



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**UYGUN ORGANİK FONKSİYONEL GRUPLARLA
NANOMALZEMELERİN SENTEZLENMESİ VE BU NANOMALZEME İLE
MODİFİYE EDİLEN
CAMIMSİ KARBON ELEKTROT İLE İBRUTİNİB İLAÇ ETKEN
MADDESİNİN VOLTAMETRİK TAYİNİ**

Karina AMUDI
TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
(ECZACILIK PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman
Doç. Dr. Pınar TALAY PINAR

VAN-2022

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**UYGUN ORGANİK FONKSİYONEL GRUPLARLA
NANOMALZEMELERİN SENTEZLENMESİ VE BU NANOMALZEME İLE
MODİFİYE EDİLEN
CAMIMSI KARBON ELEKTROT İLE İBRUTİNİB İLAÇ ETKEN
MADDESİNİN VOLTAMETRİK TAYİNİ**

Karina AMUDI
TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
(ECZACILIK PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman
Doç. Dr. Pınar TALAY PINAR

VAN-2022

ETİK BEYAN

T.C.

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “*Uygun organik fonksiyonel gruplarla nanomalzemelerin sentezlenmesi ve bu nanomalzeme ile modifiye edilen camımsı karbon elektrot ile ibrutinib ilaç etken maddesinin voltametrik tayini*” başlıklı tezim; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Bu tezdeki bütün bilgiler akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak hazırlanıp, bu kural ve ilkeler gereği, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yapılmış ve kaynak gösterilmiştir. Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Karina AMUDI

Tarih: 15/11/2022

İmza :.....

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmam süresince bana her türlü olanağı sağlayan, ilgisini ve desteğini esirgemeyen, her konuda yardımcı olan ve beni yönlendiren danışmanım Sayın Doç. Dr. Pınar TALAY PINAR 'a teşekkür ederim. Eğitimim süresinde büyük bir özveriyle, ilgi ve alakayla her zaman yanımda olan, akademik çalışmalar dışında da her zaman desteğini gördüğüm danışmanım sayın Doç. Dr. Nurettin MENGEŞ'e teşekkür ederim.

Ayrıca çalışma sürecinde manevi desteklerinin esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Dr. Öğr. Üyesi Meltem TAN hocama, her tür soruma yanıt bulmamda yardımcı olan deneysel çalışmalarda yardımlarını esirgemeyen Dr.Öğr. Üyesi. Burak KUZU'ya ve Dr. Aybek YİĞİT'e teşekkürlerimi sunarım.

Tüm hayatım boyunca beni destekleyen, karşılaştıkları tüm zorluklara rağmen maddi manevi hiçbir desteğini esirgemeyen ve koşulsuz sevgi ile bağlı olduğum aileme ve arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi borç bilirim.

Karina AMUDI

ÖZET

AMUDI K, Uygun Organik Fonksiyonel Gruplarla Nanomalzemelerin Sentezlenmesi ve Bu Nanomalzeme ile Modifiye Edilen Camımsı Karbon Elektrot ile İbrutinib İlaç Etken Maddesinin Voltametrik Tayini, Van Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Eczacılık Anabilim Dalı, Analitik Kimya Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van, 2022. Bu çalışma, GO-NH-B(OH)₂@AgNPs/GCE modifiye edilmiş camımsı karbon elektrot kullanılarak akıllı hedefe yönelik yeni nesil bir antikanser ilaç olan ibrutinib'in (IBR) modifiye elektrot ile yapılan elektrokimyasal analizini duyarlı, seçici, hızlı ve düşük maliyetli bir voltametrik analizini göstermektedir. Dönüşümlü voltametri tekniği ile bileşik kuvvetli asidik ortamda (0.1 mol L⁻¹ HNO₃) yaklaşık +1.52 V'da (Ag/AgCl'ye karşı) adsorpsiyon etkisi altında difüzyon kontrollü ve iyi tanımlanmış tersinmez bir yükseltgenme piki vermiştir. Kare dalga voltametri tekniği ile +1.49 V'de (Ag/AgCl'ye karşı) 0.1 mol L⁻¹ HNO₃ çözeltisinde IBR'nin nicel tayini için doğrusal aralık 0.025 ile 1.00 µg mL⁻¹, gözlenebilme sınırı 0.006 µg mL⁻¹ olarak bulunmuştur. Önerilen bu yöntem, farmasötik formülasyonunda IBR miktarını bulmak için başarıyla kullanılmıştır.

Anahtar Kelimeler: İbrutinib, Camımsı karbon elektrot, Grafen oksit-boromidik asit, Modifiye elektrot, Voltametri

ABSTRACT

AMUDI K, Synthesis of Nanomaterials with Appropriate Organic Functional Groups with This Nanomaterial the Glassy Carbon Electrode was Modified and Used for Voltammetric Determination of Ibrutinib Drug. Van Y.Y.U. Institute of Health Sciences, Department of Basic Pharmacy, Department of Analytical Chemistry, Master Thesis, Van, 2022. This study presents a new electrochemical analysis of ibrutinib (IBR), a smart targeted new-generation anticancer drug, using a GO-NH-B(OH)₂@AgNPs/GCE modified glassy carbon electrode that illustrates a sensitive, selective, fast and cost-effective voltammetric analysis. A well-defined and diffusion-controlled with some adsorptive irreversible oxidation peak at about +1.52 V (vs. Ag/AgCl) was observed in the combined strongly acidic medium by cyclic voltammetry technique. The linear range for the quantitative determination of IBR in 0.1 mol L⁻¹ HNO₃ solution at +1.49 V (against Ag/AgCl) by square wave voltammetry technique was found to be 0.025 to 1.00 µg mL⁻¹, and the limit of detection was 0.006 µg mL⁻¹. This proposed method has been successfully used to find the amount of IBR in a pharmaceutical formulation.

Key Words: Ibrutinib, Glassy carbon electrode, Graphene oxide-boromodic acid, Modified electrode, Voltammetry

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	ii
ETİK BEYAN	iii
TEŞEKKÜRLER	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
TABLolar DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kanser	3
2.1.1. Karsinogenez genler, proto-onkogen ve onkogenler	3
2.1.2. Tümör baskılayıcı genler	4
2.2. Kanser Tedavisi	5
2.2.1. Protein kinaz inhibitörleri	7
2.3. İbrutinib: Birinci Nesil BTK İnhibitor	9
2.3.1. İbrutinib'in farmakodinamik özellikleri.....	10
2.3.2. İbrutinib'in farmakokinetik özellikleri	11
2.3.3. İbrutinib'in analitik yöntem çalışmaları	12
2.4. Elektrokimya.....	17
2.5. Voltametri	18
2.5.1. Voltammetrik teknikler	19
2.5.2. Elektrokimyasal hücreler	22
2.5.3. Voltametri de kullanılan elektrotlar	24
2.5.4. Voltametri de kullanılan karbon temelli çalışma elektrotları.....	26
2.6. Voltametri de Kullanılan Karakterizasyon Yöntemleri:	34
2.6.1. Taramalı elektron mikroskobu	34
2.6.2. Geçirimli elektron mikroskobu	35
2.6.3. Elektrokimyasal impedans spektroskopisi	36

2.7. Grafen ve Grafen Oksit için Sentetik Teknikler.....	36
2.7.1. Aşağıdan yukarıya yaklaşımlar	37
2.7.2. Yukarıdan aşağıya yaklaşımlar	40
2.7.3. Grafenin kovalent modifikasyonu	43
2.8. Grafen Modifiye Elektrotlarla İlgili Kaynakça Araştırması.....	46
3. GEREÇLER VE YÖNTEMLER	49
3.1. Deneysel Çalışmada Kullanılan Materyal ve Yöntemler	49
3.1.1. Kullanılan kimyasallar	49
3.1.2. Kullanılan cihazlar	49
3.1.3. GO-ED-BA nanoparçacıklarının sentezi.....	50
3.1.4. Çözeltilerinin hazırlanması	52
3.1.5. AgNPs, GO-NH-B(OH) ₂ , ve GO-NH-B(OH) ₂ @AgNPs ile camımsı karbon elektrodun modifikasyonu	53
4. BULGULAR	55
4.1. Değiştirilmiş Grafen Oksit'in Karakterizasyonu	55
4.1.1. SEM analizleri.....	55
4.1.2. TEM analizleri	55
4.1.3. XPS analizleri	56
4.2. Modifiye Elektrotların Elektrokimyasal Karakterizasyonu.....	57
4.3. İbrutinib Etken Maddesinin Elektrokimyasal davranışı	60
4.3.1. Dönüşümlü voltametri çalışmaları.....	60
4.3.2. İbrutinib bileşiğinin kare dalga voltametrisi çalışmaları	63
4.4. İbrutinib Bileşiğinin Tayini İçin Geliştirilen Yöntemin Performans ve Gerçek Örneklerdeki Uygulama Çalışmaları	66
4.4.1. Geliştirilen yöntemin analitik performans özellikleri	66
4.4.2. Geliştirilen voltametrik yöntemin seçicilik çalışmaları	68
4.4.3. Geliştirilen voltametrik yöntemin farmasötik preparatlarındaki uygulama çalışmaları	69
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	71
KAYNAKLAR.....	72
ÖZGEÇMİŞ	80
EKLER	81

Ek 1. Tez Orjinallik Raporu	80
-----------------------------------	----



SİMGELER VE KISALTMALAR

ΔE_s	: Gerilim adımı
ΔE_{sw}	: Puls amplitüdü
$^{\circ}\text{C}$	: Celsius
μ	: Mikro
$\mu\text{g mL}^{-1}$	: Mikrogram/mililitre
A	: Amper
ABS Tamponu	: Asetat tamponu
AdSV	: Adsorptif sıyırma voltametrisi
Ag/AgCl	: Gümüş/gümüşklorür
BF₃	: Bor triflorür
B-R	: Britton-Robinson
C	: Derişim
C_{max}	: Maksimum plazma konsantrasyonu
CNT	: Karbon nano tüp
CPT-BDD	: Katodik ön-işlem görmüş bor katkılı elmas elektrot
DV	: Dönüşümlü voltametri
DCE	: Damlayan cıva elektrot
DPV	: Diferansiyel puls voltametrisi
E	: Gerilim
e⁻	: Elektron
E_{acc}	: Biriktirme gerilimi
E_{çıkış}	: Çıkış gerilimi
E_p	: Pik gerilimi
f	: Frekans
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
G	: İletkenlik
H₂O	: Su
H₂SO₄	: Sülfirik asit
HF	: Hidrojen florür
HMDE	: Asılı cıva damla elektrot

HNO₃	: Nitrik asit
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
Hz	: Hertz
I	: Akım
i.v.	: İntravenöz (damar içi)
<i>i_p</i>	: Pik akımı
KSV	: Katodik sıyırma voltametrisi
L	: Litre
LOD	: Gözlenebilme sınırı
Log	: Logaritma
LOQ	: Tayin alt sınırı
M	: Molarite
mg mL⁻¹	: Miligram/mililitre
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
mol L⁻¹	: Mol/litre
mV	: Milivolt
mV/s⁻¹	: Milivolt/saniye
MWCNT/GCE	: Çok duvarlı karbon nanotüp/camsı karbon elektrot
n	: Deney sayısı
N₂	: Azot
NaCl	: Sodyum klorür
OH	: Hidroksit
PBS	: Fosfat tamponu
pKa	: Asitlik sabiti
ppm	: Milyonda kısım (parts per million)
Pt	: Platin
Q	: Yük miktarı
R	: Direnç
<i>r</i>	: Korelasyon katsayısı
RSD	: Bağlı standart sapma
s	: Saniye

SMDE	: Statik cıva damla elektrot
SW-AdSV	: Kare dalga adsorptif sıyırma voltametrisi
SWV	: Kare dalga voltametrisi
t	: Zaman
T_{1/2}	: Yarılanma ömrü
t_{acc}	: Biriktirme süresi
UV	: Ultraviole
V	: Volt
v	: Gerilim tarama hızı
τ	: Puls periyodu



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Hücre döngüsü.....	4
Şekil 2.	Bruton tirozin kinaz	9
Şekil 3.	İbrutinibin kimyasal yapı.....	10
Şekil 4.	Kare dalga voltametrisinde uyarma sinyallerinin oluşumu	19
Şekil 5.	Diferansiyal puls voltametri uyarma sinyali	21
Şekil 6.	Dönüşümlü voltametrde gerilim-zaman ve gerilim-akım eğrileri	21
Şekil 7.	Tipik bir dönüşümlü voltametri.....	22
Şekil 8.	Elektrokimyasal hücre.....	23
Şekil 9.	Nanomalzemelerin farklı şekilleri.....	31
Şekil 10.	Taramalı elektron mikroskobu.....	35
Şekil 11.	Grafen sentez aşağıdan yukarıya ve yukardan aşağıya.....	37
Şekil 12.	Kimyasal buhar biriktirme.....	38
Şekil 13.	Hummer metodu ile grafen sentezi.....	40
Şekil 14.	Grafitten oksidasyon prosesi ile grafen eldesini.....	42
Şekil 15.	Modifiye grafen örneği.....	46
Şekil 16.	Önemli endojen moleküller.....	46
Şekil 17.	Boramidik asit-çok duvarlı karbon nanotüp çalışması.....	47
Şekil 18.	GO-Cl moleküllerinin sentezi.....	50
Şekil 19.	GO-CO-NH ₂ moleküllerinin sentezi.....	51
Şekil 20.	GO-NH-B(OH) ₂ moleküllerinin sentezi.....	52
Şekil 21.	(a) GO, (b) GO-NH ₂ ve (c) GO-NH-B(OH) ₂ 'in SEM görüntüleri.....	55
Şekil 22.	(a)GO, (b)GO-NH ₂ ve (c)GO-NH-B(OH) ₂ 'in TEM görüntüleri.....	56
Şekil 23.	Sentezlenen GO-NH B(OH) ₂ 'nin XPS araştırma spektrumu. O1s(a),XPS piki (b), B1s(c), N1s(d) ve C1s(e).....	57
Şekil 24.	GCE, AgNPs/GCE, GONH-B(OH) ₂ /GCE ve GO-NH-B(OH) ₂ @AgNPs/GCE'de 0.5 mol L ⁻¹ KCl ve 3.0 mmol L ⁻¹ [Fe(CN) ₆] ^{-3/-4} redoks probu ile elde edilen Nyquist diyagramı, frekans aralığı; 0.01– 10,000 Hz, genlik: 0.01 V ve gerilim: 0.25 V.....	58

Şekil 25.	3.0 mmol L ⁻¹ lik [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} çözeltisinin 0.5 mol L ⁻¹ KCl'de, 100 mV s ⁻¹ tarama hızında GCE, GO-NH-B(OH) ₂ @AgNPs/GCE, GO-NH-B(OH) ₂ /GCE, AgNPs/GCE ait dönüşümlü voltamogramları.....	59
Şekil 26.	75 µg mL ⁻¹ IBR içeren, 0.1 mol L ⁻¹ HNO ₃ çözeltisinde GCE, GO-NH B(OH) ₂ /GCE, AgNPs/GCE ve GO-NH B(OH) ₂ @AgNPs/GCE elektrot yüzeyinde 100 mV s ⁻¹ gerilim tarama hızında dönüşümlü voltamogramları.....	61
Şekil 27.	75 µg mL ⁻¹ IBR içeren 0.1 mol L ⁻¹ HNO ₃ çözeltisinde, 25-800 mV s ⁻¹ tarama hız aralığında GO-NH B(OH) ₂ @AgNPs/GC elektrot kullanılarak elde edilen dönüşümlü voltamogramlar. A) Gerilim tarama hızının logaritması ile akımın logaritması arasındaki doğrusal grafiği, B) Gerilim tarama hızının kare kökü ile akım arasındaki doğrusal grafiği göstermektedir.....	62
Şekil 28.	5.0 µg mL ⁻¹ IBR'nin BR tampon, pH 2.0-5.0 (A) ve farklı pH'lerdeki (B) çözeltisinde GO-NH B(OH) ₂ @AgNPs/GC elektrot ile kaydedilmiş kare dalga voltamogramları. Kare dalga değişkenleri; frekans, 50 Hz, puls amplitüd, 30 mV, gerilim adımı, 8 mV. Şekil içi (A), pH 2.0-5.0 arasında pH değerlerine karşılık pik gerilimi değerleri arasındaki doğru denklemini göstermektedir.....	64
Şekil 29.	5.0 µg mL ⁻¹ IBR'in 0.1 mol L ⁻¹ HNO ₃ çözeltisinde tüm çalışma elektrotları ile kaydedilmiş kare dalga voltamogramları.....	64
Şekil 30.	1.0 µg mL ⁻¹ IBR'nin 0.1 mol L ⁻¹ HNO ₃ çözeltisinde GO-NH B(OH) ₂ @AgNPs/GCE ile kaydedilmiş A) Frekans B) Gerilim adımı C) Plus amplitüdlere kare dalga voltamogramları.....	65
Şekil 31.	0.025-1.00 µg mL ⁻¹ (5.68×10 ⁻⁸ -2.3×10 ⁻⁶ mol L ⁻¹) aralığında 0.1 mol L ⁻¹ HNO ₃ çözeltisindeki IBR'nin GO-NH-B(OH) ₂ @AgNPs/GC elektrot üzerinde kare dalga voltamogramları. Kare-dalga voltametri değişkenleri; frekans; 75 Hz, amplitüd; 30 mV, gerilim adımı; 10 mV	66
Şekil 32.	0.025 µg mL ⁻¹ IBR içeren 0.1 mol L ⁻¹ HNO ₃ çözeltisinde, 1.0 µg mL ⁻¹ dopamin, ürik asit ve askorbik asitin GO-NH-B(OH) ₂ @AgNPs/GCE elektrot üzerindeki kare dalga voltamogramları. Kare dalga voltametri değişkenleri Şekil 31'deki gibidir.....	68

Şekil 33. Seyreltilmiş ilaç örneğinin (kesikli çizgi) ve 0.025, 0.050, 0.10, 0.25 ve 0.50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ IBR standart ilavelerinin 0.1 mol L^{-1} HNO_3 çözeltisinde elde edilen kare dalga voltamogramları. Kare dalga voltametri değişkenleri Şekil 31'deki gibidir..... 70



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.	75 µg mL ⁻¹ IBR içeren 0.1 mol L ⁻¹ HNO ₃ çözeltisinde, 25-800 mV s ⁻¹ tarama hız aralığındaki sonuçları.....	61
Tablo 2.	Önerilen voltametrik yöntemde IBR'nin 0.1 mol L ⁻¹ HNO ₃ çözeltisi içerisindeki analitik performans değerleri.....	67



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Analitik kimyanın önemli bir alt dalı olan elektroanalitik kimya, yöntem ve tekniklerinin basit, ekonomik, hızlı ve duyarlı olmalarının yanısıra küçük hacimli minyatürizasyona olanak sağlamasıyla karbon malzemelerinin elektroanaliziğinde elektrot malzemesi olarak kullanımlarını artırmıştır. Bu nedenle karbon malzemeleri, çeşitli allotroplarının yapısal özellikleri sayesinde elektronik ve elektrokimyasal alanda günümüzün en ilgi çekici malzemeleri arasında yer alır.

Novoselov'un 2004 yılında iki boyutlu malzeme ile ilgili çığır açan deneylerinden, grafen ve grafen bazlı materyallerin incelenmesi ve uygulanması için muazzam araştırma çalışmaları yapmıştır. Grafen, karbon atomlarının bir bal peteğine benzeyen altıgen bir kafes içinde paketlenmiş, süresiz olarak uzatılmış iki boyutlu (2D) bir karbon kristalidir. Grafen, geniş spesifik yüzey alanı, yüksek şeffaflık, mükemmel mekanik mukavemet ve esneklik, güçlü ambipolar elektrik alan etkisi, iyi termal ve elektriksel iletkenliğin yanı sıra üstün elektronik özellikler de dahil olmak üzere çeşitli ilgi çekici özellikler gösterir. Bu olağanüstü özellikler; dokunmatik ekranlara, kapasitörlere, spintronik cihazlara, yakıt hücrelerine, pillere, sensörlere, şeffaf iletken filmlere, yüksek frekanslı devrelere, toksik madde uzaklaştırmaya ve esnek elektroniklere artan bir ilgi uyandırdı.

Büyük uygulama potansiyeline rağmen, grafenin fonksiyonel grupla eşleştirilmesi gerektiği konusunda geniş bir fikir birliği vardır. Fonksiyonel gruplar, genellikle, kendilerine özgü doğal özelliklere ve işlevlere sahip olan malzemeler olarak tanımlanır. Fonksiyonel gruplar, metal ve metal oksit nanoparçacıkları, polimerler, organik ve biyolojik moleküller gibi tüm malzeme sınıflarında bulunur. Bu fonksiyonel gruplar veya fonksiyonel moleküller, özel elektroanalitik amaç için algılama yeteneklerini geliştirmek ve hatta kazandırmak için kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrot uygulamasında sıklıkla kullanılır. Grafenin farklı fonksiyonel malzemelerle modifiye edilmesi, malzemenin kimyasal ve fiziksel özelliklerinin ince bir şekilde ayarlanmasını sağlayarak, her bileşen malzemesinin bireysel özelliklerinin bir kombinasyonu ile sonuçlanır. Örnek olarak, biyolojik tanıma elemanları ile birlikte hedeflerin yakalanmasına ve sinyal iletimine yardımcı olabilir.

Umut verici bir elektrot malzemesi olarak grafen nanokompozit, yüksek performanslı elektrokimyasal sensörlerin ve biyosensörlerin rasyonel tasarımı için uygun olan mükemmel elektrokatalitik aktivitenin yanı sıra iyi stabilite, düşük aşırı potansiyel, geniş gerilim penceresi, düşük akımlara hassasiyet gösterebilme özelliğine sahiptir.

Bruton tirozin kinaz (BTK), reseptör olmayan tirozin kinazların bir üyesidir. BTK inhibitörleri, B hücresi reseptör sinyal yolunun çok önemli bir parçası olan BTK enzimini inhibe eder. Son on yılda, BTK inhibitörleri, özellikle kronik lenfositik lösemi (KLL) ve mantle hücreli lenfoma (MCL) hastalarında kemoterapiye dayalı rejimin yerini giderek daha fazla almaktadır. Ibrutinib (IBR) ağızdan kullanılabilen BTK inhibitörü olup, BTK'nın geri dönüşümsüz ve spesifik inhibitörüdür. B-hücre çoğalması, gelişmesi ve canlılığını inhibe etmekte, tümör mikroçevresinin etkisini engellemektedir. Kaynakça incelmesi yapıldığında, şu ana dek IBR molekülünün tayinine yönelik herhangi bir elektrokimyasal çalışmaya rastlanmamıştır. Elektroanalitik yöntemler, düşük maliyetli oluşları, aletsel basitlikleri, hızlı tayine olanak vermeleri ve küçük hacimlerdeki örnekler uygulanabilirlikleri açısından ilaç etken maddelerinin tayininde sıklıkla kullanılırlar. Yalın ve modifiye elektrotlar ilaç, gıda ve çevre analizleri gibi geniş bir uygulama alanında kullanılmaktadır. Spektroskopik, kromatografik ve hibrit sistemler ilaç etken madde tayinlerinde kullanılan başlıca yöntemlerdir. Fakat bu yöntemler elektrokimyasal yöntemlere göre daha pahalı ve zaman alıcıdır. Bu tez, IBR ilaç etken maddesinin ilk kez yalın elektrot ve modifiye elektrot kullanılarak detaylı olarak elektrokimyasal özelliklerinin incelenmesini amaçlamaktadır. Ayrıca geliştirilecek olan voltametrik yöntem ile farmakolojik (kapsül) örnekleri kullanılarak yöntemin uygulanabilirliği test edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser

Kanser, hücre büyümesi ve bölünmesi yani hücre döngüsünü düzenleyen mekanizmalardaki bozukluklar sonucu ortaya çıkan patolojik bir durumdur. Aynı zamanda hücrelerin aşırı üretiminin uygun hücre kaybı ile dengelenmediği, giderek artan hücre kütlelerinin birikimi olarak tanımlanabilir, biriken bu hücreler, dokuları ve organları invaze ederek hasara neden olur (Nygren,2001). Kanserde ölüm oranının yüksekliği konunun önemini arttırmaktadır. Kanser, kalp ve damar hastalıklarından sonra ikinci sırada ölümle sonuçlanan bir hastalıktır. Kişiyi bazı kanser türlerine yatkın hale getiren genler, kanser oluşumuna yol açan virüsler, çeşitli kimyasal maddeler ve radyasyona maruz kalma kanser sebepleri arasında sayılır. Bağışıklık sistemindeki bozulmalar, çeşitli çevresel faktörler ya da beslenme tarzımız da kanser oluşumunda rol oynar (Alberts ve ark., 2008). Kanserleşen hücrelerde temel bozukluğun genlerdeki farklılaşmayla başladığı düşünülmektedir. Genlerdeki bozukluklar doğuştan olabileceği gibi, sonradan meydana gelen bir etkiyle de olabilir. Genlerde, mutasyon denilen bozulmalar hücrenin normal kontrol mekanizmalarını bozup kontrolsüz çoğalmasına yol açar (Ames ve ark.,1995).

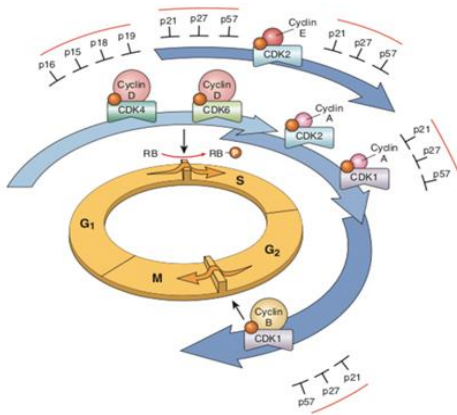
2.1.1. Karsinogenez genler, proto-onkogen ve onkogenler

Kanser oluşumundan sorumlu olan genlere "onkogen" denir. Bu genlerin hücrede varlığı ya da aktif hale geçmesi, o hücrenin kanserleşmesine yol açar. Onkogenlerin köken aldığı bu genlere proto-onkogen denir. Proto-onkogenler, normal hücre bölünmesinden ve büyümesinden sorumlu genlerdir. Hücre bölünmesini ve çoğalmasını, hücrelerde bulunan “büyüme faktörleri” sağlar. Bu büyüme faktörler hücre zarındaki özel algılayıcılara yapışarak hücre içerisinde bir dizi reaksiyona yol açar. Bu reaksiyonlar sonucunda hücre çekirdeğindeki "transkripsiyon faktörleri” denen özel proteinler aktif hale geçer (Lane ve ark., 1990). Transkripsiyon faktörleri çekirdekteki bölünmeden ve büyümeden sorumlu genleri harekete geçirir. Bu genler hücrede büyümeyi kontrol eden birçok proteinin sentezlenmesini sağlar. Proto-onkogen'lerin hasara uğrayıp yapılarının bozulmasıyla da onkogenler oluşur. Onkogenler, proto-onkogenler gibi büyüme ve çoğalma proteinlerini kodlamakla görevlilerdir. Ancak, genlerin yapısındaki bozukluklar

nedeniyle kodladıkları proteinler de normal dışı bir yapıya sahip olur. Onkogenler genellikle hücredeki bazı normal genlerin yapısının bozulması, yani mutasyona uğraması sonucu oluşur (Anderson ve ark.,1992). Onkogenler, hücrelerde normal şartlarda sentezlenmeyen bir dizi proteinin sentezlenmesine yol açar. Bu proteinler, hücre bölünmesini ve büyümesini artırır. Onkogen aktive olduktan sonra aşırı miktarda normal gen veya anormal gen üretir (Jhiang ve ark., 2000). Düzensiz normal hücre büyümesi ve proliferasyonu, neoplastik dönüşüm olasılığını artırır. Örneğin; İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü (HER) onkogen ailesindendir ve bu aile 4 üye içerir: ErbB-1 (EGFR = epidermal growth factor receptor), HER-2, HER-3 ve HER -4. İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü aktive edildiğinde tirozin kinaz reseptörlerinin ve sinyal yolların aktivasyonu ile hücre çoğalması ve farklılaşmasına neden olur. Bir onkogen olarak geni aşırı çoğaltılır bu da birkaç kanserde aşırı hücre poliferasyon, metastaz ve anjiyogenez ile sonuçlanır (Vasuden ve ark., 2011).

2.1.2. Tümör baskılayıcı genler

Tümör baskılayıcı genler, normal koşullarda hücre çoğalması ve büyümesini yavaşlatan proteinleri kodlayarak hücrelerde kanser oluşumunu engeller. Ancak bu durum genlerin mutasyona uğramasına ya da eksikliğine bağlı olarak değişir, böylece hücre kontrolü kaybolur ve hücre kanserleşir. En yaygın tümör baskılayıcı genler; Retinoblastom ve p 53 genleridir. P 53, hücre döngüsünün durdurulması ve DNA hasarı yoluyla indüklenen apoptozis için gereklidir (Şekil.1). P 53 mutasyonu kanserle ilişkili en yaygın genetik değişikliklerden biridir (Velculescu ve ark., 1996; Vasuden ve ark., 2011).



Şekil 1. Hücre döngüsü

2.2. Kanser Tedavisi

Kanser tedavisinde cerrahi, radyoterapi ve kemoterapi olmak üzere üç geleneksel yaklaşım kullanılır. Kemoterapinin normalde cerrahi ve radyoterapi ile birlikte kullanıldığını anlamak önemlidir. Ayrıca, kombinasyon tedavisinin (farklı etki mekanizmalarına sahip çeşitli antikanser ilaçlarının aynı anda kullanılması) tek bir ilaç kullanmaktan daha etkili olduğu görülür. Avantajları arasında artan ilaç etkinliği, azaltılmış toksisite ve ilaç direncinden kaçınma yer alır. Çoğu geleneksel antikanser ilacı, DNA'nın işlevini bozarak çalışır ve sitotoksik olarak sınıflandırılır. Bazıları doğrudan DNA üzerinde hareket ederken diğerleri (antimetabolitler) DNA sentezinde yer alan enzimleri inhibe ederek dolaylı olarak etki eder. Kanser hücresinde anormal veya aşırı eksprese edilen spesifik moleküler oldukça seçici ajanlardır. Kemoterapi alanındaki ilerlemeler, belirli kanser hücrelerinde yer alan hücresel kimyanın daha iyi anlaşılmasından kaynaklanmaktadır. İmatinib (Glivec) gibi kinaz inhibitörlerinin gelişimi, bu yaklaşımın çok iyi bilinen bir örneğidir (Patrik, 2013).

Kanser ilaçlarının Sınıflandırılması

A- Doğrudan nükleik asitlere etki eden ilaçlar

1. İnterkalasyon ajanları
2. Topoizomerez enzimlerinin DNA üzerindeki etkisini engelleyen interkalasyon içermeyen ajanlar.
3. Alkilleyici ve metalleştirici maddeler
4. Zincir kesiciler
5. Antisens tedavisi

B- Enzimlere etki eden ilaçlar (antimetabolitler)

- a. Dihidrofolat redüktaz inhibitörleri
- b. Timidilat Sentaz İnhibitörleri
- c. Ribonükleotid Redüktaz inhibitörleri
- d. Adenozin deaminaz inhibitörleri
- e. DNA polimeraz inhibitörleri

f. Pürin antagonistleri.

g. Poli ADP riboz polimeraz inhibitörleri

C- Hormon bazlı tedaviler

a. Glukokortikoidler, östrojenler, progestinler ve androjenler

b. Lüteinize edici hormon salgılatıcı hormon agonistleri

c. Anti-östrojenler

d. Anti-androjenler

e. Aromataz inhibitörleri

D- Yapısal proteinlere etki eden ilaçlar.

a. Tübülün polimerizasyonunu engelleyen ajanlar

b. Tübülün depolimerizasyonunu engelleyen ajanlar

E- Sinyal yollarının inhibitörleri

a. Farnesil transferaz ve Ras proteininin inhibisyonu

b. Protein kinaz inhibitörleri

F- Çeşitli enzim inhibitörleri.

a. Matriks metalloproteinaz inhibitörleri

b. Proteazom inhibitörleri

c. Histon deasetilaz inhibitörleri

d. Diğer enzim hedefleri

G- Çeşitli antikanser ajanlar

a. Sentetik ajanlar

b. Doğal ürünler

c. Protein tedavisi

d. Transkripsiyon faktörü-ko-aktivatör etkileşimlerinin modülasyonu

H- Antikorlar, antikor konjugatları ve gen tedavisi

- a. Monoklonal antikorlar
- b. Antikor-ilaç konjugatları
- c. Antikor yönelimli enzim ön ilaç tedavisi (ADEPT)
- d. Antikor yönelimli abzim ön ilaç tedavisi (ADAPT)
- e. Gen yönelimli enzim ön ilaç tedavisi (GDEPT)
- f. Diğer gen tedavisi biçimleri

İ- Fotodinamik terapi

2.2.1. Protein kinaz inhibitörleri

Protein kinazlar, protein yapılı substratlarındaki spesifik aminoasitleri fosforile eden enzimlerdir. 500'den fazla farklı tipte protein kinaz olduğu tahmin edilmektedir ve şu anda bu enzimlerin potansiyel inhibitörleri üzerinde birçok araştırma yapılmaktadır. Protein kinazların birçoğu hücrenin sitoplazmasındaki enzimlerdir, diğerleri (protein kinaz reseptörleri) hücre zarını geçer ve hem reseptör hem de enzim olarak ikili bir rol oynar (Davies ve ark., 2000). Bunlar, harici moleküler haberciyi almak için hücre dışı bağlanma sahasına ve haberci reseptörün bağlanma sahasına birleştiğinde aktive olan hücre içi kinaz aktif sahasına sahiptir. İlgili kimyasal haberciler çeşitli sitoplazmik protein kinazları içeren bir dizi sinyal zincirinin başlangıcını tetikleyen çok çeşitli büyüme hormonları ve büyüme faktörleridir. Bu süreç sayesinde hücre büyümesine ve hücre bölünmesine yol açan DNA'daki spesifik genlerin transkripsiyonunu kontrol edilir (Grant, 2009). Birçok kanser çeşidinde belirli bir büyüme hormonunun ya da büyüme faktörünün, belirli bir protein kinaz veya protein kinaz reseptörünün aşırı miktarda olduğu gözlemlenmiştir. Bu yapılar hücre büyümesini ve hücre bölünmesini sağlayan sinyal iletim süreçlerine yakından dâhil olduğundan protein kinaz inhibitörlerinin yararlı antikanser ajanları olacağını varsaymak mantıklıdır (Wang, 2022).

Protein kinazlar iki ana kategoriye ayrılabilir; tirozin kinazlar ve serin-treonin kinazlar. Son zamanlarda, bir histidin kalıntısının azotunu fosforile eden histidin kinazlar da keşfedilmiştir. Tirozin kinazlar, tirozin kalıntılarının fenol grubunu fosforile ederken, serin-treonin kinazlar serin ve treonin kalıntılarının alkol grubunu fosforile eder. Tüm kinazlar fosforilasyon ajanı olarak kofaktör adenosin trifosfat (ATP) kullanır (Liu ve ark.,

2013). Aktif bölge içinde ATP'yi bağlayan bir bölge ve substratı bağlayan komşu bir bölge vardır. Teoride bu bölgelerden birine veya diğerine bağlanan inhibitörler tasarlamak mümkündür, ancak şimdiye kadar en iyi sonuçlar kofaktör bağlama bölgesine bağlanabilen inhibitörlerle elde edilmiştir (Yoshimori ve ark., 2022).

Reseptör Tirozin Kinaz İnhibitörlerinin Sınıflandırılması

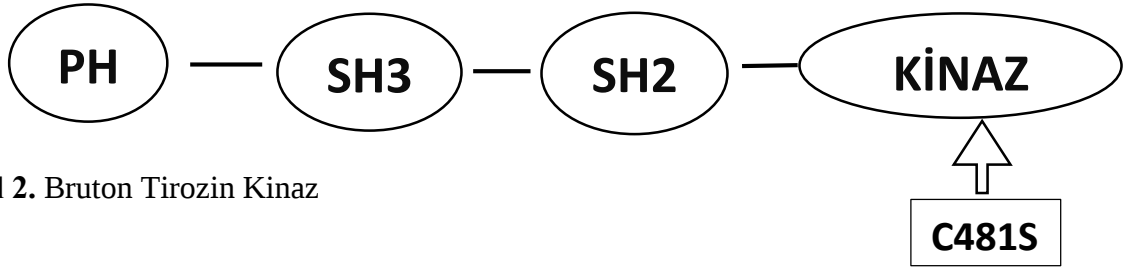
Kanser hücresinin zorlu koşullarda ve tümör mikro-ortamı (TME) tarafından zorlayan değişikliklerde çoğalmaya devam etmesi için Darwinci seçimi takip etmesi önerilmiştir. Bu moleküler yolların merkezlerini hedeflemek için hücre içi sinyalleme hedefleyen ilaçlar geliştirilmiştir. Bu ilaçlar arasında, reseptör tirozin kinaz inhibitörleri (RTKI'ler) bu hedefe yönelik ilaçlar içinde geniş bir ailedir ve 2001'den beri klinik olarak sayısız başarı ile kullanılmaktadır. Genellikle kinazın aktif bölgesini hedeflerler ve böylece hücre içi hedeflerin fosforilasyonunu önlerler. Çoğunlukla hücre proliferasyonu veya anjiyogenez ile ilgilidir. Ağustos 2019 itibariyle, 43 RTK inhibitörü, onkolojik endikasyonlar için Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmıştır (Pottier ve ark., 2020).

- a. Anaplastik lenfoma kinaz (ALK)
- b. Kesme noktası küme bölgesi ile Abelson'ın (BCR-ABL) birleşimi
- c. Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR)
- d. FMS benzeri tirozin kinaz 3 (FLT3)
- e. Fibroblast büyüme faktörü reseptörleri (FGFR)
- f. Janus kinaz (JAK)
- g. Nörotrofik Tirozin Reseptör Kinaz (NTRK)
- h. Vasküler endotel büyüme faktörü (VEGFR)
- i. BRAF
- j. Bruton tirozin kinaz: Acalabrutinib ve ibrutinib
- k. Mitojenle aktive olan protein kinaz kinaz (MEK)
- l. Sikline bağımlı kinaz 4/6 (CDK4/6)

Bruton Tirozin Kinaz

Bruton tirozin kinaz (BTK), tirozin protein kinazların Tec kinaz ailesine aittir. B hücresi reseptörü (BCR) sinyal yolunda önemli bir terminal kinazdır ve B hücrelerinin gelişimi ve aktivasyonu için gereklidir. B hücrelerinin anormal aktivasyonunun, lenfomalar ve otoimmün hastalıkların patogeneğinde merkezi bir rol oynadığı bulunmuştur. Bu nedenle, BTK inhibitörlerinin, hematolojik maligniteler ve otoimmün hastalıklar gibi bazı bozukluklarının tedavisi için umut verici bir potansiyele sahip olduğu düşünülmektedir (Feng ve ark., 2019).

BTK, T ve plazma hücreleri hariç tüm hematopoietik türevli hücrelerden ekspres edilen bir proteindir. Bu kritik bir efektör moleküldür ve çoğalma, olgunlaşma, farklılaşma, apoptoz ve hücre göçü dahil olmak üzere B hücresi gelişiminin tüm yönlerinde yer alır. Diğer Tec ailesi üyeleri gibi, BTK'nın da bir PH (pleckstrin-homoloji) alanı, SH3 ve SH2 (src-homoloji) alanları ve bir karboksil kinaz alanı vardır (Şekil 2.). Bu tirozin kinaz, B hücresi antijen reseptörünün (BCR) aşağısında yer alır. BCR'nin aktivasyonu üzerine, BTK, PH ve SH alanları aracılığıyla partner moleküllerle etkileşime girerek aktive olur. Bu da kalsiyum salınımına yol açar (Wu ve ark.,2016).



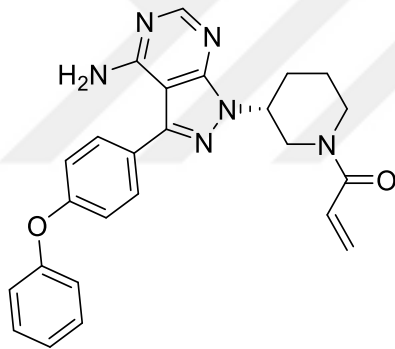
Şekil 2. Bruton Tirozin Kinaz

2.3. İbrutinib: Birinci Nesil BTK İnhibitörü

Kanser hücresinin büyümesini ve farklılaşmasını düzenleyen sürücü moleküller olan yeni biyobelirteçleri hedeflemek, kanser tedavisi için ilaç geliştirmede çığır açmıştır. Lenfositlerdeki biyobelirteç moleküllerini hedefleyen yeni ajanlar, lenfoid malignitelerin tedavisinde devrim yaratmaktadır. BTK, B hücresi gelişimi için kritik bir efektör molekül olduğundan ve lenfopenezde önemli bir rol oynadığından, BTK inhibitörleri potansiyel tedaviler olarak araştırılmıştır. Bugüne kadar IBR, birkaç lenfoproliferatif malignite için onaylanmış tek BTK inhibitörü olmaya devam ediyor (Cameron ve ark., 2014).

IBR,(R)-1-(3-(4-amino-3-(4-fenoxyfenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl) piperidin-1-yl)prop-2-en-1-on (şekil 3.), BTK kinaz alanının allosterik inhibitör segmentinde sistein 481 tortusuna seçici olarak bağlanan, sınıfında birinci ve yüksek derecede güçlü molekül inhibitörüdür. Bileşik, 223 tirozin kalıntısında otofosforilasyonunu inhibe ederek BTK'nın tam aktivasyonunu geri döndürülemez şekilde engeller. İbrutinib (imbruvica), kronik lenfositik lösemi (KLL), mantle hücreli lenfoma (MCL) ve Waldenstrom makroglobulinemisi gibi hastalıkların tedavisi için onaylanmıştır.

Bununla birlikte, kanama, döküntü, ishal ve atriyal fibrilasyon gibi istenmeyen etkiler gözlemlenmiş bu durum kısmen, epidermal büyüme faktörü reseptörü ve BTK dışındaki Tec ailesi proteinleri üzerindeki hedef dışı etkilerine bağlanmıştır. Ayrıca IBR'ye karşı direnç gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, ikinci nesil BTK inhibitörleri geliştirilmektedir (Nocco ve ark., 2022).



Şekil 3. İbrutinib'in kimyasal yapı

2.3.1. İbrutinibin farmakodinamik özellikleri

BCR yolu B hücresi farklılaşması, göçü, çoğalması ve apoptozu için önemli bir düzenleyicisidir aynı zamanda B hücresi malignitelerinin gelişiminde önemli olduğu düşünülmektedir. BTK, BCR kaskadının erken döneminde etkindir ve BTK boş mutasyonları, seçici B hücresi inhibisyonu ve düşük serum immünoglobulin (X'e bağlı agamaglobulinemi) ile ilişkilidir. Bu nedenle BTK'yı hedefleyen ajanlar, B hücre malignitelerinin tedavisi için umut vaat etmektedir. IBR, BTK'nın sistein Cys-481 ile kovalent bağı yoluyla BTK'yı geri dönüşümsüz olarak inhibe eder. Bunu yaparken, kötü huylu B hücrelerinin çoğalmasını ve hayatta kalmasını engeller, ayrıca B hücre göçünü

ve substrata yapışmasını da azaltır. BTK, T hücrelerinde bulunmamakla birlikte; IBR, yakın zamanda yapılan bir araştırmada olduğu gibi, T hücre sinyalizasyon aracılı hastalıkların tedavisinde de kullanılabilir.

Bir faz II çalışmasındaki Multipl miyelom MM hastalık belirteçleriyle ilgili ara sonuçlara dayanarak, IBR, MM hücrelerinin stromal hücrelerle etkileşimini ve hasta eksplantlarından MM koloni oluşturan hücrelerin büyümesini inhibe etmiştir. Aynı zamanda osteoklast farklılaşmasını baskılamış ve hem sitokin hem de kemokin üretimini azaltmıştır. Ayrıca MM'nin bir hayvan modelinde hastalık ilerlemesini ve kemik yıkımını azalttığı görülmüştür. NHL'si nüksetmiş veya refrakter NHL hastalarında yapılan bir faz I çalışmasında, IBR dozdan 4 saat sonra % 95 doluluk oranıyla BTK'yı tamamen işgal etmiş ancak periferik kandaki B, T veya doğal öldürücü hücrelerde önemli bir azalma olmadan ve T hücresinde değişiklik olmadan tepkiler göstermiştir. Daha önce MM tedavisi görmüş hastalarda yapılan bir klinik araştırmanın ön bulgularında, 420 mg/gün IBR, bon metabolizmasının bazı belirteçlerinde (sklerostin ve RANKL), proanjyogenik ve büyüme faktörlerinde, ayrıca kandaki sitokin seviyelerinde ve kemokin döngüsünde azalmaya neden olmuştur (Christensen ve ark., 2022).

2.3.2. İbrutinibin farmakokinetik özellikleri

IBR, oral uygulamadan sonra hızla emilir ve 840 mg'a kadar olan dozlarda sistemik maruziyet artar. Maksimum IBR, plazma derişime 1-2 saatte ulaşılır ve derişim-zaman eğrisi altındaki kararlı durum alanı, 560 mg/gün dozunda 953 ng.saate/mL'dir. IBR sistemik maruziyeti, aç durumda uygulamaya kıyasla gıda ile uygulamadan sonra yaklaşık 2 kat artar. IBR'nin her gün aynı saatte su ile alınması tavsiye edilir. IBR'nin görünen kararlı durum dağılım hacmi, vücutta yaygın olarak dağıldığını gösteren yaklaşık 10,00 L'dir. 50-1.00 ng/mL aralığında derişim bağımlılığı olmaksızın insan plazma proteinine geri dönüşümlü olarak % 97.3 oranında bağlanır. IBR, hepatik sitokrom P450 (CYP) 3A enzimleri ve küçük bir miktarda CYP2D6 tarafından metabolize edilir. Metabolizma, eliminasyonun ana yoludur. Dihidrodiol metaboliti PCI-45227 aktiftir ancak ana bileşiğe göre BTK'ya yönelik yaklaşık 15 kat daha düşük aktiviteye sahiptir. Kararlı durumda, PCI-45227'nin IBR 'ye ortalama derişimin oranı 1:2.8'dir. IBR'nin görünür klerensi yaklaşık 1.000 L/saattir ve eliminasyon yarı ömrü 4-6 saattir. IBR esas olarak feçesle

elimine edilir, %10'dan daha azı idrarla ve neredeyse tamamen metabolitler olarak atılır (Asawa ve ark., 2022).

İbrutinib klirensi yaşa (37-84 yaş) veya cinsiyete göre değişmez. Karaciğer yetmezliği olan hastalardaki ön veriler, IBR sistemik maruziyetinin orta derecede karaciğer yetmezliği olan hastalarda yaklaşık 6 kat daha yüksek olduğunu göstermektedir. İbrutinib böbrekler tarafından önemli ölçüde temizlenmez ve kreatinin klirensi (CLCR) [25 mL/dak] olan hastalarda CLCR ile IBR maruziyeti arasında bir ilişki yoktur. Şiddetli böbrek yetmezliği olan hastalarda (CLCR 25 mL/dk) veya diyaliz alan hastalarda farmakokinetik veri yoktur.

Ketokonazol (güçlü bir CYP3A inhibitörü), IBR maksimum derişimin ve AUC'yı sırasıyla 29 ve 24 kat artırır; orta dereceli CYP3A inhibitörleri AUC'yı 6-9 kat artırabilir. Özellikle klinisyenler, IBR'yi orta ve güçlü CYP3A inhibitörleriyle birlikte kullanmaktan kaçınmalıdır. IBRnin orta düzeyde bir CYP3A inhibitörü ile kullanılması gerekiyorsa, IBR dozu azaltılmalıdır. Klinisyenler, CYP3A inhibitörlerinin kısa süreli kullanımı sırasında IBR uygulamasına ara vermeyi düşünmeli ve CYP3A inhibitörlerinin uzun süreli kullanımından tamamen kaçınmalıdır. Ayrıca CYP3A indükleyicileri ile de birlikte uygulamadan kaçınmalıdır. Rifampin (güçlü bir CYP3A indükleyicisi) IBR maruziyetini 10 kat azaltabilirken, orta dereceli CYP3A indükleyicileri maruziyeti 3 kata kadar azaltabilir. IBR ve aktif metaboliti, CYP enzimlerinin zayıf indükleyicileri olduğundan, terapötik dozlarda IBRnin CYP substratlarının farmakokinetiği üzerinde klinik olarak önemli etkilere sahip olması olası değildir (Lee ve ark., 2022).

2.3.3. İbrutinib'in analitik yöntem çalışmaları

Veeraraghavan ve arkadaşları IBR ve lenalidomid ilaçlarının kombinasyonlarını kullanarak yapılan çalışma ile her iki ilacın da kan plazmasında kesin olarak belirlenmesi için analitik bir yöntemin geliştirilmişlerdir. Sıçan plazmasında lenalidomid, IBR ve aktif metaboliti PCI45227'nin eşzamanlı tespiti için yüksek performanslı bir sıvı kromatografi-tandem kütle spektrometrisi (LC-MS/MS) yöntemi geliştirilmiştir. Analitlerin kromatografik ayrımı, hareketli fazlar olarak 1 mL/dk'lık bir akış hızında asetonitril: % 0.1 formik asit tamponu ile gradyan koşulları altında YMC (kolon türü) paketi (150 mm x 4.6 mm, 5 µm) kolonunda gerçekleştirilmiştir. Analitler ve internal standart için öncü iyon ve

ürün iyon geçişi, pozitif iyonizasyon modu ile seçici reaksiyon izlemede çalıştırılan üçlü dört kutuplu bir kütle spektrometresinde izlenmiştir (Veeraraghavan ve ark., 2015).

İbrutinib için 0.72–183.20 ng/ml, PCI-45227 için 0.76–194.33 ng/ml ve lenalidomid için 1.87–479.16 ng/ml derişim aralığında çalışılmıştır. İbrutinib, PCI-45227, lenalidomid ve internal standart için % 75.2, % 84.5, % 97.3 ve % 92.3'lük ortalama ekstraksiyon geri kazanımı, düşük, orta ve yüksek QC seviyelerinde elde edilmiştir. Analitik yöntem, Wistar sıçanında lenalidomid, IBR ve aktif metaboliti PCI-45227'nin eş zamanlı tahmininin farmakokinetik çalışmasını desteklemek için uygulanmıştır. Testin tekrarlanabilirliği, oluşan 18 örneğin yeniden analiziyle kanıtlanmıştır (Veeraraghavan ve ark., 2015).

Iqbal ve arkadaşları, sıçan plazma örneklerinde IBRnin yüksek verimli analizi için bir UPLC-tandem MS yöntemi geliştirmişler. Box-Behnken deney tasarımının uygulanmasıyla kromatografik bir yöntem tasarlanmıştır. Tüm kalibrasyon eğrileri, 0.35 ila 400 ng/mL ($r^2 \geq 0.997$) derişim aralığında ve LOQ ise 0.35 ng/mL'lik daha düşük bir sonuç elde etmişlerdir. Geliştirilen yöntem, yeni bir IBR kendi kendine nanoemülsifiye edici ilaç dağıtım sistemi formülasyonunun farmakokinetik çalışmasında başarıyla uygulanmıştır (Iqbal ve ark., 2016).

Rood ve arkadaşları, insan ve fare plazmasında IBR ve onun dihidrodiol metaboliti için doğrulanmış basit, hızlı ve hassas biyo-analitik yöntem denemişlerdir. Numune hazırlama, protein çöktürme ve ilgili döteryumlu iç standartların eklenmesi ve ardından LC-MS/MS analizi ile gerçekleştirilmiştir. Ayırma, % 0.1 v/v formik asit ve asetronitril ile gradyan elüsyonu ile 3.5 µm partikül boyutunda, köprülü etilen hibrit kolonu üzerinde gerçekleştirmişlerdir. Test, 5–5000 ng/ml kalibrasyon aralığında gerçekleştirilmiştir. Oda sıcaklığında, IBR daha önce tanımlanmayan bir kararsızlık göstermiş ve 37 °C'de hızlı bozunma gösterdi. Son olarak, yöntem, tedavi edilen FVB farelerinde plazma seviyelerinin farmakokinetik bir çalışması için kullanılmıştır (Rood ve ark., 2016).

Bindu ve arkadaşları, IBR nin miktar tayini için yeni bir HPLC yöntemi önermişlerdir. Çalışma için Kromosil kolonlu (250mm x 4.6 mm, 5µ partikül boyutu) Shimadzu Model HPLC sistemi kullanılmıştır. 1.0 mL/dk akış hızına sahip fosfat tamponu ve asetronitril (45:55, v/v) karışımı, optimize edilmiş kromatografik koşullardır ve sistem

295 nm'de izlenmiştir. İbrutinib, regresyon denklemi = $15528x + 251.16$ ($r^2 = 0.9999$) ile 3.5–2100 µg/ml doğrusallık göstermiş, LOD ve LOQ sırasıyla 0.6927 µg/ml ve 2.1578 µg/ml olarak bulunmuştur (Bindu ve ark., 2018).

Zhang ve arkadaşları, sıçan plazmasında IBR tayini için bir HPLC yöntemi geliştirmiş ve farmakokinetiğini incelenmiştir. Analitik kolon olarak ZORBAX XDB-C18(150 mm×4.6 mm, 5 µm) kullanmıştır. İç standart olarak karbamazepin kullanılmış, alkali koşul altında plazma ekstrakte edilmiş ve IBR tespit edilmiştir. Dokuz sıçan, tragastrik uygulamada tek doz 15 mg·kg⁻¹ IBR ile tedavi edilmiştir. IBR uygulamasından sonra farklı zaman noktalarında kan örnekleri toplanmış ve IBRnin plazma derişimi ve farmakokinetik parametreler DAS yazılımı ile hesaplanmıştır. 10 µg·L⁻¹ ile 2 000 µg·L⁻¹ ($r = 0.9997$) aralığında doğrusal ilişki elde edildi. Üç derişim için (25, 500 ve 1500 µg L⁻¹) gün içi RSD'ler %7.11, %10.41 ve %3.19 ve gün içi RSD'ler sırasıyla %2.56, %1.98 ve %3.79), ortalama geri kazanımlar sırasıyla % (78.91 ± 2. 10) , (86.29 ± 3. 97) % ve (83.61 ± 2. 11) olarak bulunmuştur (Zhang ve ark., 2018).

Beauvais ve arkadaşları, beyin omurilik sıvısında (BOS) IBR ve aktif metaboliti PCI-45227'nin miktar tayini için ultra performanslı bir sıvı kromatografi-tandem kütle spektrometrisi (UHPLC-MS/MS) tekniğın geliştirilmesini ve doğrulanmasını tanımlamışlardır. Bu, BOS'ta IBR ve PCI-45227'nin miktar tayini için ilk tam doğrulanmış yöntemdir. Bileşikler bir Waters BEH C18 kolonu (50.0 x 2.1 mm; 1.7 µm) üzerinde amonyum format tamponu 5.0 mmol L⁻¹ pH 3.2 ve asetonitril + % 0.1 formik asitten oluşan bir mobil faz ile bir gradyan elüsyonu kullanılarak 400 µL akış hızı ile ayırıştırılmıştır. BOS numuneleri basit ve hızlı bir seyreltme ile hazırlanarak, yöntem, seçicilik, yanıt işlevi, gün içi ve günler arası kesinlik, doğruluk, saptama limitleri (LOD) ve alt miktar tayini limitleri (LOQ) test edilerek doğrulanmıştır. Doğrulama sonuçları, yöntemlerin gerçek biyolojik BOS örneklerinde IBR ve PCI-45227'yi 0.50 (IBR) veya 1.00 (PCI-45227) ile 30.00 ng·mL⁻¹ arasında uygun olduğu gösterilmiştir (Beauvais ve ark., 2018).

Yasu ve arkadaşları, plazmada IBR derişimin tayini için basit bir yöntem tasarlamışlardır. Analiz, 200 µL'lik bir plazma numunesinin ekstraksiyonunu ve katı faz ekstraksiyonu kullanılarak proteinlerin çöktürülmüştür. İç standart olarak kullanılan IBR ve nilotinib, bir asetonitril-% 0,5 monopotasyum fosfatın (KH₂PO₄, pH 3,0; 52:48, v/v)

mobil fazı kullanılarak yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) tekniğiyle ayırma gerçekleştirilmiştir. Capcell Pack C18 MG II (250 ×4.6 mm), 260 nm'de, 1.0 mL/dk'lık bir akış hızında deneyler yapılmıştır. Kalibrasyon eğrisi sayesinde 0,999 korelasyon katsayısı (r^2) ile 10-500 ng/mL plazma derişim aralığında doğrusallık gözlenmiştir. Bu HPLC yöntemi, hastane laboratuvarlarında rutin terapötik ilaç izleme için basitlik ve uygulanabilirlik gibi çeşitli avantajlara sahip olduğunu vurgulamışlardır (Yasu ve ark., 2019).

Du ve arkadaşları, seçici ve sağlam UPLC-MS/MS yöntemini, ilk olarak uygun maliyetli protein çökeltme ekstraksiyonu kullanılarak sıçan plazmasında üç anti-tümör tirozin kinaz inhibitörünün (anlotinib, seritinib, IBR) eş zamanlı tayini için geliştirmişlerdir. LC ayrımı, 5 dakikalık bir çalışma süresinde gradyan koşulları altında Waters XBrige C18 kolonunda (50 mm x 2.1 mm, 3.5 μ m) sağlanmıştır. Çalışma, anlotinib için 0.1-20 ng mL⁻¹, seritinib için 2-1000 ng mL⁻¹, IBR için 1-500 ng mL⁻¹ aralığında doğrusallık göstermiştir. Tüm analitler için gün içi ve günler arası doğruluk ve kesinlik sırasıyla % 13.84 ve % 12.56 hesaplanmıştır. Optimize edilmiş yöntem, karışımın 6 mg kg⁻¹, 25 mg kg⁻¹ ve 10 mg kg⁻¹ dozlarında tek oral gavaj uygulamasından sonra bir farmakokinetik çalışma için başarıyla uygulanmıştır (Du ve ark., 2019).

Konduru ve arkadaşları, RP-HPLC/PDA ve QDa kütle dedektörlerini IBR içindeki bozunma ürünlerinin, bilinen ve genotoksik safsızlıkların ayrılması ve tanımlanması için yeni bir stabilite gösteren yöntem geliştirme ve doğrulamasını açıklamışlardır. Tüm safsızlıkların ayrılması için, 1 ml/dakika akış hızı ile toplam çalışma süresi 85 dakika olan sabit faz kolonu (X-Select CSH, C18, 150 mm × 4.6 mm × 3.5 μ m) kullanmıştır. IBR nin ısı, UV, nem ve su koşulları altında stabil olduğu bulunurken, tanımlanan safsızlıklarda, bozunma ürünlerinde ve IBR tepe alıkonma süresinde hiçbir etkileşim bulunmamıştır. Önerilen yöntem, ICH Q2 (R1) yönergelerine göre doğrulanmıştır. Validasyon ve bozunma sonuçlarına göre, yöntemin iyi bir stabiliteye sahip olduğu ve aynı zamanda çevre dostu olduğu gösterilmiştir (Konduru ve ark., 2020).

Liclican ve arkadaşları, Tirabrutinib'in BTK Cys-481'e kovalent bağlanması, bir değişken modifikasyon arama parametresi olarak kullanılarak BTK'nın LC /MS-MS analizi ile değerlendirilmiştir. Tirabrutinib, IBR, acalabrutinib ve spebrutinib'in BTK ve ilgili kinazlara karşı inhibisyon gücü, ya sabit bir inkübasyon süresinden sonra (geleneksel

IC50 çalışmalarında kullanıldığı gibi) ya da inaktivasyon kinetiklerinin ölçüldüğü bir zaman sürecini takiben doza bağlı bir şekilde incelenmiştir. Tirabrutinib geri dönüşümsüz ve kovalent olarak BTK Cys-481'e bağlanır. İnaktivasyon etkinliği $kinact/K_i$ ölçüldü ve çalışılan dört inhibitörün her biri için farklı kinazlar arasındaki seçiciliği hesaplamak için kullanılmıştır (Liclican ve ark., 2020).

Chang ve arkadaşları, çeşitli karmaşık biyolojik sıvılarda IBR ve pralatreksatin tayini için bir dizi florimetrik tayin yöntemi, eksitasyon emisyon matrisi ile birleştirilmiş ikinci derece kalibrasyon yöntemlerini önermişlerdir. Bu yöntemlerin ortalama geri kazanımları sırasıyla % 94.5–104.9 hesaplanmıştır. Sonuçlar, üç yöntemin önemli bir fark olmaksızın doğru bir şekilde ölçülebileceğini göstermiştir. İbrutinib ve pralatreksatin tayin alt sınırı (LOD) ve miktar tayin sınırı (LOQ) sırasıyla $0.11-0.76 \text{ ng mL}^{-1}$ ve $0.21-1.12 \text{ ng mL}^{-1}$ aralığında bulunmuştur. Bu sonuçlar, önerilen yöntemin klinik ilaç izleme için umut verici, alternatif ve evrensel bir analiz stratejisi sağladığını göstermektedir (Chang ve ark., 2021).

Gopireddy ve arkadaşları, IBR'deki gerilim genotoksik safsızlığın belirlenmesi için hassas, basit, hızlı ve sağlam bir ters faz HPLC yöntemi geliştirilmişler. Türevlendirme reaktifi olarak salisilaldehit ve $4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$ kolon boyutu ve $5 \mu\text{m}$ partikül boyutuna sahip durağan faz olarak oktadesil hidrazin hidrat (Inertsil ODS-3V) kullanılmıştır. 0.02 mol L^{-1} amonyum dihidrojen-ortofosfat ve asetonitril mobil faz olarak kullanılmıştır. Ayırma için izokratik elüsyon modu, 1.0 mL/dk 'lık bir akış hızı ve 40°C 'lik kolon fırın sıcaklığı kullanılmıştır. Algılama 354 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen yöntem ICH yönergelerine göre valide edilmiş ve doğrusal, doğru, spesifik, seçici, kesin ve sağlam bulunmuştur. Test solüsyonunun 48 saate kadar stabil olduğu bulunmuştur. Bu yöntem, rutin analiz ve stabilite değerlendirmesi için IBR 'deki hidrazin hidratin belirlenmesi için başarıyla uygulanabilir (Gopireddy ve ark., 2021).

Konduru ve arkadaşları, ters fazlı yüksek performanslı sıvı kromatografisi/fotodiyot dizisi dedektörü ile bitmiş katı dozaj formlarında IBR tayini için basit, kesin, doğrusal, sağlam, doğru ve stabiliteyi gösteren bir sıvı kromatografi yöntemi geliştirmiştir. Ayırma, uygun bir mobil faza sahip bir Luna C18 $150 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm} \times 3.0 \mu\text{m}$ kullanılarak sağlanmış, mobil faz A olarak 10 mmol L^{-1} fosfat tamponu ve 1 mL trietilamin kullanılmıştır. Ayrıca mobil faz B % 85 asetonitril içermektedir. Akış hızı 1.0

mL/dk, enjeksiyon hacmi 10 µL, kolon sıcaklığı 40°C ve dalga boyu 258 nm gibi optimize edilmiş kromatografik koşullar çalışılmıştır (Konduru ve ark., 2022).

Gopireddy ve arkadaşları, IBRnin enantiyorezolüsyonu için yeni HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. İbrutinib enantiyomerlerinin ayrılması ve tanımlanması, silika jel (Chiral-pack-IC) üzerinde immobilize edilmiş selüloz tris (3,5-diklorofenilkarbamat) kullanılarak araştırılmıştır. % 0.1 Dietil amin ve % 0.3 Trifloro asetik asit ile 55 ve 45 (% h/h) oranında n-Heksan, etanolden oluşan normal faz koşulu altında Chiral-pack-IC'de iyi temel enantioseparasyon elde edilmiştir. Analiz, 260 nm'de gerçekleştirilmiştir. Optimize edilmiş enjeksiyon hacmi ise 10 µL olarak belirlenmiştir. Geliştirilen yöntem, özgüllük, saptama sınırı, niceleme sınırı, doğrusallık, doğruluk, kesinlik, sağlamlık ve sağlamlık için ICH kılavuzlarına göre doğrulanmıştır (Gopireddy ve ark., 2022).

Bilge ve arkadaşları (2022), IBR ile çift sarmallı DNA arasındaki etkileşimin elektrokimyasal ve moleküler docking ile araştırmasını pH 4.7 ortamında yapmışlardır. DNA biyosensöründe pik akımlarının tekrar edilebilirlik sonuçları (%RSD) sırasıyla 1.95 ve 1.74 olarak bulunmuştur. Başka bir çalışmada GCE ile surfaktan varlığında IBR'i tayin etmişlerdir. Tayin alt sınırı 2.73×10^{-10} mol L⁻¹ olarak bulunmuştur. Önerilen yöntem biyolojik numunelerde IBR miktarının belirlenmesi için uygulanmıştır (Gürbüz ve ark., 2022).

2.4. Elektrokimya

Elektrokimya, elektron transferlerini içeren tepkimeleri araştıran, elektrik ve kimya alanındaki çalışmaları bir araya getirerek maddelerin elektrikselsel davranışlarını inceleyen bir kimya dalı olarak ifade edilir. Başka bir şekilde ise; elektrokimya, elektron akışını kimyasal değişimlerle ilişkilendirilir. İnorganik kimyada, sonuçta ortaya çıkan kimyasal değişim genellikle bir metal kompleksinin oksidasyonu veya indirgenmesidir. Elektrokimya alanı, çözelti/elektrot ara yüzeyinde meydana gelen elektron transferi ile ilgilendirir. Bu alanın temel ilkelerinin çoğu, elektronun keşfinden önce 1893'te J. J. Thompson tarafından açıklanmıştır (Elgrishi ve ark., 2018).

Elektroanaliz, günümüz dünyasında analitik problemleri çözebilmek için tasarlanmış elektrokimyanın pratik bir parçasıdır. Bunlar esas olarak elementlerin veya

kimyasal bileşiklerin tanımlanması ve nicelemesi ile ilişkilidir. Son yıllarda elektrokimyasal yöntemlerde, özellikle voltametrik yöntemlerde dinamik bir gelişme olmuştur. Günümüzde, yaygın olarak kullanılan kromatografik yöntemlere çekici bir alternatif haline gelmişlerdir. Avantajlarını düşündüğümüzde doğruluk, kesinlik, tespit limitleri ve tayin açısından kromatografik yöntemlerle karşılaştırılabilir ancak pahalı ve karmaşık ekipman gerektirmezler. Diğer bir avantaj ise, özellikle biyolojik materyal söz konusu olduğunda, numunenin hazırlanması kolay ve basit olduğu için bu aşama süresinin az olmasıdır. Elektroaktif bileşiklerin voltametrik analizi için türevlendirme gerekli değildir. Numune hazırlama genellikle numunenin uygun bir çözücü içinde çözünmesiyle elde edilir ve bazen de isteğe bağlı olarak çözünmeyen materyal bileşenlerini ayıran filtrasyonla elde edilir.

Bunların kullanımı, numunenin diğer elektroaktif bileşenlerinin varlığını sınırlayabilir ayrıca sinyalleri de analite girişim yapabilir. Bu avantajlar, analiz süresini kısaltabilir ve hata olasılığını en aza indirebilir. Ölçüm hücresinin minyatürleştirilmesi sayesinde, reaktiflerin tüketimini önemli ölçüde azaltmak da mümkündür, bu da analiz maliyetlerini en aza indirir ve voltametrik teknikleri yeni popüler olan yeşil kimya ile uyum sağlayan ve çevre dostu hale getirir (Michalkiewicz ve ark., 2021).

2.5. Voltametri

Voltametri, akımın uygulanan gerilimin bir fonksiyonu olarak ölçüldüğü elektroanalitik yöntem gruplarından biridir. İlk voltametri tekniği, 1922'de Çek kimyager Jaroslav Heyrovsky tarafından polarografinin keşfinden geliştirilmiş ve 1959 Nobel Kimya Ödülü'nü almıştır. Elektroanaliz, gerçek hayattaki analitik problemleri çözmek için elektrokimya uygulaması olarak tanımlanabilir. Voltametrde, hem akımı hem de potansiyeli izlemek için üç elektrot (çalışma elektrotu, referans elektrot ve karşı/yardımcı elektrot) kullanılır. Bu nedenle, çoğu analitin, çözünmüş organik ve inorganik maddelerin çeşitliliğinin nicel tayini için rutin olarak voltametrik teknikler kullanır. Araştırmacılar çeşitli ortamlarda yükseltgenme ve indirgeme işleminin temel çalışmaları, elektron transfer işleminin kinetiği ve çözünmüş türlerin termodinamik özellikleri vb. dahil olmak üzere çeşitli amaçlar için voltametrik teknikleri yaygın olarak kullanırlar (Skoog ve ark., 1996).

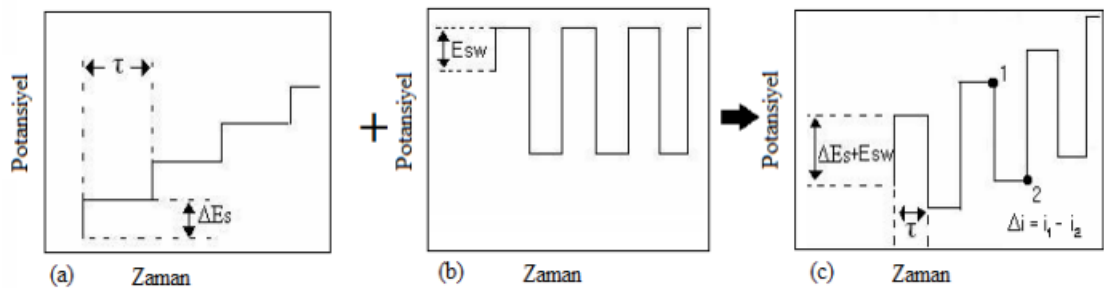
2.5.1. Voltametrik teknikler

Voltametri de kullanılan teknikler; kullanılan elektrotların cinsine, uygulanan akım potansiyelin şiddetine, dengenin bozulma hızı gibi farklı parametrelere bağlı olarak çeşitli şekillerde geliştirilmiş ve isimlendirilmiştir. Voltametrik teknikler elektroda uygulanan potansiyel farkının ölçülmesi ile çalışan bir elektrokimyasal yöntemlerdendir. Aşağıda sıklıkla kullanılan voltametrik teknikler verilmiştir.

- Kare Dalga Voltametrisi (KDV)
- Adsorptif Sıyırma Voltametrisi (ASV)
- Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV)
- Dönüşümlü Voltametri (DV)

Kare dalga Voltametrisi

KDV, hızlı ve hassas bir voltametri yöntemidir. 10 milisaniyeden daha kısa sürede tam bir voltamogram elde edilir. Bu yöntemde ölçüm çok hızlı yapılabildiğinden ölçüm sayısı arttıkça sonuçların doğruluğunun da artması mümkündür. Kare dalga yöntemlerinde darbeler farklı şekillerde uygulanabilir. Bu teknikte, akım gerilim etrafında simetrik olduğundan, pik gerilimi redoks çiftinin $E_{1/2}$ 'sinde meydana gelir. Kapasitif şarj akımının daha az katkısı nedeniyle, KDV için algılama sınırları nanomolar derişimler düzeyindedir. Bu teknik Ramaley ve Krause tarafından icat edilmiş olup, Osteryoungs ve arkadaşları tarafından kapsamlı bir şekilde geliştirilmiştir (şekil 4) (Osteryoung ve O'Dea, 1986).



Şekil 4. Kare dalga voltametrisinde uyarma sinyallerinin oluşumu.

Adsorptif Sıyırma Voltametrisi

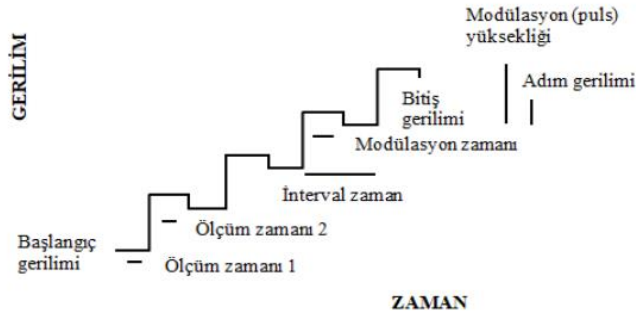
Voltametrik yöntemler arasında en duyarlı sonuçların elde edildiği sıyırma voltametrisi, inorganik ve organik bileşiklerin düşük derişimlerde analizlerinin yapılmasına olanak sağlar. Bu yöntem, analitin yükseltgenme ve/ya da indirgenme amacıyla alınarak elektrot yüzeyinde biriktirilmesiyle elektrokimyasal ön deriştirme uygulanarak gerçekleştirilir.

Anodik sıyırma voltametrisi, belirli iyonik türlerin nicel olarak belirlenmesi için kullanılan bir yöntemdir. İlgili analit, bir çökeltme aşaması sırasında çalışma elektrotu üzerinde elektrolizle kaplanır ve sıyırma aşaması sırasında elektrottan oksitlenir. Akım, sıyırma adımı sırasında ölçülür. Türlerin oksidasyonu, türlerin oksitlenmeye başladığı gerilimde mevcut sinyalde bir pik noktası olarak kaydedilir. Sıyırma adımı doğrusal, basamaklı, kare dalga veya darbeleri olabilir (Copeland ve Skogerboe, 1974).

Katodik sıyırma voltametrisinde ise, iz analiz yöntemi anodik sıyırma voltametrisine benzer ancak kaplama adımı için gerilim, bir oksitleyici gerilimde tutulur ve oksitlenmiş türler gerilimin pozitif olarak süpürülmesiyle elektrottan sıyrılır. Bu teknik, çözünmeyen tuzlar oluşturan ve biriktirme sırasında anodik çalışan elektrot üzerinde veya yakınında birikecek olan iyonik türler için kullanılır. Sıyırma adımı doğrusal, basamaklı, kare dalga veya darbeleri olabilir (Obata ve Van den Berg, 2001).

Diferansiyel Puls Voltametrisi

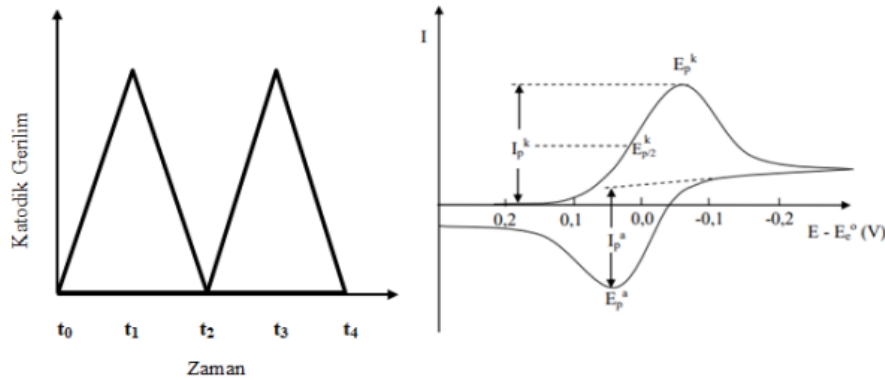
Diferansiyel puls voltametrisi, gerilim doğrusal süpürme veya merdiven basamakları üzerine bindirilmiş bir dizi düzenli voltaj darbesi ile doğrusal süpürme voltametrisinin veya basamaklı voltametrisinin bir türevi olarak düşünülebilir. Akım, her gerilim değişikliktten hemen önce ölçülür ve akım farkı gerilimin bir fonksiyonu olarak çizilir. Gerilim değişmeden hemen önce akımı örnekleyerek şarj akımının etkisi azaltılabilir (şekil 5) (Kröger ve ark., 1999)



Şekil 5. Diferansiyel puls voltametri uyarma sinyali.

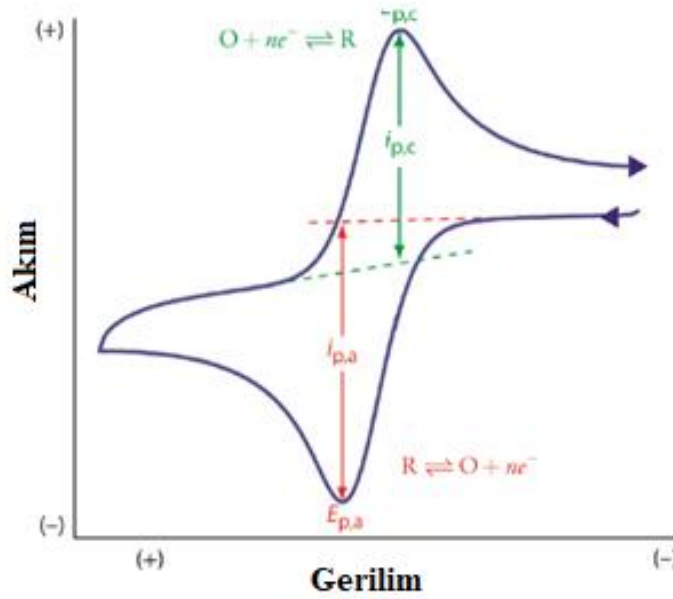
Dönüşümlü Voltametri

Dönüşümlü Voltametri, elektrokimyasal süreçler hakkında önemli bilgiler elde etmek için yararlı bir tekniktir. İlk olarak 1938'de rapor edilmiş ve teorik olarak Randles tarafından tanımlanmıştır. Dönüşümlü voltametri (DV), elektrokimyasal olarak aktif sistemlerin ilk karakterizasyonu için yaygın olarak kullanılmaktadır. DV, farklı oksidasyon durumlarının sayısını ve bunların bağlı enerjilerini belirtir. Bunun yanında farklı mekanizmalarla ilişkili dönüşümlü voltamogramların karakteristik görünümünden dolayı, elektron transfer reaksiyonlarının kimyasal reaksiyonlara bağlandığı sistemlerin mekanik çalışmaları için de kullanılabilir (şekil 6) (Kissinger ve Heineman, 1983).



Şekil 6. Dönüşümlü voltametrde gerilim-zaman ve gerilim-akım eğrileri.

Dönüşümlü voltamogramın parametreleri pik gerilimi ve pik akımıdır. Redoks reaksiyonu ile ilişkili iki pik noktası vardır. Anodik pik gerilimi (E_{pa}) ve katodik pik gerilimi (E_{pc}) ve ilgili akım sırasıyla anodik pik akımı (i_{pa}) ve katodik pik akımıdır (i_{pc}). Şekil 7’de akım ve gerilim ile tersinir bir süreç için tipik bir voltamogramı gösterilmiştir. Gerilim zamanla lineer olarak değiştiği için yatay eksen bir zaman eksenini olarak da düşünülebilir. Daha fazla pozitif gerilim, tüm oksidasyonları hızlandıracak ve daha fazla negatif gerilim, tüm indirgemeleri hızlandıracaktır (Venton ve Cao, 2020).



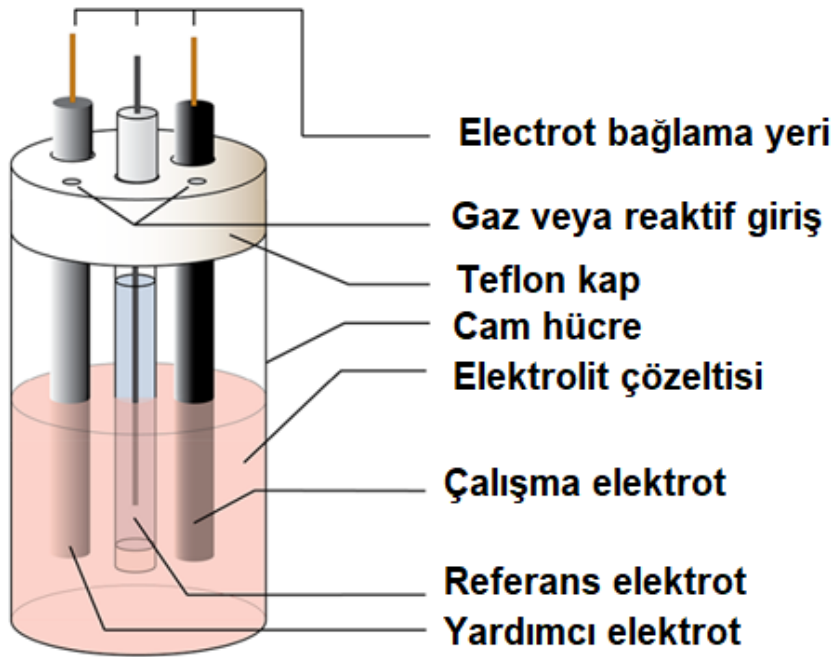
Şekil 7. Tipik bir dönüşümlü voltamogram

2.5.2. Elektrokimyasal hücreler

İndirgenme ve yükseltgenme tepkimeleri, indirgen ile yükseltgen maddenin birbiri ile doğrudan temas ettiği bir kapta ya da tepkimeye giren maddelerin birbiri ile temas etmediği elektrokimyasal hücrede gerçekleştirilmektedir. Elektrokimyasal hücreler elektrolitik ve galvanik olarak ikiye ayrılır. Elektrolitik hücre elektrik enerjisi harcar. Reaksiyonun gerçekleşmesi için dışarıdan enerji gereklidir. Galvanik hücre ise kimyasal enerjisiyi elektrik enerjisine çeviren hücredir ve reaksiyon kendiliğinden meydana gelir.

Genel voltametrik ölçümlerde kullanılan elektrokimyasal hücreler, 5–50 mL çözelti ile çalışabilecek şekilde yapılmıştır. Teflondan yapılmış kapağa elektrotlar takılır.

İnce bir boru yardımıyla çözeltilerden N_2 gazı geçirilir (özellikle indirgenme süreçlerinde). Hücre yüzeyinde adsorpsiyon yapmayan camdan imal edilmiştir. Sıcaklık kontrolünün gerektirdiği ölçümlerde hücrenin dış kısmında suyun dolaşmasına izin veren özel hücreler kullanılır. İki elektrotlu hücrelerde bir çalışma (indikatör) elektrodu ile bir karşılaştırma (referans) elektrodu vardır. Tuz köprüsü iki yarı hücrenin birbiriyle karışmasını önlerken aynı zamanda akımın geçmesini sağlar. İki elektrotlu hücrelerde elektroaktif maddelerin indirgenme ve yükseltgenme gerilimleri belirlenemediği ve gerilim kontrollü elektroliz yapılamadığı için elektrokimyasal çalışmalarda çoğunlukla üç elektrotlu sistemler tercih edilmektedir (Şekil 8). Üç elektrotlu hücrelerde, çalışma elektrotunun gerilimi referans elektrota göre belirlenir ve bu da reaksiyonun her aşamasında elektrot geriliminin bilinmesini sağlar. Bu tür elektrokimyasal hücrelerde yardımcı, çalışma ve karşılaştırma elektrotu içinde elektroaktif tür ile destek elektroliti içeren çözücü içerisinde daldırılır. Gerçekleştirilecek elektrokimyasal reaksiyonun türüne göre kapalı veya açık tip hücreler kullanılabilir. Eğer reaksiyon esnasında oluşan ürünler veya ara ürünler hava oksijeninden etkileniyorsa kapalı tip hücreler tercih edilir (Elgrishi ve ark., 2018).

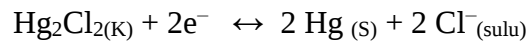


Şekil 8. Elektrokimyasal Hücre

2.5.3. Voltametrizde kullanılan elektrotlar

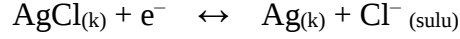
Voltametrik tekniğin performansı, çalışma elektrotunun malzemesinden güçlü bir şekilde etkilenir. Çalışma elektrodu, tekrarlanabilir bir yanıtın yanı sıra yüksek sinyal sesi özellikleri sağlamalıdır. Bu nedenle seçimi öncelikle iki faktöre bağlıdır. Birincisi, hedef analitin redoks davranışı, ikincisi ise ölçüm için gerekli gerilim bölge üzerindeki arka plan akımı olarak söylenebilir. Diğer hususlar, gerilim penceresi, elektriksel iletkenlik, yüzey tekrarlanabilirliği, mekanik özellikler, maliyet, kullanılabilirlik ve toksisite de oldukça önemlidir.

Bir voltametri deneyinde çalışan bir elektrotun gerilimi her zaman bir standarda göre kontrol edilir ve bu standart referans elektrottur. Çoğu kaynakta bulunan yarı reaksiyon gerilimlerinin termodinamik ölçeği, elektrot gerilimlerini "standart hidrojen" referans elektroduna (SHE) karşı ölçerken, fiili uygulamada SHE'nin kullanılması çok zahmetlidir. Bu nedenle, bir dizi başka referans elektrotları geliştirilmiştir. Bu alternatif referans elektrotlara karşı gerilimin deneysel ölçümleri yapılır ve daha sonra gerilimler basit toplama veya çıkarma ile "düzeltir" ve SHE'ye karşı rapor edilir. Sulu çözeltilerde çalışmak için en genel olarak mevcut referans elektrotlardan biri doymuş kalomel elektrottur (SCE). Bir SCE referansının içinde meydana gelen yarı reaksiyon aşağıda verilmiştir.



25°C'de, SCE yarı reaksiyonunun formal gerilimi, SHE referans elektrotundan 0.2415 volt daha pozitifdir. Bir SCE kullanımına karşı ölçülen bir gerilim, SHE'ye karşı sadece 0.2415 volt eklenerek rapor edilebilir. SCE elektrotu, az miktarda cıvayı katı kalomel (Hg_2Cl_2) macunu ile doğrudan temas halinde tutarken aynı zamanda macunu doymuş sulu potasyum klorür çözeltisi ile temas halinde tutabilen uygun bir cam eşyadan yapılmalıdır. Elektrik teması, sıvı cıvaya bir platin tel daldırılarak yapılır ve potasyum klorür çözeltisi, bir tuz köprüsü veya gözenekli cam frit yoluyla elektrokimyasal hücredeki test çözeltisi ile iyonik teması korur. Bu elektrotlar "el yapımı" olabilir veya çeşitli üreticilerden satın alınabilir. Diğer faydalı referans elektrotları, bir gümüş elektrot içeren yarı reaksiyonlara dayanır. Sulu sistemlerde çalışmak için gümüş-gümüş klorür (Ag/AgCl) referansı oldukça popülerdir.

Bu referans elektrot için yarı reaksiyon aşağıdaki gibidir:



Bir Ag/AgCl referansı tarafından varsayılan gerçek gerilim, yalnızca klorür anyonunun aktivitesine bağlıdır. Referans olarak hizmet etmesi için klorür aktivitesinin sabit tutulması gerekir. Bunu başarmak için, bir gümüş tel (bir gümüş klorür tabakası ile kaplanmış) potasyum klorür ile doyurulmuş bir iç çözeltiye daldırılır. Klorür iyon derişimi doyma sınırında sabit kalır. Elektrik teması, gümüş tele doğrudan bağlantı ile yapılır ve dahili elektrot solüsyonu, bir tuz köprüsü veya gözenekli cam frit yoluyla test solüsyonu ile iyonik temas halinde yerleştirilir.

Yarı iç kompozisyonu değiştiren referans elektrottan geçen akımın akışı, geriliminin beklenen standart değerden uzaklaşmasına neden oluyordu. Bu ve diğer nedenlerle, elektrokimyasal ölçümler, referans elektrottan akım akmadan yapılmıştır. Modern üç elektrotlu potansiyostat, bunun olmasını önlemek için bir geri besleme devresini çalıştırır, ancak bu geri besleme devresi, elektrokimyasal hücreye ek bir yardımcı elektrotun sokulmasını gerektirir. Bu elektrot, akımın takip etmesi için alternatif bir yol sağlar, böylece referans elektrottan yalnızca çok küçük bir akım geçer.

Yardımcı elektrot, istenen herhangi bir elektrot geometrisi kullanılarak hemen hemen her malzemeden yapılabilir. Tasarım seçimleri genellikle çalışılan belirli test çözeltisindekimyasal olarak inert olan bir malzeme bulmaya dayanır ve genellikle yardımcı elektrotun geniş bir yüzey alanına sahip olması iyi bir fikirdir. Çoğu durumda, bir platin tel bobini kullanılır, ancak paslanmaz çelik, bakır veya alüminyum tel aşındırıcı olmayan çözeltilerde de çalışabilir. Elektrokimyasal hücre metalden yapılmışsa, hücrenin kendisi yardımcı olarak kullanılabilir. Yardımcı elektrottan akım geçtiği için elektrokimyasal süreç burada da meydana gelecektir. İndirgeme çalışma elektrotunda meydana gelirse, yardımcı elektrotta oksidasyon meydana gelir ve bunun tersi de geçerlidir. Yardımcıda üretilen ürünler, çalışma elektroduna yayılmasına izin verilirse, deneysel ölçüme müdahale edebilir. Bu bir sorun olduğunda, yardımcı elektrot, bir cam frit aracılığıyla ana test çözeltisi ile iyonik temas halinde olan bir elektrolit çözeltisi içeren ayrı bir bölmeye yerleştirilir. Bununla birlikte, çoğu durumda, yardımcı, referans ve çalışma elektrotları ile birlikte doğrudan test çözeltisine yerleştirilebilir.

2.5.4. Voltametrizde kullanılan karbon temelli çalışma elektrotları

Elektrot malzemesi olarak karbon kullanma tarihi, Humphrey Davy'nin alkali metallerin elektrolizi için bir grafit elektrot kullandığı 19. yüzyılın başlarına kadar uzanır. Karbon pasta (KP) formundaki malzeme ilk kez 1958 yılında R.N. Adams tarafından kullanılmıştır. KP, damlayan bir cıva elektroduna alternatif olarak tasarlanmış ve iyodür iyonlarının oksidasyonu için “anodik polarografide” kullanılmıştır. O zamandan beri karbonun çalışma elektrotu malzemesi olarak kullanımı hızla artmış ve günümüzde elektroanalizde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Popülaritesi, temel olarak toksik olmayan özellikleri, düşük maliyeti, çeşitli karbon malzemelerinin mevcudiyeti, iyi elektrik iletkenliği, metal elektrotlarda elde edilenden daha geniş gerilim aralığı, düşük arka plan akımları, kimyasal ve elektrokimyasal olarak inert ve kararlı olması, her ikisinde de kullanım olasılığı nedeniyledir. Sulu ve susuz ortam ve elektrokimyasal performansını artıran yüzey değiştiriciler ile güçlü kovalent veya kovalent olmayan bağlanma yoluyla yüzey modifikasyonunun kolaylığı, katı metal elektrotların aksine, karbon yüzeylerinde gözlemlenen elektron transfer hızları genellikle daha yavaştır. Karbon elektrotların yüksek aktif yüzeyleri nedeniyle, organik bileşiklerin adsorpsiyonuna ve sonuç olarak, analitlerin yüzeylerine erişimini ve elektron değişim reaksiyonunu engelleyen zehirlenmeye karşı hassastırlar. Tekrarlanabilir sonuçlar elde etmek, kullanılan karbon malzemesinin tipine bağlı olan bir temizleme prosedürü gerektirir. Pratik olarak, tüm karbon formları ve bunların allotropları voltametrizde çalışma elektrotlarının yapımında kullanılmıştır (Adams, 1958; Kour, 2020).

Camımsı Karbon Elektrot

Camımsı karbon (GC), voltametrik çalışma elektrotları üretmek için kullanılan en yaygın karbon malzemesidir. 1960'ların başında, bir fenol-formaldehit reçine gövdesinin inert bir atmosferde dikkatlice kontrollü ısıtılmasıyla üretilmeye başlanmıştır. Piroliz işlemi, 300– 1200 °C sıcaklık aralığında çok yavaş ilerler. Bu malzeme, sp^2 hibridizasyonlu karbon içerir; tüm yönlerde aynı elektriksel özelliklere sahip, makroskopik olarak izotropik, sert, kimyasal olarak dirençli ve mevcut gözenekler sıkıca kapalı olduğu için yüksek yoğunluktadır. Bu nedenle, herhangi bir empenye prosedürü gerekli değildir. Çapraz bağlı grafit benzeri tabakalardan oluşur. GC, sabit veya dönen bir

disk camısı karbon elektrotu (GCE) oluşturmak için yalıtkan bir malzemeden yapılmış bağlantı borusuna yerleştirilir. GCE'nin yüzeyi, kullanımdan önce alümina oksit ile parlatılarak ve deiyonize su ile durulanarak temizlenir. Bazen kimyasal veya elektrokimyasal aktivasyon gereklidir. Yalın ve modifiye edilmiş bir yüzeye sahip camısı karbon, 1980'lerden beri en sık kullanılan elektrot malzemesi olmuştur. GC yüzeyi genellikle modifiye edilir, örneğin karbon nanotüpler (CNT'ler), grafen, kimyasal olarak indirgenmiş grafen oksit, fullerenerler metal oksitler: In_2O_3 , $\text{CuO/Cu}_2\text{O}$, IrO_x veya azaltılmış grafen oksitli kompozitleri: R-GNO/ZnO , $\text{MnO}_2/\text{R-GNO}$. GCE yüzeyinin ilginç bir değiştiricisi, grafen oksit ($\text{GNO/Co}_3\text{O}_4$), indirgenmiş grafen oksit ($\text{R-GNO/Co}_3\text{O}_4$) veya çok duvarlı karbon nanotüpler ($\text{MWCNT/Co}_3\text{O}_4$) ile kobalt oksit nanoparçacıklarının hibritleridir. Son zamanlarda, GCE yüzeyinin modifikasyonu için kullanılan “sıcak” malzeme, nitrit iyonlarının (NO_2^-) hassas tespiti için kullanılan grafitik karbon nitrür ($\alpha\text{-ZrP@G-C}_3\text{N}_4/\text{GCE}$) ile α -zirkonyum fosfatın bir bileşimidir. GCE yüzeyinde biriken kompozit $\text{GC}_3\text{N}_4/\text{MWCNT}$ 'ler yakın zamanda Cu(II) iyonlarının hassas tespiti için uygulanmıştır (Michalkiewicz ve ark., 2021).

Bor-Katkılı Elmas Elektrot

Grafitten sonra elmas, karbonun bilinen ikinci doğal allotropudur. Her bir karbon atomunun sp^3 hibridizasyonu ile kübik, yakın paketlenmiş bir yapıya sahiptir. Elmas şeffaf, parlak ve doğada bilinen en sert maddedir. Bunun dışında, kimyasal olarak olağanüstü kararludur ve çok yüksek bir erime noktasına sahiptir. Diğer karbon formlarından farklı olarak elmas çok zayıf bir iletken ve elektrot malzemesi olarak çok kullanılmazlar. İletkenliği, çoğunlukla borun eklenmesi ile artar. Bor katkılı elmas, (BDD) ince film, metan ve bor kaynağı, genellikle trimetilbor, trimetil boran veya B_2H_6 içeren hidrojen plazmasından kimyasal buhar biriktirme yoluyla yapılır. BDDE, grafit malzemelerle uyumlu elektrokimyasal özelliklere sahiptir. Bununla birlikte, kimyasal olarak çok daha inertsdir, ayrıca korozyona karşı ve mekanik olarak dirençlidir. Ayrıca organik bileşiklerin adsorpsiyonuna ihmal edilebilir bir duyarlılık gösterir. BDDE, hem sulu hem de organik ortamda (sırasıyla 3–3.5 V ve 5-7.5 V) çok düşük ve kararlı bir arka plan akımına ve çok geniş bir gerilim aralığına sahiptir. Bu benzersiz özellikler, BDDE'nin 1990'ların başından beri elektrokimyada önemli bir araç haline gelmesine

neden olmuştur (Luongve ark., 2009).

Karbon Pasta Elektrot

Karbon pastası (KP), 1958'de Adams tarafından elektroanaliz için tanıtılan ilk karbon malzemedir. O zamandan beri KP, elektrot malzemesi olarak yaygın olarak kullanılmaktadır ve temel bileşimi neredeyse hiç değişmemiştir. Diğer karbon malzemelerinin aksine, bu, suyla karışmayan çeşitli, düşük uçuculuklu, yüksek viskoziteli ve ilgilenilen çözücüde düşük çözünürlüğe sahip, kimyasal olarak inert organik bağlayıcılar (yapıştırma sıvıları) ile karıştırılmış karbon parçacıklarından oluşan ikili bir karışımdır. Çoğu zaman karbon pastası, Nujol (mineral yağ) içinde dağılmış grafit tozu (5-20 µm), daha az sıklıkla parafin yağı, heksadekan veya silikon yağı ve gresidir. Yeni KP bileşimi, camsı karbon (GCP), fullerenerler (C60P), karbon nanotüpler (CNP), grafen (GNP) ve karbon lifleri (CFP) gibi grafit karbon formları dışında içerebilir. Bu yeni karbon formları da bir modifiye olarak CP'ye eklenir.

KP'deki tipik karbon içeriği ağırlıkça yaklaşık %70'dir. Yenilenebilir bir disk elektrotu elde etmek için, genellikle bir pistonla donatılmış cam, teflon veya başka bir izolasyon malzemesinden yapılmış bir tüpe homojenleştirilmiş bir karbon macunu yerleştirilir. Yüzeyin yenilenmesi, dış tabakası değiştirilerek ve yeniden düzleştirilerek gerçekleştirilir. Elektrik kontağı, diskin arkasındaki macuna daldırılmış bir metal tel (örneğin, Pt, Cu) sağlar. Elektroaktif yüzey alanı, üst üste binen radyal difüzyon katmanları ile bir mikro elektrot düzeneği görevi gören küçük karbon mikro parçacıklarından oluşur. Bu, elektroaktif türlerin KP elektrot yüzeyine verimli bir şekilde toplu taşınmasını sağlar. Elektron alışverişi, bu parçacıkların elektrolit çözeltisi ile temasında meydana gelir. Yapıştırma sıvılarının hidrofobikliği ve gözenekleri doldurma yeteneği nedeniyle sulu elektrolit, macuna nüfuz edemez. Bu nedenle, elektrot reaktivitesi, büyük ölçüde macun bileşimine bağlıdır. Yapıştırma sıvısının artan içeriğinin elektron transfer hızını ve arka plan akımlarını azalttığı bilinmektedir.

KP'nin çok önemli bir avantajı, birçok farklı değiştirici ekleyerek ve böylece modifiye karbon macunları (MKP'ler) oluşturarak kolay modifikasyon oluşturulmasıdır. Grafit ve yapıştırma sıvısının karıştırılması sırasında eklenebilirler. Hem yapıştırma sıvıları hem de değiştiriciler bazen daha sonra buharlaşan ortak çözücü içinde çözülür.

Değiştiricilerin seçimi, incelenen elektrot reaksiyon mekanizmasına bağlıdır. Örneğin, glikoz oksidaz, tirozinaz, lakkaz veya proteinler gibi enzimler, biyosensörler ve çözünmeyen katılar (örneğin CaCO_3 , Cu ve diğer metal partiküller) geliştirmek için eklenir. Öğütüp macuna ekledikten sonra seçiciliğini veya reaktivitesini arttırırlar. KP'deki modifiye edilen maddenin miktarı genellikle % 10 ile % 30 (a/a) arasında değişir. KPE'lerin metalik filmlerle (örneğin cıva, bizmut, altın) kaplamak için uygun bir baz olabileceği ve bu nedenle film elektrotlarının yapımında kullanılan katı elektrotların özelliklerine benzer özellikler sunduğu rapor edilmiştir. Bu tür elektrotlar, elektrokimyasal sıyırma yöntemlerinde uygulanabilir. KPE'lerin başlıca avantajları düşük maliyet, kolay hazırlama ve yüzey yenileme, yüzeyde mekanik hasar riski olmaması, çok düşük zemin akımları, geniş gerilim pencere, çok düşük omik direnç, çeşitli etkileşimler (adsorpsiyon, ekstraksiyon, iyon eşleştirme, elektroliz, kataliz) ve çeşitli olası modifikasyonlar kullanma imkanındır. Başlıca dezavantajları, bağlayıcının organik bir çözücü içeren çözeltilerde çözünme eğilimi, sınırlı kullanım ömrü, ana malzemenin redoks reaksiyonu ile etkileşimi olasılığı ve karbon partikülleri üzerinde adsorpsiyonu olduğu söylenilebilir (Tajik, 2020).

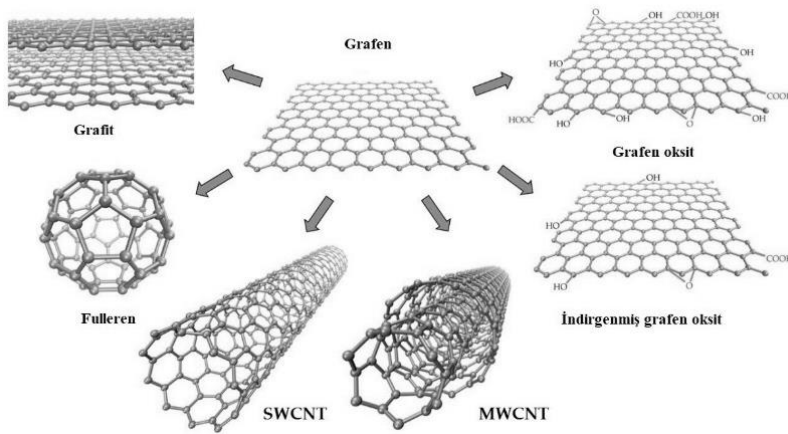
Karbon Fiber Elektrot

Karbon fiber (CF), 1980'lerin başından beri elektrot malzemesi olarak kullanılmaktadır. GC üretiminde kullanılabilecek benzer bir piroliz işleminde poliakrilonitril (PAN), polimer tekstil veya petrol ziftinden yapılırlar. Piroliz işleminin ürünü daha sonra kütleme sırasında dışarı çekilir. Katalitik kimyasal buhar biriktirme de kullanılır. Elde edilen CF, fiberin ucunun kenar düzleminin yüksek bir kısmını sergilediği bir enine kesite sahiptir. Bu nedenle, bu malzeme iyi düzenlenmiş bir grafit benzeri yapı ve düşük gözeneklilik ile karakterize edilir. Elektrokatalitik özellikler elde etmek için örneğin nitrojen veya metallerle katkılanabilir. CF çapları birkaç μm 'dan ila yaklaşık 60 μm arasındadır. Fiberler epoksi kullanılarak cama gömülür ve ardından karbon yüzey kesilerek açığa çıkarılır. Karbon fiber elektrotlar (CFE'ler) çoğunlukla disk şeklindedir, daha az sıklıkla silindirik şeklindedir. CFE'lerin küçük çapları (genellikle 5-15 μm) nedeniyle, analitin yüzeylerine karakteristik radyal difüzyonu ile mikro elektrotlar olarak kullanılırlar. Küçük yüzey alanı, yüksek tarama hızlarında bile düşük bir arka plan akımı, düşük bir omik düşme hatası, IR (düşük faradaik akımlar nedeniyle) verir ve bu nedenle

yüksek dirençli çözümlerde uygulanabilirler. Mikroelektrotların diğer avantajları, hızlı tepki süresi, hızlı kinetik ve küçük boyuttur; bu, elektrokimyasal ölçümlerin az sayıda numunenin kullanılmasını gerektirdiği anlamına gelir. Ayrıca canlı hücrelerdeki süreçlerin araştırmalarına başarıyla uygulanırlar. CFE seçiciliğinin iyileştirilmesi, yüzeylerinin çeşitli değiştiriciler, örneğin CNT'ler, enzimler veya asil metallerin kaplanması ile modifiye edilmesiyle kolayca elde edilebilir (Mohammadzadeh Kakhki, 2019).

Karbon Nanomalzemeler

Nanoteknolojinin son birkaç yılda gözlemlenen hızlı gelişimi, elektrokimyasal sensörlerin yapımında yeni fırsatlar açmıştır. Nanoelektroanalitik kimya, elektrokimyanın avantajlarını nanomalzemelerin benzersiz özellikleriyle birleştiren, hızla gelişen disiplinler arası bir alandır. Elektrokimyasal sensörler, çok çeşitli analitlerin tespitine uygulanabilir. Düşük maliyet, yüksek hassasiyet ve seçicilik, basitlik ve hızlı tepki ile karakterize edilirler. Çeşitli elektrot malzemeleri arasında, kolay hazırlama ve modifikasyon, yüksek iletkenlik, kimyasal kararlılık, geniş bir gerilim aralığı ve düşük bir arka plan akımı gibi benzersiz fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı karbon nanomalzemeler en sık kullanılır. Elmas ve grafitin, iyi bilinen allotropik karbon çeşitleri olmalarının yanı sıra, son yıllarda yeni allotroplar - fullerenler, karbon nanotüpler ve grafen sentezlendi. Küçük boyutları nedeniyle karbon nanomalzemeler adı verilen bir gruba dahil edildiler. Her biri farklı elektrokimyasal özelliklere sahip çeşitli elektrot malzemelerinin bir bileşeni olabilir ve biyomoleküller ve ilaçlar dahil olmak üzere birçok inorganik ve organik bileşiğin hassas elektroanalitik araştırmalarında uygulanabilir (Şekil 9) (Maldonado,2006).



Şekil 9. Nanomalzemelerin farklı şekilleri

Fullerenler

En iyi bilinen fulleren (C60) olan Buckminsterfulleren, 1985 yılında Kroto, Curl ve Smalley tarafından keşfedilmiştir. Elmas ve grafitin ardından, karbonun üçüncü yeni allotropudur. Lazer ışınlanması kullanılarak grafitin buharlaştırılmasıyla elde edilmiştir. Buckminsterfulleren bazen de doğada bulunmuştur. Molekül, bir futbol topu yapısında düzenlenmiş 60 karbon atomundan (C60) oluşur. Bu kümenin yüzeyi 20 altıgen ve 12 beşgen karbon halkasından oluşur. Her karbon atomu kovalent olarak bağlıdır ve bir beş üyeli ve iki altı üyeli halkanın bir araya geldiği bir köşede bulunur. Bu karbon allotropu polar çözücülerde çözünmez. Ancak benzen, toluen ve karbon disülfürde kısmen çözünür.

C60'ın keşfi, tamamen yeni bir karbon nanomalzeme ve karbon kimyası alanı açmıştır. Bu keşif sayesinde Kroto, Curl ve Smalley 1996 Nobel Kimya Ödülü'ne layık görülmüştür. Tüm fullerenler, amorf karbon ve grafit gibi sp^2 hibritleştirilmiş karbona dayanır, ancak geometrik yapılarında farklılık gösterir. Fullerenlerin geniş bir spesifik yüzey alanı, düşük bir agregasyon derecesi, mekanik direnç, alkali metallerle birleştirildiğinde süper iletken olma yeteneği, kimyasal kararlılık, elektrokatalitik özellikler ve geniş bir pozitif gerilim aralığı, onları elektrot yüzeylerinin değiştiricileri olarak yararlı kılar. Fullerenlerin sınırlı çözünürlükleri nedeniyle, onlara hidrofilik veya amfifilik özellikler kazandırmayı amaçlayan işlemler farklı zorluklar ortaya çıkarmıştır. -OH gruplarına sahip fullerenol, suda çözünür bir bileşik örneğidir ve metalofullerenler,

birçok organik reaksiyonda katalitik özelliklere sahip C60'ın hidrofobik türevlerinin örnekleridir. Fulleren türevleri genellikle elektronların yük taşıyıcı olduğu yarı iletken malzemelerdir ve bu nedenle sensörlerin yapımında uygulanabilirler (Acquah, 2017).

Karbon Nanotüpler

Karbon nanotüpler (CNT'ler) otuz yıl önce (1991) Sumio Iijima tarafından keşfedilmiştir. CNT'ler, sp^2 hibritleştirilmiş bir karbon atomu ile silindirler (tüpler) şeklinde sarılmış tek grafit katmanlarından (grafen) oluşan iyi sıralı yapılardır. İki kategoriye ayrılabilirler: bir tüpe sarılmış tek bir grafit levhadan oluşan tek duvarlı karbon nanotüpler (SWCNT'ler) ve ortak bir eksene sahip birkaç eş merkezli tüp içeren çok duvarlı karbon nanotüpler (MWCNT'ler). Nanotüplerin tipine bağlı olarak, çapları SWCNT'ler ve MWCNT'ler için sırasıyla 0.4 –2 nm ile 2–100 nm arasında değişirken, uzunlukları yüz nanometre ile birkaç milimetre arasında değişmektedir. MWCNT'lerde tüpler arasındaki boşluk (yaklaşık 0.42 nm), grafitteki ara katman aralığı ile karşılaştırılabilir.

CNT'lerin benzersiz yapısı, küçük boyut, geniş spesifik yüzey alanı, yüksek uzunluk / çap oranı, esneklik, yüksek mekanik ve çekme mukavemeti, yüksek ısı direnci, mükemmel yüksek termal iletkenlik, yüksek kimyasal stabilite dahil olmak üzere olağandışı özellikleri yanında, son derece düşük elektrik direnci ve diğer elementlerin atomlarını moleküler yapıları içinde tutma yeteneklerine sahiptir. Son özellikler olarak, CNT'lerin çeşitli nanomalzemeler, örneğin nanopartiküller, enzimler, aptamerler veya redoks aktif bileşikler gibi moleküllerin eklenmesi veya birçok farklı yüzey fonksiyonel grubunun (örnek, -COOH, -OH veya -C=O). CNT'lerin olağanüstü özellikleri, onları elektroanalizde en yaygın uygulanan elektrot malzemesi özelliği katmaktadır. Bunlar, tek elektrotların yüzeyini değiştirmek için hem yalın hem de modifiye edilmiş formlarda kullanılırlar. En sık olarak, CNT'ler, süspansiyonlarını bromoform, etanol veya N,N-dimetilformamid içinde buharlaştırarak camsı karbon veya grafit gibi iletken bir yüzey üzerinde biriktirilir. CNT tabanlı elektroanalitik sensörlerin artan elektroaktif yüzey alanı ve genellikle elektrokatalitik aktiviteleri, onları iyi iletkenlik ve yüksek kimyasal kararlılık, hızlı ve tekrarlanabilir tepkiler, analitlerin örtüşen tepkilerini çözme yeteneği, GCE veya CPE gibi geleneksel elektrotlarla karşılaştırıldığında daha hızlı elektron transfer kinetiği, daha yüksek hassasiyet, daha düşük algılama limitleri sergilemelerini

sağlamaktadır (Wang ve ark., 2016).

Grafen

Grafen (GN), 2004 yılında Novoselov ve Geim tarafından alınan ince bir tabaka karbon allotropudur. Bu yeni nanokarbon üzerindeki ufuk açıcı çalışmaları nedeniyle 2010 Nobel Fizik Ödülü'ne layık görüldüler. Grafen, 0.142 nm'lik bir bağ mesafesi ile iki boyutlu (2D) altıgen bir petek kafes içine sıkıca paketlenmiş tek bir karbon atomu tabakadır. Bu nanomalzeme, diğer karbon allotropları için temel bir yapı elemanıdır. 0D fullerenlere sarılabilir, 1D nanotüplere sarılabilir veya 3D grafitte istiflenebilir. Başlangıçta, toplu grafitin mikromekanik olarak bölünmesiyle üretilmiştir. Ancak bu yöntemin verimi çok düşüktür ve sürecin kontrol edilmesi zordur.

Günümüzde, grafit veya türevlerinden doğrudan sentez, metal substratlar üzerinde kimyasal buhar biriktirme, SiC'nin termal ayrışması, substratsız gaz fazı sentezi, grafen oksitte kimyasal indirgeme ve hatta elektrokimyasal sentez dahil olmak üzere çeşitli grafen elde etme yöntemleri uygulanmaktadır. Bununla birlikte, kontrollü bir şekilde tek bir grafen tabakası elde etmek pratik olarak zordur. Bu nedenle, karbon nanomalzeme, altı üyeli halkalarda düzenlenmiş tek, çift veya birkaç (3 ile 10) sp^2 hibritleştirilmiş karbon atomu katmanı oluşturduğunda grafen olarak kabul edilebilir. Bu, üç farklı grafen türü arasında ayırım yapmayı mümkün kılar. Daha kalın yapılar, ince grafit filmleri olarak ele alınmalıdır (Geim ve Novoselov, 2007).

Grafenin benzersiz 2D yapısı, mekanik, kimyasal, optik, termal ve elektriksel olanlar dahil olmak üzere olağanüstü özellikleriyle sonuçlanır. Grafen bilinen en ince, en esnek ve en güçlü malzeme olarak tanımlanır. Mekanik olarak kararludur, kırılmaya karşı dayanıklıdır ve elmasan daha serttir. Grafen, CNT'lerinkinin ($1315 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) iki katı olan küçük bir boyuta ve aşırı derecede geniş spesifik yüzey alanına ($2630 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) sahiptir. GN kimyasal olarak kararludur ve yüksek optik geçirgenliğe (%9 7,7'ye kadar) ve yüksek termal iletkenliğe sahiptir. Yarı metalik bant yapısı, oda sıcaklığında elektriği diğer tüm malzemelerden daha hızlı iletmesini sağlar (hesaplanan iletkenlik 64 mS.cm^{-1} , SWCNT'lerinkinden yaklaşık 60 kat daha fazladır). Farklı grafen formlarının varlığı nedeniyle, bu benzersiz elektriksel özellikler tam olarak açıklanamamıştır. Bununla birlikte, GN'nin GC ve hatta CNT'ler gibi diğer elektrotlarla karşılaştırıldığında çok iyi

elektrokimyasal performans sergileyebileceğine dair önemli kanıtlar mevcuttur. Birçoğunun görüşüne göre, grafenin ortaya çıkması, nanokarbon elektrokimyasında ve elektroanalizde ilerleme anlamına gelmiştir.

GN ve grafen oksit (GNO) veya kimyasal olarak indirgenmiş grafen oksit (CR-GNO) gibi ilgili malzemelerin geniş bir 2D aromatik yüzeyi, çok bileşenli elektrot malzemelerinin sentezi ve tasarımı için umut verici bir temeldir. Ayrıca, hem metalik olmayan heteroatomların (B, S, N ve P) hem de geçiş metallerinin (Pd, Pt, Rh, Ag, Ni, Co, Mn ve Fe) dopant olarak dahil edilmesi, GN'nin elektrot olarak kullanımını artırır. Malzeme kenarlarında veya yüzeylerinde oksijen içeren grupların varlığı ayrıca farklı spesifik grupların bağlanmasını kolaylaştırır. Böylece, DNA, aptamerler, proteinler, peptitler, selüloz, hemoglobin, sitokrom B, enzimler gibi yüksek hassasiyetli elektrokimyasal biyosensörler oluşturmak için GN, GNO ve CR-GNO'ya çeşitli organik bileşikler eklenir.

CR-GNO'nun elektrot malzemesi olarak GNO'ya göre daha fazla avantajı olduğu bulunmuştur. GN'ye dayalı elektrokimyasal sensörler, esas olarak GC olmak üzere katı elektrotların bir modifikasyonu olarak yapılmıştır. GN, elektrot ve analit arasındaki elektron transferini etkin bir şekilde destekler ve böylece analitik sinyallerini geliştirir. Grafen bazlı elektrotlar, CNT bazlı elektrotlara kıyasla daha yüksek stabilite, daha iyi iletkenlik, daha yüksek elektrokatalitik aktivite ve ayrıca daha düşük gerilimlerde daha büyük akımlar gösterir (Wan ve ark., 2012; Martin ve ark., 2014).

2.6. Voltametrinde Kullanılan Karakterizasyon Yöntemleri

2.6.1. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

SEM analizi veya SEM tekniği olarak da bilinen taramalı elektron mikroskobu, dünya çapında birçok disiplinde kullanılmaktadır. Nanometreden mikrometreye (μm) kadar olan ölçekte organik ve inorganik maddelerin analizinde etkili bir yöntem olarak kabul edilebilir. SEM, geniş bir malzeme yelpazesinden çok hassas görüntüler üretirken 300.000x ve hatta 1.000.000x (bazı modern modellerde) gibi yüksek bir büyütme oranı ile çalışır. Energy Dispersive X-ray Spektroskopisi (EDS), kalitatif ve yarı kantitatif sonuçlar sağlamak için SEM ile birlikte çalışır. Birlikte her iki teknik de taranan

numunelerin malzeme bileşimi hakkında ortak laboratuvar testleri ile sağlanamayan temel bilgileri sağlama gerilimine sahiptir. Analiz, malzeme bilimi için çok gelişmiş bir SEM Quanta aracı olan Şekil 10'da gösterildiği gibi SEM ekipmanı ile yapılır. Cihaz, herhangi bir numuneyi (ıslak veya minimum düzeyde hazırlanmış numuneler dahil) tutabilen değişken bir basınç sisteminden oluşur. 200 mm çapa ve 80 mm yüksekliğe kadar numunelerin analizine izin verir. Cihazın büyütülmesi 5x ile 300.000x arasında değişmektedir. SEM'de kullanılabilecek malzemeler metaller ve polimerler dahil olmak üzere organik ve katı inorganik malzemelerdir (Mohammed ve Abdullah, 2018).



Şekil 10. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

2.6.2. Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM)

Geçirimli elektron mikroskobu, malzeme bilimi için çok güçlü bir araçtır. Yüksek enerjili bir elektron demeti çok ince bir numuneden geçirilir. Elektronlar ve atomlar arasındaki etkileşimler kristal yapı, yapıdaki dislokasyonlar ve tane sınırları gibi özellikleri gözlemlemek için kullanılabilir. Kimyasal analizler de yapılabilir. TEM, katmanların büyümesini, bileşimlerini ve yarı iletkenlerdeki kusurları incelemek için kullanılabilir. Kuantum kuyularının, tellerin ve noktaların kalitesini, şeklini, boyutunu ve yoğunluğunu analiz etmek için yüksek çözünürlük kullanılabilir.

TEM, ışık mikroskobu ile aynı temel prensiplerde çalışır ancak ışık yerine elektronları kullanır. Elektronların dalga boyu ışığın dalga boyundan çok daha küçük olduğu için, TEM görüntüleri için elde edilebilecek optimal çözünürlük, bir ışık mikroskobundan çok daha iyi bir büyüklük derecesidir. Böylece, TEM'ler iç yapının en ince ayrıntılarını ortaya çıkarabilir (Warwick, 2010).

2.6.3. Elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS)

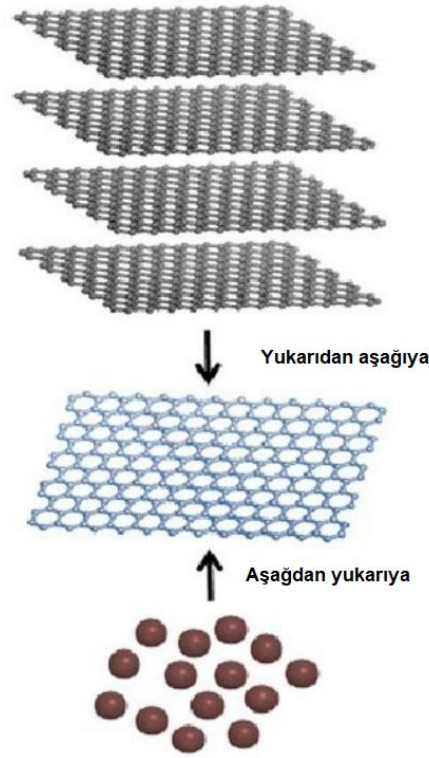
Elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS), çok çeşitli malzemelerin elektriksel özelliklerini araştırmak için hızlı, tahribatsız ve kolayca otomatikleştirilebilir bir tekniktir. Sinüzoidal bir potansiyel uygulamaktan ve akım tepkisini ölçmekten oluşur. Nyquist grafiği olarak bilinen sonuçtaki faradaik impedans spektrumu, çift katmanlı kapasitans, elektrolit çözeltisinin omik direnci, elektron transfer direnci ve Warburg difüzyon impedansı gibi unsurlar hakkında bilgi içerir. Bu eşdeğer elektrik devresi, numunenin bir parmak izini temsil eder, özellikleri ve arayüz elektrotu/çözeltisi hakkında değerli bilgiler sağlar.

Grafen, insan tarafından bilinen en iletken malzemelerden biridir, bu nedenle malzeme iletkenliğini artırmak için modifiye elektrokimyasal sensörler hazırlamanın ana hedeflerinden biridir. EIS, elektrot/çözelti arayüzündeki elektron yükü aktarımı nedeniyle Nyquist grafiğinde sunulan direnç yarım dairelerini analiz ederek bu fenomeni ortaya koyabilir. EIS'deki detaylı çalışmalar, farklı yöntemlerle sentezlenen GO ve RGO hakkında da bilgi verebilir. Farklı yapılara sahip kompozitler de karakterize edilebilir ve etkileşimleri incelenebilir. EIS, malzeme/çözelti arayüzünde farklı moleküllerin difüzyon ve absorpsiyon sürecini incelemek için de kullanılabilir (Nossol ve ark., 2021).

2.7. Grafen ve Grafen Oksit için Sentetik Teknikler

2004 yılında, Nobel Ödülü sahibi Konstantin Novoselov ve Andre Geim, grafit sıyrma yoluyla birkaç atomik katman kalınlığında grafenin hazırlanmasını ilk kez yayınlamışlardır. 2009'da, "benzersiz elektronik sistem" terimi, grafenin farklı uygulamaları hakkında daha fazla araştırmaya duyulan ihtiyacı vurgulayan Geim tarafından tanıtılmıştır. Grafen ve GO üretimi için kullanılan sentez yöntemleri aşağıda iki bölümde incelenmektedir; aşağıdan yukarıya yaklaşımlar ve yukarıdan aşağıya

yaklaşımlar Şekil 11 (Shams ve ark., 2015) verilmiştir.



Şekil 11. Grafen sentez aşağıdan yukarıya ve yukardan aşağıya.

2.7.1. Aşağıdan yukarıya yaklaşımlar

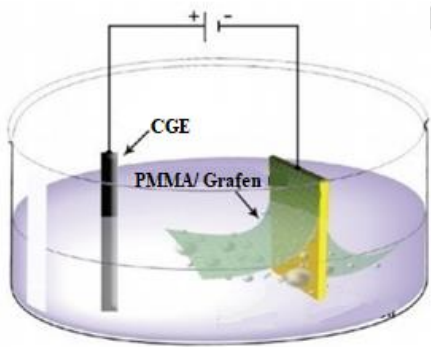
Aşağıdan yukarıya yaklaşım, malzemenin bir tohumdan bir ağaç oluşumu gibi daha küçük birimler veya varlıklar kullanılarak üretildiği tekniklere işaret etmektedir.

Epitaksiyel Büyüme

Epitaksiyel büyüme, grafen katmanlarının kristal bir substrat üzerine yerleştirildiği sentetik bir tekniktir. Bu farklı substrat türleri altıgen bor nitrür, Ir, Ru, Cu, silisyum karbür (SiC), Pt, vb. olabilir. Epitaksiyel büyüme ile sentezlenen grafen, önemli bir avantaj olarak kabul edilen standart bir litografi yöntemi kullanılarak modellenenebilir. Dezavantajları ise kalınlığı kontrol etmenin zor olması ve spesifik ve net bir büyüme modelinin olmamasıdır. Cu, Ru, Ir ve Pt gibi daha kaliteli grafen üretmek için diğer substratlar araştırılmıştır (Zheng ve Kim, 2015; Kruskopf ve ark.,2016; Yang, 2013).

Kimyasal Buhar Biriktirme (CVD)

CVD, son çalışmalarda gösterildiği gibi grafen için daha pratik bir sentetik yöntem olabilir. Bu yöntem, yüksek sıcaklıklarda karbon içeren bir kaynak gaz varlığında grafen büyütmek için metalik bir substrat (yani nikel veya bakır folyo) kullanır. Proseste kullanılan koşullar metan, metan-hidrojen, metan-hidrojen-argon dahil olmak üzere farklı karbon kaynak gazlarına göre değişir. Bir geçiş metali substratının yüksek sıcaklık altında bir hidrokarbon gazına maruz bırakılması, grafen çekirdeklenmesine ve büyümesine yol açmaktadır. Massachusetts Teknoloji Enstitüsü'nün 2009'daki ilk CVD raporunda, 1 ile 10 katmanları olan ultra ince bir grafen filmi sentezleme girişimleri ve yüksek seyreltmede hidrokarbon akışı ile 900–1000°C'de bir nikel film kullandığı yazılmıştır. Bu CVD işleminde, nikel film ve karbon atomları bir araya gelerek katı bir çözelti oluşturur. Nikeldeki karbon çözünürlüğünün sıcaklığa bağımlılığı göz önüne alındığında, soğutma işlemi sırasında karbon atomlarının çökmesiyle grafen tabakası oluşturulmuştur. CVD ile büyütülmüş grafen tabakasının metalik substratından ayrılması genellikle kimyasal aşındırma ile gerçekleştirilir. Ancak kimyasal aşındırma maliyeti artırır ve uzun bir iyileşme süresi gerektirir. Alternatif olarak, grafen filmlerin bakır substratlardan uzakta elektrokimyasal delaminasyonu, elektrolit olarak $K_2S_2O_8$ kullanılarak gerçekleştirilmiş ve grafen/Cu'yu desteklemek için poli(metil metakrilat) (PMMA) kullanılmıştır. Bu yöntemin şematik bir gösterimi Şekil 12'te gösterilmektedir (Vlassioug,2011; Wang, 2011).



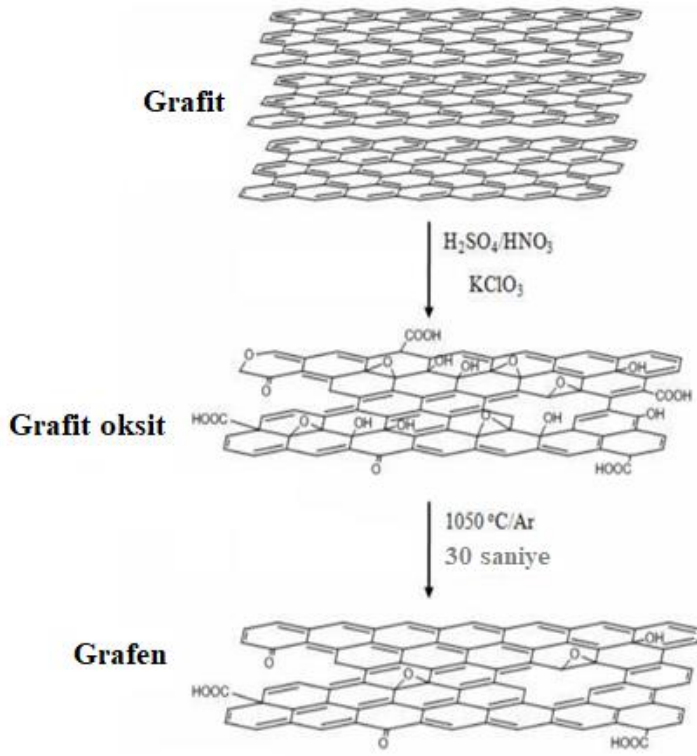
Şekil 12. Kimyasal Buhar Biriktirme.

Hummer yöntemi

KMnO_4 , NaNO_3 veya KClO_3 gibi güçlü oksitleyici ajanların kullanımı, asidik bir ortamda grafiti oksitlemek için kullanılabilir. 1859'da Brodie, grafitin potasyum klorat ve nitrik asit ile işlenmesiyle yeni bir tür karbon yapısının elde edildiğini ve buna “Grafon” adını verdiğini bildirmiştir. Bugün bu yöntem, GO hazırlamak için kullanılan temel metodolojinin bir örneğidir.

Bundan sonra, 1898'de Staudenmaier, bir sülfürik asit ve nitrik asit karışımı varlığında yavaş yavaş klorat ekleyerek Brodie'nin yaklaşımını geliştirmeye çalışmıştır. Daha sonra 1958'de Hummer ve arkadaşları, geliştirilmiş bir grafen malzemesi üretmek amacıyla H_2SO_4 içinde KMnO_4 , NaNO_3 içeren bir reaksiyon karışımının kullanımını göstermiştir. Bu reaksiyon o zamandan beri değiştirilmiş Hummer yöntemi olarak adlandırılmıştır. GO, oksijen içeren birçok fonksiyonel grup içerir, bu da onu çeşitli uygulamalarda kullanım için kimyasal olarak işlevselleştirilmek üzere saf grafenden daha iyi bir malzeme yapar. Bununla birlikte, Hummer yöntemiyle hazırlanan oksitlenmiş grafitten hazırlanan grafenin, grafenin doğrudan oksidasyonu ile üstesinden gelinebilecek sınırlı homojenlik gibi bazı dezavantajları vardır.

GO'nun gereksiz yere yüksek oranda oksitlendiği düşünülebileceğinden, indirgenmiş bir form olan rGO hazırlanmıştır. GO'nun indirgenmesi sırasında, kimyasal ve fiziksel özellikleri çeşitli faktörler etkileyebilir. Örneğin, oksidasyon derecesinin ayarlanması elektriksel iletkenliği, GO ve katkılı nanokristaller arasındaki etkileşimi ve elektronik bant aralığını kontrol edebilir. rGO, mikrodalga destekli indirgeme, termal indirgeme, kimyasal indirgeme, elektrokimyasal indirgeme, fotokimyasal indirgeme ve fototermal indirgeme gibi bir dizi farklı indirgeme yöntemiyle elde edilmiştir. Hummer'ın yönteminin de kimyasal peeling içerdiği için yukarıdan aşağıya bir yöntem olarak kabul edildiği belirtilmelidir (Şekil 13) (Song ve ark., 2014; Alam, 2017).



Şekil 13. Hummer metodu ile grafen sentezi (Song ve ark., 2014).

2.7.2. Yukarıdan aşağıya yaklaşımlar

Aşağıdan yukarıya rağmen, yukarıdan aşağıya yaklaşımlar, örneğin bir ağaçtan bir ahşap durum yapmak veya silikon külçelerden silikon gofret üretmek gibi, yüksek dereceli yapının daha düşük dereceli bir varlığa dönüştürüldüğü prosedürlerdir. Yukarıdan aşağıya yaklaşımlar, aşağıdan yukarıya yaklaşımlardan daha büyük miktarlar üretmek için ölçeklenebildikleri için yakın zamanda araştırılan, sıvı ortamdaki toplu grafitten grafen katmanlarının sentezini ifade etmektedir.

Mekanik Eksfoliyasyon

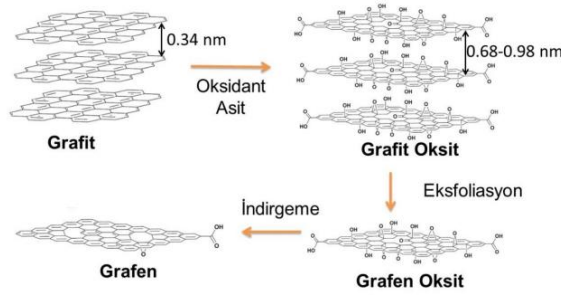
Bu yaklaşımın amacı, grafen tabakalarını bir arada tutan van der Waals kuvvetlerinin üstesinden gelmektir; buradaki zorluk, tabakalara zarar vermemek ve tabakalar pul pul döküldükten sonra meydana gelebilecek tabakaların yeniden

yığılmasından kaçınmaktır. Grafen filmler, ilk kez, iyi yönlendirilmiş pirolitik grafitin tekrar tekrar soyulduğu mekanik bir pul pul dökülme tekniği (mekanik bölünme olarak da adlandırılır) ile üretildi ve sonuçta 10 µm boyutuna kadar grafen film katmanları oluştu ve yaklaşık 3 nm kalınlığında pullar ortaya çıktı (oksitlenmiş silikon gofret üzerinde). Katmanların ayrılması, çok zayıf ara katman van der Waals kuvveti nedeniyle, Scotch bant, SiO₂ damgası, paladyum film veya PDMS damgası kullanılarak kolayca gerçekleştirilebilir. Düşük maliyet, basitlik ve büyük miktarlarda grafen üretme yeteneği bu sentetik yaklaşımın avantajlarından bazılarıdır. Ana dezavantajlar, boyutun ve kristallik kalitesinin kontrolünün kolaylıkla garanti edilememesidir (Ebbesen ve Hiura, 1995; Liang, 2009; Yi, 2015).

Kimyasal Eksfoliyasyon

Kimyasal pul pul dökülme, grafit katmanları oksidasyon yoluyla veya doğrudan çözücüler kullanılarak birbirinden ayrıldığında meydana gelir. Oksidasyon sırasında oluşan farklı oksijen içeren gruplarla işlevselleştirme, grafit katmanları arasındaki mesafeyi artırarak katmanlar arasındaki van der Waals kuvvetinin azalmasına neden olur. Grafiti pul pul dökmek için grafen üretmek için hidrazin gibi çeşitli indirgeyici çözücüler kullanılmıştır. Hidrat, Nmetil-2-pirolidon, metansülfonik asit ve iyonik çözücüler.

Grafen üretiminde hidrazin bazlı indirgeyici ajanlar yaygın olarak kullanılmasına rağmen, çok toksik ve patlayıcı bir kimyasal olduğu için kullanımı büyük ölçekte sorunludur. Paredes ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, sodyum borohidrit, pirogallol ve C vitamini dahil olmak üzere diğer kimyasallarla birleştirilmiş hidrazin karşılaştırılmıştır. İndirgemeden sonra çökelme olmadan hem organik hem de sulu ortamda iyi dağılmış bir ürün üreten GO'yu oksijensizleştirmek için etkili bir süreç bulmaya çalışmışlardır. Bu alternatifler arasında sadece C vitamininin hidrazinden üstün olduğu bulunmuştur (Parvez ve ark., 2013; Fernández-Merino ve ark., 2010).



Şekil 14. Grafitten oksidasyon prosesi ile grafen eldesini

Elektrokimyasal pul pul dökülme

Süreç, grafitin HBr, HCl, HNO₃ ve H₂SO₄ gibi çeşitli elektrolitlerle birlikte elektrot olarak kullanılmasını içerir. Bu elektrolitler arasında H₂SO₄, zaman ve kalınlık açısından en uygun eksfoliasyon verimini göstermiş, ancak çok sayıda kusurlu grafen üretmiştir. Bu sorunun üstesinden gelmek için elektrolitin asitliğini azaltarak grafitin oksidasyonunu önlemek için H₂SO₄ çözeltisine KOH eklenmiştir. Son zamanlarda, Pan ve arkadaşları, KOH eklenirken < 10 V'luk düşük bir potansiyel uygulanmasının işlemi çok yavaş ve verimsiz hale getirdiğini öne sürmüşlerdir. Bu nedenle, elektrokimyasal eksfoliasyonu yeni keşfedilen kıvılcım plazma sinterleme ile birleştiren bir yöntem önermişlerdir. Ayrıca, toplanmayı önlemek için elektrokimyasal pul pul dökülme işlemine yüzey aktif maddeler eklenmiştir. Genel olarak, elektrokimyasal pul pul dökülmenin endüstriyel ölçekte grafen üretmek için düşük maliyetli, yüksek verimli ve çevre dostu bir işlem olduğu kanıtlanmıştır (Su ve ark., 2011; Gong 2017).

Ark Deşarjı

Arkdeşarjı ilk olarak 1991 yılında fulleren üretimi için tanımlanmıştır. Grafen üretmek için arkdeşarj işlemi, tampon gazların varlığında yüksek saflıkta grafit elektrotlar kullanır. H₂ veya He gibi tampon gazlar kullanılmıştır. H₂ tampon gazı kapalı yapıların oluşumunu önleyebilir çünkü H₂'nin varlığı “sarkan bağların” sona ermesine yol açabilmektedir. Tampon gazına karıştırılan helyumun yüksek kristallığe sahip bir malzeme ile sonuçlandığı gösterilmiştir. Basitliği, ucuzluğu ve en önemlisi daha az malzeme ile büyük ölçekte grafen üretme olasılığı nedeniyle arkdeşarjı grafen için

sentetik bir yöntem olarak kullanılmıştır (Chen ve ark., 2012; Arora ve ark., 2014).

2.7.3. Grafenin kovalent modifikasyonu

Grafen malzemelerinin işlevselleştirilmesi, düşük dağılıbilirlik, kimyasal eylemsizlik ve sıfır bant aralığı gibi yapısal dezavantajların üstesinden gelmek için kullanılır. Modifikasyon stratejileri, yapıştırma türlerine göre kovalent ve kovalent olmayan yöntemler olarak iki gruba ayrılır. Kovalent olarak işlevselleştirilmiş grafen malzemeleri, en çok çalışılan işlevselleştirme türüdür. Grafen malzemelerinin substratlar üzerinde kovalent işlevselleştirilmesi, tek atomlu reaksiyonlar (oksidasyon, hidrojenasyon, halojenasyon), radikal reaksiyonlar ve siklo katılma reaksiyonları dahil olmak üzere reaksiyon tiplerine göre kategorize edilebilir. Ayrıca polimerler, grafene kovalent olarak bağlanmak için en sık kullanılan malzemelerdir (Criado, 2015).

Oksidasyon

Oksitlenmiş grafen (OxG), Hummer yöntemi kullanılarak grafitin asit işlemleriyle kolayca elde edilebilir. Bu süreçte, bu yöntemde yer alan zorlu ortam nedeniyle altlık üzerindeki grafen tabakasının kararlılığı önemli bir faktördür. Grafiti önce oksitlemek ve ardından grafen oksit oluşturmak için pul pul dökmek genellikle daha basittir. Staudenmaier, Hofmann, Brodie ve Hummer's dahil olmak üzere dört ana prosedür vardır. Bu yöntemlerin tümünde asidik ortamda güçlü oksitleyici ajanlar kullanılmaktadır. Yoshinobu et. al, epitaksiyel grafen, SiC substratından pul pul dökülmeden oksitlenerek, 60°C'de Hummer yöntemine benzer oksitleyici maddeler kullanmışlardır. Bununla birlikte, Hummer yöntemindeki yıkıcı koşullara rağmen, çalışma, düz bir yapıya ve 0,4 eV'ye eşit bir bant aralığına sahip OxG'ye yol açan hafif bir damla döküm prosedürü önermişlerdir (Hossain ve ark., 2014; Sturala ve ark., 2018).

Hidrojenasyon

Bir karbon bileşiğine eklenebilecek en basit atom hidrojenidir ve bu nedenle hidrojenasyon kovalent işlevselleştirmenin ilk örneği olabilir. Kovalent olarak bağlı hidrojen atomu, bağlı karbon atomunun hibridizasyonunu sp^2 'den sp^3 'e değiştirerek sıfır

bant aralıklı grafeni 3.5 eV bant aralığı ile hidrojene grafene (HyG) dönüştürür. Grafen malzemeleri, yarı iletken veya iletken olmayan 2D malzeme üreten plazma veya sıvı bazlı yöntemler kullanılarak hidrojenlenebilir. Bu özellik, esnek elektronik alanında büyük ilgi görmüştür. Kısmen HyG, pul pul dökülmüş grafenin 2 saat boyunca plazma muamelesi kullanılarak ilk kez elde edilmiş ve ilginç bir şekilde, 450°C'de 24 saat süreyle tavlama sonra, grafen özellikleri kolayca yeniden restore edilebilmiştir.

Yakın tarihli bir çalışmada, iki alüminyum elektrot (25KV, 15 W, 160 Hz) arasında elektrik arkları oluşturarak darbeli bir ark küme iyon kaynağı kullanılarak bir HyG yalıtkanı elde edilmiştir. Elde ettikleri sonuçlar, odaklanmış elektron ışınları ile ışınlama süresini artırarak HyG'nin ölçülen elektrik direncini 200 KΩ'dan 2 KΩ'a kademeli olarak düşürmenin mümkün olduğunu göstermişlerdir. Çalışma, yarı iletken veya iletken grafenin CH bağlarının (elektron ışını tarafından indüklenen) ayrışmasının, şeffaf ve esnek elektroniklerin ve giyilebilir elektroniklerin imalatında faydalı olabilecek 18 nm çözünürlüklü yalıtkan HyG üzerinde yapılabileceğini göstermişlerdir (Soni ve ark., 2018; Liu ve ark., 2018).

Halojenasyon

Tek atomlu kovalent işlevselleştirmenin üçüncü sınıfı halojenasyondur. Hidrojenasyon gibi, halojenli grafen (HaG), bozulmamış grafenden daha büyük bir bant aralığı, daha düşük yük hareketliliği ve iletkenlik üretir. Halojenasyon işleminde, halojen atomları bir halojen-plazma yöntemi, fotokimyasal reaksiyonlar veya halojen içeren reaktifler (XeF₂ gibi) kullanılarak grafene kovalent olarak bağlanabilir. Ürünler diğer halojenlere göre daha kararlı olduğundan halojenasyon için çoğunlukla flor ve klor kullanılır. Hidrojenasyon gibi, halojenlerin karbon atomlarına kovalent bağlanması, karbon atomu hibridizasyonunda sp²'den sp³'e bir değişiklik üretir. Bununla birlikte, klor iyonik bağlar yoluyla karbon atomlarıyla da etkileşime girebilir (Copetti ve ark., 2018).

Radikal Reaksiyonlar

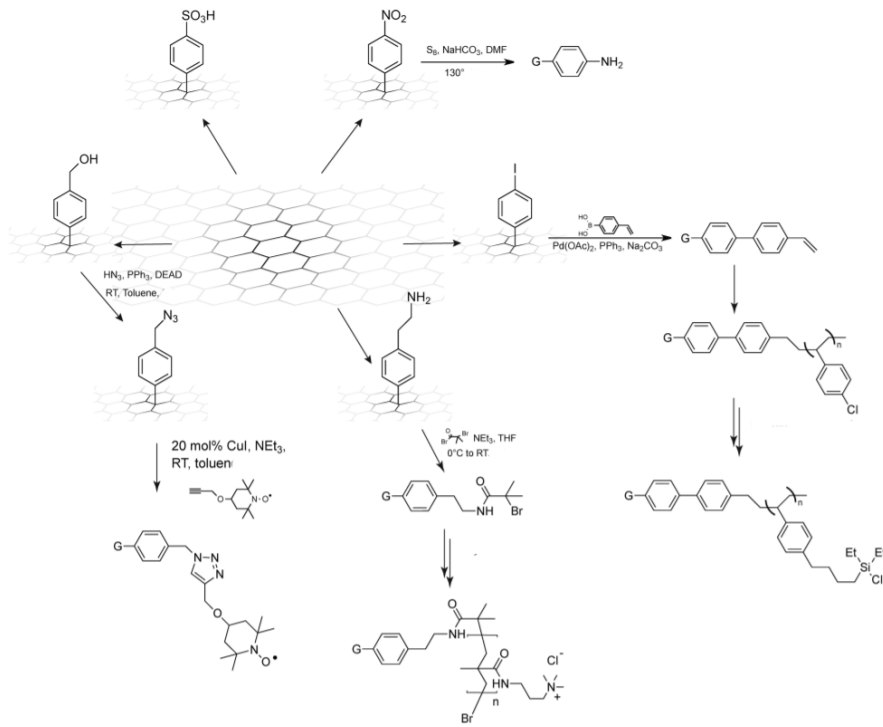
Diazonyum tuzlarının indirgenmesinden üretilen aril radikalleri, grafen yapısının yüzeyinde ekleme reaksiyonlarına girebilir. Aril diazonyum katyonları, grafen

substratından elektronları kabul eder ve nitrojen gazı salarak, grafen içindeki aromatik halkalara saldıran bir aril radikali üretilir. Bu modifikasyon yöntemi, yüksek derecede işlevsellik üretebilir ve ürünler birçok koşulda stabildir (Jiang ve ark., 2006).

Siklolizasyon

Elektronik bant aralığını ve grafenin iletkenliğini değiştirmek için dönüşümlü ekleme reaksiyonları kullanılmıştır. Siklolizasyon çoğunlukla, bir çift karbon atomunun hibridizasyonunun sp^2 'den sp^3 'e değiştirildiği ve elektronca zengin bir organik dien ile birleşerek yeni bir halkanın oluşturulduğu bir işlem olan Diels-Alder reaksiyonu yoluyla gerçekleştirilir. Bu işlem grafenin bant aralığını artırır. Siklo ekleme reaksiyonunun optimizasyonunda birçok belirsizlik olmasına rağmen, Sarkar ve diğerleri bunu daha derinlemesine keşfetmeye çalıştılar. Daha yakın zamanlarda, laboratuvarında Diels-Alder reaksiyonunu kullanarak grafen, GO ve rGO'yu kovalent olarak modifiye eden başka çalışmalar da yapılmıştır (Petrushenko, 2014; Cernat ve ark., 2019).

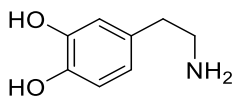
Genel olarak, kovalent eşleştirme, aşağıdakileri içeren kovalent bağların oluşumunu içerir (Şekil 15). Grafenin bazal düzlemindeki karbon atomlarının heteroatomlarla değiştirilmesi, grafenin $C = C$ bağlarına serbest radikallerin eklenmesi ve organik fonksiyonel gruplar ile oksijen içeren fonksiyonel GO grupları arasındaki reaksiyonlar, ayrıca bunun gibi reaksiyonlarda grafen üzerine yapılan araştırmalar da mevcuttur (Koehler ve ark., 2013).



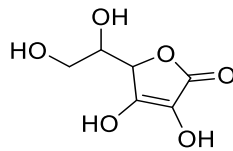
Şekil 15. Modifiye grafen örneği

2.8. Grafen Modifiye Eelektrotlarla İlgili Kaynakça Araştırması

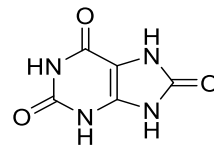
Zhao ve ark., (2015) çalışmasında, grafen ile modifiye edilmiş bir tantal tel elektrot üzerinde MgO nano kayışlarının elektrodepozisyonu ile AA, DA ve UA'nın eşzamanlı tespiti için elektrokimyasal bir sensör geliştirilmiştir. Sensör, yalnızca üç maddenin oksidasyonuna yönelik iyi elektrokatalitik aktivite sergilemekle kalmadı; aynı zamanda bu üç türün CV oksidasyon piklerini, üç iyi tanımlanmış pike ayırmıştır (Zhao ve ark.,2015)



Dopamin



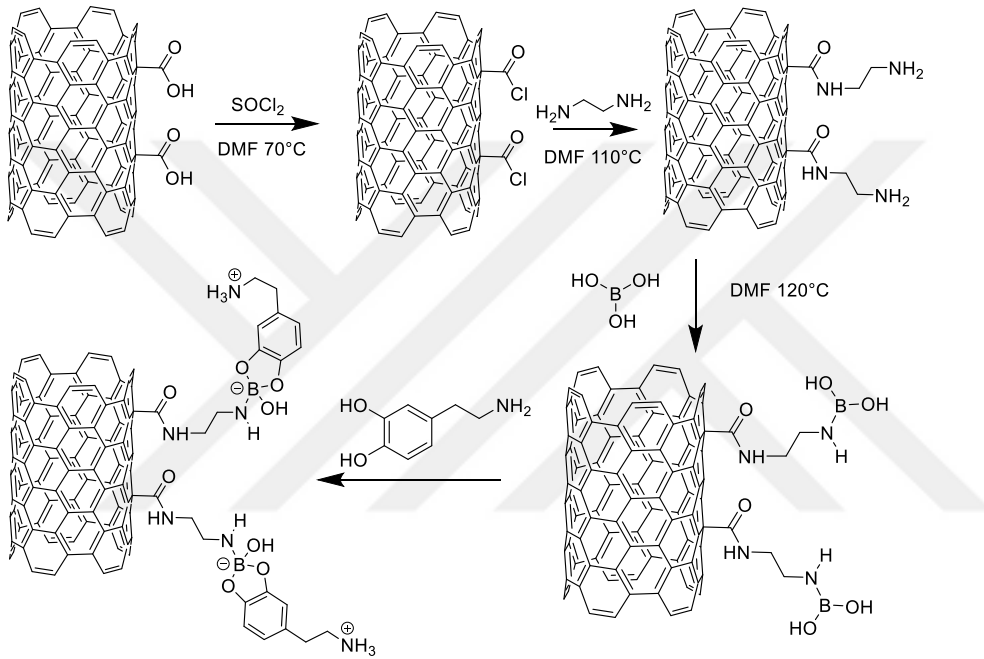
Askorbik asid



ürük asid

Şekil 16. Önemli endojen moleküller

Yiğit ve ark., (2021) çalışmasında 4 basamaklı bir reaksiyon ile çok duvarlı karbon nanotüp yapısına borik asit bağlayarak bu yapıyı camımsı karbon elektroda modifiye etmişlerdir (Şekil 17). Bu çalışmada katodik olarak ön işleme tabi tutulmuş camımsı karbon elektrotta adsorptif anodik sıyırma voltametrisi kullanılarak dopamin tayini için elektrokimyasal bir yöntem geliştirilmiştir. Dopamin tespitinde kullanılan bu sensör çalışması borik asit içeren ve 5.1 nmol L^{-1} hassasiyetle ölçüm yapan ilk çalışma olarak literatürde yer almaktadır (Yiğit ve ark., 2021).



Şekil 17. Boramidik asit-çok duvarlı karbon nanotüp çalışması

Gıda güvenliğinin izlenmesinş hedefleyen Narayanan ve ark. (2015), botulinum nörotoksininin (BoNT) tespiti için voltametrik bir immünosensör tasarlamışlardır. Önerilen sensör üzerinde kovalent olarak immobilize edilmiş BoNT antikoru ile CRGO'yu algılama platformu olarak modifiye edilen karboksil grupları kullanıldı. GCE elektrokimyasal indirgeme yoluyla karışık bir tek p-nitrofenil ve fenil tabakası (Ph-PhNH₂/GCE) ile modifiye edildi. BoNT'nin nicel analizi için AgNP'lerin sıyırma akımı kullanıldı. İmmünosensör, 5 pg mL^{-1} 'de LOD ile 10 pg mL^{-1} - 10 ng mL^{-1} aralığında BoNT'yi seçici olarak saptayabilecek şekilde geliştirilmiştir. (Narayanan ve ark., 2015).

Gıda toksinlerinin yanı sıra, kolesterol gibi önemli biyolojik moleküllerin algılanmasında antikorlar da kullanılabilir. Ali ve ark. (2014), algılama arayüzü olarak aminli CRGO üzerine kovalent olarak immobilize edilmiş antikor ile bir impedimetrik lipid kolesterol immünosensörü ürettir. Algılama arayüzüne dayalı olarak; 5-120 mg dL⁻¹ 'lik bir algılama aralığı ve 5 mg dL⁻¹ 'lik bir LOD elde edilmiştir. (Ali ve ark., 2014),



3.GEREÇLER VE YÖNTEMLER

3.1. Deneysel Çalışmada Kullanılan Materyal ve Yöntemler

3.1.1. Kullanılan kimyasallar

Sentez için kullanılan kimyasallar, tionil klorür (SOCl_2), dimetilformamid (DMF), susuz tetrahidrofuran (THF), etilendiamin, borik asit, grafit, sodyum nitrat, sülfürik asit (H_2SO_4), potasyum permanganat (KMnO_4), hidrojen peroksit (H_2O_2) olarak kullanıldı.

IBR, sodyum hidroksit, nitrik asit (%65, A/A), hidroklorik asit (%37, A/A), fosforikasit (%85 A/A), asetik asit (%99-100 A/A), borik asit, disodyum hidrojen fosfat, dimetil sülfoksit, alüminyum oksit, potasyum ferri siyanür, potasyum ferro siyanür voltametrik çalışmalar için kullanılmıştır. Tüm çalışmalarda Milli-Q sistemi (Millipore) ile saflaştırılmış su kullanılmıştır.

3.1.2. Kullanılan cihazlar

Elektrokimyasal deneyler ve elektrot karakterizasyon çalışmaları, NOVA 2.1 elektrokimyasal yazılımı tarafından kontrol edilen bir Autolab PGSTAT 101 (Metrohm Autolab B.V., Hollanda) üzerinde gerçekleştirilmiştir. Deneyler, camsı bir karbon elektrotu (GCE; Ø: 3 mm, çap, BAS, MF-2012, ABD) ve GO-NH $\text{B}(\text{OH})_2$ içeren üç elektrotlu bir voltametrik hücrede (hacim 10 mL) gerçekleştirilmiştir. Çalışma elektrotu olarak modifiye GCE, yardımcı elektrot olarak platin tel (BAS, MW-1032, ABD) ve bir Ag/AgCl (3 mol L^{-1} KCl) referans elektrotu (BAS, MF 2056, ABD) kullanılmıştır. Çözeltinin pH ölçümleri, WTW laboratuvar içi pH 720 ile yapılmıştır.

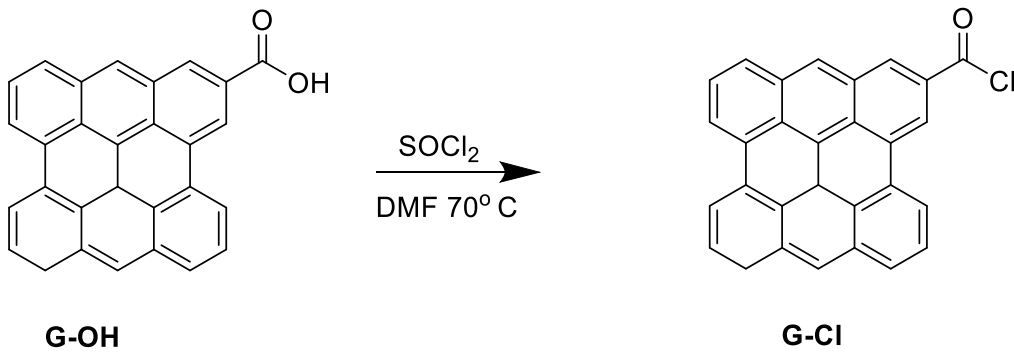
Modifiye edici ajanın yapısı, 20 kV hızlanma potansiyelinde bir SE dedektörü olan bir JEOL JSM 5600 taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak karakterize edilmiştir. Ayrıntılı yüzey morfolojisi için SEM kullanılmıştır (Görüntüler sırasıyla x1000, 2000 ve 1000 büyüklükte gerçekleştirilmiştir). Geçirimli elektronik mikroskobu (TEM) görüntülemesi, GO için X7000, GO-NH₂ için X6000 ve GO için X8000 büyütme Hitachi HT7800 TEM (100.0kV) ile yapılmıştır.

X-ışını kaynağı: Al K α Monokromatik (1486.68 eV), spot boyutu 300 μ m, örnekleme alanı 60x60 mm olarak seçilmiştir. Analizör, genel tarama için 200 eV geçiş enerjisi ve kısmi tarama için 50 eV geçiş enerjisi ile 180° yarı küresel analizör -128 kanal dedektörü kullanılmıştır. XP cihaz yüzey analizi 3 çalışma parametresinde gerçekleştirilmiştir. GO-NH-B(OH)₂'nin elementel bileşikleri XPS ile karakterize edilmiştir.

3.1.3. GO-ED-BA nanoparçacıklarının sentezi

GO-Cl oluşumu

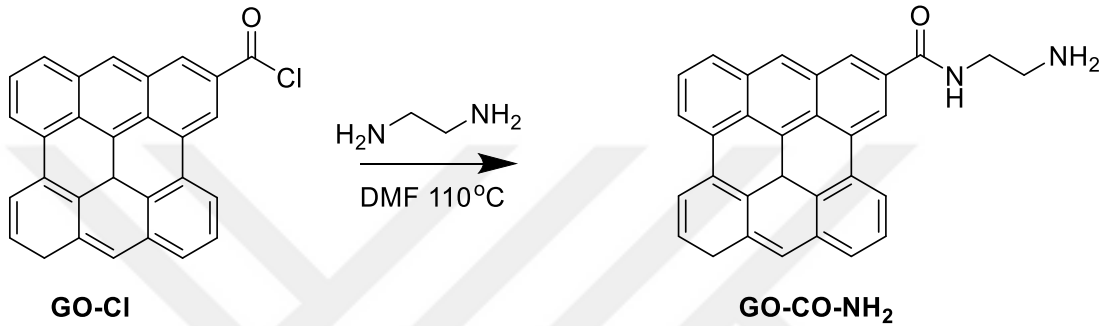
Grafen oksit (GO), Hummers yöntemine göre hazırlanmıştır. (Celebi ve ark., 2017). Daha sonra, GO-COOH (300 mg) 25 mL'lik bir cam şişeye yerleştirilip, ardından sırayla SOCl₂ (10 mL) ve kuru DMF (1 mL) eklenmiştir. Reaksiyon ortamı, 70 °C'de 24 saat ısıtılmıştır. Isıtma tamamlandıktan sonra, katıyı çözültiden ayırmak için bir gooch pota (No: 4) üzerinde süzme yapılmıştır. Bir Gooch potasından (No: 4) süzme sırasında katı, önce kuru dietil eter, kuru THF veson olarak kuru DMF ile yıkanmıştır. Yıkandıktan sonra elde edilen katı, bir vakumlu fırında 50 °C'de 24 saat kurutulmuştur. Daha sonra yüzey karakterizasyonları için FTIR, SEM, TEM, XPS cihazları kullanılmıştır (Şekil 18).



Şekil 18. GO-Cl moleküllerinin sentezi

GO-CO-NH₂'nin Oluşumu

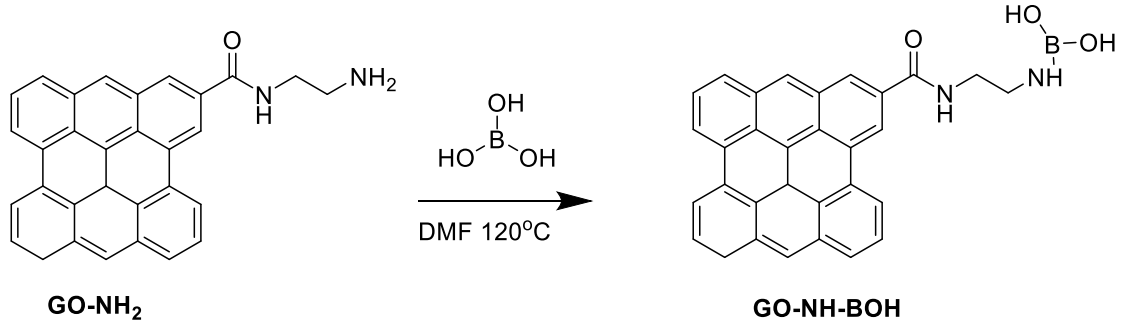
GO-CO-Cl (100 mg) bir cam şişeye (25mL) alındı ve 4 mL etilendiamin ilave edilmiş ve reaksiyon ortamı 110 °C'de 24 saat ısıtılmıştır. Isıtmadan sonra, bir gooch potasında (No: 4) süzme yapıldı ve nihai katı, kuru THF ile yıkanmıştır. Sonraki aşamada yüzey bilgisi için vakumlu etüvde 50 °C'de 24 saat kurutulmuştur. Daha sonra SEM, TEM, XPS ve FT-IR ile yüzey karakterizasyonları yapılmıştır (Şekil 19).



Şekil 19. GO-CO-NH₂ moleküllerinin sentezi

GO-NH-B(OH)₂'nin Oluşumu

GO-NH₂ (100 mg) ve 5mL DMF cam bir cam balona (25mL) yerleştirilmiş ve bir süre karıştırılmıştır. Daha sonra buna borik asit (300 mg) eklenmiş ve reaksiyon ortamı 120°C'de 24 saat ısıtılmıştır. Isıtmadan sonra katıyı çözültiden ayırmak için gooch potası (No: 4) üzerinde süzme yapılmıştır. Filtrasyon sırasında katı, önce saf su, THF ve daha sonra etil alkol ile yıkanmıştır. Yıkandıktan sonra elde edilen katı vakumlu etüvde 50°C'de 24 saat kurutulmuştur. Daha sonra SEM, TEM, XPS ve TGA ile yüzey analizi yapılmıştır (Şekil 20) (Yiğit vd., 2021).



Şekil 20. GO-NH-B(OH)₂ moleküllerinin sentezi

3.1.4. Çözeltilerin hazırlanması

İbrutinib çözeltisini hazırlaması

Numune 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ olacak şekilde 10 mg IBR üzerine 10 ml metanol bir tüpe eklenmiştir. Hazırlanan çözeltiler, kullanılmadığı süre içinde ışık almayacak şekilde +4 °C'de saklanmıştır. Uygun destek elektroliti içerisinde ölçümü yapılacak çeşitli derişimdeki standart çözeltilerin hazırlanmasında stok çözeltilerden yararlanılmıştır.

Destek elektroliti çözeltilerinin hazırlanması

Deneylerde destek elektroliti çözeltisi olarak Britton-Robinson tamponu (BR 0.04 mol L⁻¹, pH 2.0-10.0), fosfat tamponu (0.1 mol L⁻¹, pH 2.5; 7.4) ve asetat tamponu (0.1 mol L⁻¹, pH 4.8) çözeltileri kullanılmıştır. BR tamponu için 0.04 mol L⁻¹ H₃BO₃, 0.04 mol L⁻¹ H₃PO₄ ve 0.04 mol L⁻¹ CH₃COOH karışımını içeren çözeltiye 5 mol L⁻¹ NaOH çözeltisi eklenerek istenen pH değerine ayarlanmıştır. Fosfat tamponu için 0.1 mol L⁻¹ Na₂HPO₄·7H₂O çözeltisine 5 mol L⁻¹ NaOH ya da 5 mol L⁻¹ HCl çözeltisi eklenerek istenen pH değerine ayarlanmıştır. Asetat tampon için ise, 0.1 mol L⁻¹ CH₃COOH çözeltisine 5 mol L⁻¹ NaOH eklenerek istenen pH değerine ayarlanmıştır. Tampon çözeltileri hazırlandıktan sonra cam şişelerde buzdolabında saklanmıştır.

Redoks probu çözeltisinin hazırlanması

5.0 mmol L⁻¹ K₃Fe (CN)₆/K₄Fe(CN)₆ (1/1) içeren 0.10 mol L⁻¹ KCl çözeltisi, belli miktardaki katı maddelerin, 0.10 mol L⁻¹ derişimdeki KCl çözeltisi içinde çözülmesi ve

hacmin saf su kullanılarak tamamlanması ile hazırlanmıştır. Diğer tüm çözeltiler gibi, hazırlanan redoks prob çözeltisi, buzdolabında +4 °C’de saklanmıştır.

Gümüş nanopartikül (AgNPs) çözeltisinin hazırlanması

Sodyum borohidrit ve trisodyum sitrat kullanılarak gümüş nanopartiküller (AgNP'ler) elde edilmiştir (Gao ve ark., 2020). 19.0 mL saf suya gümüş nitrat (0.5 mL, 10.0 mmol L⁻¹) ve sodyum sitrat (0.5 mL, 40.0 mmol L⁻¹) ilave edilmiş ve karıştırılmıştır. Daha sonra 0.5 mL taze hazırlanmış sodyum borohidrit eklenmiş ve sürekli karıştırılmıştır. Renksizden sarı renge dönünce çözelti hazır hale getirilmiştir.

3.1.5. AgNPs, GO-NH-B(OH)₂, ve GO-NH-B(OH)₂@AgNPs ile camımsı karbon elektrodun modifikasyonu

Elektrot modifikasyonundan önce, GCE, 0.05, 0.1 ve 0.5 µm alüminyum oksit bulamacı ile bir parlatma bezi pedi üzerinde iyice parlatılmıştır. Parlatma işleminden sonra çift distile su ile iyice durulanmıştır. Bu mekanik temizleme işleminden sonra elektrot kurumaya bırakılmıştır. AgNP'leri bir mikropipet kullanılarak GCE yüzeyine 10.0 µL olacak şekilde damlatılmıştır. AgNP'ler ile kaplı GCE, kuruması için oda sıcaklığında bırakılmıştır. GO-NHB(OH)₂ ile modifiye edilecek GCE'yi hazırlamak için; 2.5 mL saf suya 5.0 mg GO-NH-B(OH)₂ ilave edilmiş ve yaklaşık 4 saat boyunca bir ultrasonik banyoda tutulmuştur. Siyah bir süspansiyon elde edildikten sonra elektrot yüzeyine 10.0 µL ilave edilmiş ve herhangi bir işlem görmeden kurumaya bırakılmıştır. Son olarak, AgNPs/GCE üzerinde GO-NH-B(OH)₂ ile daha fazla modifikasyon için, önceden hazırlanmış 5.0 µL GO-NH-B(OH)₂ süspansiyonu AgNPs modifiye GCE üzerine damlatılarak dökülmüş ve elektrot sonra tekrar kurutulmuştur. Böylece, GO-NHB(OH)₂@AgNPs/GCE yeni birelektroanalitik sensör olarak kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan elektrotların temizlemesi

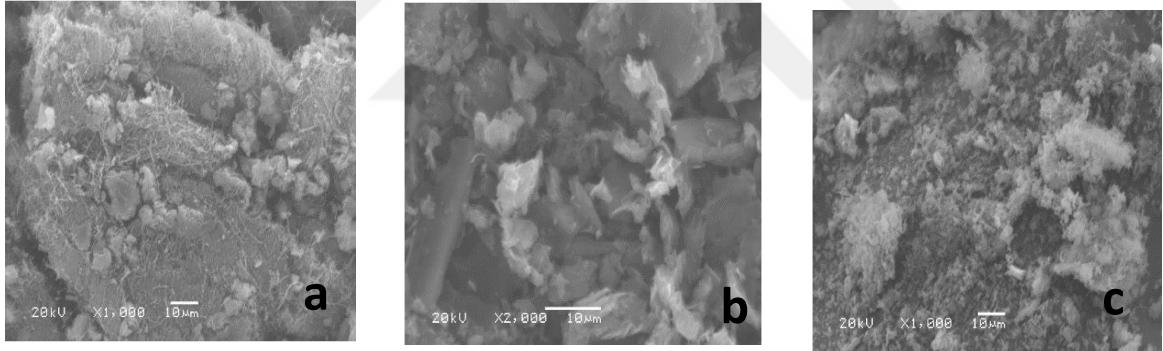
Voltametrik deneylerde elektrot yüzeyinin temiz olması önemlidir. Elektron transferi açısından aktivasyon işlemi, yüzeyde biriken kirliliklerin atılması, yüzeyde bulunan fonksiyonel grupların oluşmasını, aynı zamanda yüzey alanının büyütülmesini sağlamaktadır. Aynı zamanda elektrot yüzeyinin temiz olmadığı durumlarda yükseltgenme/indirgenme pik akımında azalma ve pik geriliminde kayma meydana gelebilmektedir. Elektrot yüzeyinin temizlenmesi, başka bir ifadeyle aktive edilmesi için çeşitli ön işlem metotları vardır. Bu işlemin amacı reaksiyonun tersinirliğini arttırmaktır. Camsı karbon elektrot temizlenmesi mekanik olarak alüminyum oksit ile yapılmıştır. Modifiye edilmiş elektrodun temizlenmesi +0.0 V ile +1.4 V potansiyel aralığında tekrarlı 3 döngü ile 0.1 V s^{-1} hızıyla gerçekleştirilmiştir. Sonrasında elektrot distile su ile yıkanarak kullanımı hazır hale getirilmiştir.

4.BULGULAR

4.1 Modifiye Edilmiş Grafen Oksit'in Karakterizasyonu

4.1.1. SEM analizleri

Numunelerin yapı karakterizasyonu, 20 kV hızlanma voltajında SE dedektörlü bir JEOL JSM 5600, taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak yapılmıştır. Grafen oksit, Hummers yöntemine göre hazırlanmıştır (Marcano ve diğerleri, 2010). Ayrıntılı yüzey morfolojisi için taramalı elektron mikroskobu kullanılmıştır (Görüntüler sırasıyla x1000, 2000, 1000 büyütmede elde edildi). Şekil 21'deki GO katmanlarının SEM görüntülerine göre; GO kırışıklık ve kıvrımlara sahip olduğu gözlemlenmiştir (Muniyalakshmi,2020). Görüntülerden 'sünger yapısı' gibi bir görüntü tanımlanmıştır. Aminasyon işlemi ile birlikte düzensiz kümelenmiş ince tabakalardan oluşan GO NH₂ tespit edilmiştir (Ge vd., 2018). GO-NH₂ borik asit modifikasyonu sonrası daha fazla yüzey pürüzlülüğü olan görüntülerden belirlenmiştir (Tsierkezos vd., 2016).

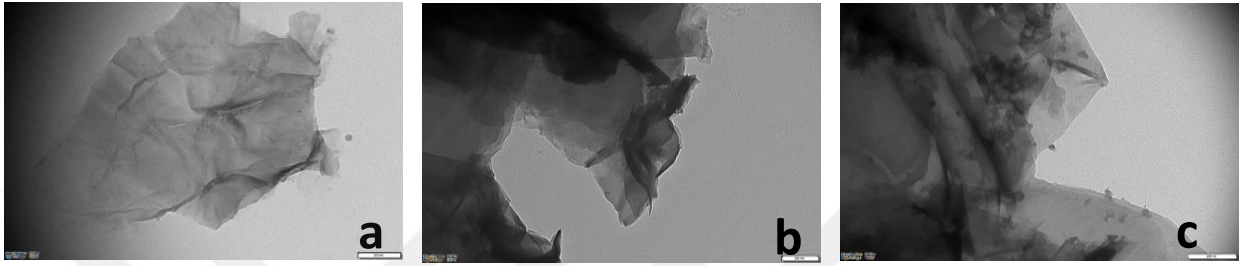


Şekil 21. (a) GO, (b) GO-NH₂, ve (c) GO-NH-B(OH)₂ SEM görüntüleri.

4.1.2. TEM analizleri

Sentezlenen GO, GO-NH₂ ve GO-NH-B(OH)₂'nin morfolojik özellikleri üzerine yüzey çalışmaları Şekil 22'te gösterildiği gibi TEM ile gerçekleştirilmiştir. Geçirimli Elektronik Mikroskobu (TEM) görüntülemesi Hitachi HT7800 TEM (100.0kV) sırasıyla GO için X7000, GO-NH₂ için X6000 ve GO-NH-B(OH)₂ için X8000 büyütme ile yapılmıştır. Görüntülemelerde birden fazla şeffaf katman gözlenmiştir (Aziz ve ark., 2014). Ayrıca TEM görüntülerine göre; GO,daha az yoğun olduğu ve yırtık kağıt parçaları gibi

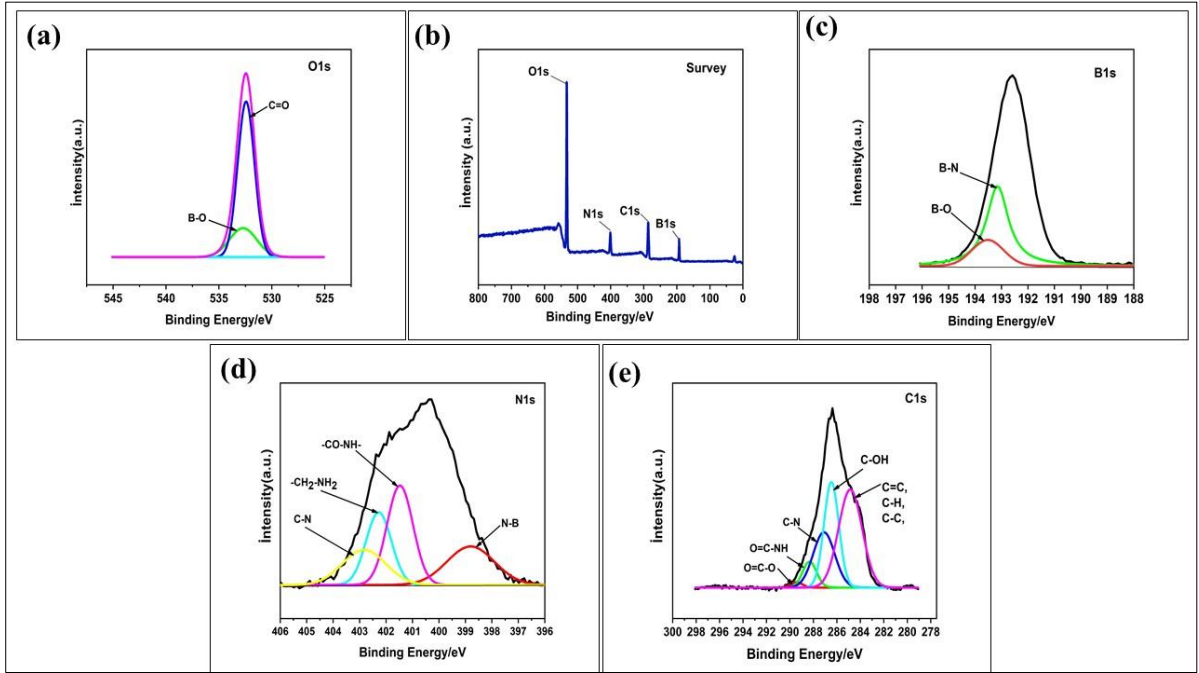
görüldüğü zaman düşünülmüştür. Karanlık bölgeler, GO yüzeyindeki oksijen gruplarının (karboksil grupları gibi) yığılmış doğasını temsil eder (Stobinski ve diğerleri, 2014). GO-NH₂'nin TEM görüntüsü, GO'ya kıyasla tırtıklı ve daha kavisli kenarlar göstermektedir (Yang vd., 2015). Aminasyon sonrası yapılan borik asit modifikasyonunun görüntülenmesinde belirgin bir yapısal hasar olmamasına rağmen yüzeyde hafif bir büzülme meydana geldiği belirlenmiştir. (Yiğit ve ark., 2021).



Şekil 22. (a)GO, (b)GO-NH₂ ve (c)GO-NH-B(OH)₂ TEM görüntüleri.

4.1.3. XPS analizleri

X-ışını kaynağı: Al K α Monokromatik (1486.68 eV), X-ray spot boyutu: 300 μ m, örnekleme alanı: 60x60 mm, analizör: 180 ° yarı küresel analizör-128 kanal dedektörü, genel tarama için 200 eV geçiş enerjisi ve 50 eV geçiş Kısmi tarama için enerji, Tarama numarası: 3 işletim parametresinde XPS cihaz yüzey analizi yapılmıştır. GO-NH-B(OH)₂'nin elementel bileşikleri XPS ile karakterize edilmiştir. GO-NH-B(OH)₂'nin XPS arama spektrumları Şekil 23'de gösterilmektedir. Grafen oksidin borik asit modifikasyonunun XPS taramasında elde edilen güçlü tepe noktaları, C1s, O1s, N1s ve B1s ile ilişkilendirilmiştir. C1s bölgesinde elde edilen iki spektrum, C=C, C-H, C-C (284.6 eV) ve C-OH (286.1 eV) ile ilişkilendirilmiştir. Elde edilen diğer spektrumlar C-N (285.2 eV), O=C NH (287.4 eV), O=C-O (288.5 eV) olarak yorumlanmıştır. O1s bölgesinin iki farklı piki C=O (532.4 eV) ve O-B ile tanımlanabilir (532,5 eV). N1s bölgesinde elde edilen spektrumlar sırasıyla N-B, -CO-NH-, -CH₂-NH₂- ve C-N'nin 399, 401.1, 401.7 ve 403.6 eV'deki dört tepe noktasına atfedilir. Son olarak B1s bölgesinde elde edilen iki farklı güçlü spektrum B-N (193.4 eV) ve B-O (194.2 eV) olarak tanımlanmıştır. (Yiğit ve diğerleri, 2021, Pei ve diğerleri, 2021).



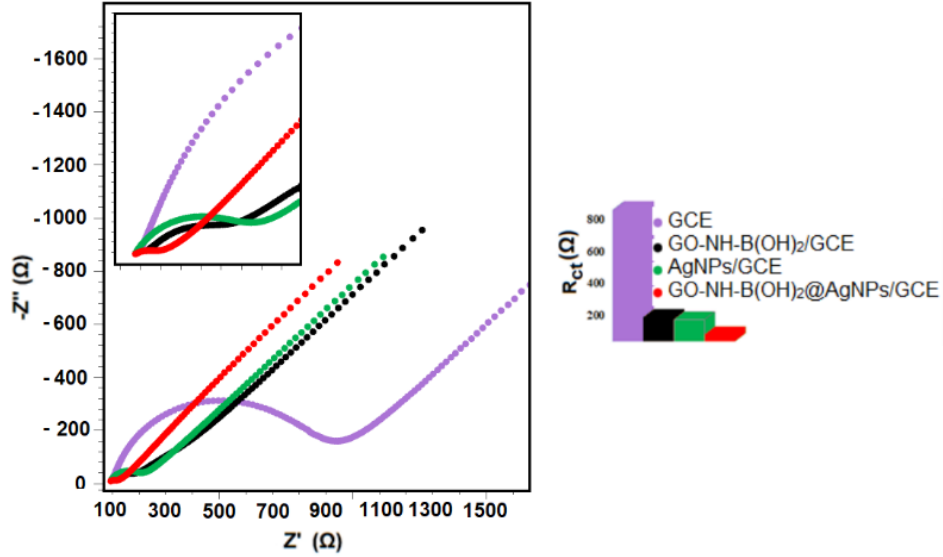
Şekil 23. Sentezlenen GO-NH B(OH)₂'nin XPS araştırma spektrumu. O1s(a), XPS piki (b), B1s(c), N1s(d), C1s(e)

4.2. Modifiye Elektrotların Elektrokimyasal Karakterizasyonu

Elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS), sentezlenen malzemenin elektrolit arayüzündeki elektrokimyasal yüzeyini ve elektron transfer özelliklerini hesaplamak için iyi bir yöntemdir. Yalın ve modifiye edilmiş GC elektrotlarının impedans değişikliklerinin ve arayüz özelliklerini değerlendirmek için EIS ve CV teknikleri kullanılmıştır. Redoks probu olarak $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3/4}$ kullanılarak EIS ve CV çalışmaları yapılmıştır.

Nyquist grafiği iki kısımdan oluşur. Birincisi yarım daire ve ikinci kısım ise doğrusal kısımdır. İlk kısım yüksek frekans bölgesindeki yük transfer direncini (R_{ct}) ifade ederken, ikinci kısım düşük frekans bölgesindeki difüzyon sınırlı prosesle ilgilidir. Şekil 24'da 0.5 mol L^{-1} KCl çözeltisinde 3.0 mmol L^{-1} $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3/4}$ redoks probu ile 0.01-10.000 Hz frekans aralığında yalın ve modifiye elektrotların EIS spektrumlarını gösterilmiştir. R_{ct} değeri yarım dairenin çapından hesaplanır ve grafiklerin düz çizgisi R_s değerini temsil eder. Yalın GC, GONH-B(OH)₂/GC, AgNPs/GC ve GO-NH-B(OH)₂@AgNPs/GC elektrotlarının R_{ct} değerleri sırasıyla, 819, 153, 136 ve 43.2Ω

olarak elde edilmiştir. GO-NH-B(OH)₂@AgNPs/GC elektrotunun diğerlerinden daha hızlı elektron transfer özelliklerine ve daha iyi elektrokatalitik aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir.

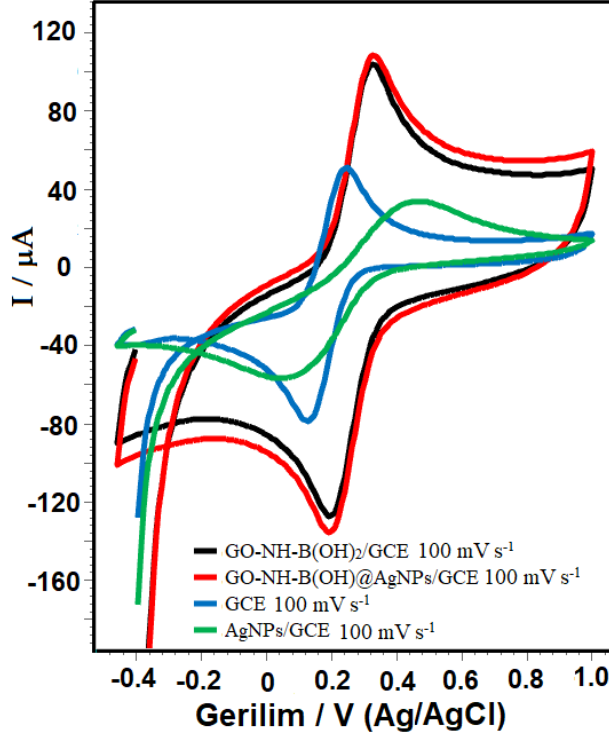


Şekil 24. GCE, AgNPs/GCE, GONH-B(OH)₂/GCE ve GO-NH-B(OH)₂@AgNPs/GCE'de 0.5 mol L⁻¹KCl ve 3.0 mmol L⁻¹ [Fe(CN)₆]^{-3/-4} redoks probu ile elde edilen Nyquist diyagramı, frekans aralığı; 0.01–10.000 Hz, genlik: 0.01 V ve gerilim: 0.25 V.

Şekil 25'de hem yalın GCE hem de tüm modifiye elektrotların 0.5 mol L⁻¹ KCl çözeltisinde 3.0 mmol L⁻¹ [Fe (CN)₆]^{-3/-4} redoks probu ve 100 mV s⁻¹ tarama hızında elde edilen iyi tanımlanmış tersinir redoks piki gösterilmiştir. GC yüzeyinin GONH-B(OH)₂@AgNP'ler ile modifikasyonu sonucunda, yüksek iletkenliğe bağlı olarak redoks pik akımlarının arttığı (yaklaşık üç kat) gözlenmiştir. GO NH B(OH)₂@AgNPs/GC elektrotunun elektroaktif yüzey alanı, CV tekniği ile 10- 400 mVs⁻¹ arasında farklı tarama hızlarında karakterize edilmiştir. Buna göre, GO-NH B(OH)₂@AgNPs/GC elektrotunun elektroaktif yüzey alanı, aşağıda verilen Randles-Sevcik denklemi ile hesaplanmıştır.

$$I_{pa} = 2,69 \times 10^5 A n^{3/2} C_0 D^{1/2} \nu^{1/2}$$

Burada I_p pik akımı, n , $\text{Fe}(\text{CN})_6^{-3/4}$ ($n = 1$) için transfer edilen elektron sayısı, A etkin yüzey alanı, D , difüzyon katsayısı ($7.7 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$), v tarama hızı (V s^{-1}), C , $\text{Fe}(\text{CN})_6^{-3/4}$ 'nin derişimidir. Sonuç olarak, yalın GC ve $\text{GO-NHB}(\text{OH})_2@\text{AgNPs}/\text{GC}$ elektrotlarının elektroaktif yüzey alanları sırasıyla 0.0729 ve 0.35 cm^2 olarak hesaplanmıştır.



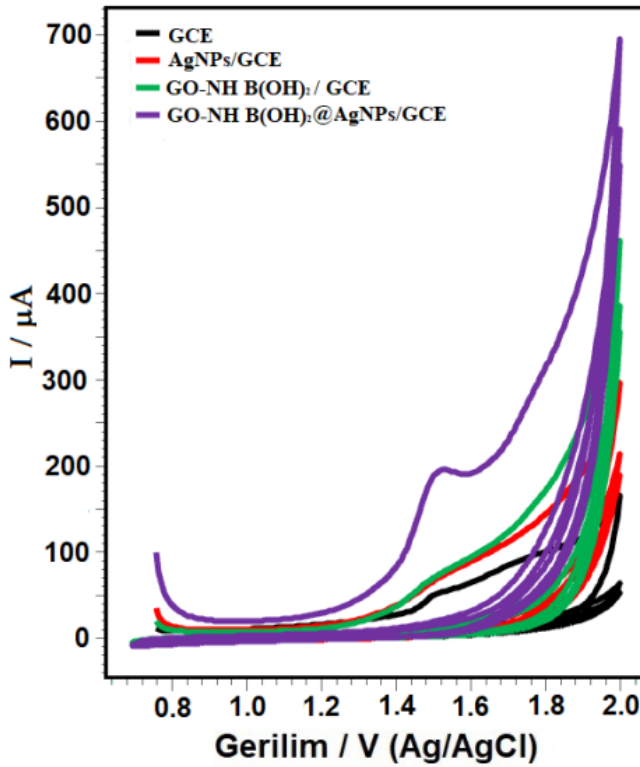
Şekil 25. 3.0 mmol L^{-1} 'lik $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3/4}$ ve 0.5 mol L^{-1} KCl, 100 mV s^{-1} tarama hızında GCE, $\text{GO-NH-B}(\text{OH})_2@\text{AgNPs}/\text{GCE}$, $\text{GO-NH-B}(\text{OH})_2/\text{GCE}$, AgNPs/GCE ait dönüşümlü voltamogramlar.

4.3. İbrutinib Etken Maddesinin Elektrokimyasal Davranışı

4.3.1. Dönüşümlü voltametri çalışmaları

GC elektrot ve GO-NH-B(OH)₂@AgNPs/GCE, GO-NH-B(OH)₂/GCE, AgNPs/GCE elektrotlarının yüzeyinde IBR'in elektrokimyasal davranışını anlayabilmek amacıyla 0.1 mol L⁻¹ HNO₃ çözeltisi içerisinde hazırlanan 75 µg mL⁻¹ (1.7×10⁻⁴ mol L⁻¹) IBR çözeltisinin (0.6 V) - (+2.0 V) gerilim tarama aralığında, 100 mV s⁻¹ gerilim tarama hızı ile dönüşümlü voltamogramları kaydedilmiştir.

Anodik taramada, her elektrotta iyi tanımlanmış bir yükseltgenme pik noktası (I_a) (yaklaşık +1.50 V) gözlenmiştir. 75 µg mL⁻¹ (1.7×10⁻⁴ mol L⁻¹) IBR içeren çözeltide hem yalın GCE hem de modifiye elektrotların destek elektrolit çözeltileri ile karşılaştırılmaları Şekil26 'de gösterilmiştir. GC elektrot kullanıldığında 1.50 V'da 6.21 µA, GO NH B(OH)₂/GC elektrot kullanıldığında aynı gerilimde 5.03 µA, AgNPs /GC elektrot kullanıldığında 1.52 V'da 4.08 µA, GO-NHB(OH)₂@AgNPs/GC elektrodu kullanıldığında ise en yüksek pik akımını 1.49 V'da 39.33 µA olarak kaydedilmiştir.

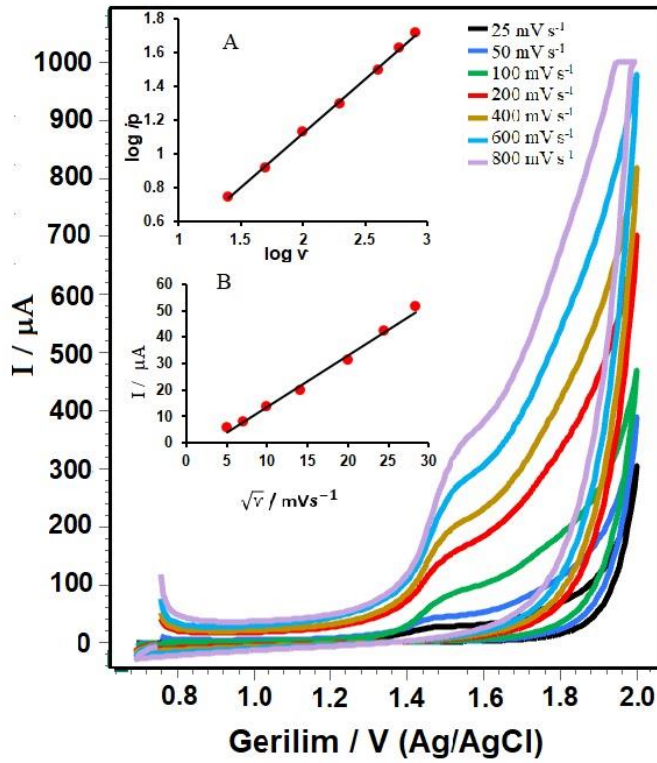


Şekil 26. 75 µg mL⁻¹ (1.7×10⁻⁴ mol L⁻¹), 0.1 mol L⁻¹ HNO₃ çözeltisinde GCE, GO-NH B(OH)₂/GCE, AgNPs/GCE ve GO-NH B(OH)₂@AgNPs/GCE elektrot yüzeyinde 100 mV s⁻¹ gerilim tarama hızında dönüşümlü voltamogramları

Voltametrik metotlarda akım türünün belirlenmesi oldukça önemlidir. Çünkü akım türüne göre voltametrik metotlar belirlenir. GO-NH B(OH)₂@AgNPs/GC elektrodu kullanılarak, 75 µg mL⁻¹ IBR içeren 0.1 mol L⁻¹ HNO₃ çözeltisinde, 25-800 mV s⁻¹ tarama hız aralığında dönüşümlü voltamogramlar Şekil 25’de ve buna ait sonuçlar Tablo 1’de verilmiştir. Tarama hızlarına bağlı olarak akım değişimi incelenmiştir.

Tablo 1. 75 µg mL⁻¹ IBR içeren 0.1 mol L⁻¹ HNO₃ çözeltisinde, 25-800 mV s⁻¹ tarama hız aralığındaki sonuçlar:

Hız (mV s ⁻¹)	logv	v ^{1/2}	I _p	logI _p	E _p
25	1.397	5.000	5.582	0.746	1.46
50	1.698	7.071	8.210	0.914	1.47
100	2.000	10.000	13.548	1.131	1.48
200	2.301	14.142	19.800	1.296	1.49
400	2.602	20.000	31.284	1.495	1.50
600	2.778	24.494	42.133	1.624	1.51
800	2.903	28.284	51.458	1.711	1.52



Şekil 27. 75 $\mu\text{g mL}^{-1}$ IBR içeren 0.1 mol L^{-1} HNO_3 çözeltisinde, 25-800 mV s^{-1} tarama hız aralığında GO-NH B(OH)_2 @AgNPs/GC elektrot kullanılarak elde edilen dönüşümlü voltamogramlar. **A)** Gerilim tarama hızının logaritması ile akımın logaritması arasındaki doğrusal grafiği, **B)** Gerilim tarama hızının kare kökü ile akım arasındaki doğrusal grafiği göstermektedir.

Şekil 27'de, tarama hızı arttıkça, oksidasyon pik geriliminde daha pozitif değerlere doğru hafif bir kayma gözlenmiş ve bu elektrot reaksiyonunun tersinmez bir tepkime olduğunu kanıtlamıştır. $v^{1/2}$ - i_p arasındaki doğrusal denklemde korelasyon katsayısının (0.996) 1'e yakın olması ve $\log v$ - $\log i_p$ grafiğinin eğiminin 0.64 (0.5'e yakın) olması adsorptif etkili difüzyon kontrollü olduğunun bir göstergesidir.

$$i_p (\mu\text{A}) = 1.959 \sqrt{v} (\text{mV s}^{-1}) - 5.9285, (r = 0.996)$$

$$\log i_p (\mu\text{A}) = 0.641 \log v (\text{mV s}^{-1}) - 0.1615, (r = 0.9933)$$

Yukarıdaki denklemlerin ışığında, IBR'nin elektro-oksidasyonu, bir miktar

adsorpsiyon katkısı ile ağırlıklı olarak difüzyon tarafından yönetilir. Anodik pik gerilimi pozitif kısımlara doğru kayar, bu da tarama hızı arttığından IBR'nin yükseltgenme reaksiyonunun GO-NH B(OH)₂@AgNPs/GCE üzerinde tersinmez olma eğiliminde olduğunu gösterir.

4.3.2. İbrutinib bileşiğinin kare dalga voltametrisi çalışmaları

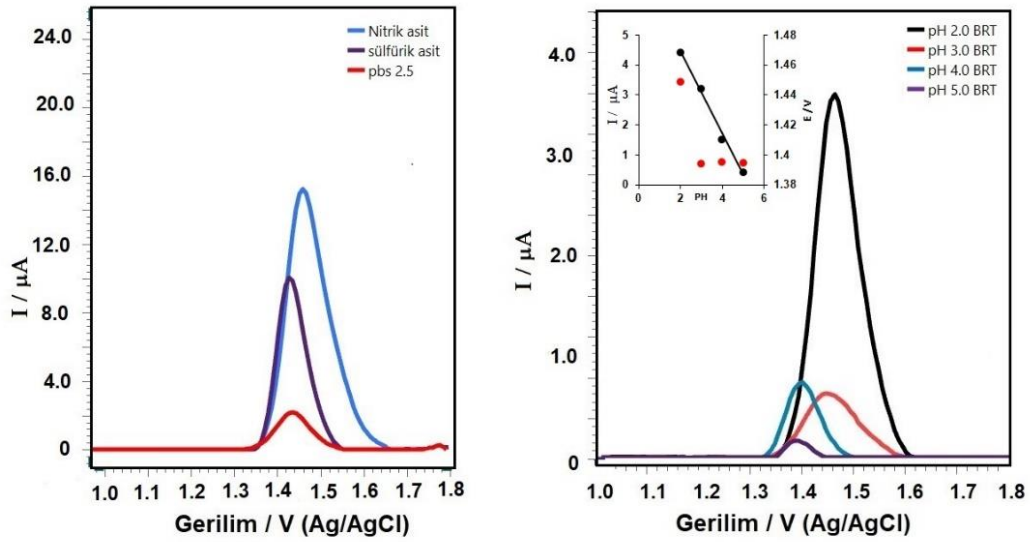
Destek elektroliti ve pH

Yukarıdaki bilgiler dahilinde; IBR bileşiğinin elektrot tepkimesi difüzyon kontrollü olduğu için, destek elektrolit ve pH etkisi

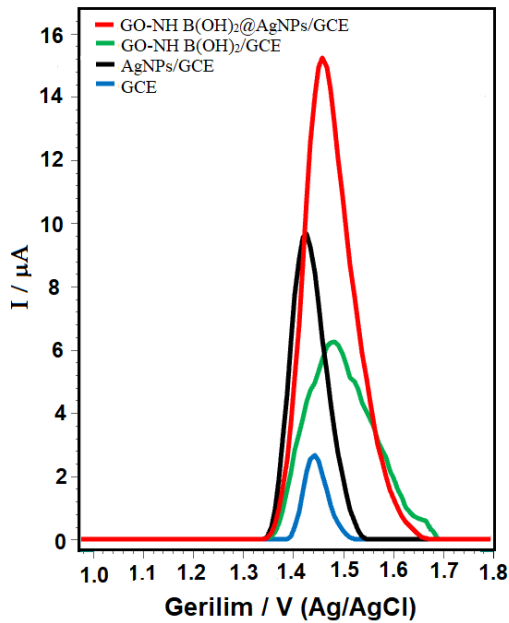
den çok daha hassas olan kare dalga voltametri tekniği kullanılarak yapılmıştır. IBR bileşiğinin GO-NH B(OH)₂@AgNPs/GC elektrot yüzeyindeki voltametrik davranışı için BR tamponu (pH 2.0-5.0 arası), kuvvetli asit (0.1 mol L⁻¹ HNO₃, 0.2 mol L⁻¹ H₂SO₄) ve fosfat tampon (pH 2.5) çözeltileri kullanılmıştır. pH değeri 5'ten daha yüksek değerlerde IBR'nin yükseltgenme piki gözlenmemiştir. BR tamponunda pH 2.0-5.0 aralığında IBR'nin yükseltgenme piki pH artıkça çok fazla değişmemekle beraber negatif potansiyel değerlerine kaydığı görülmüştür (Şekil 28). pH değerlerine karşılık gelen pik potansiyel değerleri grafiğe geçirilerek aşağıdaki denklem elde edilmiştir.

$$E_p(V) = -0.0272 \text{ pH} + 1.5229 \quad r = 0.9963$$

İlgili eşitlik değerlendirilince IBR bileşiğinin elektrot yükseltgenmesinde protonların yer aldığı ve ilgili bölgede elektron sayısı proton sayısının iki katı olduğu anlaşılmıştır.



Şekil 28. $5.0 \mu\text{g mL}^{-1}$ IBR'nin BR tampon, pH 2.0-5.0 (A) ve farklı pH'lerdeki (B) çözeltisinde GO-NH B(OH)₂@AgNPs/GC elektrot ile kaydedilmiş kare dalga voltamogramları. Kare dalga değişkenleri; frekans, 50 Hz, puls amplitüd, 30 mV, gerilim adımı, 8 mV. Şekil içi (A), pH 2.0-5.0 arasında pH değerlerine karşılık pik gerilimi değerleri arasındaki doğru denklemini göstermektedir.

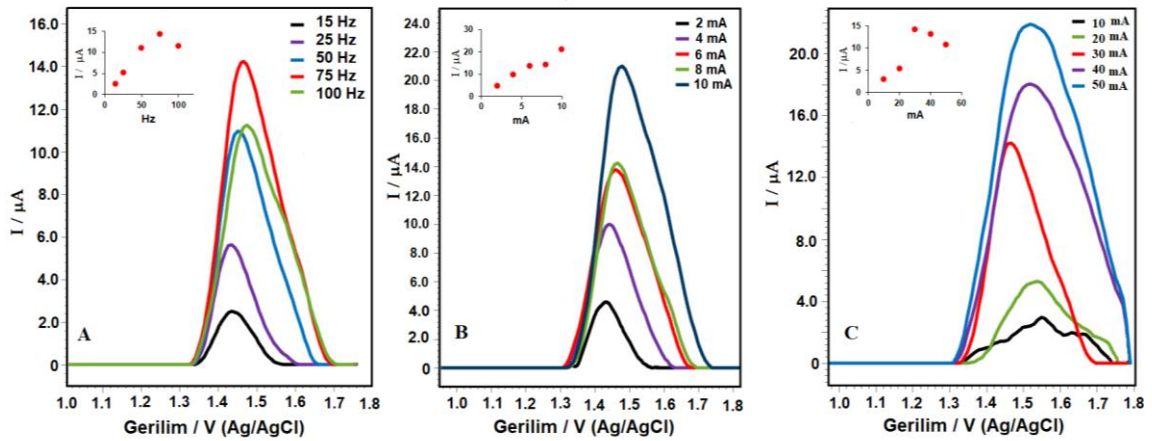


Şekil 29. $5.0 \mu\text{g mL}^{-1}$ IBR in 0.1 mol L^{-1} HNO₃ çözeltisinde tüm elektrotlar ile kaydedilmiş kare dalga voltamogramları.

Şekil 28B ve 29'den de görüldüğü gibi pH değerleri incelendiği zaman kuvvetli asit ortamında hem GO-NH B(OH)₂@AgNPs/GC hem de diğer tüm elektrotlarda oldukça yüksek pik akım değeri elde edilmiştir. Çalışmanın bundan sonraki tüm aşamalarında destek elektrolit olarak 0.1 mol L⁻¹ HNO₃ çözeltisi kullanılmıştır.

Kare dalga voltametrisinin değişkenlerinin etkisi

Dönüşümlü voltametriden daha hassas olan kare dalga voltametri tekniğinin değişkenlerinin optimize edilmesi çalışmanın daha duyarlı hale getirilmesi için tamamlayıcılık sağlamıştır. 1.0 µg mL⁻¹ IBR'nin 0.1 mol L⁻¹ HNO₃ çözeltisinde elde edilen kare dalga voltamogramlarının iyileştirilmesi için yöntem parametreleri olan frekans, puls amplitüd ve gerilim adımı değişkenleri optimize edilmiştir. Frekans 15-100 Hz aralığında, puls amplitüd 10- 50mV aralığında ve gerilim adımı 2-10 mV aralığında değiştirilerek, en uygun değerler elde edilmiştir. Şekil 30'da görüldüğü gibi özellikle yükseltgenme pikinin hem şekil olarak hem de morfolojik olarak en iyi olduğu değerler alınarak optimizasyon sağlanmıştır. Buna göre bu çalışma frekans için 75 Hz, puls amplitüd için 30 mV ve gerilim adımı için ise 10 mV kabul edilmiştir.

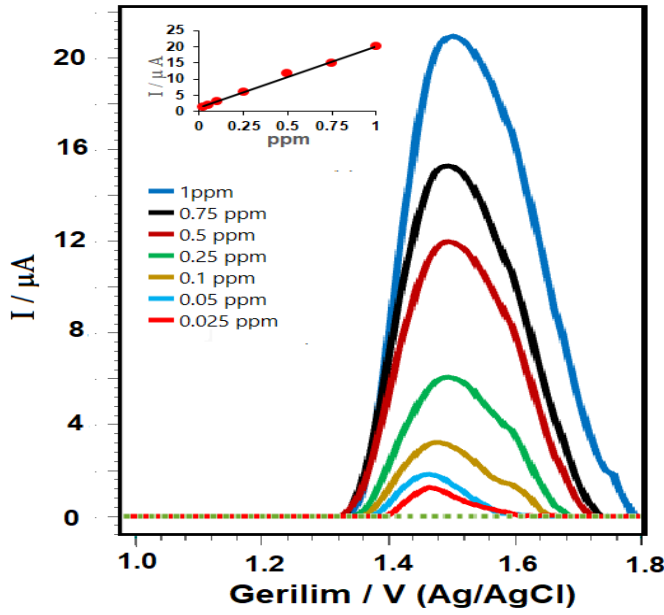


Şekil 30. 1.0 µg mL⁻¹ IBR'nin 0.1 mol L⁻¹ HNO₃ çözeltisinde GO-NH B(OH)₂@AgNPs/GCE ile kaydedilmiş A) Frekans B) Gerilim adımı C) Plus amplitüdülerin kare dalga voltamogramları.

4.4. İbrutinib Bileşiğinin Tayini İçin Geliştirilen Yöntemin Performans ve Gerçek Örneklerdeki Uygulama Çalışmaları

4.4.1. Geliştirilen yöntemin analitik performans özellikleri

Geliştirilen voltametrik yöntemin analitiksel olarak performansını değerlendirmek için optimize edilen en iyi deneysel koşullarda yonteme ait doğrusal çalışma aralığı, tayin sınırları, tekrarlanabilirlik (kesinlik), bağıl standart sapma ve bias gibi analitik validasyon parametreleri incelenmiştir. IBR derişiminin yükseltgenme pik akımı üzerine etkisini incelemek için, artan derişimlerdeki IBR'nin kare dalga voltamogramları kaydedilmiştir. 0.1 mol L⁻¹ HNO₃ çözeltisinde IBR derişiminin artırılması ile kaydedilen kare dalga voltamogramları ve derişime karşılık pik akımı kalibrasyon eğrisi şekil 31'da verilmiştir.



Şekil 31. 0.025-1.00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (5.68×10^{-8} - 2.3×10^{-6} mol L⁻¹) aralığında 0.1 mol L⁻¹ HNO₃ çözeltisindeki IBR'nin GO-NH-B(OH)₂@AgNPs/GC elektrot üzerinde kare dalga voltamogramları. Kare-dalga voltametri değişkenleri; frekans; 75 Hz, amplitüd; 30 mV, gerilim adımı; 10 mV.

IBR'nin 0.025-1.00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (5.68×10^{-8} - 2.3×10^{-6} mol L⁻¹) derişim aralığındaki artış ile birlikte yükseltgenme pik akım değerleri arasında doğrusal bir ilişki olduğu görülmektedir. Derişime karşı pik akım değerleri grafiğe geçirildikten sonra aşağıdaki bağıntı elde edilmiştir.

$$I_p(\mu A) = 19.034 C (\mu g mL^{-1}) + 1.1991 (r: 0.997; n:7)$$

B. Bir analizde gözlenebilen en küçük sinyalin derişime gözlenebilirlik sınırı, kantitatif analizin yapıldığı en küçük derişime ise kantitatif tayin alt sınırı denir ve sırasıyla LOD, LOQ ile gösterilir. LOD değeri, konsantrasyon aralığındaki en küçük değerden küçük olmalı, LOQ ise konsantrasyon aralığındaki en küçük değere eşit ya da küçük olmalıdır. Bu hesaplamalarda $LOD = 3 s / m$ ve $LOQ = 10s/m$ formülleri kullanıldı, eşitliklerde yer alan ‘s’ standart sapmayı ve ‘m’ ise kalibrasyon doğrusunun eğimini temsil etmektedir.

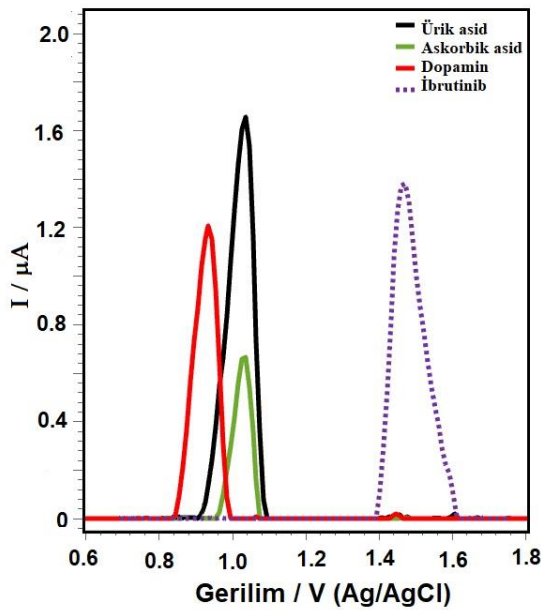
Bir analizde elde edilen sonuçların birbirine yakınlığına kesinlik denir. Geliştirilen voltametrik yöntemin tekrarlanabilirlik (kesinliği) bulmak için, IBR çözeltisinin aynı gün, aynı laboratuvarı, aynı cihazla, aynı numune üzerinde, aynı analizci tarafından on defa kare dalga voltamogramları alınarak kaydedilmiştir. Elde edilen voltamogramlar üzerinde pik akımı değerleri okunmuş ve bulunan değerler gün-içi tekrarlanabilirlik olarak değerlendirilmiştir. Aynı derişim ile ardışık üç gün yapılan deney sonuçları günler-arası tekrarlanabilirlik olarak hesaplanmıştır. Bu çerçevede hesaplanan tüm değerler tablo 2’de özetlenmiştir.

Tablo 2. Önerilen voltametrik yöntemde IBR’nin 0.1 mol L⁻¹ HNO₃ çözeltisi içerisindeki analitik performans değerleri

Analitik parametresi	
E_p (Gerilim)	+ 1.49 V
Çalışma aralığı (n = 7)	0.025-1.0 $\mu g mL^{-1}$ (5.68×10^{-8} - 2.3×10^{-6} mol L ⁻¹)
r	0.997
LOD	0.006 $\mu g mL^{-1}$ (1.36×10^{-8} mol L ⁻¹)
LOQ	0.018 $\mu g mL^{-1}$ (4.08×10^{-8} mol L ⁻¹)
Güniçi tekrarlanabilirlik BSS% (n = 10)	4.75 (pik akım)
Günlerarası tekrarlanabilirlik BSS% (n = 5)	5.85 (pik akım)

4.4.2. Geliştirilen voltametrik yöntemin seçicilik çalışmaları

IBR tayini için önerilen kare dalga voltametrik yöntemi, girişim yapma ihtimali olan bazı maddeler üzerinde seçicilik açısından test edilmiştir. Tolerans sınırı, $0.025 \mu\text{g mL}^{-1}$ IBR'in belirlenmesinde yaklaşık $\pm\%10$ olarak hata verebilen yabancı maddelerin konsantrasyonları göz önüne alınarak belirlenmiştir. Glukoz, fruktoz, laktoz, sukroz gibi şeker bileşikleri, Na^+ , K^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} , Zn^{+2} , Fe^{+3} , Ti^{+4} , NO^{-3} , Cl^- , SO_4^{-2} gibi inorganik iyonlar, mısır nişastası, magnezyum stearat ve mikrokristal selüloz gibi farmasötik formülasyonlardaki bazı bileşikler ve ürik asit, askorbik asit ve dopamin gibi biyolojik sıvılarda IBR'nin voltametriyanıtına etkisi değerlendirilmiştir. IBR içeren ilaç formülasyonunda bulunan kroskarmelloz sodyum, magnezyum stearat, mikrokristalin selüloz ve sodyum lauril sülfat (E487) varlığının voltametik sinyali etkilemediği de bilinmektedir. Bu maddelerin IBR'in piki üzerine etkisi ihmal edilebilir düzeydedir. Ürik asit, askorbik asit ve dopamin gibi biyolojik sıvılarda yapılan çalışmada ise Şekil 32'de görüldüğü gibi her üç molekül 0.8 V ile 1.2 V arasında yer almaktadır ve IBR yükseltgenme pik potansiyelinden oldukça uzak bir gerilimde bulunmaktadırlar.

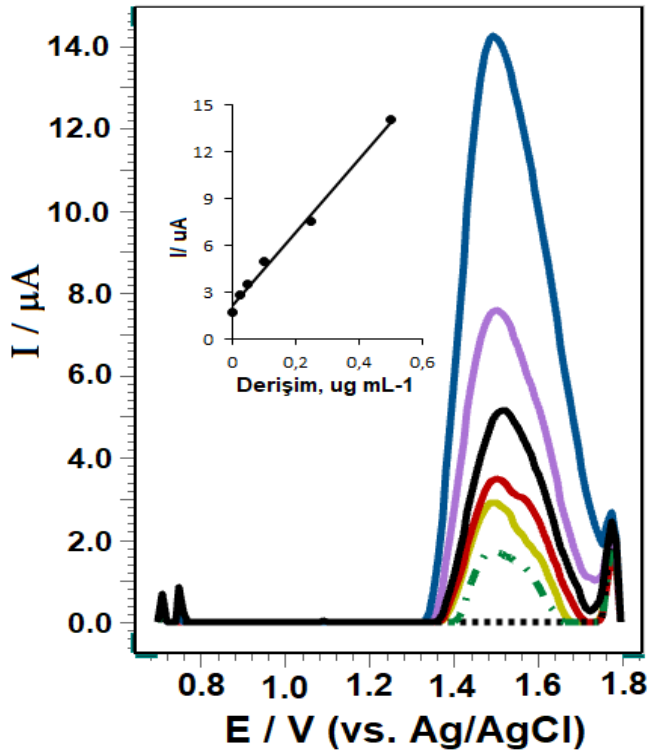


Şekil 32. $0.025 \mu\text{g mL}^{-1}$ IBR içeren $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{HNO}_3$ çözeltisinde, $1.0 \mu\text{g mL}^{-1}$ dopamin, ürik asit ve askorbik asitin $\text{GO-NH-B(OH)}_2\text{@AgNPs/GCE}$ elektrot üzerindeki kare dalga voltamogramları. Kare dalga voltametri değişkenleri Şekil 31'deki gibidir.

4.4.3. Geliştirilen voltametrik yöntemin farmasötik preparatlarındaki uygulama çalışmaları

Elde edilen sonuçlara dayanarak, önerilen yaklaşımın tatmin edici bir seçicilik sağladığı, farmasötik numune ve biyolojik sıvı analizinde IBR'in nicelleştirilmesi için başarıyla kullanılabileceği sonucuna varılabilir. GO-NH-B(OH)₂@AgNPs/GC elektrodunun IBR tayini için pratik olarak uygulanabilirliği ticari farmasötik formülasyonda analizi ile doğrulanmıştır. Numune hazırlanırken herhangi bir ekstraksiyon, buharlaştırma veya filtrasyon olmadan uygun seyreltmeler yapıldıktan tablet numuneleri analiz edilmiştir. Şekil 33'de hazırlanan tablet çözelti numunesinin ve standart katma yapılan IBR'nin kare dalga voltamogramları verilmiştir. Bu analiz sonrası elde edilen derişime karşı akım değerleri şekil içindeki kalibrasyon eğrisinde gösterilmiştir. Numune analiz standart katma yöntemi ile yapılmış olup, aşağıda ilgili denklem verilmiştir.

$$I_p(\mu A) = 23.678C (\mu g mL^{-1}) + 2.15, (r: 0.9965; n:6)$$



Şekil 33. Seyreltilmiş ilaç örneğinin (kesikli çizgi) ve 0.025, 0.050, 0.10, 0.25 ve 0.50 µg mL⁻¹ IBR standart ilavelerinin 0.1 mol L⁻¹ HNO₃ çözeltisinde elde edilen kare dalga voltamogramları. Kare dalga voltametri değişkenleri Şekil 31'deki gibidir.

Numune çözeltileri, doğrusal çalışma aralığı içinde hedef derişime seyreltildikten sonra hazırlandı. Numunenin analizi, ilgili regresyon denkleminde kalibrasyon eğrisi yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Numunenin ardışık seyreltilerini göz önüne alındığında, IBR içeriğinin, üretici tarafından sunulan 140 mg her kapsul için etiket değerine yaklaşık olan 136.34 mg (%5.94 BSS) olarak hesaplanmıştır. Önerilen yöntemin geçerliliği, geri kazanım (%97.39) çalışmalarına uygulanarak değerlendirilmiştir.



5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kanser, hücre büyümesi ve bölünmesi kontrolünün tamamen kaybolduğu ve katı hücre kütesinden oluşan tümörlerin oluşumuna yol açan bir hastalıktır. Kanser tedavisi cerrahi müdahale, kemoterapi ve radyoterapiyi içerdiğinden genellikle ölümle sonuçlanır. Kemoterapi, kanser hücrelerinin çoğalmasını sınırlamak ve bu hücreleri seçici olarak etkisiz hale getirmek için düşük moleküler ağırlıklı ilaçlara dayanır. İbrutinib, Bruton'un tirozin kinaz (BTK) inhibitör sınıfına ait bir antikanser ilacıdır. Geçtiğimiz yıllarda IBR, lenfoma tedavisinde bir atılım yaptı. Genellikle manto hücreli lenfoma, kronik lenfositik lösemi ve marjinal bölge lenfomasını tedavi etmek için kullanılır (Asawa ve ark., 2022).

Kaynak araştırmasında IBR'in voltametrik tayinine yönelik elektroanalitik çalışma raporları yeterli bulunmamış, bu nedenle yeni bir elektroanalitik yöntemi belirlenmiştir. Son yıllarda yapılan benzer çalışmalarda karbon bazlı elektrotlar kullanılmıştır.

Bu çalışmada, boramidik asit adı verilen yeni bir fonksiyonel grubu taşıyan benzersiz grafen oksit bazlı yeni nanomalzemeler sentezledik. Klinik olarak kullanılan farklı ilaçları tespit etmek için birçok grafen oksit bazlı nanomalzeme vardır. Bununla birlikte, aktif farmasötik bileşenleri tespit etmek için grafen nano yüzey üzerindeki boramidik asidin işlevselliği bilinmemektedir. Boramidik asit işlevselliğinin yanı sıra, İbrutinib tespitine karşı hassasiyetini artırmak için gümüş nanopartiküller eklenmiştir.

0.1 mol L⁻¹ HNO₃ çözeltisi içinde IBR'in elektrokimyasal tayini GO-NHB(OH)₂@AgNPs/GCE yüzeyinde incelendi. Optimize edilmiş kare dalga voltametrik (SWV) koşulları altında, 0.025–1.00 µg mL⁻¹ (5.7×10⁻⁸– 2.3×10⁻⁶ mol L⁻¹) çalışma aralığında IBR konsantrasyonu ile iyi doğrusallık gösterdi, 0.006 µg mL⁻¹ (1.36×10⁻⁸ mol L⁻¹) saptama limiti (LOD) bulundu. Yüksek stabilitesi ve tekrarlanabilirliğinin yanı sıra, IBR'nin GO-NHB(OH)₂@AgNPs/GCE'deki yanıtı dopamin, ürik asit ve askorbik asit varlığından etkilenmedi. Geliştirilen tayin metodu, farmasötikte IBR'i tayin etmek için başarıyla uygulandığı tespit edildi. Sunulan yöntem, idrar numunelerinde de IBR'in belirlenmesi için uygun bir seçenek olarak düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Acquah S.F.A., Penkova A.V., Markelov D.A., Semisalova A.S., Leonhardt B.E., Magi J.M.; Review The Beautiful Molecule: 30 Years of C 60 and Its Derivatives. *ECS J. Solid State Sci Technol.* 2017;(6):3155–62.

Adams R.N., Carbon paste electrodes. *Anal Chem.* 1958;(30):1576-82.

Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P., *Molecular biology of cell.* 5. Edition. Garland science;2008.

Ali M. A., Kami l Reza K., Srivastava S., Agrawal V. V., John R., Malhotra B. D., Lipid–lipid interactions in aminated reduced graphene oxide interface for biosensing application. *Langmuir.* 2014;30(14):4192-201.

Ames, B. N., Gold, L. S., Willett, W. C. The causes and prevention of cancer. *Proc Natl Acad Sci.* 92,1995;(12):5258-65.

Anderson, M. W., Reynolds, S. H., You, M., Maronpot, R. M. Role of proto-oncogene activation in carcinogenesis. *Environ Health Perspect.* 1992;(98):13-24.

Arora N., Sharma, N. N., Arc discharge synthesis of carbon nanotubes: Comprehensive review. *Diam Relat Mater.* 2014;(50):135-50.

Asawa P., Chahine Z., Vusqa U., Samhoury Y., Fazal S., Invasive Aspergillosis of the Spleen in the setting of Ibrutinib use. *J Onco Pharm Prac.* 2022. DOI: 10781552221077641.

Aziz, M., Halim, F. S. A., Jaafar, J. Preparation and characterization of graphene membrane electrode assembly. *J Tekno.* 2014;69(9):1-6.

Beauvais D., Goossens J. F., Boyle E., Allal B., Lafont T., Chatelut E., Danel C. Development and validation of an UHPLC-MS/MS method for simultaneous quantification of ibrutinib and its dihydrodiol-metabolite in human cerebrospinal fluid. *J Chrom B.* 2018;(1093):158-66.

Bilge, S., Dogan-Topal, B., Tok, T. T., Atici, E. B., Sınağ, A., Ozkan, S. A. Investigation of the interaction between anticancer drug ibrutinib and double-stranded DNA by electrochemical and molecular docking techniques. *Micro J.* 2022;107622.

Bindu G. H., Annapurna M. M., A sensitive stability indicating RP-HPLC method for the determination of Ibrutinib-An anti-cancer drug. *Res J Pharm Tech.* 2018;11(10):4587-91.

Bott A. W., A comparison of cyclic voltammetry and cyclic staircase voltammetry. *Curr Separ.* 1997;16:23-26.

Budnikov, G. K. Printsipy primeneniye vol'tampernoï ostsillograficheskoi polyarografii. (Principles and Applications of Voltage—Current Oscillographic Polarography), Izd Kazan Gos University, Kazan; 1975.

Cameron F., Sanford, M., Ibrutinib: first global approval. *Drugs.* 2014;74(2):263-71.

- Cernat A., Györfi S. J., Irimes M. B., Tertiş M., Bodoki A., Pralea I. E., Cristea C., Click chemistry on azide-functionalized graphene oxide. *Electrochem Commu.* 2019;(98):23-7.
- Chang Y. Y., Wu H. L., Wang T., Fang H., Tong G. Y., Chen Y., Yu R. Q., Three efficient chemometrics assisted fluorimetric detection methods for interference-free, rapid, and simultaneous determination of ibrutinib and pralatrexate in various complicated biological fluids. *Spectrochim Acta Part A: Mol Biomol Spectro.* 2021;(252):119419.
- Chen Y., Zhao H., Sheng L., Yu L., An K., Xu J., Zhao X., Mass-production of highly-crystalline few-layer graphene sheets by arc discharge in various H₂–inert gas mixtures. *Chem Phy Letters.* 2012;(538):72-6.
- Christensen B. W., Zaha V. G., Awan F. T., Cardiotoxicity of BTK inhibitors: ibrutinib and beyond. *Exp Rev Hemato.* 2022;15(4):321-31.
- Copeland T. R., Skogerboe R. K., Anodic stripping voltammetry. *Anal Chem.* 1974;46(14):1257-68.
- Copetti G., Nunes E. H., Rolim G. K., Soares G. V., Correa S. A., Weibel D. E., Radtke C., Reversibility of graphene photochlorination. *J Phy Chem C.* 2018;122(28):16333-38.
- Criado A., Melchionna M., Marchesan S., Prato, M., The covalent functionalization of graphene on substrates. *Ange Chem Inter Edit.* 2015;54(37):10734-50.
- Davies, S. P., Reddy, H., Caivano, M., Cohen, P. Specificity and mechanism of action of some commonly used protein kinase inhibitors. *Biochem J.* 2000;351(1):95-105.
- Du P., Guan Y., An Z., Li P., Liu L., A selective and robust UPLC-MS/MS method for the simultaneous quantitative determination of anlotinib, ceritinib and ibrutinib in rat plasma and its application to a pharmacokinetic study. *Analyst.* 2019;144(18):5462-71.
- Ebbesen T.W., Hiura, H., Graphene in 3-Dimensions: Towards Graphite origami. *Adv Mater.* 1995;(7):582-86.
- Elgrishi N., Rountree K. J., McCarthy B. D., Rountree E. S., Eisenhart T. T., Dempsey J. L., A practical beginner's guide to cyclic voltammetry. *J Chem Edu.* 2018;95(2):197-206.
- Feng Y., Duan W., Cu X., Liang C., Xin, M., Bruton's tyrosine kinase (BTK) inhibitors in treating cancer: a patent review (2010-2018). *Exp Opin Therap Pat.* 2019;29(4):217-41.
- Fernández-Merino M. J., Guardia L., Paredes J. I., Villar-Rodil S., Solís-Fernández P., Martínez-Alonso A., Tascón J. M. D., Vitamin C is an ideal substitute for hydrazine in the reduction of graphene oxide suspensions. *J Phy Chem C.* 2010;114(14):6426-32.
- Gao, Y., Feng, B., Miao, L., Chen, Y., Di, J. Determination of Cr (III) ions based on plasmonic sensing and anodic stripping voltammetry with amplification of Ag nanoparticles. *Microchem J.* 2020;(157):104995.

- Ge, B. S., Wang, T., Sun, H. X., Gao, W., Zhao, H. R. Preparation of mixed matrix membranes based on polyimide and aminated graphene oxide for CO₂ separation. *Poly Adv Technol*. 2018;29(4):1334-43.
- Geim A.K., Novoselov K.S. The rise of graphene. *Nat Mater*. 2007;(6):183–91.
- Gong Y., Ping Y., Li D., Luo C., Ruan X., Fu Q., Pan C., Preparation of high-quality graphene via electrochemical exfoliation, spark plasma sintering and its applications. *Appl Surf Sci*. 2017;(397):213-19.
- Gopireddy R. R., Maruthapillai A., Mahapatra S., Tamilselvi M., Development and validation of HPLC method for enantioseparation of Ibrutinib on immobilized chiral stationary phase. *Mater Today: Proc*. 2022;(50):384-87.
- Gopireddy R. R., Maruthapillai A., Selvi J. A., Mahapatra S., Determination of potential genotoxic impurity hydrazine hydrate in ibrutinib by RP-liquid chromatography. *Mater Today: Proc*. 2021;(34):430-36.
- Grant, S. K. Therapeutic protein kinase inhibitors. *Cell Mol Life Sci*. 2009;66(7):1163-77.
- Gürbüz, M. M., Doğan-Topal, B., Atıcı, E. B., Özkan, S. A. The Effect of Anionic Surfactant and Stripping Voltammetry on the Signal of Ibrutinib at Nano-Level. *J Electrochem Soc*. 2022;169(11):116509.
- Hossain M. Z., Razak M. B., Yoshimoto S., Mukai K., Koitaya T., Yoshinobu J., Hersam M. C., Aqueous-phase oxidation of epitaxial graphene on the silicon face of SiC (0001). *J Phys Chem C*. 2014;118(2):1014-20.
- Transmission electron microscopy [internet]. 2022 [Erişim tarihi 10 Ekim 2022]. Erişim adresi: <https://warwick.ac.uk/fac/sci/physics/current/postgraduate/regs/mpagswarwick/ex5/techniques/structural/tem/>
- Hubbard A. T., Anson F. C., Linear Potential Sweep Voltammetry in Thin Layers of Solution. *Anal Chem*. 1996;38(1):58-61.
- Iqbal M., Shakeel F., Anwer T., Simple and sensitive UPLC-MS/MS method for high-throughput analysis of ibrutinib in rat plasma: optimization by Box-Behnken experimental design. *J AOAC Inter*. 2016;99(3):618-25.
- Jiang, S. M. The RET proto-oncogene in human cancers. *Onco*. 2000;19(49):5590-97.
- Jiang D. E., Sumpter B. G., Dai, S., How do aryl groups attach to a graphene sheet? *J Phys Chem B*. 2006;110(47):23628-23632.
- Kissinger P. T., Heineman, W. R., Cyclic voltammetry. *J Chem Edu*. 1983;60(9):702-06.
- Koehler, F. M., Stark W. J., Organic synthesis on graphene. *Accou Chem Resear*. 2013;46(10):2297-306.

Konduru N., Gundla R., Dongala T., Katari N. K., Mallavarapu R., Development and validation of liquid chromatography method for determination of Ibrutinib in finished dosage forms using quality by design approach. *Separ Sci Plus*. 2022;5(7):1-13.

Konduru N., Gundla R., Katari N. K., Paidikondala K., Reddy A. S., Jagadabi V., Development and validation of a stability-indicating method for Ibrutinib: Identification and separation of degradation products, known and genotoxic impurities using RP-HPLC/PDA and QDa mass detectors. *Anal Chem Lett*. 2020;10(1):113-36.

Kour R., Arya S., Young S.J., Gupta V., Bandhoriya P., Khosla A., Review—Recent advances in carbon nanomaterials as Electrochemical biosensors. *J Electrochem Soc* 2020;167(3):037555.

Kröger S., Turner A. P., Mosbac, K., Haupt K., Imprinted polymer-based sensor system for herbicides using differential-pulse voltammetry on screen-printed electrodes. *Anal Chem*. 1999;71(17):3698-702.

Kruskopf M., Pakdehi D. M., Pierz K., Wundrack S., Stosch R., Dziomba T., Schumacher H. W. Comeback of epitaxial graphene for electronics: large-area growth of bilayer-free graphene on SiC. *2D Materials*. 2016;3(4):041002.

Lane, D. P., Benchimol, S.53: oncogene or anti-oncogene. *Genes Dev*. 1990;4(1):1-8.

Liang X., Chang A. S., Zhang Y., Harteneck B. D., Choo H., Olynick D. L., Cabrini S. Electrostatic force assisted exfoliation of prepatterned few-layer graphenes into device sites. *Nano letters*. 2009;9(1):467-72.

Liclican A., Serafini L., Xing W., Czerwieniec G., Steiner B., Wang T., Feng J. Y., Biochemical characterization of tirabrutinib and other irreversible inhibitors of Bruton's tyrosine kinase reveals differences in on-and off-target inhibition. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Gen Sub*. 2020;1864(4):129531.

Liu J., Chen S., Papadakis R., Li H., Nanoresolution patterning of hydrogenated graphene by electron beam induced C–H dissociation. *Nanotechno*. 2018;29(41):415304.

Liu, Q., Sabnis, Y., Zhao, Z., Zhang, T., Buhrlage, S. J., Jones, L. H., Gray, N. S. Developing irreversible inhibitors of the protein kinase cysteinome. *Chem Bio*. 2013;20(2):146-59.

Lovrić M., Osteryoung J. Theory of differential normal pulse voltammetry. *Electrochim Acta*. 1982;27(7):963-68.

Luong J.H.T., Male K.B., Glennon J.D., Boron-doped diamond electrode: Synthesis, characterization, functionalization and analytical applications. *Analyst*. 2009;134(10):1965–79.

Maldonado S., Morin S., Stevenson K.J., Structure, composition, and chemical reactivity of carbon nanotubes by selective nitrogen doping. *Carbon*. 2006;44(8):1429–37.

Marcano, D. C., Kosynkin, D. V., Berlin, J. M., Sinitskii, A., Sun, Z., Slesarev, A., Tour, J. M. Improved synthesis of graphene oxide. *ACS nano*. 2010;4(8):4806-14.

Martin A., Escarpa A., Graphene: The cutting-edge interaction between chemistry and electrochemistry. *TrAC-Trends Anal Chem.* 2014;(56):13–26.

Michalkiewicz S., Skorupa A., Jakubczyk M. Carbon materials in electroanalysis of preservatives: A Review. *Materials.* 2021;14(24):7630.

Mohammadzadeh Kakhki R. A review to recent developments in modification of carbon fiber electrodes. *Arab J Chem.* 2019;(12):1783–94.

Mohammed A., Abdullah A. Scanning electron microscopy (SEM): A review. In proceedings of the 2018 international conference on hydraulics and pneumatics—Hervex, Băile Govora, Romania, 2018;1-9.

Muniyalakshmi, M., Sethuraman, K., Silambarasan, D. Synthesis and characterization of graphene oxide nanosheets. *Mater Today: Procee.* 2020;(21):408-10.

Narayanan J., Sharma M. K., Ponmariappan S., Shaik M., Upadhyay S., Electrochemical immunosensor for botulinum neurotoxin type-E using covalently ordered graphene nanosheets modified electrodes and gold nanoparticles-enzyme conjugate. *Biosen Bioelectro.* 2015;(69):249-56.

Nocco S., Andriano T. M., Bose A., Chilov M., Godwin K., Dranitsaris G., Markova A., Ibrutinib-associated dermatologic toxicities: A Systematic Review and Meta-analysis. *Cri Rev Onco/Hemato.* 2022;(174):103696.

Nygren, P. What is cancer chemotherapy?. *Acta Onco.* 2001;40(2-3):166-74.

Obata H., Van den Berg C. M., Determination of picomolar levels of iron in seawater using catalytic cathodic stripping voltammetry. *Anal Chem.* 2001;73(11):2522-28.

Osteryoung J., O'Dea J. J., Square-wave voltammetry. *Electroanal Chem.* 1986;(14):209-308.

Parvez K., Li R., Puniredd S. R., Hernandez Y., Hinkel F., Wang S., Mullen K., Electrochemically exfoliated graphene as solution-processable, highly conductive electrodes for organic electronics. *ACS nano.* 2013;7(4):3598-606.

Patrik G.L., An introduction to medicinal chemistry. 5. Edition. Oxford; 2013; 514-78.

Pei, Y., Song, H., Liu, Y., Cheng, Y., Li, W., Chen, Y., Lu, S. Boron–nitrogen-doped carbon dots on multi-walled carbon nanotubes for efficient electrocatalysis of oxygen reduction reactions. *J Coll Inter Sci.* 2021;600,865-71.

Petrushenko I. K., [2+ 1] Cycloaddition of dichlorocarbene to finite-size graphene sheets: DFT study. *Monats für Chem.* 2014;145(6):891-96.

Pottier C., Fresnais M., Gilon, M., Jérusalem G., Longuespée R., Sounni, N. E., Tyrosine kinase inhibitors in cancer: breakthrough and challenges of targeted therapy. *Cancers.* 2020;12(3):731.

Rood J. J., Van Hoppe S., Schinkel A. H., Schellens J. H., Beijnen J. H., Sparidans R. W., Liquid chromatography–tandem mass spectrometric assay for the simultaneous

determination of the irreversible BTK inhibitor ibrutinib and its dihydrodiol-metabolite in plasma and its application in mouse pharmacokinetic studies. *J Pharma Biomed Anal.* 2016;(118):123-31.

Shams S. S., Zhang R., Zhu J., Graphene synthesis: a review. *Mater Sci. Poland*, 2015;33(3):566-78.

Skoog DA, Donald MW, Holler FJ. *Analitik Kimya Temelleri*. 1. Baskı. Ankara: Bilim yayıncılık; 1996.

Skoog DA, Holler FJ, Nieman TA. *Principles of Instrumental Analysis*. 1. Baskı. Ankara: Bilim Yayıncılık Ltd.Şti; 1998.

Song, J., Wang X., Chang C. T. Preparation and characterization of graphene oxide. *J Nanomater.* 2014; 276143.

Soni H. R., Gebhardt J., Göring A., Reactivity of substrate-supported graphene: A case study of hydrogenation. *J Phy Chem C.* 2018;122(5):2761-72.

Stobinski, L., Lesiak, B., Malolepszy, A., Mazurkiewicz, M., Mierzwa, B., Zemek, J., Bieloshapka, I. Graphene oxide and reduced graphene oxide studied by the XRD, TEM and electron spectroscopy methods. *J Elect Spectro Rel Pheno.* 2014;(195):145-54.

Sturala J., Luxa J., Pumera M., Sofer Z., Chemistry of graphene derivatives: Synthesis, applications, and perspectives. *Chem—A Euro J.* 2018;24(23):5992-6006.

Su C. Y., Lu A. Y., Xu Y., Chen F. R., Khlobystov A. N., Li L. J., High-quality thin graphene films from fast electrochemical exfoliation. *ACS Nano.* 2011;5(3):2332-39.

Tajik S., Beitollahi H., Nejad F.G., Safaei M., Zhang K., Van Le Q., Varma R.S., Jang H.W., Shokouhimehr M., Developments and applications of nanomaterial-based carbon paste electrodes. *RSC Adv.* 2020;(10):21561–81.

Tsierkezos, N. G., Ritter, U., Thaha, Y. N., Downing, C., Szroeder, P., Scharff, P. Multi-walled carbon nanotubes doped with boron as an electrode material for electrochemical studies on dopamine, uric acid, and ascorbic acid. *Microchim Acta.* 2016;183(1):35-47.

Vasuden D.M., Speekurami S, Kannan Vaidyanathan, *Text book of biochemistry for medical student*, 6. Edition; 2011.

Veeraraghavan S., Viswanadha S., Thappali S., Govindarajulu B., Vakkalanka S., Rangasamy M., Simultaneous quantification of lenalidomide, ibrutinib and its active metabolite PCI-45227 in rat plasma by LC–MS/MS: Application to a pharmacokinetic study. *J Pharm Biomed Anal.* 2015;(107):151-58.

Velculescu V. E., El-Deiry W. S., Biological and clinical importance of the p53 tumor suppressor gene. *Clin Chem.* 1996;42(6):858-68.

Venton B. J., Cao Q., Fundamentals of fast-scan cyclic voltammetry for dopamine detection. *Analyst.* 2020;145(4):1158-68.

Vlassioulk I., Regmi M., Fulvio P., Dai S., Datskos P., Eres G., Smirnov S., Role of hydrogen in chemical vapor deposition growth of large single-crystal graphene. *ACS Nano*. 2011;5(7):6069-76.

Wan X., Huang Y., Chen Y., Focusing on energy and optoelectronic applications: A journey for graphene and graphene oxide at large scale. *Acc Chem Res*. 2012;45(4):598–607.

Wang F., Chen Y. T., Yang J. M., Akutsu T., A novel graph convolutional neural network for predicting interaction sites on protein kinase inhibitors in phosphorylation. *Sci Reports*. 2022;12(1):1-11.

Wang Y., Zheng Y., Xu X., Dubuisson E., Bao Q., Lu J., Loh K.P., Electrochemical delamination of CVD-Grown graphene film: Toward the recyclable use of copper catalyst. *ACS Nano*. 2011;5(12):9927–9933.

Wang Z., Yu J., Gui R., Jin H., Xia Y., Carbon nanomaterials-based electrochemical aptasensors. *Biosens Bioelectron*. 2016;(79):136–49.

Wu J., Liu C., Tsui S. T., Liu D., Second-generation inhibitors of Bruton tyrosine kinase. *J Hemato Oncolo*. 2016;9(1):1-7.

Yang N., Swain G.M., Jiang X., Nanocarbon electrochemistry and electroanalysis: Current status and future perspectives, *Electroanalysis*. 2016;(28):27–34.

Yang W., Chen G., Shi Z., Liu C. C., Zhang L., Xie G., Zhang G., Epitaxial growth of single-domain graphene on hexagonal boron nitride. *Nat Mater*. 2013;12(9):792-97.

Yang, A., Li, J., Zhang, C., Zhang, W., Ma, N. One-step amine modification of graphene oxide to get a green trifunctional metal-free catalyst. *App Surf Sci*. 2015;(346):443-50.

Yasu T., Momo K., Yasui H., Kuroda, S., Simple determination of plasma ibrutinib concentration using high-performance liquid chromatography. *Biomed Chrom*. 2019;33(3):e4435.

Yi M., Shen Z., A review on mechanical exfoliation for the scalable production of graphene. *J Mater Chem. A*, 2015;3(22):11700-15.

Yigit, A., Pinar, P. T., Akinay, Y., Alma, M. H., Menges, N. Nanotube-Boramic Acid Derivative for Dopamine Sensing. *ChemistrySelect*. 2021;6(24):6302-13.

Yoshimori A., Miljković F., Bajorath J., Approach for the Design of Covalent Protein Kinase Inhibitors via Focused Deep Generative Modeling. *Molecules*. 2022;27(2):570.

Zhang L., Zhu C., Liu W., Qiu X., Determination of Ibrutinib in Rat's Plasma by HPLC and Study of Its Pharmacokinetics. *Chin Pharm*. 2018;(12):1776-78.

Zhao L, Li H, Gao S, Li M, Xu S, Li C, Guo W, Qu C, Yang B., MgO nanobelt-modified graphene-tantalum wire electrode for the simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid. *Electrochim Acta*. 2015;(168):191 –98.



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



G19 –TEZ ORJİNALLİK RAPORU

Tez Başlığı / Konusu	Uygun Organik Fonksiyonel Gruplarla Nanomalzemelerin Sentezlenmesi ve Bu Nanomalzeme ile Modifiye Edilen Camımsı Karbon Elektrot ile İbrutinib İlaç Etkin Maddesinin Voltametrik Tayini			
İntihal taraması yapılan bölümler ve sayfa sayıları				
Kapak sayfası	Giriş	Ana bölümler	Sonuç bölümleri	Toplam sayfa sayısı
2	2	68	1	73
İntihal taraması yapılan program		Taramanın yapıldığı tarih	Benzerlik oranı %	
Turnitin		12 /12 / 2022	%11	
*Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:				
- Kabul ve onay sayfası hariç, - Gereç ve yöntemler hariç, - Teşekkür hariç, - Kaynakça hariç, - İçindekiler hariç, - Alıntılar hariç, - Simge ve kısaltmalar hariç, - Tezden çıkan yayınlar hariç, - 7 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words)				
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihali içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabulettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim. Gereğini bilgilerinize arz ederim. Karina AMUDİ İmza				

Öğrencinin Adı Soyadı	Karina AMUDİ
Anabilim Dalı	Eczacılık Temel Bilimleri/Analitik Kimya ABD
Öğrenci No	99514473912
Programı	☒ Yüksek Lisans ☐ Doktora

DANIŞMAN ONAYI UYGUNDUR Doç. Dr. Pinar TALAY PINAR (Unvan, Ad Soyad, İmza)	ENSTİTÜ ONAYI UYGUNDUR Doç. Dr. Hamit Hakan ALP (Unvan, Ad Soyad, İmza)
---	--