sağlarken aynı zamanda tahriş edici yapıda olmazlar. İlaçların sudaki çözünürlüğünü veya kontrollü salımını arttırmak amacıylaçeşitli bilesiklerle kompleksler yapabilirler. CD'ler az çözünen maddelerin (ilaçların) biyoyararlılığını artırırlar (Anonim, 2015).

1.4. İlaçlarda Stereokimya

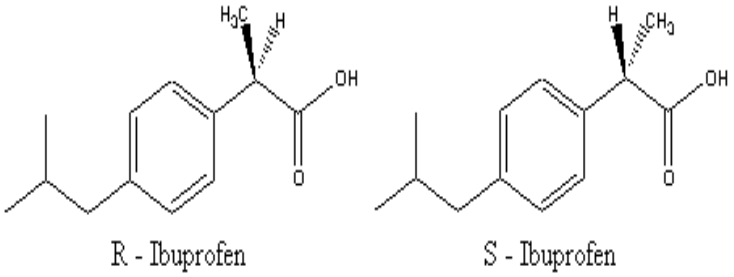
İlaç endüstrisinde çoğunlukla rasemik karışım şeklinde bulunan önemli olan kiral bileşikler kimyasal metotlarla sentezlenirler. Çoğunlukla kiral bileşiklerin yalnızca bir enantiyomeri istenen biyolojik aktiviteye sahiptir. Diğer enantiyomer ise bir biyolojik aktivite sergilemez ve safsızlık olarak karakterize edilebilir, yan ve toksik etki gösterebilir veya diğer enantiyomerin etkisini azaltacak yönde çalışabilir. Bundan dolayı tek enantiyomer şeklinde kiral ürünlerin üretimi, ilaç endüstrisinde oldukça önemli bir yere sahiptir. İlaç tedavisinde tek enantiyomerin kullanılması ihtiyacı, ilaçlar üzerindeki düzenlemeleri sıkı halde elde tutmaya yöneltmiştir. Bu durum ilaç teknolojisinde yeni gelişmeler sağlamaya neden olmuş ve tek enantiyomer elde etme gayesiyle bir çok çalışma başlatılmıştır (Agustian ve ark., 2010). Ancak, enantiyomerik saflıktaki ilaçlara olan talep artmasına rağmen ilaç rasemat formunda pazarlanmaktadır (Lund ve ark., 2016).

1.5. Kiral İlaçlar, Farmakokinetik ve Farmakodinamik Özellikleri

Günümüzde kullanıma sunulan ilaçların yaklaşık %25'i karışım, >%5'i tek enantiyomer yapısına sahiptir ve tek enantiyomer içeren ticari formülasyonların sayısı zamanla artmaktadır. Piyasada akiral ilaçlara (fluvoksamin, nefazodon gibi) ek olarak, rasematlar (bupropion, citalopram, fluoksetin, tetramizol gibi) ve tek enantiyomer (deksmedetomidin, escitalopram, parokserin, sertralin gibi) bulunduran formülasyonlar da bulunmaktadır. Piyasada var olan bazı rasematlar ve tek enantiyomer içeren bazı örnekler aşağıda verilmiştir (Anonim, 2019; Hutt, 2006; McConathy ve Owens, 2003).

1.5.1. İbuprofen[(±)-2-(4-İzobutilfenil) propiyonik asit]

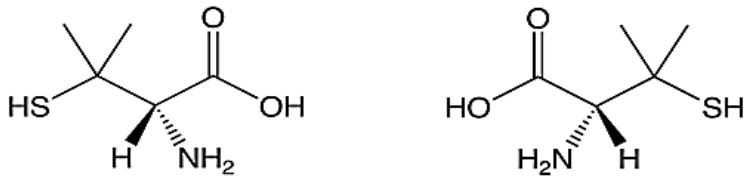
Ağrı kesici-ateş düşürücü-yangı önleyici etki gösterir. İlacın S(+)-izomeri etkili, R(-)-izomeri etkisizdir; tedavide rasemik şeklinde kullanılır. İki enantiyomeri de suda rasemik formuna kıyasla daha iyi çözünür. Böylece,S(+)-enantiyomeri içeren bir formülasyon daha hızlı emilir ve tesiri daha kısa sürede ortaya çıkar. Bu nedenle, rasemik formuna göre S(+)-enantiyomerin kullanılması yeğlenir (Jamali, 1993). Bazı ülkelerde S(+)-ibuprofen formulasyonunda piyasaya sunulmuştur. Böyle bir uygulama ilacın günlük kullanım dozunu iki kat azaltmıştır (Hutt, 2006). S(+)-ibuprofen plazmada daha yüksek oranda erkin halde bulunur.Bu nedenle, sinovial sıvı ve yangılı yerlere daha kolay geçer ve epeyce güçlü yangı önleyicidir.



Şekil 1.8. İbuprofen'in enantiyomerik (R ve S) yapısı.

1.5.2. Penisilamin(D-Penisillamin)

Romatizma ve Wilson's hastalığının (beyin, karaciğer vb. organlarda fazla bakır birikmesi) tedavisinde kullanılır. Rasemat formunda kullanıldığında göz sinirinde hasara neden olduğu için piyasadan çekilmiştir. Daha sonra, tek enantiyomer formunda kullanıldığında bu gibi bir yan etkisinin olmadığı anlaşılmıştır. İlacın S-izomeri sindirim kanalından daha iyi bir şekilde emilir (Hutt, 2006) .

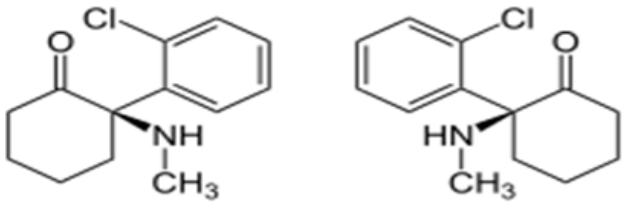


S-Penisilamin R-Penisilamin

Şekil 1.9. Penisillamin'in enantiyomerik (R ve S) yapısı.

1.5.3. Ketamin

Ketamin, genel anestezik ve ağrı kesici bir maddedir. Anestezi sonrasında halisülasyon, zihin bulanıklığı, çabalama vb. istenmeyen etkileri de mevcuttur.Rasemat formunda ilacın anestezik etkisi büyük miktarda (S)-enantiyomeri, istenmeyen etkileri de (R)-izomeri ile bağlantılı olduğu görülmüştür.R-*(-)*-enantiyomeri ve rasemik-haldeki ketaminin zararlı etkileri ya da yan etkileri(S)-(+)-ketaminin daha fazladır. Bazı ülkelerde rasemik ketamin yerine (Almanya gibi) S-(+)-enantiyomerini içeren preparatlar kullanılmaktadır (Abernethy ve Andrawis, 1993).



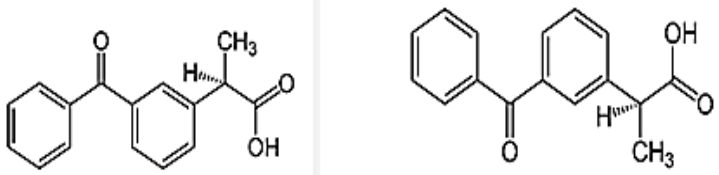
S-(+)-Ketamin R-(-)-Ketamin

Şekil 1.10. Ketamin'in enantiyomerik (R ve S) yapısı.

1.5.4. Ketoprofen (Benzoil-α-metilbenzen asetik asit)

Ağrı kesici-ateş düşürücü-yangı önleyici etkiye sahip bir ilaçtır. Rasemat formunda bulunur; etkisi büyük ölçüde S(+)-enantiyomeri ile ilişkilidir. Bazı ülkelerde (Avusturya, İsviçre gibi) S(+)-ketoprofen trometanol tuzu **(**deksketoprofen**)**formunda

pazarlanmıştır; böylelikle, sindirim kanalından daha iyi emilme, midede daha düşük miktarda irkiltici etki ve daha düşük dozda kullanılma sağlanmıştır. Yaşlı hastalarda, rasemik karışım yerine, S(+)-enantiyomerinin kullanılması daha güvenlidir (Jamali, 1993; Hutt, 2006). Yaşlı hastalar, genç hastalara kıyasla daha düşük metabolik faaliyetlere sahip olduğundan ve ilacın emilimi daha zor olduğundan rasemik karışımı ciddi sorunlara yol açabilmektedir. Bu nedenle yaşlı hastalara S(+) enantiyomeri kullanılması tavsiye edilmektedir.

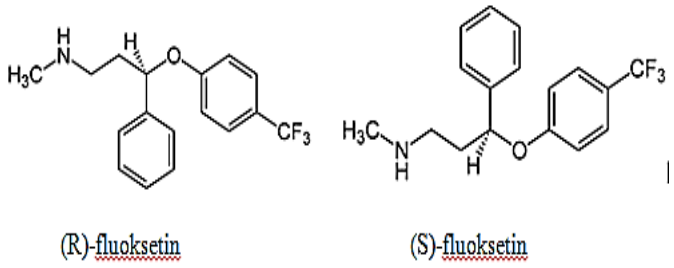


S-Ketoprofen R-Ketoprofen

Şekil 1.11. Ketaprofen'in enantiyomerik (R ve S) yapısı.

1.5.6. Fluoksetin

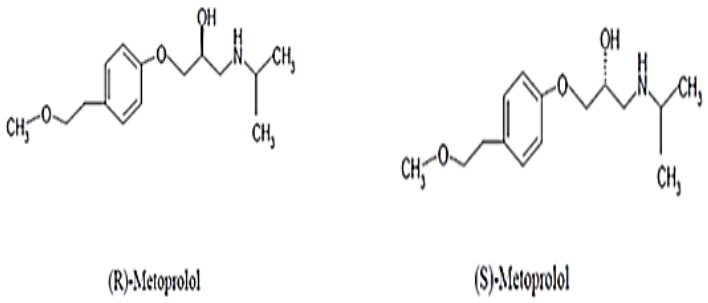
Fluoksetin ilk olarak merkezi nöronlarda serotonin geri alımını baskılayarak antidepresan etki gösterdiği tahmin edilmektedir. Noradrenalin ve dopamin geri alımını etkilemez. Yalnızca R-fluoksetin depresyon için kullanışlı iken, S-fluoksetin migren tedavisi için kullanılan bir ilaçtır. (R)-fluoksetinin kalbin repolarizasyonunu düşük sıklıkta fakat anlamlı şekilde uzattığının farkedilmesi üzerine denemelere son verilmiş ve formülasyonu piyasadan çekilmiştir. (S)-fluoksetin migrenin önlenmesinde ümit verici olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, (S)-fluoksetin ticari amaçla üretilmeye en uygun enantiyomer gibi görülmektedir (McConathy, 2003) .



Şekil 1.12. Fluoksetin'in enantiyomerik (R ve S) yapısı.

1.5.7. Metoprolol

Metoprolol, hipertansiyon, aritmi ve kalp yetmezliği gibi farklı türdeki kardiyovasküler bozuklukların tedavisinde kullanılan seçici bir beta blokerdir (Bristow, 2000; Wahlund ve ark., 1990). Kalp atım hızını, stres hormonlarının etkisini azaltarak yavaşlatır. Göğüs ağrısının ve yüksek tansiyonun önlenmesinde, kalp krizi iyileştirilmesinde ve engellenmesinde, ritim bozukluğu tedavisinde kullanılır. İlaç, iki enantiyomerik formda bulunur. Bunlar (R) - ve (S)-metoprolol enantiyomerleridir. (S)-enantiyomeri ilaçta etkili aktivite sergiler (Nathanson, 1988; Wahlund ve ark.,1990). S(-)-enantiyomeri daha etkindir; bunun etkinliği R(+)-izomerinin yaklaşık 40-100 katı bir etkiye sahiptir (Cerqueira ve ark., 1999).



Şekil 1.13. Metoprolol'un enantiyomerik (R ve S) yapısı.

Bazı metoprolol etken maddeleri içeren ilaçların S(+)-enantiyomeri aynı etkiyi gösterirken R(-)-enantiyomeri olumsuz etki gösterebilir. Örneğin, bir doktor tansiyona bağlı kalp damarında genişleme olan bir kardiyovasiküler hastaya etken maddesi

metoprolol olan ‘beloc’ ilacını yazar. Hasta eczaneden aldığı aynı etken maddeye sahip olan ‘problok’ ilacını 6 ay boyunca kullanır. Kontrol için doktora gittiğinde doktor, kullandığı muadil ilacın kalp damarlarında kireçlenmeye sebep olduğunu söyler. Bu durum şunu açıklar; Aynı farmasötik formundaki etken maddeyi eşit oranda içeren farklı iki ilaç preparatı, aynı derecede emilir. Ancak birinde emilim yavaş iken diğerinde hızlı gerçekleşebilir. Emilimi yavaş olan, etki etmesi gereken bölgede yeterli konsantrasyona erişemeyebilir. Dolayısıyla bu preparatdaki ilacın biyoyararlılığı ve klinik etkinliği, absorbsiyon dereceleri aynı olsa bile diğer preparatlardan düşük olur. Sonuç olarak, farmasötik bakımdan eşdeğer olan preparatların, klinik etkililik ve güvenlilik açısından eşdeğer olmaları için absorbsiyon derece ve hızlarının da benzer olması gerekmektedir (Kayaalp, 2001).

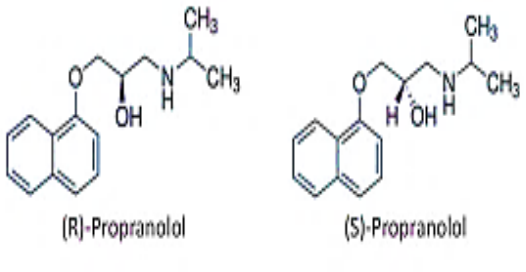


Şekil 1.14. Aynı etken maddeyi içeren (metoprolol) iki farklı ilaç.

1.5.8. Propranolol

Kalp kası, solunum yolları ve damar düz kaslarını etkileyen ilaç türüdür. Optikçe aktiftir. (S)-(-)-Propranolol1960’lı yıllarda kalp hastalığını tedavi etmek amacıyla β-bloker olarak tanımlanmıştır. Fakat R)-(+)-Propranololenantiyomeri gebelik önleyici olarak da etki eder. Çoğunlukla rasemik formda bulunur. Rasemik formda tüketildiği zaman plazmada triiyodotironin:toplam tiroksin oranı küçülürken, tirotropin ve toplam tiroksin büyük ölçüde artar. Bu etkisi nedeniyle, (R)-propranolol tiroid bezi etkinliğinin arttığı durumlarda kullanılabilir; özellikle kalpte işlev bozukluğu olan hastalarda β-blokaj etkide zayıflama olmaksızın doz miktarı yarıya indirilerek kullanılması faydalı da

olmaktadır (Hutt, 2006). Bu yüzden klinik kullanımda bu bileşiğin enantiyomerik saflığı büyük ölçüde önemlidir.



Şekil 1.15. Propranolol'un enantiyomerik (R ve S) yapısı.

1992 yılında FDA rasemik ilaçların onay alma sürecini güçleştirmiş ve aynı zamanda diğer ülkeler de bunu takip etmişlerdir. Bu nedenle, tek enantiyomeri içeren (enantiyo-saf) ilaç geliştirmek amacıyla farmasötik şirketleri çalışmalarını hız kazandırmıştır. Yeni bir ilacın keşfedilmesi, tasarımı, geliştirilmesi ve satışındaki en önemli konu ilaç kiralitesidir. Doz azaltımı, daha az yan etki ve doz-cevap ilişkisinin daha kesin tahmin edilmesi gibi avantajlardan ötürü tek enantiyomerlere artan bir ilgi vardır (Shamsipur,2007). Bundan dolayı, enantiyomerik olarak saf ilaçların hazırlanması, enantiyoseçimli sentezleri ve rasemik ilaçların ayrımı konuları, günümüzün en önemli araştırma konularıdır. Bu amaçla, karbon elektrotlar gibi gelişmiş fizikokimyasal özelliklere sahip nanomalzemeler, elektrokimyasal sensörlerin daha seçici ve daha hassas bir şekilde geliştirilebilmesi açısından bu çalışma kapsamında kullanılmıştır.

1.6. Grafit ve Karbon Nanotüp Nedir?

Karbon atomunun tabiatta, fulleren, karbon nanotüp, grafit ve grafen olmak üzere dört farklı şekilde bulunur. Karbon allotroplarının özellikleri Çizelge1.2'de karşılaştırılmıştır (Hsiao ve ark., 2011; Choi ve ark., 2012).

Çizelge 1.2. Karbon allotroplarının özelliklerinin kıyaslanması.

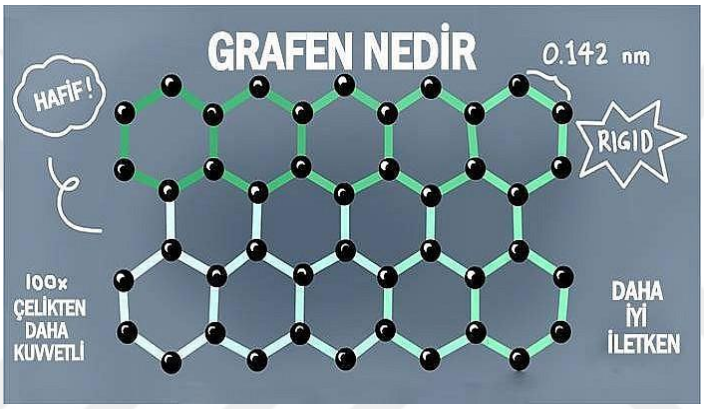
Özellik	Grafen	Karbon Nanotüp	Grafit	Fulleren
Yüzey alanı (m^2 /g)	2630	1315	10	5
Termal iletkenlik (W/mK)	5000	>3000 (çok duvarlı knt)	3000	0.4
Mobility (cm^2/Vs)	Serbest halde 200.000, SiO üzerinde 15000	100000	13000	0.56
Young modülü (TPa)	1	0.64	1.06	0.01
Optik geçirgenlik (%)	97.7	-	-	-

En yumuşak malzemelerden biri olarak bilinen grafit, karbonun en geniş ölçüde bulunan allotropudur. Grafitte karbon atomları, iki boyutlu düzlemde birbirlerine bağlanmaktadırlar ve buda altıgen bal peteği görünümü biçiminde ve üst üste çökmüş geniş, yayvan ve düz levhalar oluşturacak formdadır. Düzlemler arası bağlar zayıf olup düzlem içi bağlar kuvvetlidir. Bundan dolayı karbon tabakalar birbirlerinin üzerinden kolaylıkla kaymaktadırlar. Bu 4 özellik, grafitin iyi bir yağlı dokuya sahip olduğunu gösterir (Çuhadaroğlu ve Kara, 2018). Yağlayıcı özelliği ile oldukça yumuşak ve ince levhalar halinde bükülme özelliğine sahip olup sertliği 1, yoğunluğu 2 g/cm^3 dolaylarındadır. Grafitin çizgi rengi, kül renginde olup griden siyaha doğru değişen tonlarda rengi de bulunmaktadır (Uysal, 2012a; 2012b; 2012c; EU Report, 2014). Grafit yapısında karbon atomunun son orbitalindeki elektronların üç tanesi öteki atomların elektronları ile bağ yaparlar ve bir elektron ise serbest durumda dolaşır. Bağ yapımına katılmayan bu serbest elektrondan dolayı grafit, iyi iletken özelliği sergiler. Grafit kurşun kalemin ana bileşeni olmasına rağmen, iyi bir iletken olması ve yüksek sıcaklıklara dayanabilmesi özellikleri ile elektronik sanayi, çelik demir sanayi, akü elektrotları ve çeşitli büyük ölçekli endüstriyel uygulamalarda geniş ölçüde kullanılmaktadır (Cha ve ark., 2013; Reddy ve ark., 2017).

Grafit, grafenin temel kaynaklarından birisidir (Tufan ve Batar, 2015).

1.6.1. Grafen nedir?

Grafitin tek katmanlı yapısına sahip olan grafen, tümüyle karbon atomlarının sp^2 hibritli yapısından oluşan grafit yapısının tek katmanlı halidir. Tek atom inceliğinde olduğundan dolayı iki boyutlu olarak kabul edilir. Kovalent bağ ile bağlı karbon atomlarının altılı bal peteği görünümünde mükemmel bir şekilde sıralanmasıyla oluşturduğu seçkin özelliklere sahip bir nanomateryaldir (Fuchs ve Goerbig, 2008; Roberts ve ark., 2010). Grafen yapısında karbon-karbon arası bağ uzunluğu 0,142 nm'dir (Singh ve ark., 2011) .



Şekil 1.16. Grafen'in yapısı ve özellikleri.

Grafen;

- ✓ Keşfedilen ilk 2 boyutlu kristaldir
- ✓ Dünya da elde edilen en ince nesnedir
- ✓ Tüyden hafiftir
- ✓ Dünyanın en kuvvetli maddesidir
- ✓ Elmastan daha serttir
- ✓ Çelikten 100 kat daha sağlamdır
- ✓ Elektriği bakırdan çok daha iyi iletir
- ✓ Saydamdır
- ✓ Bükülebilir bir maddedir
- ✓ Büyük spesifik yüzey alanı, yüksek sıcaklık direnci (-75 ile +200℃ arasında grafenin özelliklerinde bir değişiklik gözlenmiyor), biyouyumlulukgibi avantajlı özelliklere sahiptir (Liu ve ark., 2012; Tang ve ark., 2012).

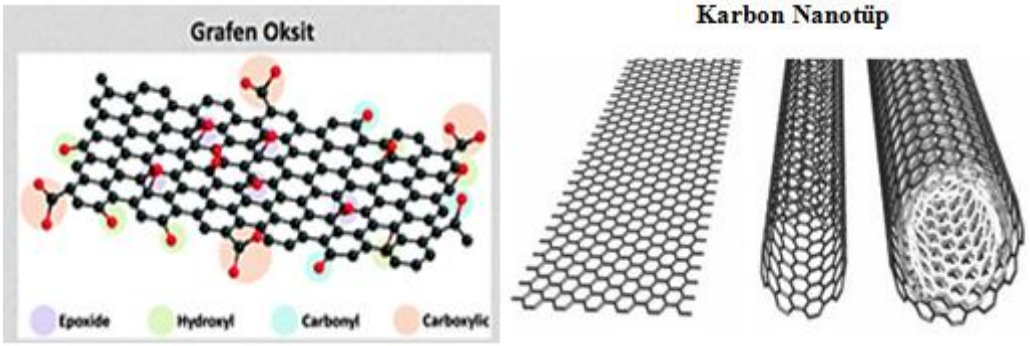
Grafen;geleceğin süper molekülü olarak ifade edilmektedir. Yüksek nitelikli seri grafen üretiminin sağlanması ile elektrikli araç teknolojileri, kurşun geçirmeyen çelik yelek üretimi, uçak ve otomobil sanayiine kadar hemen hemen çoğu yerde grafen kullanılması tasarlanmaktadır (Tufan ve Batar, 2015).Grafenin yükseltgenmiş iki türevi vardır. Bunlar grafen oksit (GO) ve indirgenmiş grafen oksittir (rGO) (Suvarnaphaet ve Pechprasarn, 2017).

1.6.2. Grafen oksit ve karbon nanotüpnedir?

GO, grafitin oksidasyonu sonucu oluşan bir grafen türevidir. GO, suda çözünürlüğü yüksektir ve düşük elektriksel iletkenliğine sahiptir.GO'in sulu çözeltilerde çok iyi çözünürlüğe sahip olması temel olarak, yapısında hidroksil, epoksit, karboksil ve karboksilik gibi oksijen atomu açısından zengin hidrofilik gruplar bulundurmasından kaynaklanmaktadır. (Kotov, 2006).

Oksijen fonksiyonelleri, grafen oksite öteki moleküller ile bağlanma olanağı tanır. Bu özellikleri nedeniyle grafen oksit için geniş kullanım alanları bulunmaktadır. GO levha yüzeyindeki yüksek oksijen fonksiyonelliğinin yoğunluğu, grafen oksiti büyük oranda hidrofilik forma getirir ve bu şekilde oldukça kararlı, sulu dispersiyonlar elde edilebilir (Hummers ve Offeman, 1985; Niyogi ve ark., 2006). Dolayısıyla, sulu dispersiyonlar pekçok uygulamada sınırlı ilgi alanında bulunmaktadır. Bu sınırlama özellikle polimerlerin çoğu sadece organik çözücülerde çözündüğünden polimer bazlı nanokompozitlerin hazırlanmasında geçerli olmaktadır. Esasen, son zamanlarda yapılan çalışmalarda grafenlerin organik çözücüler içindeki dağılımına ilgi artmaktadır (Liang ve ark., 2009; Villar-Rodil ve ark., 2009).

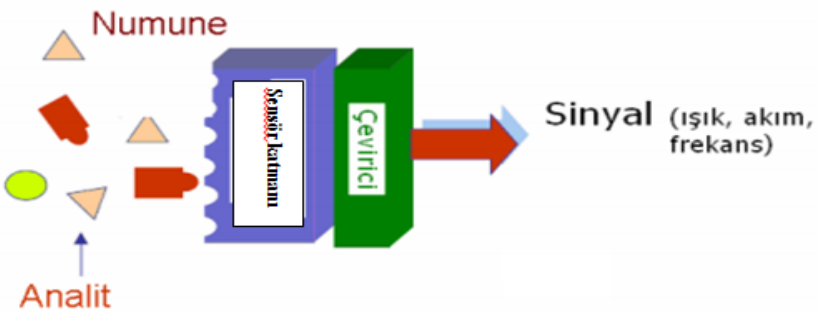
Karbon nanotüpler, C-C sp2 bağ yapısının kısa olmasından dolayı elmastan daha güçlüdür. Buna ek olarak grafittabakalarının birbirleri üzerinde kolaylıkla kaymasını sağlayan nispeten çok zayıf olan Van der Waals bağları bulunur. Literatürde, tek cidarlı karbon nanotüp, iki cidarlı karbon nanotüp ve çok cidarlı karbon nanotüp olmak üzere üç farklı yapıda karbon nanotüp vardır. Tek cidarlı karbon nanotüpler, yalnızca bir grafit tabakasının yuvarlatılmasıyla oluştuğu için diğerlerine göre daha dayanıklıdır (Fan, 2007). Çünkü Çok cidarlı karbon nano tüpler iç içe geçmiş eş merkezli tüplerden oluşur ve buda tüplerin birbirleri içindekayabilme ihtimalleri bulunduğundan dayanımlarını düşürür (Lordi ve Yao, 1999).



Şekil 1.17. Grafen ile CNT yapısı ve özellikleri.

1.7. Sensörler

Sensör, analitin direk ölçümü için kullanılan küçük bir dedektördür. Tayini gerçekleşecek olan analit ve sensörün tanıyıcı tabakasına takılmış olan numune ile, sensör yüzeyinde bir etkileşim meydana gelir. Bunun sonucunda oluşan farklılık, ortaya çıkan bir kimyasal madde ya da başlangıçta ortamda bulunup daha sonra etkileşme ile kaybolan bir kimyasal madde gibi numunenin, bir elektrokimyasal değişikliğe uğramasına (elektriksel potansiyel ya da akım değişimi vb.) sebep olur. Dolayısıyla etkileşim sonucu ortaya ısı çıkar ya da kaybolur; optik özellikler değişir ya da kütle değişimi gözlenir. Cihazdaki çevirici birimi bu değişimi okur ve ortaya çıkan değişmeleri elektriksel, optik, kütle değişimi ya da termal sinyallere dönüştürür. Bu sinyal, elektronik kısım tarafından değerlendirilir ve sayısal, okunabilir verilere dönüştürülür (Coulet, 1991).



Şekil 1.18. Sensörün çalışma mekanizması.

Çeviriciye göre sensörler;

- ✓ Optik,
- ✓ Piezoelektrtik,
- ✓ Termal ve
- ✓ Elektrokimyasal sensörler

olmak üzere dört gruba ayrılırlar. Optik sensörler, kimyasal bir tepkimeden sonra adsorbe edilen ya da yayılan ışığın ölçülmesi prensibine dayanır. Bu çeşit sensörlerde ışık dalgaları dedektöre optik fiberlerle ilerlerler. Termal sensörler, analitin uygun bir komponentle beraber kimyasal tepkime sonucu açığa çıktığı ısıyla beraber analitin tayinini yaparlar. Piezoelektrik sensörler, doğal bir anizotropik kristalin mekanik strese bağlı tutulmasıyla meydana gelen elektrik dipolü ilkesine göre çalışırlar. Analit adsorbsiyonu kristalin kütlesini artırır ve esas salınım frekansını değiştirirler. Sensörlerin bazı dezavantajları vardır. Mesela optik sensörler oldukça iyi duyarlı olmasına rağmen bulanık ortamlarda, termal sensörler ise epeyce küçük ısı değişikliğinin olduğu sistemlerde kullanılamaz. (Chaubey ve Malhotra, 2002)

Bu sensörlerde ortaya çıkan çoğu dezavantajın üstesinden elektrokimyasal sensörler gelmiştir.

1.8. Elektrokimyasal Yöntemler

Elektrokimyasal sensörler günümüzde en çok kullanılan sensörler haline gelmiştir. Elektrokimyasal sensörler, üzerinde bir ya da birden fazla katalizör taşıyan elektrotların kullanıldığı sistemlerdir. Elektrokimyasal sensörlerde elektrokimyasal türler, bir elektrokimyasal dedektör tarafından ölçülebilen bir elektriksel sinyal oluşturarak harcanır ya da üretilir. Bu sensörler, bulanık ortamlarda kullanılabilirler, oldukça düşük duyarlılığa sahiptirler, küçük boyutlardadırlar ve ucuzdurlar. Teknolojinin gelişmesiyle birlikte elektroaktif özellik gösteren çesitli kimyasal maddeler, uygun sensörler geliştirilerek daha kolay, daha çabuk ve daha duyarlı tayin edilebilmişlerdir (Erdem, 2010).

Pek çok ilacın etken maddesi olan kiral bileşiklerin enantiyomerlerini yada kiral olmayan diğer izomerik bileşikleri ayırmada farklı yöntemler kullanılarak birçok çalışma gerçekleştirilmiştir. Örneğin, HPLC ve spektrometrik metotlar kullanılmıştır.

Ancak maddelerin eser miktarlarının bu metotlarla tayininin ayırma ve girişim etkisinden dolayı zor olduğu bilinmektedir ve bu yöntemler pahalı ve zaman alıcıdır. Bu sebeple elektroanalitik metotların geliştirilmesi ile bu problemler ortadan kalkmakta ve çok sayıda analiz kısa sürede yapılabilmektedir. Elektrokimyasal metotların diğer analitik metotlara kıyasla avantajları bulunmaktadır. Bunlar;

- ✓ Ucuz olması
- ✓ Seçici olması,
- ✓ Çok az numune ile çalışılabilmesi,
- ✓ Alt tayin sınırının düşük olması (LOD),
- ✓ Doğrusallık aralığının geniş olması,
- ✓ Çok farklı elektrotlarla çalışılabilmesi

olarak sıralanabilir.

Bu çalışmada voltametrik yöntemler kullanıldı.

1.8.1. Voltametrik yöntemler

Voltametri, genellikle elektrot potansiyelinin değişmesi ile elektroanalitik hücreden geçen akımın ölçülmesine dayanan elektroanalitik metotlara denilmektedir. Uygulanan gerilimin ölçülen akım değerine karşı çizilen grafiğine ise "voltamogram" adı verilir. Voltametride herhangi bir maddenin elektrokimyasal davranışını incelemek için elektroda uygulanabilecek gerilim aralığının sınırları, kullanılacak çalışma elektrodu, kullanılan çözelti ve elektrolitin türleri belirlenmelidir**.**Voltametride uyarma sinyalleri, bir mikroelektrot içeren elektrokimyasal hücreye değiştirilebilir bir gerilim uyarma sinyali uygulanır. Bu uyarma sinyali, özel bir akım yanıtı oluşturur(Şiranlı, 2016).

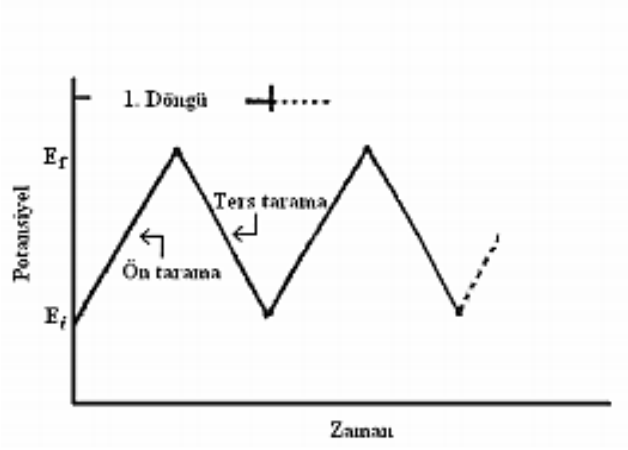
1.8.1.1. Dönüşümlü voltametri (CV)

Bir çözeltide pasif durumda bulunan çalışma elektroduna uygulanan potansiyel polarizasyon dalgasının düzenli bir biçimde değiştirilmesi sonucu meydana gelen akım-potansiyel davranışını inceler. CV, kalitatif analiz için en sık kullanılan elektrokimyasal metottur (Wang, 2006; Zorluoğlu, 2012) ve susuz çözeltilerdeki elektrokimyasal

çalışmalarda en kullanışlı metotlardan biridir. Özellikle, kararsız bir ara ürün ya da ürün içeren elektrot tepkimelerinin analiz edilmesinde yararlı bir yöntemdir. Elde edilen voltamogramlar incelenerek tepkime mekanizmaları öngörülebilmekte ve kararsız türlerin termodinamik ve kinetik özellikleri saptanabilmektedir. Ayrıca, elektrokimyasal ve kimyasal tepkimelerin her birinin farklı tepkime hızları ve tersinirlikleri mevcuttur. Bu olguların tümü, voltamogramlara yansır. Potansiyel aralığı, tarama hızı, sıcaklık, elektrodun cinsi, çözeltinin bileşimi gibi farklı parametreleri değiştirerek bir elektrot tepkimesinin CV'si alındığı ve voltamogramlar düzgün bir biçimde analiz edildiği sürece elektrot reaksiyonuyla ilgili bilgi edinilebilmektedir (Izutsu, 2002).

CV yönteminin kantitatif maksadıyla kullanımının seyrek olması, elektrokimyasal reaksiyonlar hakkında kalitatif bilgi edinilmesinde en sık kullanılan yöntemdir. Bunun sebebi, redoks olaylarının termodinamiği, heterojen elektron-transfer tepkimelerinin kinetiği ve akabinde kimyasal tepkimeler ve adsorpsiyon olayları hakkında güvenilir bilgileri seri bir biçimde sağlamasıdır.

Elektroanalitik çalışmalarda çoğunlukla birincil olarak uygulanan, deneysel basamaktır. Özellikle, elektroaktif formların redoks potansiyellerinin yerinin seri bir şekilde tespit edilmesinin ve ortamın redoks tepkimesine olan etkisinin değerlendirilmesini sağlar (Wang, 2000).



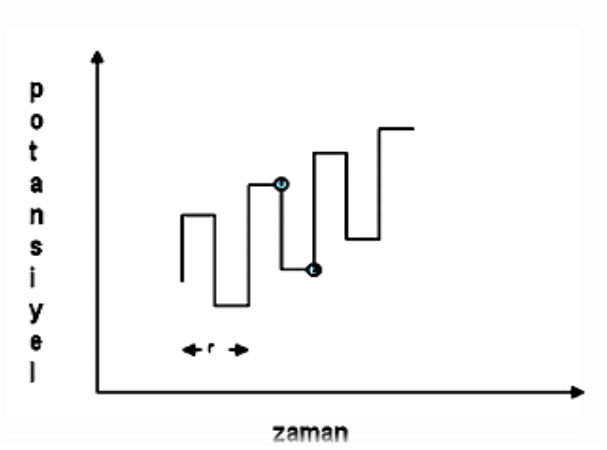
Şekil 1.19. Dönüşümlü voltametri için uyarma sinyali.

Şekil 1.19'de potansiyel E_1'den E_2 değerine kadar belirli bir hızla taranmasının ardından, taramanın yönü aksine çevrilerek genellikle aynı hızla E_1 değerine varır. CV ile durgun sistemde, üçlü elektrot sistemi vasıtasıyla çalışılır. Burada hızı difüzyon belirler. Analitin yükseltgenmesi ve indirgenmesi voltamogramda görülebilmektedir. İlk taramanın yönü, numune bileşimine bağlı olarak negatif yada pozitif yönde olabilir. Çoğunlukla çevrim süresi 1 ms ya da daha kısa süreden 100 s ya da daha uzun süre aralığında olabilmektedir. CV'in detaylı analiz edilmesi, bir sistemin hangi gerilimlerde ve kaç adımda indirgenip yükseltgendiğini, elektrokimyasal bakımdan tersinir durumlarını, elektrot reaksiyonunun bir çözelti tepkimesiyle beraber hareket durumlarını, indirgenme ya da yükseltgenme ürünlerinin kararlılık durumlarını, elektrot reaksiyonunda rol oynayan maddelerin yüzeye tutunma durumlarını rahat bir şekilde anlamayı mümkün kılmaktadır.

1.8.1.2. Kare dalga voltametrisi (KDV)

Oldukça duyarlı ve hızlı olma gibi üstünlükleri bulunan bir puls polarografi tekniğidir. Voltamogramın tümü 10ms'den daha kısa sürede elde edilmektedir. Etkili tarama hızı fxΔEs ile verilir. Burada KDV'de frekans (Hz) "f "terimi ve ΔEs simgesi ise "basamak yüksekliğini (mV)" ifade eder. Örneğin, basamak yüksekliği 10 mV ve KDV frekansı 50 Hz ise, etkili tarama hızı 0.5 V s^{-1} 'dir. Bundan dolayı, analiz süresi fazlasıyla kısalmakta ve tam bir voltamogram birkaç saniyede kaydedilebilmektedir.

Bu süre, DPV'de ise 2–3 dakika civarındadır. Kinetik çalışmalarda bu hızlı tarama özelliğinden faydalanılmaktadır (Mirri ve ark., 2010) .

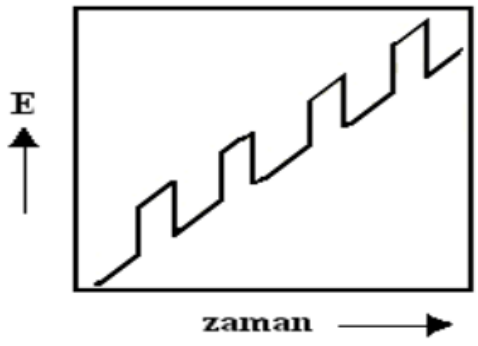


Şekil 1.20. Kare dalga voltametrisi için uyarma sinyali.

Şekil 1.20'de kare dalga voltametrisinde elde edilen basamaklı sinyal görülmektedir. Basamaklı sinyalde her basamağın boy ve puls periyodu eşittir ve bu 5 ms dolaylarındadır. KDV'nin süresinin daha kısa oluşuyla birlikte tayin sınırının 10^{-7} ile 10^{-8} M ile düşük olmasından ötürü elektro analizde yaygın kullanılan bir metottur (Skoog, West ve Holler 1996).

1.8.1.3. Diferansiyel puls teknikleri (DPV)

Bu teknik elektroanaliz ve elektrokimyasal çalışmalarda kapasitif akımı faradayik akımdan ayırmak için kullanılır. Bu metotlarda faradayik akımın oranı kapasitif akımın oranından yüksektir. Uygulamadaki akımın ölçülme biçimine göre bu çalışma elektroduna uygulanan puls ayarlanmaktadır. Elektroaktif türün çoğu eser miktarlarının tayininde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. DPV, sıklıkla tercih edilen puls tekniğidir. Bu teknikte yavaş bir şekilde artan bir doğrusal akım sinyali üzerine, yükseklikleri sabit voltaj pulslarının üst üste birleşrilmesiyle meydana gelen uyarıcı sinyal kullanılmaktadır. Akım, pulstan ya önce ya da pulsun sonuna doğru iki kez ölçülür ve arasındaki fark alınıp sinyal olarak kaydedilmektedir (Bard ve Faulkner, 2001). DPV, elektroaktif türlerin kantitatif analizi için en sık kullanılan elektroanalitik metotlardan biridir. Bu metotla analite bağlı olarak gözlenebilme sınırı 10^{-8} M'a kadar indirilebilmektedir. Bunun yanı sıra seçimliliği de yüksektir (Wang, 2000; Kaçar, 2010).



Şekil 1.21. Diferansiyel puls voltametrisi için uyarma sinyali.

Voltametride deneyler bir hücre içerisinde üçlü elektrot sisteminde gerçekleşir. Deneylerde çalışma elektrotlarının farklı birçok türü kullanılabilir. Bu elektrotlar; camsı karbon, civa, altın, platin, nikel, grafit, karbon pasta vb. elektrotlar olabilmektedir. Potansiyeli değişen elektrot, 'çalışma elektrodu' olarak adlandırılır. Çalışma elektrodu üzerinde maddelerin indirgenmesi nedeniyle ortaya çıkan akıma katodik akım, yükseltgenmesi nedeniyle ortaya çıkan akım anodik akım olarak adlandırılır. Çalışma elektrodu;

- İletken özellikte olmalı
- Çalışılan potansiyel aralığında inert özellikte olmalı,
- Negatif potansiyel sınırı yüksek olmalı,
- Kolay işlenebilir özellikte olmalı ve istenilen geometrik şekil kolaylıkla verilebilmelidir.

Referans elektrot, deney süresi boyunca potansiyeli sabit kalan elektrottur. Referans elektrot olarak Ag/AgCl ya da doygun kalomel elektrot yaygın biçimde kullanılır. Ek olarak Tl/TlCl, Hg/HgO, $Hg/HgSO_4$ ve $Ag/AgNO_3$ elektrotları da voltametride referans elektrot olarak kullanılır. Çalışma elektrotları cıva damlası, platin vb. gibi çok farklı materyal ve geometrik yapılardan meydana gelmektedirler.Birçok avantajından ötürü bu çalışmada yüzey baskılı elektrotlar kulllanıldı.

1.9. Yüzey Baskılı Karbon Elektrotlar (SPCE)

Karbon yapılı katı elektrotlar; düşük artık akım iletmesi, zengin yüzey kimyası bulundurması olması, geniş bir gerilim aralığında çalışmaya imkân sağlaması, maliyetinin düşük olması, duyarlılığının yüksek olması ve kimyasal inertliğinden dolayı birçok elektrokimyasal analizde kullanılmaktadır. Metal elektrotların elektron aktarım hızları karbon temelli elektrotlardan daha hızlıdır. Organik bileşikler tarafından kolay bir şekilde kirletilebilen karbonun, yüzey aktivitesi çok yüksektir. Karbon yüzeyinde aktif oksijen grupları içeren grafit tozundaki aromatikhalkaların çeşitli fonksiyonel gruplar (hidrojen, hidroksil, karboksil grupları ve hatta kinonlar) ile bağ yapabilirler. Karbon yüzeyine birçok değişik madde tutturulabilmesinin nedeni bu fonksiyonel grupların varlığıdır (Wang., 2000; Kadayıfçılar, 2003).

Elektrokimyasal analizde elektrot modifikasyonu anahtar bileşendir ve bu da uygun materyal seçilerek sensör performansını artırmayı amaçlar. Karbon gibi nanomalzemelerle sensörlerin çevirici bölümlerinin tasarımının ardından, yüzey alanının geniş olması, uzun ömürlü ve elektron transferinin hızlı olması demektir. Son yıllarda, bu amaçla, karbon türevleri elektrot modifikasyonu için olağan üstü elektronik iletkenliği, yüksek hacim-yüzey oranı, eşsiz yapısı, yüksek spesifik yüzey alanı gibi sebeplerden dolayı sıcak bir konu olmaktadır (Bawazeer ve ark., 2016). SPCE;

- ✓ Akımın referans elektrot içinden geçmesini engellemek için kullanılan "A: Karşıt elektrot"
- ✓ Sabit referans bir potansiyel sağlayan "R: Referans elektrot",
- ✓ Tepkimenin gerçekleştiği elektrot olan "W: Çalışma elektrodu",

olmak üzere üçlü elektrot sistemininden oluşur.



Şekil 1.22. Yüzey baskılı karbon elektrot.

Yüzey baskı teknolojisi; çeşitli mürekkeplerin, plastik materyaller veya seramik, poliester esnek film üzerine baskısından meydana gelir. Karşılaştırma elektrodunun baskısında gümüşe dayalı formülasyonlar, çalışma elektrodunun baskısında platin ve karbon mürekkep formülasyonları yayın bir şekilde kullanılmaktadır. SPCE hazırlamada çoğunlukla kullanılan Karbon mürekkepleri, geniş gerilim aralığında ölçümlerin yapılmasını sağlar (Hart, 1997; Prudenziati, 1994). Özellikle geleceğin biyosensör teknolojisi olarak adlandırılan DNA mikroçip teknolojisinde,bu elektrotların geleceğin elektrotları olarak anılmasının sebebi uygulanabilirliği bakımından epeyce başarılı sonuçlar vermesidir.

Yüzey baskılı karbon elektrotlar (SPCE);

- Çok yönlü modifikasyon,
- Doğrudan yerinde ölçüm,
- Tek kullanımlık olması,
- Ucuz olması,
- Basit ve hızlı olması

gibi çoğu avantajlarından dolayı geleneksel üç elektrotlu sisteme karşı oldukça ilgi görmeye başlamıştır (Tudorache, 2007) .

2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Carcu-Dobrin ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada, Fluoksetinin kiral olarak ayrılması ve uygun bir yöntem geliştirmek için siklodekstrin (CD)) modifiye kapiler elektroforez (CE) kullanmışlardır. Optimal kiral selektörü bulmak için çok sayıda doğal ve türevlendirilmiş, nötr ve iyonize CD türevi taranmıştır. Kapiler, 50 mM POH ile 30 dakika şartlandırmışlardır. Numuneler ve standartlar, kılcalın anodik ucuna hidrodinamik enjeksiyonla (1 s boyunca 50 mbar) enjekte edilmiş ve elektroforetik koşullar: voltaj +20 kV, kılcal sıcaklık 15 ° C, detektör dalga boyu 230 nm, pH 5 olarak çalışılmıştırve fluoksetinin kiral ayrılması için duyarlı, doğrusal, doğru ve kesin optimize koşullarının olduğu kanıtlanmıştır. Lineer aralık2.5-50 (mg/mL) ve LOD değeri 1.69(mg/mL) olarak tespit edilmiştir.

Bawazeer ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada, S - (-) darifenasinin (DAR) R - (+) izomeri varlığında belirlenmesi için iki ayırma tekniği geliştirmişlerdir: İlk yöntem yüksek performanslı sıvı kromatografisidir (HPLC) ve ikincisi kılcal elektroforezdir (CE). Kromatografik HPLC yönteminin geliştirilmesi için kiral ayırma, Da3el CROWNPAK CR (+) (5 μm, 4.0 × 150 mm) kolonunda, S- DAR için (3,3-difenil-1,1-binafiltil) -krown-6 yapılmıştır. 5.5 μm silika destek üzerine kaplamışlardır. Mobil faz sistemi sulu asidik % 70 HClO ve metanol ile pH 2.5 olarak ayarlanmıştır. Bu mevcut mobil faz 0.8 mL dk −1 akış hızında iletilmiştir ve 86 nm'de ayarlanmış UV detektörü kullanılarak ayrım sağlanmışlardır.

CE yönteminde ise enantiyomerler, trietanolamin ile pH 2.5'e ayarlanmış 50 mM fosfat tamponu kullanılarak toplam 31.2 cm uzunluğunda kesilmiş 50 um iç çaplı kaynaşmış-silika kılcal kullanılarak ayırmışlardır. Kiral selektörler olarak yüksek derecede sülfatlanmış a, p CD'leri, hidroksil propil-p-CD ve sülfobütil eter-p-CD gibi çok çeşitli siklodekstrinler (CD'ler) kullanılmıştır. HPLC ve CE yöntemiyle kiral ayırmadaki lineer aralıklar sırasıyla 2.5 ile 50 (mg/mL) arasında ve 40 ila 300 ug mL dir.LOD değerleri sırasıyla 0.67 ve 12.28 (mg/mL)'dir. Önerilen yöntemler, tabletlerde S- DAR'ın ayrılması ve nicelendirilmesi için uygundur. Kromatografik HPLC ve elektroforetik CE yöntemleri ile doğrusallık, doğruluk,

kesinlik, LOD ve sağlamlık açısından doğrulanmıştır. Önerilen yöntemler ile tabletlerde S- DAR'ın ayrılması ve nicelendirilmesi için uygun bulmuşlardır.

Reddy ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada, toplu ilaçlarda pirbuterolün - (±) - enantiyomerlerinin ve seri halinde bağlanan UV ve polarimetrik dedektörlerin kullanıldığı formülasyonların - (±) -enantiyomerlerinin belirlenmesi için basit ve hızlı bir sıvı kromatografik yöntemler geliştirmişlerdir. Enantiomerler çok sayıda ticari HPLC kolonu üzerinde test edildi. Pirbuterol ayrımı, amiloz şiralpak AD-H kolonu üzerinde belirlendi. Mobil faz bileşimleri, optimal kromatografik yöntemleri elde etmek için sistematik olarak incelenmiştir. Seçilen koşullarda yöntemlerin validasyonu, seçilen yöntemlerin her iki enantiyomer çifti için detektörün lineer tepkisi ile seçici ve kesin olduğunu göstermiştir. Kiral ayırmadaki lineer aralık50-400 (mg/mL), LOD değeri ise 0.9 (m /mL) olarak bulunmuştur.

Hefnawy ve ark. (2011)yaptıkları çalışmada,plazma ve farmasötik formülasyonlarda (-) - ve (+) - tertatolol enantiyomerlerinin hassas bir şekilde belirlenmesini sağlayan enantioselektif bir HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. Yöntem, plazmanın numune temizliği içini verimli bir katı faz ekstraksiyonu kullanılmıştır. Geliştirilen yöntem, plazmada tertatolol enantiomerlerin hızlı analizine olanak tanımıştır. Son olarak, farmakokinetik çalışma, geliştirilen yöntem kullanılarak gerçekleştirilebilmiştir. Teratololün enantiyomerik çözünürlüğü, 220 nm'ye ayarlanmış UV saptaması ile Chirobiotic V olarak bilinen bir vankomisin makrosiklik antibiyotik durağan fazda elde edildi. Metanol - glasiye asetik asit-trietilaminden oluşan polar iyonik mobil faz (PIM), 0.8 ml dk^{-1} akış hızında kullanılmıştır. Plazmadaki lineer çalışma aralığı her enantiyomer için 5 -500 (mg/mL), LOD değeri ise 2 (mg/mL) olarak saptanmıştır. Önerilen yöntem, uluslararası uyumlaştırma konferansı (ICH) yönergelerine uygun olarak doğrulanmıştır. Geliştirilen yöntem, plazmada tertatolol enantiomerlerin iz analizleri ve sıçan plazmasındaki tertatolol enantiomerlerin farmakokinetik çalışması için uygulanmıştır. Testin, HPLC ile tertatolol formülasyonları için terapötik ilaç izleme ve kiral kalite kontrolü için uygun olduğu kanıtlanmıştır.

Ozkirimli ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada,insan plazmasındaki doksilamin enantiyomerlerinin belirlenmesi için amiloz tris (3,5-dimetilfenil karbamat) kiral sabit faz (Chiralpak AD-H) kullanılan bir HPLC-diyot dizisi detektörü (HPLC-DAD)

yöntemi kullanılmıştır. Doksilamin enantiomerleri, bir Chiralpak AD-H kolonu üzerinde, n-heksan-2-propanol-dietilaminden oluşan bir mobil faz kullanılarak ayırmışlardır. Doksilamin, yüksek ekstraksiyon verimleri (% 87), tatmin edici hassasiyet (RSD <% 1.05) ve iyi seçicilik sağladığı tespit edilmiştir.Lineer çalışma aralığı 8–40 (mg/mL) ve LOD değeri 0.13 (mg/mL) olarak bulunmuştur. Doksilamin enantiomerleri, endojen plazma bileşenlerinden herhangi bir müdahale olmaksızın iyice ayrımı sağlanmıştır.

Shamsipur ve ark. (2010)yaptıkları çalışmada, Dorzolamid hidroklorürün (4S, 6S) ve enantiyomerinin (4R, 6R) kiral olarak ayrılması için doğrudan bir HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. Dorzolamid (4S, 6S) ve bunun antipodu, bir kiral-alfa (1) -asit glikoprotein kolonu (150 x 4.0 mm, 5 mikrom) üzerinde ayrılmıştır. pH, sıcaklık, akış hızı, tampon konsantrasyonu ve mobil fazın organik değiştiricilerinin enantioselektiflik üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Mobil faz, pH 7.0 olan bir amonyum asetat tamponunda gerçekleştirilmiştir. Yöntem doğrusallık, tekrarlanabilirlik, doğruluk, LOD çin doğrulanmıştır.Kiral ayırma için lineer aralık dorzolamid (4S, 6S) için 0.5-10 (mg/mL) ve enantiyomeri (4R, 6R) için 0.2-5 (mg/mL) aralığında bulunmuştur. İki enantiyomerin LOD değeri dorzolamid (4S, 6S), 0.05 (mg/mL) ve dorzolamid (4R, 6R) için 0 (mg/mL) olarak bulunmuştur. Önerilen yöntem, bir hammaddede ve iki farklı göz damlası örneğinde dorzolamid enantiomer (4R, 6R) tayinine uygulandı.

Dung ve ark. (2008) Etodolak yaptıkları çalışmada,enantiomerlerin safsızlığını belirlemek için bir kılcal elektroforez (CE) yöntemi geliştirilmiştir.(2-Hidroksipropil) -p-siklodekstrin (HP-p-CD), kiral seçici olarak ve ketoprofen kullanmışlardır. Etodolak enantiyomerlerinin ayrılması 15 ° C'de 35 dakika içinde en yüksek çözünürlük fosfat tamponu kullanılarak (4.0 M) pH 6.0 da 15 mM HP-β-CD ve 225 nm'de UV tespiti ile 360'ta referans dalga boyunda gerçekleştirmişlerdir. Bu yöntem, (S) - (+) - etodolakta (R) - (-) – etodolakın % 0.2'sinin belirlenmesine olanak tanımış ve yöntem validasyon gerekli aralıkta yeterli doğrusallık göstermiştir. Kiral ayırma için lineer aralık0.20-4.58 (mg/mL) ve LOD değeri 0.07 (mg/mL) aralığında bulunmuştur.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Katalizör sentezi, deney düzeneği tasarımı, satın alma işlemleri katalizörlerin sentezleme parametreleri hesaplandı ve katalizör sentezine başlandı. İlk olarak Karbon türevleri modifiyeli elektrokatalizörler hazırlandı. Karbon türevlerinden belli bir miktar alınıp saf su ile hazırlanan çözeltinin içerisine CD_x(saykodekstrin γ,α veya β) ilave edildi. 5 saat boyunca karıştırılarak sinerjik bir etki sağlandı. Daha sonra filtre kağıdında süzülerek vakumlu etüvde 70 ^oC de bir gün kurutulmaya bırakıldı.

SPCE yüzeyine kurutulan karbon türevlerinin tutturulması amacıyla optimize edilecek miktar alınıp etonol ilave edilerek yaklaşık 15 dakika ultrasonik banyoda bekletildi. Elektrotun kararlılığını arttırmak amacıyla yeni hazırlanmış 0.1 M PO_4 çözeltisinde elektrot 10 dk boyunca şartlandırıldı. Oda koşullarında kurutulmaya bırakıldı. Daha sonra elektrot argon gazı ile süpürüldü. Temizlenmiş ve kurutulmuş SPCE elektrodu yüzeyine sonik edilmiş karbon türevinden optimize edilecek miktarlar µL olarak damlatıldı ve elektrot oda koşullarında kurutulmaya bırakıldı. Daha sonra katalizörün elektrot yüzeyinden kopmaması için gerekli miktardaki Nafyon µL olarak damlatıldı. Böylece şartlanmış, karbon türevli modifiye siklodekstrin (x-CD) katkılı elektrot hazırlanmış oldu. Hazırlanan elektrot ile bazı rasemik ilaçların elektrokimyasal yöntemler ile kiral ayrımı gerçekleştirildi.

3.1. Kullanılan Kimyasallar

Çalışmalarda kullanılan kimyasallar maddeler ve temin edildikleri firmalar aşağıda verilmiştir.

- ✓ Sodyum Di Hidrojen Fosfat Dihidrat ($NaH_2PO_42H_2O$) - MERCK
- ✓ Disodyum Hidrojen Fosfat Heptahidrat ($Na_2HPO_47H_2O$) - MERCK
- ✓ Etanol 99 % - SİGMA ALDRİCH
- ✓ Karbon Nano Tüp (CNT) – NANOGRAFİ
- ✓ Grafen Oksit (GO)
- ✓ Siklodekstrin Alfa (CDα) – SİGMA ALDRİCH %98
- ✓ Siklodekstrin Beta (CDβ) - SİGMA ALDRİCH % 97

- ✓ Siklodekstrin Gama (CDγ) - SİGMA ALDRİCH % 98
- ✓ Ketoprofen (Rasemik) - SİGMA ALDRİCH
- ✓ Ketoprofen (R) - SİGMA ALDRİCH % 99
- ✓ Ketoprofen (S) - SİGMA ALDRİCH % 99
- ✓ Fluoksetin (Rasemik) - SİGMA ALDRİCH
- ✓ Fluoksetin (R) - SİGMAALDRİCH % 98.5
- ✓ Fluoksetin (S) - SİGMAALDRİCH % 98
- ✓ Nafyon - SİGMAALDRİCH
- ✓ Argon Gazı - % 99.99

3.2. Kullanılan Cihazlar

3.2.1. Elektrokimyasal analiz cihazı

Elektrokimyasal ölçümlerde BioLogic SP-50 elektrokimyasal analiz cihazı kullanılmıştır.

3.2.2. Elektrokimyasal hücre

Elektrokimyasal ölçümlerde elektrokimyasal çalışma hücresi kullanılmıştır.



Şekil 3.1. Elektrokimyasal ölçümlerde kullanılan hücre düzeneği.

3.2.3. Elektrot

Elektrokimyasal analiz ölçümlerinde genellikle üçlü elektrot sistemi kullanılır. Bu çalışmada da üçlü elektrot sistemini tek elektrotta bulunduran SPCE kullanılmıştır. Bu SPCE içerisinde;

- ✓ Referans elektrot olarak Ag/AgCl elektrot,
- ✓ Karşıt elektrot olarak Pt tel,
- ✓ Çalışma elektrotu olarak camsı karbon elektrot (NGCE) bulundurur.

3.2.4. pH metre

Deneylerde kullanılan çözeltilerin ve katalizörün hazırlanma aşamasındaki pH ölçümleri İSOLAB marka pH metre ile yapılmıştır.

3.2.5. Mikropipet

Çalışmalarda 0.5- 10 µL ve 10-100 µL Brand marka mikropipetler kullanılmıştır.

3.2.6. Ultra saf su

Çözeltilerin hazırlanmasında ve diğer tüm işlemlerde(yıkama gibi) kullanılan ultra saf su, HUMAN Zeneer Power 1 marka saf su cihazından sağlanmıştır.

3.2.7. Ultrasonik banyo

Katalizörlerin hazırlanma aşamasında partiküllerin homojen dağılımı, elektrot ve hücre temizliği ve diğer tüm kullanımlarda ISOLAB marka ultrasonik banyo kullanılmıştır.

3.3. Kullanılan Çözeltiler

Fosfat tamponunun hazırlanması

100 mL'lik balon jojeye 1.56 g $NaH_2PO_4.2H_2O$ konularak bir miktar deiyonize suda çözme işleminden sonraçözelti deiyonize su ile 100 mL' ye tamamlanmıştır. Aynı şekilde başka bir 100 mL' lik balon jojeye 2.68 g $Na_2HPO_4.7H_2O$ konularak bir miktar deiyonize suda çözme işlemi yapılarak aynı şekilde çözelti deiyonize su ile 100 mL' ye tamamlanmıştır. Böylece 0.1 M'lık fosfat tamponu hazırlanmıştır. Daha sonra $NaH_2PO_4.2H_2O$ ve $Na_2HPO_4.7H_2O$ karıştırılarak istenilen pH' larda fosfat tamponu elde edilerek, tampon çözelti +4 °C'ta muhafaza edilmiştir.

Ketoprofen Türevleri

5mM ve 10 mL' lik ketoprofen çözeltisi hazırlandı. 0.0127 gr ketoprofen tartılıp cam şişe tüpün içine eklendi. Üzerine 10 mL etonol ilave edilip çözününe kadar el ile çalkalandı. Tam bir karışımın sağlanması için 1 dk ultrasonik banyoda disperse edildi. Ardından oda koşullarında cam tüpün ağzı açık bırakılarak etonolun bir kısmının uçması beklendi. Ölçüm esnasında her bir işlem için 200 µL (0.05 mM) damlatıldı.

Fluoksetin Türevleri

5mM ve 10 mL' lik Fluoksetin çözeltisi hazırlandı. 0.0172 gr fluoksetin tartılıp cam şişe tüpün içine eklendi. Üzerine 10 mL etonol ilave edilip çözününe kadar el ile çalkalandı. Tam bir karışımın sağlanması için 1 dk ultrasonik banyoda disperse edildi. Ardından oda koşullarında cam tüpün ağzı açık bırakılarak etonolun bir kısmının uçması beklendi. Ölçüm esnasında her bir işlem için 200 µL (0.05 mM) damlatıldı.

3.4. Nanopartiküllerinin Sentezi

CDx/Karbon Türevli Nanopartiküllerinin Sentezi

İlk olarak karbon türevli modifiyeli elektrokatalizörler hazırlandı. Karbon türevlerinden 25'er mg alınıpbeherlerin içerisine eklendi. Üzerlerine 50'er mL deiyonize su eklendi ve ultrasonik banyodan 15 dk boyunca disperse edildi. Daha sonra 400mgayrı ayrı CDx türevleri tartıldı ve her biri için ayrı karbon türevli

elektrokatalizörler hazırlanıp, ilave edildi. 24 saat boyunca karıştırılarak sinerjik bir etki sağlandı. Daha iyi çözünme işleminin gerçekleşmesi için 2 saat aralıklarla 30 dk boyunca ultrasonik banyoda tutuldu. Ardından filtre kağıdında süzülerek vakumlu etüvde 70 ^{o}C de bir gün kurutulmaya bırakıldı. Bu işlemler farklı CDx miktarında (100, 200, 300, 500, 600 mg) tekrarlandı.

3.5. Modifiye Elektrot Hazırlama

Elektrotun ölçüm için şartlanma işlemine tabii tutulması gerekmektedir. Bu yüzden 0.1 M pH 8 PO_4 tamponunda 10 mv/s^{-1} hızda -1.4 / +1.4 V aralığında 300 saniyelik şartlama işlemine yapılmaktadır.Sentezlenen katalizörden 5 mg alınarak 1 mL Nafion çözeltisi içinde disperse edilmektedir. Dispersiyon işlemi için 10 dakika boyunca ultrasonik banyoda tutulmaktadır.Hazırlanan katalizör ve nafion karışımından mikropipet yardımıyla 3 µL alınarak şartlanan yüzey baskılı elektrotun 3 cm çapına sahip olan yüzeyi üzerine damlatılmaktadır. Daha sonra elektrot oda sıcaklığında 15 - 20 dakika kurumaya bırakılmaktadır. Böylece modifiye edilmiş elektrotlar elektroanalitik deneyler için hazır hale getirilmektedir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Tez çalışmaları kapsamında karbon nano tüp (CNT/α-CD, CNT/β-CD, CNT/γ-CD) ve grafen oksit (GO/α-CD, GO/β-CD, GO/γ-CD) destekli katalizörler sentezlenerek sırası ile CNT/α-CD/NGCE, CNT/β-CD/NGCE), CNT/γ-CD/NGCE ve GO/α-CD/NGCE, GO/β-CD/NGCE, GO/γ-CD/NGCE elektrotları elde edilmiş ve iki ilacın (Fluoxetin, Ketoprofen) enantiyomerlerinin (*R*- ve *S*) enantiyoseçimli ayırma deneyleri gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen destekli katalizörlerin karakterizasyon sonuçları ayrı bir başlık altında incelenirken, elektrokatalizör tabanlı deneyler, elde edilen her bir elektrot için değerlendirilerek ayrı başlıklar altında bulgular ışığında sunulmuştur.

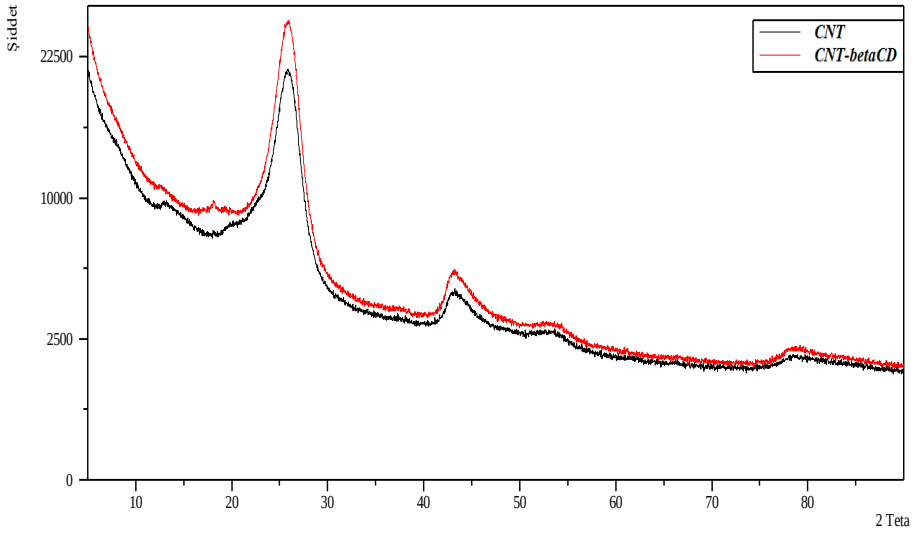
4.1. CNT Destekli Katalizörlerin Karakterizasyonu

Deneylerde kiral ayrımın sağlandığı karbon nano tüp destekli katalizörlerin fiziksel karakterizasyonu XRD ve SEM-EDX teknikleri ile gerçekleştirilmiştir.

4.1.1. CNT/β-CD katalizörü için XRD (x-ışın kırınımı) analizi

CNT/β-CD katalizörü deneysel olarak kiral ayrımın gerçekleştiği katalizör olması sebebi ile yüzey fazlarının ve kristal kafes yapısının belirlenebilmesi için X-Işın kırınım analizlerine başvurulmuştur. Karşılaştırma amacı ile CNT'ye ait pik desenine de yer verilmiştir. Tarama, 2θ değeri 5° ile 65° arasında olacak şekilde yapılmıştır. CNT ve CNT/β-CD katalizörlerine ait XRD desenleri, Şekil 4.1 de verilmiştir. CNT deseni incelendiği zaman grafite ait karbon pikinin C (0 0 2) düzleminde ve 2θ = 25.75° değerinde olduğu görülmektedir (Soleimani ve ark., 2015). CNT/β-CD C (0 0 2) düzlemindeki karbon piki ise 2θ = 25.83° değerinde görülmektedir. CNT ve CNT/β-CD katalizörlerine ait (10 0) ve (0 0 4) düzlemleri sırası ile 2θ = 43.19° ve 53.58° ve 2θ = 43.21° ve 53.90° da elde edildi. CNT'nin β-CD ile modifiye edilirken, tüm (0 0 2), (1 0 0) ve (0 0 4) düzlemlerinde pozitif bir kayma gözlendiği açıktır. Bu durum, CNT'nin tübüler yapısı ile siklodekstrin grup arasındaki etkileşimin CNT yüzeyinde elektronik

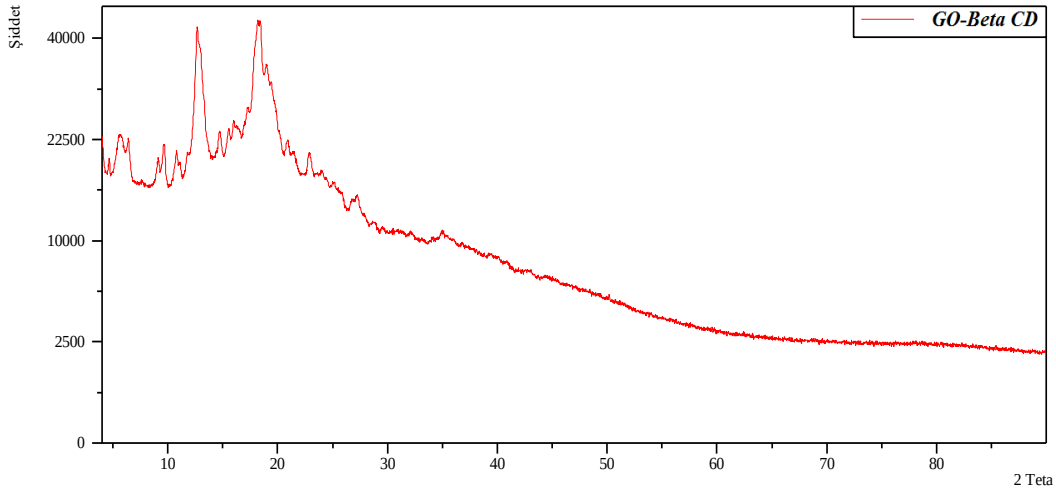
değişime sebep olması ile oluşan modifikasyonun (0 0 2), (1 0 0) ve (0 0 4) düzlemlerinde kaymaya neden olduğu gerçeğine bağlanabilir.



Şekil 4.1. CNT ve CNT/β-CD katalizörlerine ait x-ışın kırınım desenleri.

4.1.2. GO/β-CD katalizörü için XRD (x-ışın kırınımı) analizi

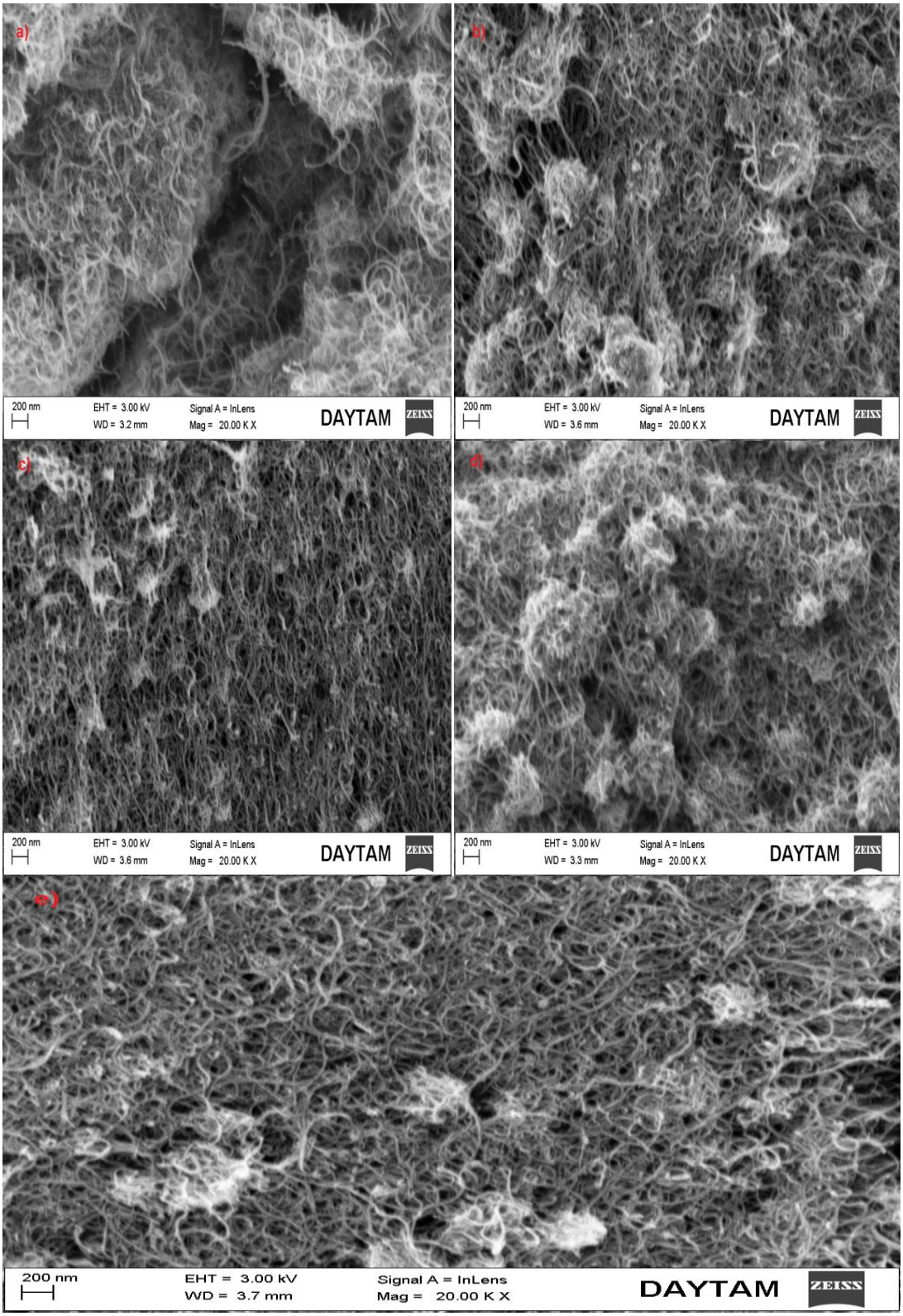
Kiral grupla modifiye edilmiş grafen oksidin (GO- β-CD) XRD deseni Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Grafen oksit (Şekil 4.2), 2θ = 12.6 ° 'de geniş bir piksergilemiştir. Normalde GO piki 11.6º'de gözlemlenir (Sıburıan ve ark., 2018) . Bu durum, GO yüzeyinin β-CD yoluyla modifikasyonunun GO'nun yüzey elektronik özelliklerini değiştirmesine bağlanabilir. 2θ = 18.2°,22.81° ve 27.2°'de GO'nun oksijen atomlarıyla tam olarak birbirine bağlı olmadığına atfedilebilecek bazı küçük pikler gözlemlenmektedir (Gao ve ark., 2009).



Şekil 4.2. GO/β-CD katalizörüne ait x-ışın kırınım desenleri.

4.1.3. CNT/β-CD katalizörü için SEM Analizi

Katalizörlerin yüzey morfolojisinin görsel olarak incelenmesi amacıyla SEM (taramalı elektron mikroskop) görüntüleri çekilmiştir. Öncelikle deneysel olarak kiral tanımanın sağlandığı katalizör olan CNT/β-CD katalizörüne ait farklı β-CD (200mg (a), 300mg (b), 400mg (c), 500mg (d) ve 600mg (e) mg) yükleme sonucu ile elde edilen ve tamamı eşit büyütme faktörüne sahip görüntülere yer verilmiştir. Şekil 4.3 (a-e) incelendiği zaman genel olarak CNT'lerde yıkamadan ve tüplerin birbirini itmesinden dolayı görüntülerde birbirine dolanma ve yapışma gözlenmiştir (Tuinstra ve Koenig, 1970) .

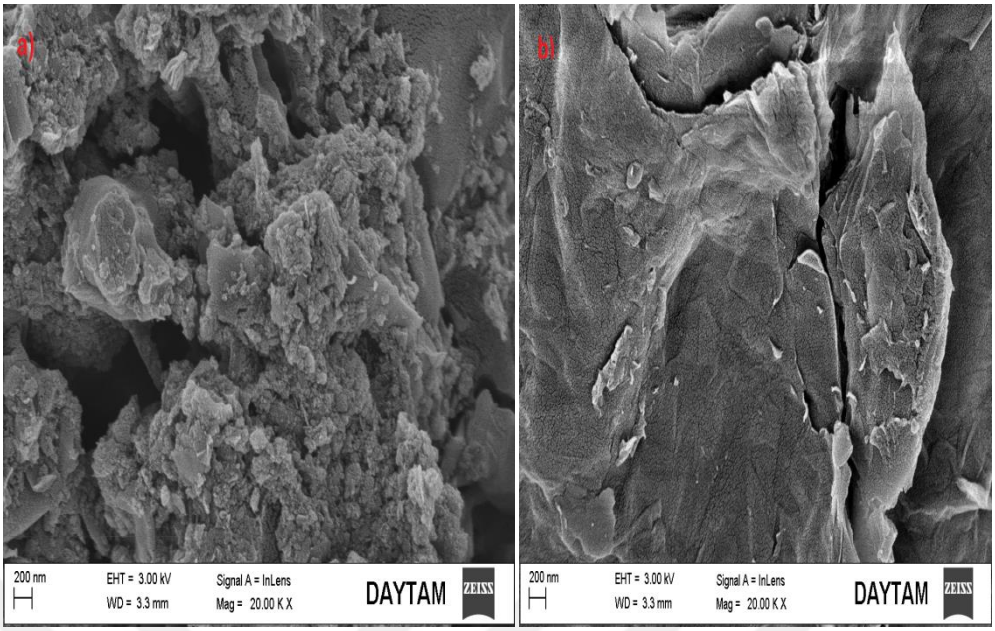


Şekil 4.3. Kiral seçici grubun farklı derişimlerindeki CNT/ (200-600)β-CD katalizörlerine ait SEM görüntüleri.

Şekil 4.3’den çok açık görülmektedir ki, halkalı oligosakkarit olan ve iç kısmı hidrofobik dış kısmı hidrofilik karakter sağlayan toroidal (içi boşluklu) bir yapıya sahip bileşikler olan kiral seçici grup siklodekstrinler, CNTyapısındaki fonksiyonel yüzey gruplarla β -CDiçindeki hidroksil ve amin gruplarınınetkileşimi sonucu çarpraz bağlanarak kompozitler oluşturmuştur. Bununla birlikte yapıya eklenme miktarına göre özellikle 400 mg β-CD kiral seçici grubun SEM görüntüsünün nispeten yüksek homojenlikte ve çarşaf benzeri yapıya sahip olduğu gözlenmektedir(Şekil 4.3 (c)). Bu morfolojik yapının elektrokimyasal karakterizasyon deney sonuçları ile sergilediği uyum ilgili bölümde tartışılacaktır.

4.1.4. GO/β-CD katalizörü için SEM Analizi

CNT/β-CD katalizörü için kiral seçici grubun farklı yükleme miktarı etkisinin oluşturduğu morfolojik yapı analizi detaylı bir şekilde incelendikten sonra, GO/β-CDkatalizörü için elektrokimyasal çalışma sonuçlarına dayanarak sadece 400 mg *β-CD* kiral seçici grubun SEM görüntüsüne yer verilmiştir. Buna ek olarak, kiral seçici grubun İki farklı formunun GO yüzeyine aynı miktarda yüklenmesi ile yüzey morfolojisindeki farklılıkları gözlemlemek için GO/β-CDve GO/α-CDiçin SEM görüntüleri alınmış ve Şekil 4.4'te verilmiştir. Kiral seçici grubun 400 mg beta formu yüklemesi ile elde edilen GO yüzeyi ile 400 mg alfa formunun yüklenmesi ile elde edilenyüzeyler farklı özellikler sergilemiştir (Şekil 4.5 a-b). GO/β-CDiçin yüzey çarşaf benzeri homojen bir morfoloji sergilemiştir ve GO/α-CDyüzeyine benzerküresel nanopartiküller gözlenmemiştir.



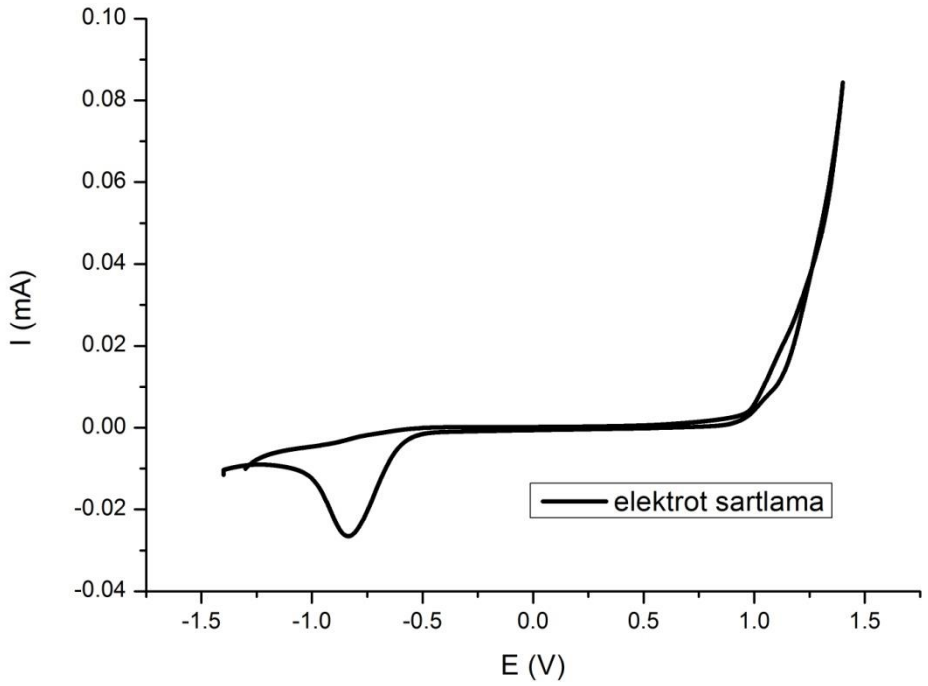
Şekil 4.4. 400 mg (a) GO/α-CD ve (b) GO/β-CD için SEM görüntüleri.

4.2. CNT Destekli Katalizörlerin Elektrokimyasal Karakterizasyonu

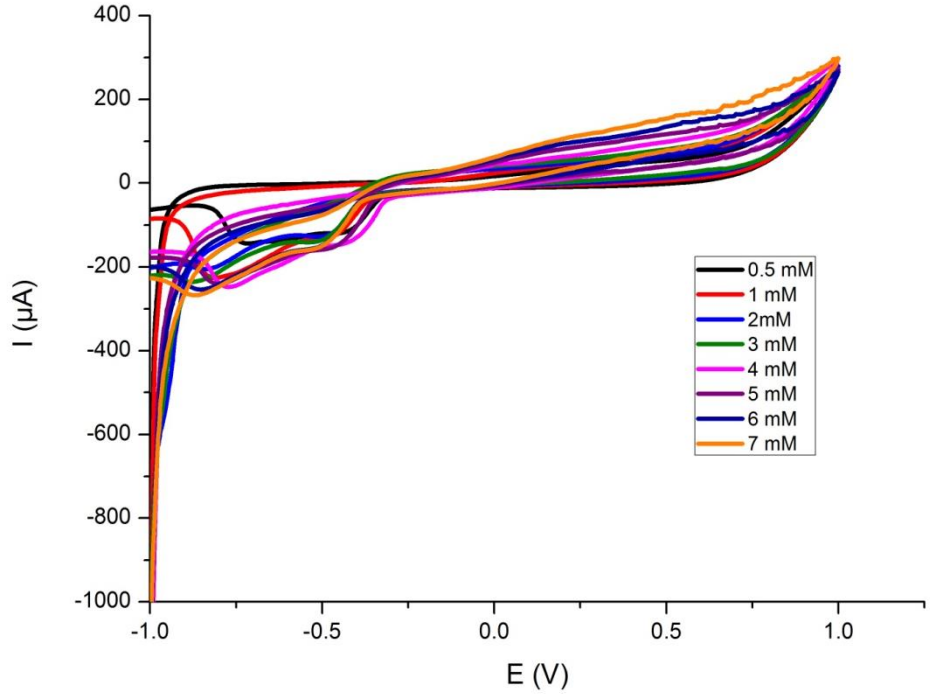
4.2.1. Elektrot şartlama çalışmaları;

Bu tez kapsamında temini sağlanan yüzey baskılı karbon elektrot (SPCE) için aktivasyon deneyleri yapıldı ve elektrot aktivasyonu için en uygun yöntem seçildi. SPCE ile ilgili yapılan literatür çalışmaları elektrotların yüzeylerinin temizlenmesi ve aktivasyonunun, elektrokimyasal ölçümlerde akımın artması, sinyal/gürültü oranının azalması ve tersinmezreaksiyonların azalması gibi önemi sonuçları elde etmemize yardımcı olmuştur.

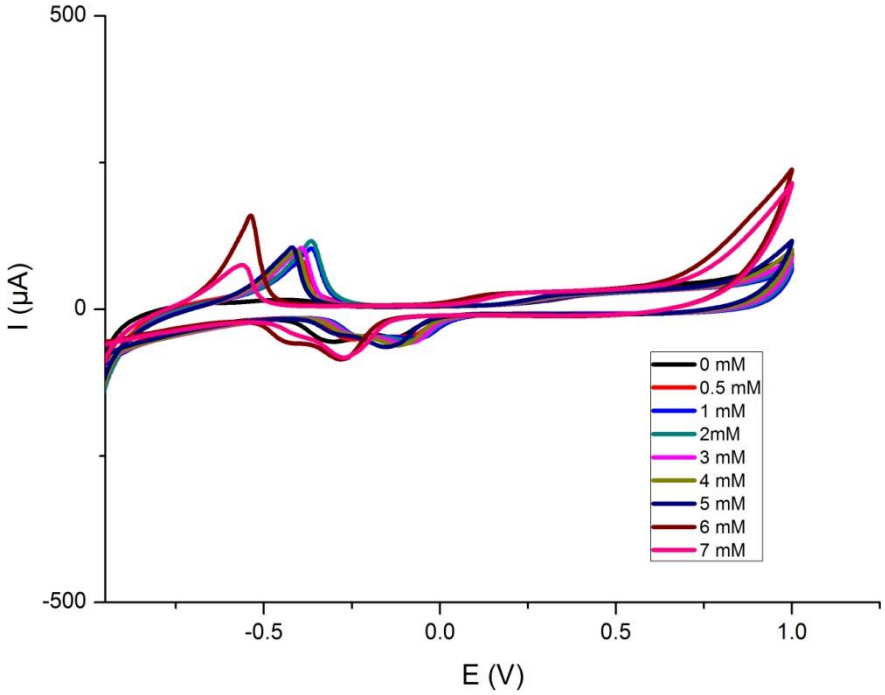
Bu aktivasyon işlemi elektrotun kararlılığını arttırmak amacıyla yeni hazırlanmış 0.1 M pH 8 PO_4 tamponunda 10 mv/s-1 hızda -1.4 +1.4 V aralığında 10 dk boyunca potansiyel uygulanarak karıştırılmayan ortamda aktive edildi. (Şekil 4.5). Daha sonra aktivasyon işlemi farklı H_2O_2 miktarları ile tekrarlandı ve elektrot aktivasyonu için en uygun yöntem seçildi (Şekil 4.6, 4.7 ve 4.8).



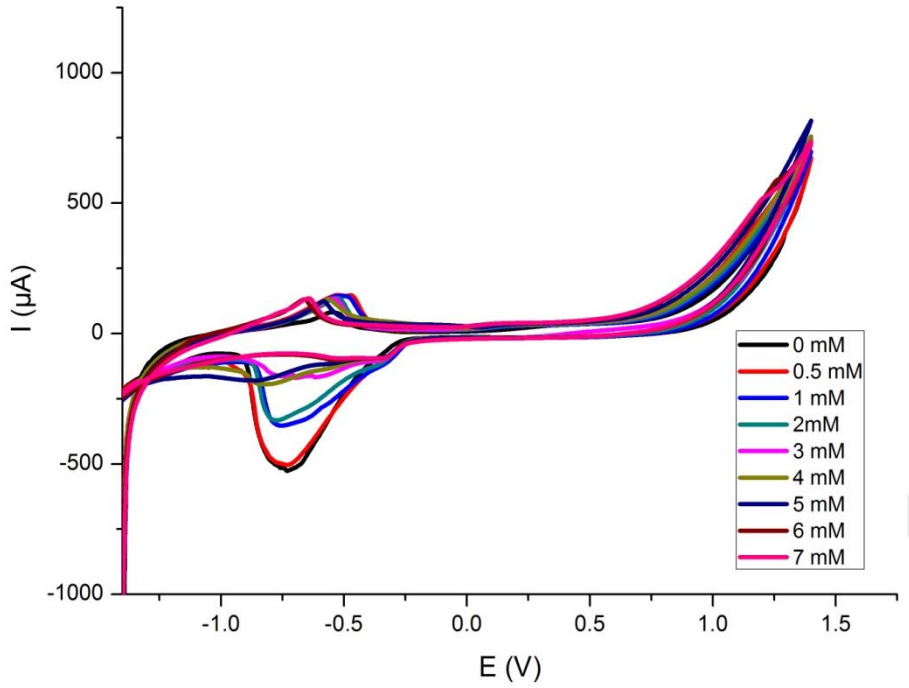
Şekil 4.5. Elektrot Şartlandırma (0.1 M pH 8 PO_4 tamponunda 10 mV/s^{-1} hızda -1.4 +1.4 V aralığında yapılan ölçüm sonuçları).



Şekil 4.6. pH 7, 0.1 M PO_4 tamponunda 10 mV/s^{-1} hızda -1 +1 V aralığında farklı H_2O_2 miktarları ile tekrarlı aktivasyon işlemi.



Şekil 4.7. pH 8, 0.1 M PO_4 tamponunda 10 mV/s^{-1} hızda -1.4 +1.4 V aralığında 10 dk'lık aktivasyon işlemi ve ardından -1 +1 V aralığında farklı H_2O_2 miktarları ile yapılan ölçüm sonuçları.



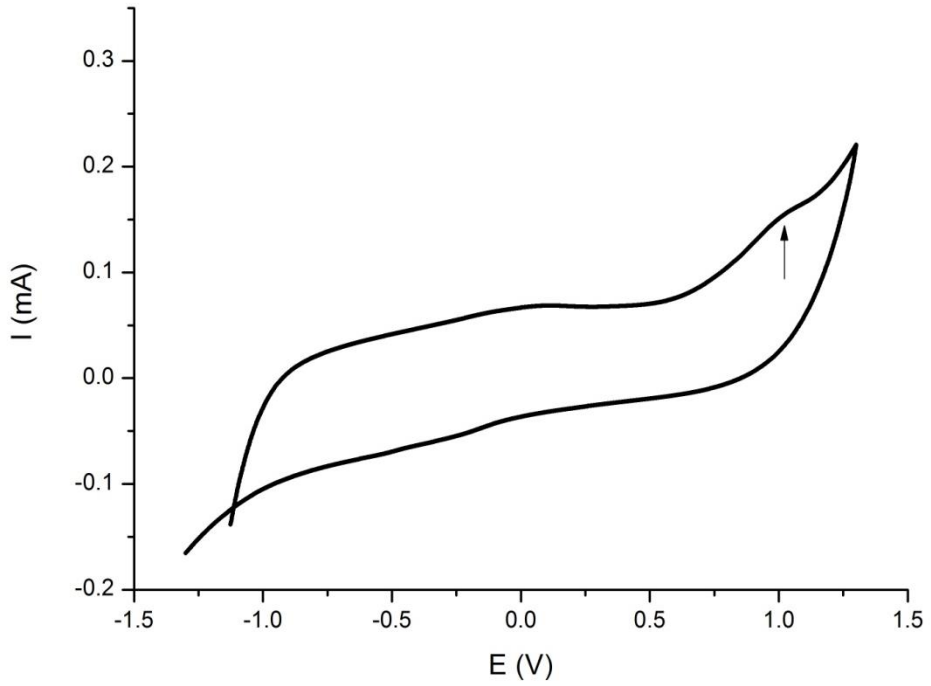
Şekil 4.8. pH 8, 0.1 M PO_4 tamponunda 10 mV/s^{-1} hızda -1.4 +1.4 V aralığında 10 dk'lık aktivasyon işlemi ve ardından -1.4 +1.4 V aralığında farklı H_2O_2 miktarları ile yapılan ölçüm sonuçları.

Aktivasyon çalışmaları çeşitli katalizörler ile yapılmıştır. En uygun aktivasyon yöntemi yukarıda ki şekil 4.5'te belirtilmiştir. Bu aktivasyon 0.1 M pH 8 fosfat tamponu içerisinde + 1.4V'de 10 dk boyunca potansiyel uygulanarak gerçekleştirilmiştir.

Aktivasyon işlemi tamamlandıktan sonra elektrot oda koşullarında kurutulmaya bırakıldı. Daha sonra elektrot argon gazı ile süpürülerek safsızlıklardan arındırıldı. Temizlenmiş ve kurutulmuş SPCE elektrodu yüzeyine sonik edilmiş karbon türevinden optimize edilecek miktarlar µL olarak damlatıldı ve elektrot oda koşullarında kurutulmaya bırakılarak hazır hale getirildi.

4.2.2. CNT/α-CD/NGCE, CNT/β-CD/NGCE ve CNT/γ-CD/NGCE ile elektrokimyasal karakterizasyonlar

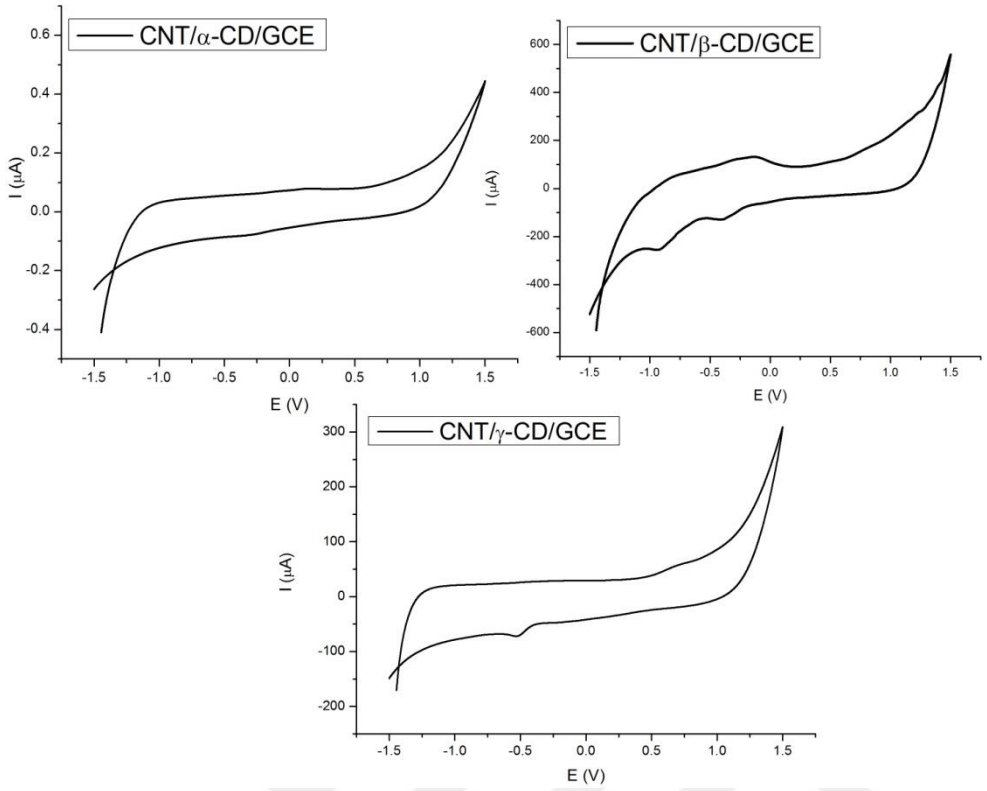
Rasemik ilaçların enantiyomerik ayrımının sağlanması kapsamında hazırlanan deney prosedürü için öncelikle kiral seçici grup olmadan 0.2 mM (R, S) Fluoksetin model ilacının, medyatörsüz ortamda ve 0.1 M fosfat tampon çözeltisi (PBS) içerisinde dönüşümlü voltamogramı (CV) tekniği ile elde edilmiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. NGCE (Nafyonlu), CNT/NGCE'nin 0.2 mM (R, S) Fluoksetin 0.1 M fosfat tampon çözeltisi (pH 7) içeren çözeltideki dönüşümlü voltamogamları.

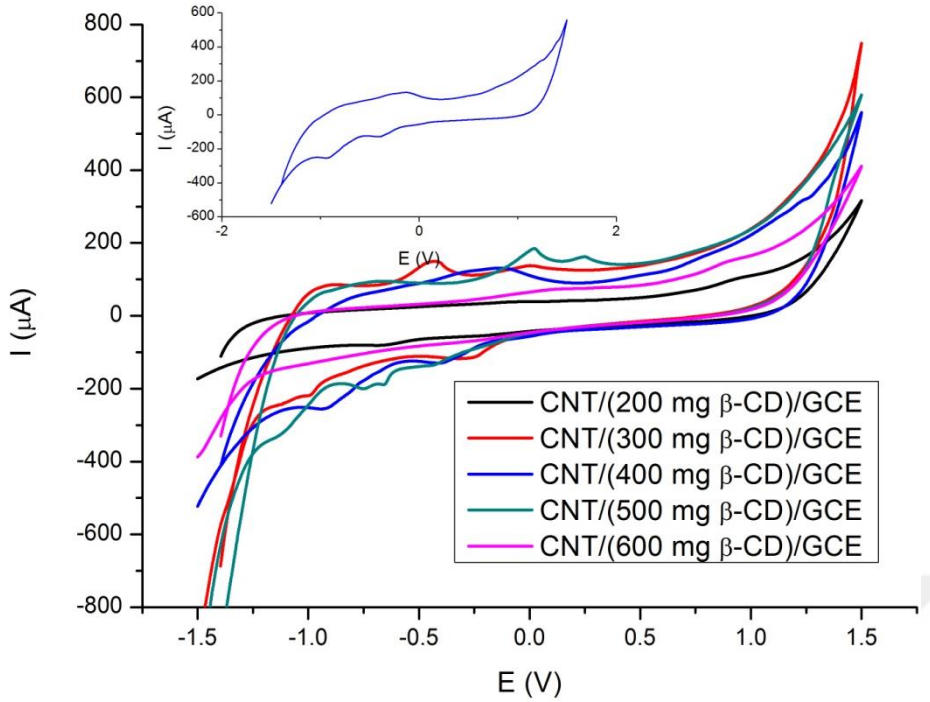
Şekilden görüleceği üzere, CNT/NGCE elektrodu ile ortama eklenen 0.2 mM (R, S) Fluoksetin model ilacı, 1V civarında 150 µA akına sahip zayıf bir oksidasyon piki sergilemiştir. İkinci aşamada ise kiral seçici *(*α, β, γ –CD*)* grubun elektroda bağlanması ile bir dizi deney gerçekleştirilmiştir.

Tez çalışması kapsamında hazırlanan modifiye elektrotların elektrokimyasal karakterizasyon çalışmaları, kullanılan 400 mg kiral seçici(α, β, γ –CD) grup ile öncelikle 0.2 mM (R, S) Fluoksetin model ilacının, medyatörsüz ortamda ve 0.1 M fosfat tampon çözeltisi (PBS) içerisinde dönüşümlü voltametri (CV) tekniği ile elde edilmiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. CNT/α-CD/NGCE, CNT/β-CD/NGCE ve CNT/γ-CD/NGCE'nin 0.2 mM (R, S) Fluoksetin 0.1 M fosfat tampon çözeltisi (pH 7) içeren çözeltideki dönüşümlü voltamogamları.

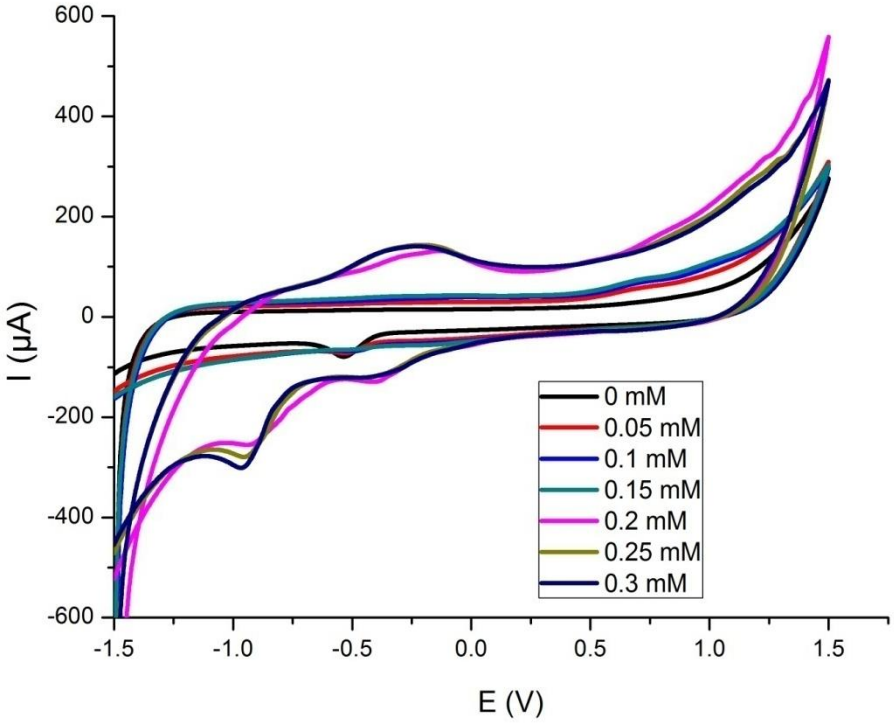
Şekil 4.10'den görüleceği üzere kiral seçici grubun β formu ile modifiye edilmişelektrotta ise -1V (300 μA) ve -0.4V (100 μA) civarında iki indirgenme piki gözlenmiştir. Kiral seçici etkinin CNT/β-CD/NGCE elektrot ile sağlanması ile sonraki çalışmalara kiral seçici grubun farklı derişimlerinin uygulanması ile devam edilmiştir.



Şekil 4.11. Farklı derişimlerdeki CNT/ (200-600)β-CD/NGCE 0.2 mM (R, S) Fluoksetin 0.1 M fosfat tampon çözeltisi (pH 7.0) içeren çözeltideki dönüşümlü voltamogamları.

Model ilaç olan Fluoksetinin 0.2 mM çözelti ortamına eklenmesi ile kiral seçici grup derişimlerinden 400 mg β-CD kiral tanımayı net olarak sergilemiştir. Sonraki çalışmalara CNT/ (400mg)β-CD/NGCE elektrodu ile devam edilmiştir.

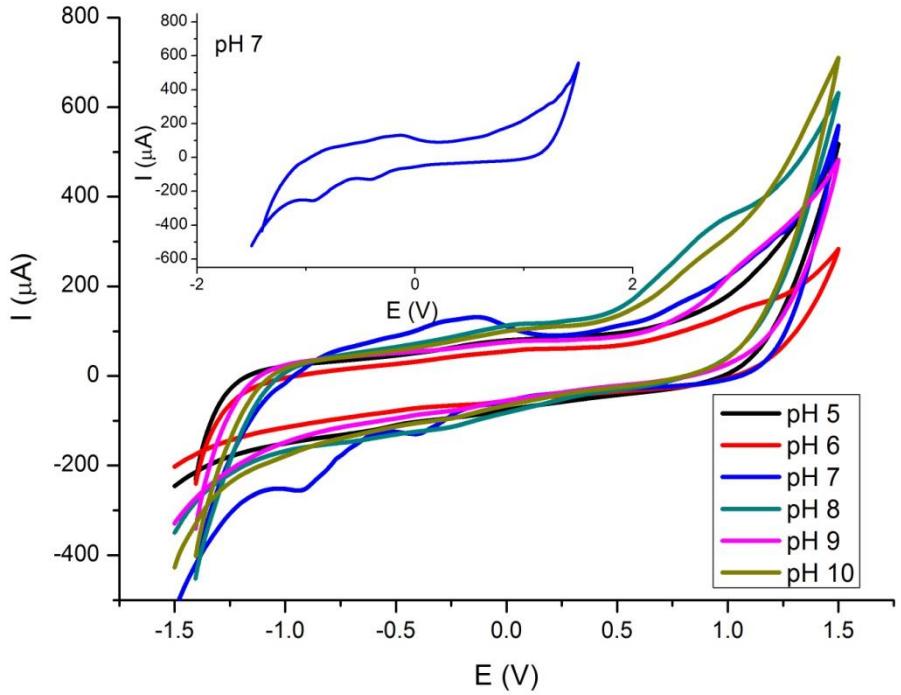
Farklı Fluoksetin derişimlerinin kiral tanımayı nasıl etkilediği çözelti ortamına eklenen artan ilaç derişimleri ile CNT/ (400mg)β-CD/NGCEelektrodu kullanılarak incelenmiştir.



Şekil 4.5. Farklı derişimlerdeki (R, S) Fluoksetinin (0-0.3 mM) CNT/ (400)β-CD/NGCE elektrodu ile 0.1 M fosfat tampon çözeltisi (pH 7.0) içeren çözeltideki dönüşümlü voltamogamları.

Kiral tanıma gerçekleştirilmek istenen (R, S) Fluoksetinin çözelti ortamına 0.3 mM'a kadar eklenmesi ile enantiyomerlerin daha belirgin elde edilmesi üzerine çalışılmıştır. Şekil 4.12'den görüleceği üzere 0.2 mM (R, S) Fluoksetin eklenmesi ile CNT/ (400)β-CD/NGCE elektrodu kiral tanımayı sağlamış ve 0.3 mM'a kadar devam etmiştir.

(R, S) Fluoksetin model ilacın kiral seçiciliği üzerine çözelti pH'sı etkisi incelenmiştir. Bu amaçla 0.1 M fosfat tampon çözeltisi 5-10 aralığında değişen pH derişimlerinde incelenmiştir (Şekil 4.13).

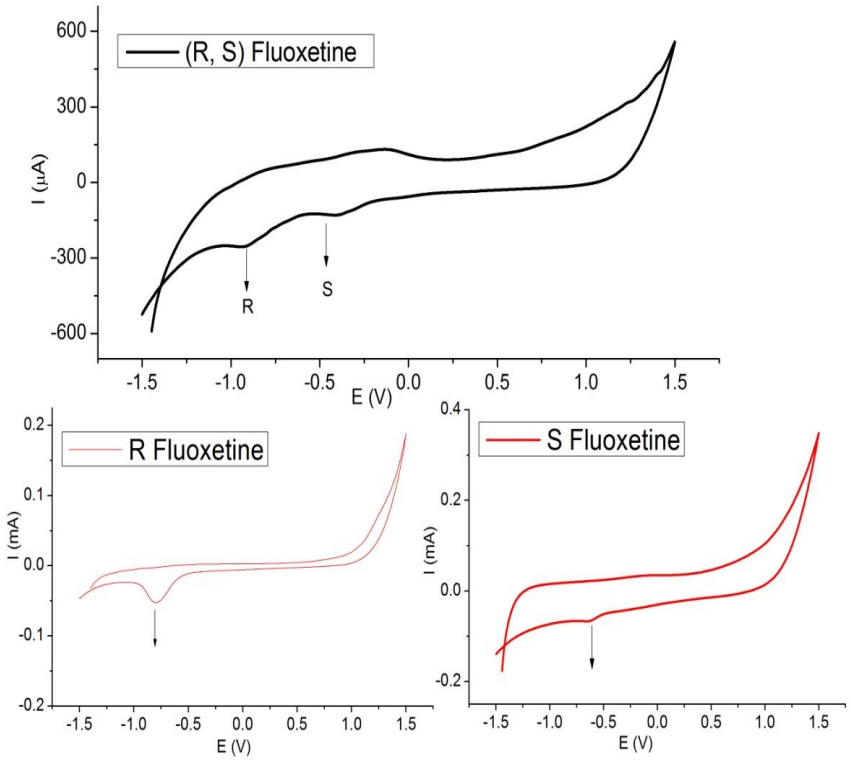


Şekil 4.13. Farklı pH derişimlerindeki (R, S) Fluoksetinin (0.2 mM) CNT/ (400)β-CD/NGCE elektrodu ile 0.1 M fosfat tampon çözeltisiiçeren çözeltideki dönüşümlü voltamogamları.

(R, S) Fluoksetinin çözelti ortamına 0.2 mM eklenmesi ile elde edilen pikler incelendiğinde kiral tanımanın pH 7 de sağlandığı belirlenmiştir. Bu durum, Fluoksetin ilacının pKa değerinin 8.8 +/- 0.6 olmasından dolayı ağırlıklı olarak nötr pH da protonlanmasına atfedilebilir (Emmanuel ve ark., 2010) .

4.2.3. CNT/β-CD/NGCE elektrodu ile R-Fluoksetinin ve S-Fluoksetinin enantiyomerlerinin tanımlanması

Tezin ana teması gereği yapılan elektrokimyasal karakterizasyonlar sonucunda kiral ayırmanın sağlandığı gözlenmiştir. CNT/β-CD/NGCE elektrodu ile son aşama olan R-Fluoksetinin ve S-Fluoksetinin enantiyomerlerinin tanımlanması için karşılaştırmalı olarak voltamogramlar alınmış ve incelenmiştir.



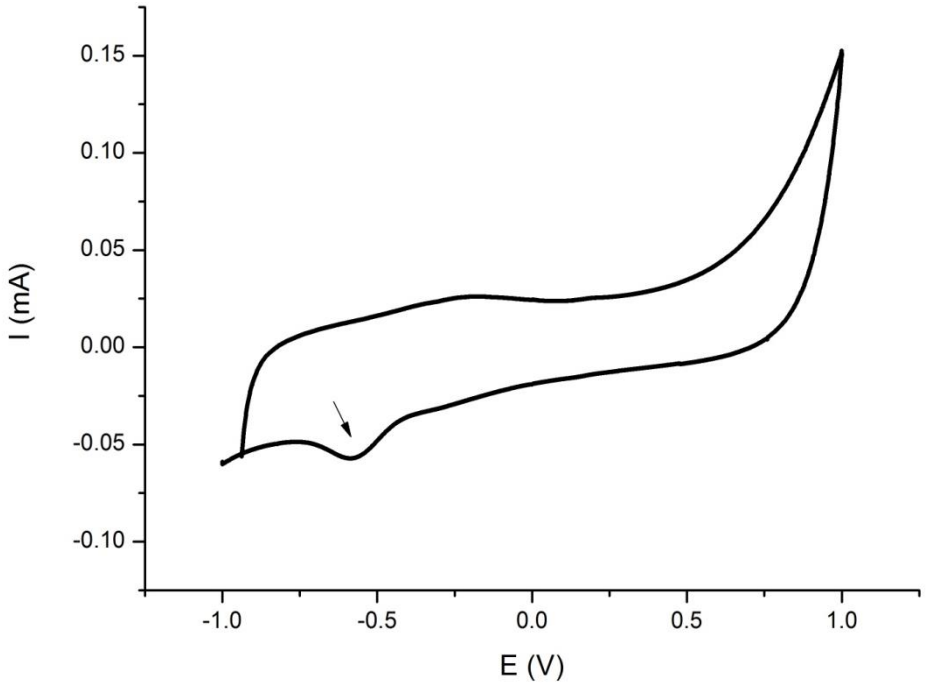
Şekil 4.6. (R) Fluoksetinin (0.05 mM) ve (S) Fluoksetinin (0.05 mM), CNT/ (400)β-CD/NGCE elektrodu ile 0.1 M fosfat tampon çözeltisi(pH 7) içeren çözeltideki dönüşümlü voltamogamları.

Şekil 4.14 incelendiğinde, -1 V civarında gözlenen indirgenme pikinin (R) Fluoksetin enantiyomerine, -0.5 V civarında gözlenen indirgenme pikinin ise (S) Fluoksetin enantiyomerine sahip olduğu görülmüş ve enantiyomerik ayrımın başarılı bir şekilde gerçekleştiği sonucuna varılmıştır.

(R, S) Fluoksetin model ilacından sonra kiral ayrımının gerçekleştirilmek istendiği ikinci model ilac (R, S) Ketoprofenin enantiyomerlerine ayrımı CNT/ (400)β-CD/NGCE elektrodu ile gerçekleştirilmek istenmiş fakat kiral ayrımın elde edilmediği gözlenmiştir. Bu sebeple ilgili model ilaç için yine karbon türevi olan ikinci bir elektrot (GO/x-CD/NGCE) tasarlanmıştır.

4.2.4. GO/α-CD/NGCE, GO/β-CD/NGCE ve GO/γ-CD/NGCE ile elektrokimyasal karakterizasyonlar

Rasemik ilaçların enantiyomerik ayrımının sağlanması kapsamında hazırlanan deney prosedürü için ikinci olarak seçilen model ilaç 0.1 mM (R, S) Ketoprofen, GO/β-CD/NGCE elektrodu ilekiral seçici grup olmadan, medyatörsüz ortamda ve 0.1 M fosfat tampon çözeltisi (PBS) içerisinde dönüşümlü voltamogramı (CV) tekniği ile elde edilmiştir (Şekil 4.15).

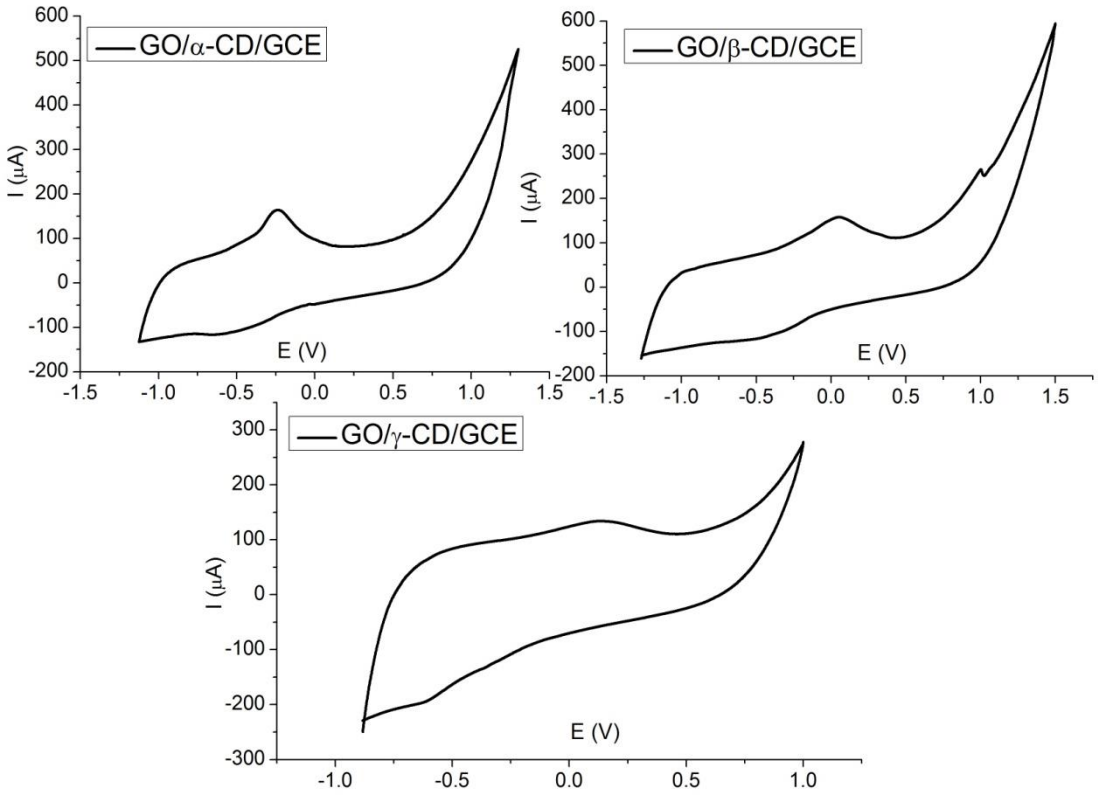


Şekil 4.7. GO/NGCE'nin 0.1 mM (R, S) ketoprofen 0.1 M fosfat tampon çözeltisi (pH7) içeren çözeltideki dönüşümlü voltamogamları.

GO/NGCE elektrodu ile 0.1 mM (R, S) ketoprofen 0.1 M fosfat tampon çözeltisi (pH 7) içeren çözeltideki dönüşümlü voltamogramdan görüleceği üzere -0.5V civarında ve yaklaşık 70 µA akıma sahip belirgin bir indirgenme piki gözlenmiştir. İkinci aşamada ise kiral seçici (α, β, γ –CD) grubun elektroda bağlanması ile bir dizi deney gerçekleştirilmiştir.

Tez çalışması kapsamında hazırlanan modifiye elektrotların elektrokimyasal karakterizasyon çalışmaları, kullanılan 400 mg kiral seçici (α, β, γ –CD) grup ile 0.1 mM

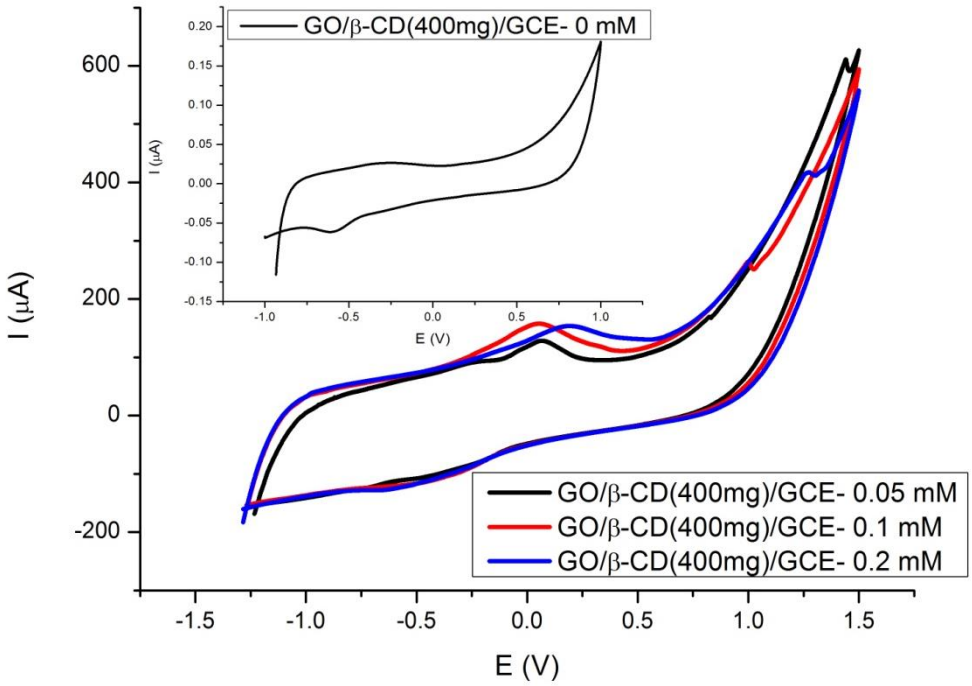
(R, S) Ketoprofen model ilacının, medyatörsüz ortamda ve 0.1 M fosfat tampon çözeltisi (PBS) içerisinde dönüşümlü voltametri (CV) tekniği ile elde edilmiştir (Şekil 4.16).



Şekil 4.16. GO/α-CD(400mg)/NGCE, GO/β-CD(400mg)//NGCE ve GO/γ-CD(400mg)//NGCE'nin 0.1 mM (R, S) Ketoprofen 0.1 M fosfat tampon çözeltisi (pH 7) içeren çözeltideki dönüşümlü voltamogamları.

Şekil 4.16'den görüleceği üzere kiral seçici grubun (400mg)/β formu ile modifiye edilmiş elektrotta ise -0.1V (150 μA) ve 1.1V (250 μA) civarında iki yükseltgenme piki gözlenmiştir. Kiral seçici etkinin GO/β-CD(400mg)/NGCE elektrot ile sağlanması ile sonraki çalışmalara (400mg)/β-CD kiral seçici grup ile devam edilmiştir.

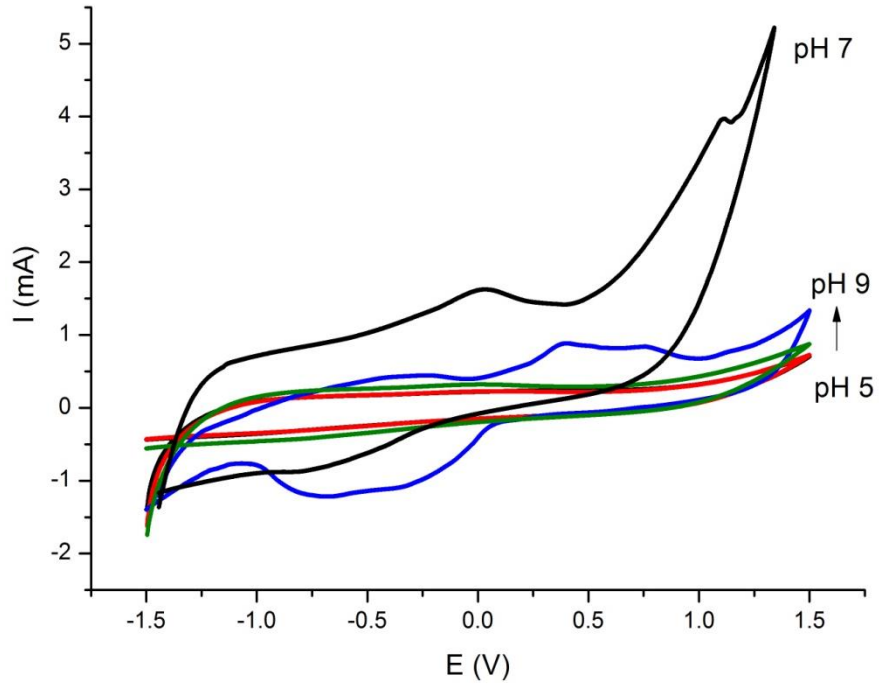
Farklı ketoprofen derişimlerinin kiral tanımayı nasıl etkilediği çözelti ortamına eklenen artan ilaç derişimleri ile GO/ (400mg)β-CD/NGCE elektrodu kullanılarak incelenmiştir.



Şekil 4.17. Farklı derişimlerdeki (R, S) Ketoprofenin (0-0.2 mM) GO/ (400)β CD/NGCE elektrodu ile 0.1 M fosfat tampon çözeltisi(pH 7) içeren çözeltideki dönüşümlü voltamogamları.

Kiral tanıma gerçekleştirilmek istenen (R, S) Ketoprofenin çözelti ortamına 0.2 mM'a kadar eklenmesi ile enantiyomerlerin daha belirgin elde edilmesi üzerine çalışılmıştır. Şekil 4.17'den görüleceği üzere 0.05 mM (R, S) Ketoprofen eklenmesi ile GO/ (400)β-CD/NGCE elektrodu kiral tanımayı sağlamış ve 0.2 mM'a kadar devam etmiştir.

(R, S) Ketoprofen model ilacın kiral seçiciliği üzerine çözelti pH'sı etkisi incelenmiştir. Bu amaçla 0.1 M fosfat tampon çözeltisi 5-10 aralığında değişen pH derişimlerinde incelenmiştir (Şekil 4.18).

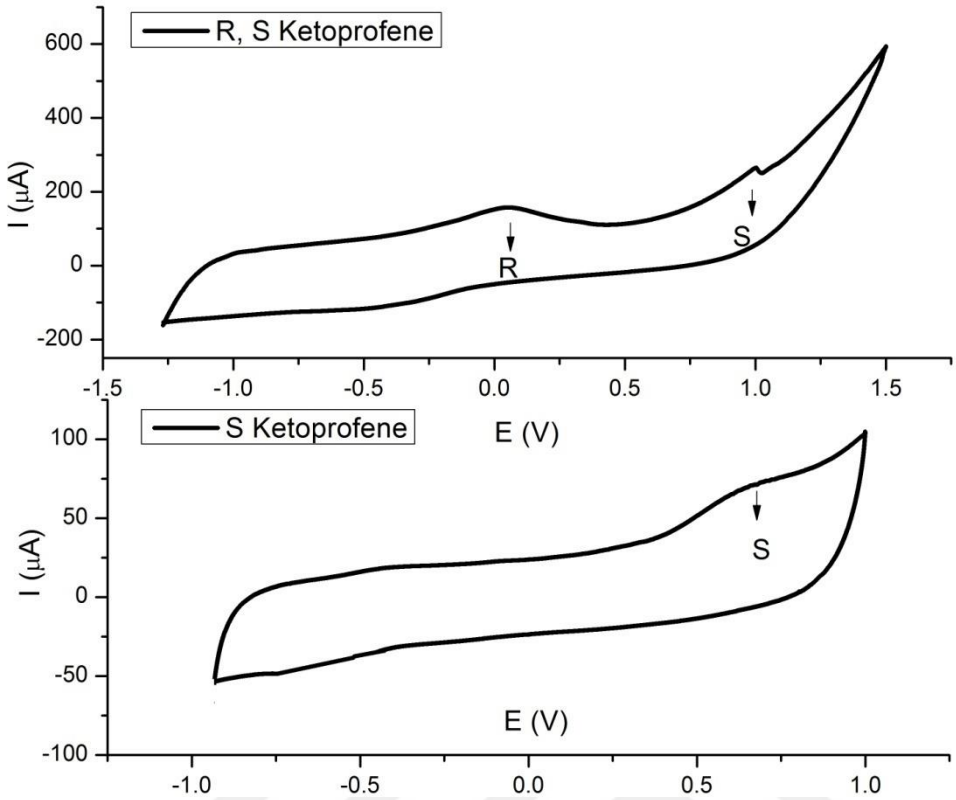


Şekil 4.88. Farklı pH derişimlerindeki (R, S) Ketoprofenin (0.1 mM) GO/ (400)β-CD/NGCE elektrodu ile 0.1 M fosfat tampon çözeltisi içeren çözeltideki dönüşümlü voltamogamları.

(R, S) Ketoprofenin çözelti ortamına 0.1 mM eklenmesi ile elde edilen pikler incelendiğinde kiral tanımanın pH 7 de sağlandığı belirlenmiştir. Ketoprofenin pKa değerinin literatürde deneysel olarak 25◦C'de 4.39, 4.45 ve 4.76 olduğu bildirilmiştir. Yine aynı literatürde zayıf bir asit olan ketoprofenin çözünürlüğü pH ile birlikte arttığı rapor edilmiştir (Igor ve ark., 2012). Kiral tanıma ise pKa değeri ortalama 4.7 olan ketoprofenin pKa'sından daha büyük bir pH'ta (7) sağlanmıştır. Bu durum ketoprofenin nötr ortamda çözünürlüğünün etkin olmasına atfedilebilir (Pratap ve ark., 2016).

4.2.5. GO/β-CD/NGCE elektrodu ile R-Ketoprofen ve S-Ketoprofen enantiyomerlerinin tanımlanması

Tezin ana teması gereği yapılan elektrokimyasal karakterizasyonlar sonucunda GO/β-CD/NGCE elektrodu ile (R, S) Ketoprofenin (0.1 mM)kiral seçiciliğinin sağlandığı gözlenmiştir. Çalışmanın son aşamasında ise*R*-Ketoprofen*ve S*-Ketoprofenin enantiyomerlerinin tanımlanması için (0.1 mM)*S*-Ketoprofen ve (R, S) Ketoprofenin karşılaştırmalı olarak voltamogramları alınmış ve yorumlanmıştır.



Şekil 4.99. (R, S) Ketoprofenin (0.05 mM) ve (S) Ketoprofenin (0.1 mM), GO/ (400)β-CD/NGCE elektrodu ile 0.1 M fosfat tampon çözeltisiiçeren çözeltideki dönüşümlü voltamogamları.

Şekil 4.19 incelendiğinde, 0.1 V ve 1 V civarında iki yükseltgenme piki gösteren (R, S) Ketoprofenin (0.05 mM), 1 V civarında beliren yükseltgenme pikinin (S) Ketoprofene ait olduğu belirlenmiş ve kiral seçicilik başarı ile sağlanmıştır.

5. SONUÇ

Bu tez çalışmasında emdirme metodu ile grafen oksit / β-siklodekstrin (GO/β-CD) ve karbon nanotüp / β-siklodekstrin (CNT/β-CD) destekli katalizörler sentezlendi, karakterize edildi ve yüzeyi modifiye edilmiş yüzey baskılı karbon elektrotlar ile ketoprofen ve fluoxetin rasemik ilaçlarının elektrokimyasal olarak kiral ayrımı sağlandı.

- Grafen oksit / β-siklodekstrin (GO/β-CD) ve karbon nanotüp / β-siklodekstrin (CNT/β-CD) destekli katalizörlerine ait yüzey karakterizasyonu XRD ve SEM ile elektrokimyasal karakterizasyon ise CV metotları ile gerçekleştirilmiştir.
- Öncelikle farklı β-CD derişimleri (100, 200, 300, 400, 500 ve 600 mg) ile CNT ve GO katalizörleri sentezlenmiştir. Bu farklı derişimler incelenmiş ve en iyi miktar belirlenmiştir. GO/ ve CNT/β-CD için en iyi derişim 400 mg belirlendikten sonra pH çalışması yapılmıştır.
- β-CD destekli sentezlenen karbon türevleri ile ketoprofen ve fluoxetin ilaçlarının rasemik ayrımı farklı PH aralığında (pH 5, 6, 7, 8, 9 ve 10) yapılmıştır ve her iki ilaç için en uygun aralık 0,1 M pH 7 fosfat tamponu içerisinde 10 mV/s^{-1} hızda – 1.5 V + 1.5 V'de aralığında olduğu belirlenmiştir.Bu da yaptığımız çalışmalarda rasemik bir ilaçta, iki farkli enantiyomer yapının PH derecelerine göre farklılık olduğunu göstermiştir.
- Deneysel çalışmalarda kullanılan yüzey baskılı karbon elektrot (SPCE) için aktivasyon deneyleri yapılmış ve elektrot aktivasyonu için en uygun yöntem seçilmiştir. Aktivasyon çalışmaları karbon destekli (CNT ve GO) katalizörler ile yapılmıştır ve uygun aktivasyon yöntemi 0.1 M pH 8 fosfat tamponu içerisinde + 1.4V'de 300 s boyunca potansiyel uygulanarak gerçekleştirilmiştir. SPCE elektrot ile ilgili yapılan literatür çalışmaları elektrotların yüzeylerinin temizlenmesi ve aktivasyonunun, elektrokimyasal ölçümlerde akımın artması, sinyal/gürültü oranının azalması ve tersinmezreaksiyonların azalması gibi önemi sonuçları elde etmemize yardımcı olmuştur.Ardından katalizör için elektrolit çalışmasına geçilmiştir.
- Katalizör için destek elektrolit çalışması yapılmıştır. Fosfat tamponu ve H_2SO_4 tamponları çalışılmıştır. Fosfat tamponunun 0.1 M için en iyi etkinlik gösteren

tampon ortamı olduğu sonucuna varılmış ve bu tampon ortamı kullanılarak derişim çalışılmasına geçilmiştir.

- Derişim çalışması sırasında ketoprofen ve fluoksetin etken maddeli ilaçların rasemik derişim miktarları 0 – 0.3 mM arasında çalışılmıştır. Her bir etken madde için en iyi derişim oranı belirlenmiştir. Ketoprofen için 0.2 mM, fluoxetin için 0.3 mM olarak belirlenmiştir. Buda yaptığımız çalışmada rasemik bir ilaçta iki farkli enantiyomer yapının olduğunu göstermiştir. Ardından ilaçların kiral ayırma işlemleri aynı yöntemle çalışılmıştır.
- Deneylerde kiral ayrımın sağlandığı karbon destekli katalizörlerin fiziksel karakterizasyonu XRD ve SEM-EDX teknikleri ile gerçekleştirilmiştir.CNT/β-CD katalizörü deneysel olarak kiral ayrımın gerçekleştiği katalizör olması sebebi ile yüzey fazlarının ve kristal kafes yapısının belirlenebilmesi için X-Işın kırınım analizleri gerçekleştirilmiştir.Karbon pikinin C (0 0 2) düzleminde ve 2θ = 25.75° değerinde ve(GO- β-CD) XRD pikinin ise 2θ = 12.6 ° değerinde olduğu görülmüştür. Katalizörlerin yüzey morfolojisinin görsel olarak incelenmesi amacıyla SEM (taramalı elektron mikroskop) görüntüleri çekilmiştir. CNT/β-CD katalizörü içinyapıya eklenme miktarına göre özellikle 400 mg β-CD kiral seçici grubun SEM görüntüsünün nispeten yüksek homojenlikte ve çarşaf benzeri yapıya sahip olduğu gözlenmiştir. GO/β-CD katalizörü için ise 400 mg β-CD kiral seçici grubun SEM görüntüsünün yüksek homojenlikte ve çarşaf benzeri yapıya sahip olduğu gözlenmiştir.
- Kiral ve enantiyomerik ayırm ile şu anda da piyasada bulunan bazı spesifik rasemik ilaçların elektrokimyasal davranışı yeni bir elektrot sistemi ile hızlı ve güvenilir bir şekilde incelenmiştir. Ketoprofen ve fluoxetin ilaç etken maddelerimiz elektroaktif özelliğe sahip maddeler olup daha önceden enantiyoseçimli olarak ayrımı sağlanmamıştır. Bu tez çalışmasında rasemik formda bulunan iki etken maddelerimizin elektrokimyasal olarak kiral ayrımı gerçekleştirilerekliteratüre katkı sağlanmıştır.

KAYNAKLAR

Abernethy, D. R., Andrawis, N. S. 1993. Stereoizomeric drugs in therapeutics: clinical perspective. In: ***Drug Stereochemistry***. Ed.: I.W. Wainer. Newyork. 2nd Ed. Marcel Dekker Inc. Chapter 15. p.: 385-397.

Agustian, J.Kamaruddin H., Bhatia S., 2010. Single enantiomeric β-blockers-The existing technologies. ***Process Biochem.,* 45**: 1587-1604.

Anonim, 2007. İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü. ***HPLC Tekniği ve Uygulamaları Kursu***, ***Kurs Notları.*** Malatya: **İnönü Üniversitesi Basımevi.**

Anonim, 2015. ***Inovatif Kimya Dergisi***, İlaç Taşınımı, 27- 16 (ekim 2015).

Anonim, 2019. ***hhtp://www.cem.msu.edu/reusch/VirtualText/sterism3.htm***. Erişim Tarihi: 20.11.2019.

Bard, A.J. and Faulkner L.R. (2001). ***Electrochemical Methods: Fundamentals Applications,*** John Wiley and Sons. Inc. New York.

Bawazeer, S.S. , A.M. Abdel-Megied, L.I. Bebawy, 2016. Enantiospecific HPLC and CE methods for separation and determination of S-Darifenacin in pharmaceutical formulations, ***Chromatographia,* 79**: 1533-1542.

Blaschke G.,Kraft H.P., Fickentscher K., Kohler F., Chromatographic separation of racemic thalidomide and teratogenic activity of its enantiomers ***ArzneimForsch/DrugRes.,* 29** (II): 1640, (1979).

Bristow MR., 2000.β- Adrenergic receptor blockade in chronic heart failure. ***Circulation ;* 101**(5): 558–569.

Carcu-Dobrin,M., Budau M., Hancu G., Gagyi L., Rusu A., Kelemen H., 2017. Enantioselective analysis of fluoxetine in pharmaceutical formulations by capillary zone electrophoresis, ***Saudi Pharmaceutical Journal,* 25**: 397-403.

Cerqueira PM., Cesarino EJ., Mateus FH., Mere Y.Jr., Santos SRCJ and Lanchote VL., 1999. Enantioselectivity in the steady-state pharmacokinetics of metoprolol in hypertensive patients. ***Chirality***;**11**(7): 591–597.

Cha, C., Shin, S.R., Annabi, N., Dokmeci, M.R., and Khademhosseini, A., 2013. Carbon-based nanomaterials: ***Multi-Functional Materials for Biomedical Engineering, ACS Nano* 7:** 2891-2897.

Chaubey, A. and Malhotra, B.D., 2002. Mediated biosensors. ***Biosensors & Bioelectronics,*17**: 441-456.

Choi, H. J., Jung, S. M., Seo, J. M., Chang, D. W., Daic, L. ve Baek,L. B., 2012. Graphene for energy conversion and storage in fuel cells and supercapacitors, ***Nano Energy,* 1:** 534-551.

Coulet P.R., 1991. ***What is a Biosensor? Chapter 1; Biosensor Principles and Applications***, Ed: Blum, L. J. Coulet, P. R, Marcel Dekker Inc., New York, 1-6.

Çuhadaroğlu A.D., Kara E., 2018. Grafit: Bir genel değerlendirme. ***Bülent Ecevit Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu, SDU Teknik Bilimler Dergisi*,1:**15-33.

Del Valle ,EMM., (2003). Cyclodextrins and their uses: a review. ***Process Biochem***. **39:** 1033-1046.

Dung,P.T., Ko, M.Y., Choi, H.J., Sin, K.S. ve Kim, K.H., 2008. ***Determination of enantiomeric impurity of etodolac by capillary electrophoresis using (2-hydroxypropyl)-β-cyclodextrin***,**31:**1218–1223.

Emmanuel S. Papas, Constantinos N. Chaldezos, Julia Atta-Politou, Michael Koupparis., 2010. Construction of a Fluoxetine Ion Chemical Sensor and Its Application for the Determination of pKa Value of Fluoxetine Conjugated Acid, Complexation Study with β-Cyclodextrin and Formulations Assay. ***Analytical Letters*** **43(14)**: 2171-2183.

Erdem,M., 2010. ***Elektrokimyasal Dna Sensörü için Nanomalzemelere Dayalı Elektrot Materyallerinin Geliştirilmesi ve Uygulamaları***, Doktora Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın

European Union Report On Critical Raw Materials For The EU., 2014, ***Report of The Ad Hoc Working Group on Defining Critical Raw Materia.*** 1–41.

Fan, Z., 2007, Flow and rheology of multiwalled carbon nanotubes thermoset resin suspensions in processing of glass fiber composites, ***University Delaware***, NJ USA.

Fessenden, R. J.,Fessenden, J. S., Logue, M. W., 2001. ***Organik Kimya*** (Tahsin Uyar, Çev.). Ankara: Güneş Kitabevi. 1998.

Fuchs, J.N., Goerbig, M.O., 2008. Introduction to the Physical Properties of Graphene***, Lecture Notes.***

Gao, X. J., Jang. S., Nagase., 2009. Hydrazine and Thermal Reduction of Graphene Oxide: Reaction Mechanisms, Product Structures and Reaction Design, ***J.Phys. Chem.C.,114:*** 832–842.

Garcia, R., Renedo, A., Martinez, M., Aracil, J., 2001. Enzymatic synthesis of n-octyl (+)-2-methyl butanoate ester from racemic (±)-2-methylbutanoic acid by immobilized lipase: optimization by statistical analysis, ***Enzyme Microb. Technol.,*** **30**, 110-115

Gürsoy, A.Z., 2001. Siklodekstrin Modifiye Hidrojellerde İlaç Salınımının İncelenmesi. ***XX. Ulusal Kimya Kongresi Bildirileri*** , 4-8 Eylül 2006, Kayseri.

Hart, J.P., 1997. Recent Developments in the Design and Application of Screen Printed Electrochemical Sensors for Biomedical, Environmental and İndustrial Analyses. ***TrAC Trends in Analytical Chemistry***, **16:** 89-103.

Hart, H., Hart, D. J., Craine, L. E., 1998. ***Organik Kimya*** (Tahsin Uyar, Çev.).Ankara: Palme Yayıncılık. 1995.

Hsiao, M. C., Liao,S. H., Lin, Y. F., Wang, C. A., Pu, N. W., Tsai, H. M. ve Ma ,C. C. M., 2011**.** Preparation and characterization of polypropylene-grafted-termally reduced graphite oxide with an improved compatibility with polypropylene-based nanocomposite, ***Nanoscala***, **3:** 1516-1522.

Hummers WS ve Offeman RE., 1958. Preparation of Graphitic Oxide. ***Journal of the American Chemical Society,*** **80**;1339-1339.

Hutt, A. J., 2006. Drug Chirality and its Pharmacological Consequences. In: ***Introduction to The Principles of Drug Design and Action*****.** p.:118-184.

Igor E. Shohın, Julıa I. Kulınıch, Galına V. Ramenskaya, Bertıl Abrahamsson, Sabıne Kopp, Peter Langguth, James E. Pollı, Vınod P. Shah, D. W. Groot, Dırk M. Barends, Jennıfer B. Dressman., 2012. Biowaiver Monographs for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms: Ketoprofen. ***Journal of Pharmaceutical Sciences***, **101:** 3593–3603.

Izutsu, K., 2002. ***Electrochemistry in nonaqueous solutions***. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 3-527-30516-5.

Jamali, F., 1993. Stereochemicallay pure drugs: An overview. Chapter 14. ***Drug Stereochemistry.*** Newyork. p.: 375-384.

Kaçar C., 2010. ***Trazodon'un Elektrokimyasal Davranışı ve Adsorptif Sıyırma Yöntemleriyle Tayini.*** Y.Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Kadayıfcılar, K.P., 2003. ***Çeşitli Bulaşıcı ve Kalıtsal Hastalıklara Neden Olan Gen Dizilerini İçeren PCR Ürünü Örnekler Kullanarak Elektrokimyasal DNA Biyosensörleriyle Bu Hastalıkların Saptanması***. Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir.

Kayaalp S.O., 2001. ***Klinik Farmakolojinin Esasları ve Temel Düzenlemeler.*** Genişletilmiş 2.Baskı, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti. Ankara., 305-347.

Kotov N., 2006. ***Materials science:*** Carbon sheet solutions. Nature, 442;254.

Kujovic A., 2016. ***Biyolojik Aktif Bileşiklerde Kiralitenin Önemi.*** Lisans Araştırma Projesi. Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Ankara.

Li, J., Chen, B., Wang, X., Goh, S. H., 2004. ***Polymer 45*** (2004) 1777-1785

Liang Y, Wu D, Feng X, Mullen K., 2009. ***Dispersion of Graphene Sheets in Organic Solvent Supported by Ionic Interactions***. Adv Mater. **21;**1679–1683.

Liu, J., Xue, Y., Zhang, M., and Dai, L., 2012. ***Graphene Fundamentals and Functionalities, Graphene-based materials for energy applications***, **37:**1265-1272.

Liu, Y. Y., Fan, X. D., 2005. ***Biomaterials*** **26:** 6367-6374

Loftsson, T., Jarho, P., M Ásson, M., Jarvinen, T.,2012. ***Expert Opinion on Drug Delivery***, **2:**335-351.

Lordi, V. and Yao, N., 1999. Molecular mechanics of binding in carbon-nanotube-polymer composites***, Journal of Materials Research,*** **15:**2770-2779.

Lucarelli, F., Palchetti, I., Marazza, G., Mascini, M., 2002. Electrochemical DNA biosensor as a screening tool for the detection of toxicants in water and wastewater samples. ***Talanta***, **56:** 949–957.

Lund, I. T., P. L. Bockmann, E. E. Jacobsen, 2016. Highly enantioselective CALB-catalyzed kinetic resolution of building blocks for β-blocker atenolol. ***Tetrahedron,*** **72:**7288-7292.

McConathy,J., Ovens, M. J., 2003. Stereochemistry in drug actions. ***J.Clin. Psychiatry.*** **5**(2): 70-73.

Minguillon C., 2012. Countercurrent Chromatography, Scope and Perspectives***: Application to Chirotechnology, Chemical Engineering & Technology,*** **35**.

Mirri, G., Bull, S. D., Horton, P. N., James, T. D., Male, L., & Tucker, J. H. R., 2010. Electrochemical method for the determination of enantiomeric excess of binol using redox-active boronic acids as chiral sensors***. Journal of the American Chemical Society***, **132(**26), 8903-8905.

Mustaranta, A., 1992. Use of lipases in the resolution of racemic ibuprofen, ***Appl. Microbiol Biotechnol***, **38:** 61-66.

Nathanson JA., 1988. Stereospecificity of beta adrenergic antagonists: R-enantiomers show increased selectivity for beta-2 receptors in ciliary process. ***Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.,*****245**(1): 94–101.

Niyogi S, Bekyarova E, Itkis ME, McWilliams JL, Hamon MA, Haddon RC., 2006. Solution properties of graphite and graphene. ***J. Am. Chem. Soc.,*** **128**;7720.

Pratap S. N. H., Spandana P., Siddhardha Varma A.H.V., 2016. ***Lıquısolıd Compact Technology: A Novel Approach For Enhancement Of Dıssolutıon And Bıoavaılabılıty Of Ketoprofen, Iajps*, 3 (8)**: 794-803.

Prudenziati, M., 1994. Handbook of Sensors and Actuators 1; Volume-1: ***Thick film sensors.*** Elsevier Science B.V, Oxford, UK.

Reddy, T.P., Theja, P.C., Eswaraiah, B., Rao, P.P., Preparation of Aluminium Reinforced with Granite and Graphite–A Hybrid Metal Matrix Composite, 2017. ***International Journal of Engineering Research&Technology (IJERT),* 6** 1-11.

Reshma Jayakumar, ***Ragavi Vadivel and Nallamuthu Ananthi***, 2018.

Roberts, M.W., Clemons, C.B., Wilber, J.P., Young, G.W., Buldum, A., and Quinn, D.D., 2010. Continuum Plate Theory and Atomistic Modeling to Find the Flexural Rigidity of a Graphene Sheet Interacting with a Substrate, ***Journal of Nanotechnology***, 1-8.

Shamsipur,M., Dastjerdi L.S., Haghgoo S., Armspach D., Matt D., Aboul-Eneine H.Y., 2007. Chiral selectors for enantioresolution and quantitation of the antidepressant drug fluoxetine in pharmaceutical formulations by F-19 NMR spectroscopic method, ***Analytica Chimica Acta*, 601**130-138.

Sheldon R. A., 1993. ***Chirotechnology.*** Marcel Dekker, Inc, 47-83, New.

Sıburıan R., Sıhotang H., Lumban Raja S., Supeno M. And Sımanjuntak C., 2018. New Route to Synthesize of Graphene Nano Sheets, ***Orient. J. Chem.,* 34**(1), 182-187.

Singh, V., Joung, D., Zhai, L., Das, S., Khondaker, S.I., Seal, S., 2011. Graphene based materials: Past, present and future, ***Progress in Materials Science*, 56** 1178-1271.

Skoog, D.A, West, D.M, Holler, F.J. and Crouch, S.R., 2004. ***Analitik Kimya Temel İlkeler.*** Çeviri Sekizinci Baskı, Ankara.

Soleimani H, Yahya N, Baig MK, Khodapanah, Sabet M, Burda M, Oechsner A and Awang M., 2015. ***Synthesis of Carbon Nanotubes for Oil-water Interfacial Tension Reduction,*** Oil Gas Res 1: 104.

Stevenson D., Williams G.A., 1988. The Biological Importance of Chirality and Methods Available to Determine Enantiomers. In: Stevenson D., Wilson I.D. (eds) ***Chiral Separations. Springer***, Boston, MA

Suvarnaphaet P, Pechprasarn S., 2017.***Graphene-Based Materials for Biosensors: A Review.Sensörler (Basel).*** 2017 Eyl **21**; 17 (10). pi: E2161.

Szejtli, j., 1982. ***Cyclodextrlns and Thel***: Inclusion Complexes, Budapest, Akademiai Kiado, 3- 25,

Şiranlı, H., 2016. ***Tek Kullanımlık Modifiye Edilmiş Ve Edilmemiş Grafit Elektrotların DNA Hibridizasyon Sensörü Olarak Kullanılabilirliğinin Araştırılması***. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Aydın.

Tang, L., Li, X., Du, D., He, C., 2012. Fabrication of multilayer films from regenerated cellulose and graphene oxide through layer-by-layer assembly, ***Progress in Natural Science: Materials International*, 22:**341-346.

Tudorache, M. , C. Bala, 2007. Biosensors based on screen-printing technology, and their applications in environmental and food analysis, ***Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 388:**565-578.

Tufan B., Batar T., 2015. ***Oysu Grafit Cevheri Flotasyon Parametrelerinin İyileştirilmesi.*** Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, **19**(3), 17-25.

Tuinstra, F. ve Koenig, J. L., 1970, ***Raman spectrum of graphite, The Journal of Chemical Physics***, **53** (3), 1126-1130.

Tüzün, C. 1996. Organik Kimya, 7. Baskı, ***Palme Yayın Dağıtım***, Ankara.

Uysal S. 2012b. ***Graphite In Turkey, Its Position In Europe***. Industrial Minerals International Congress&Exhibition.

Uysal, S. 2012a. ***Kritik Hammaddeler: Grafit. Madencilik***.

Uysal, S. 2012c. ***2nd Graphite Conference/London Global Marketing Manager Syrah Resources Limited***.

Villar-Rodil S, Paredes JI, Martinez-Alonso A, Tascon MD, 2009. ***Preparation of Graphene Dispersion and Graphene–Polymer Composites in Organic Media. J Mater Chem.*** **19**;3591–3593.

Wahlund G, Nerme V, Abrahamsson T and Sjoquist PO. The β1- and β2- adrenoceptor affinity and β1-blocking potency of S- and R-metoprolol. ***British Journal of Pharmacology*** 1990; **99**(3): 592–596.

Wang J. (2006). ***Analytical Electrochemistry, methodolgy and applications of dynamic techniques***, New Jersey. Scholz, F., Electroanalytical Methods. Greifswald, Germany.

Wang, J. 2000. ***Analytical Electrochemistry***. 2nd edition. John Wiley and Sons. Inc. New York.

Ye.XX, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200040, China.,2003.***Enantiomeric separation of ketoprofen by HPLC using chirobiotic V CSP and vancomycin as chiral mobile phase additives,*****38** (3): 211-4.

Zorluoğlu L., (2012). *Metoprolol ile Hidroklorazit İçeren İlaçlarda Etken Maddelerin Tayini İçin Voltametrik Yöntem Geliştirilmesi.* Y.Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

ÖZ GEÇMİŞ

1994 Diyarbakır doğumlu. 2008-2012 yılları arasında Diyarbakır Süleyman Demirel Lisesi'nden mezun oldu. 2017 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümünde Lisans eğitimini tamamladı. 2017 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı yüksek lisans eğitimine başladı.