

T.C.
NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ANTİPSİKOTİK İLAÇ KLOZAPİNE DUYARLI YENİ BİR
ELEKTROKİMYASAL SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ**

Tezi Hazırlayan
Rumeysa SAYLAKÇI

Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Hilal İNCEBAY

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Ocak 2022
NEVŞEHİR

T.C.
NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ANTİPSİKOTİK İLAÇ KLOZAPİNE DUYARLI YENİ BİR
ELEKTROKİMYASAL SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ**

Tezi Hazırlayan
Rumeysa SAYLAKÇI

Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Hilal İNCEBAY

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Ocak 2022
NEVŞEHİR



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca desteklerini ve bilimsel katkılarını hiçbir zaman esirgemeyen, akademik tecrübe ve bilgilerinden her zaman faydalandığım, anlayışı ve sağduyusuyla yoluma ışık tutan değerli hocam, tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Hilal İncebay'a hayatıma kattıklarından dolayı sonsuz teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimimin deneysel çalışmaları boyunca başta laboratuvar imkanları olmak üzere diğer bütün imkanlarından faydalandığım Kimya bölümüne ve kıymetli hocalarıma teşekkür ederim.

Bu tezin ortaya çıkmasını ABAP20F19 nolu proje ile destekleyen Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri koordinasyon birimine teşekkür ederim.

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda eğitimim sırasında sunmuş oldukları bilimsel katkı ve destekleri için bütün anabilim dalı hocalarıma teşekkür ederim.

Bu süreçte tüm sabrı ve anlayışıyla yanımda olan aileme ve arkadaşlarıma minnet ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Rumeysa SAYLAKÇI

ANTİPSİKOTİK İLAÇ KLOZAPİNE DUYARLI YENİ BİR ELEKTROKİMYASAL SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

RUMEYSA SAYLAKÇI

NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2022

ÖZET

Bu tez çalışmasında tannik asit (TA), fonksiyonlandırılmış çok duvarlı karbon nanotüpler (MWCNTs) ile dekore edilerek nano yapıları bir kompozit elde edilmiştir. Bu nanoyapılı kompozit (TA/MWCNTs) camısı karbon elektrot (GCE) yüzeyine immobilize edilerek yeni bir elektrokimyasal platform oluşturulmuştur. Elde edilen platform (TA/MWCNTs/GCE) taramalı elektron mikroskobu (SEM), enerji dağılımlı X ışını analizi (EDX) ve dönüşümlü voltametri (CV) teknikleri ile karakterize edilmiştir. Önerilen bu voltametrik platformun aktif yüzey alanı hesaplanmış, yalın GCE ve TA/MWCNTs/GCE'un aktif yüzey alanları sırasıyla 0.124 cm² ve 0.340 cm² olarak bulunmuştur. TA/MWCNTs/GCE yüzey için, pH 8,0 optimum olarak belirlenmiştir ve pH 8,0'de 0,42 V ve 0,36 V'ta Clp için iyi tanımlanmış voltametrik pik akımları gözlenmiştir. Optimum koşullar altında, 0.55 nM'lik LOD ve 1.67 nM'lik bir LOQ değeri ile Clp'in kare dalga voltamogramlarının pik akımları, 0.05 µM ~ 0.375 µM aralığında doğrusal bir artış göstermiştir. Geliştirilen elektrokimyasal platform (TA/MWCNTs/GCE) uzun süreli kararlılık, yüksek hassasiyet, gelişmiş voltametrik davranış ve iyi bir tekrarlanabilirlik sergilemiştir. Önerilen platform, farmasötik, serum ve idrar numunelerinde Clp'in miktar tayini için başarıyla uygulanmıştır.

Anahtar kelimeler: Klozapin, biyolojik örnekler, elektrokimyasal sensörler, elektrot modifikasyonu, tannik asit

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Hilal İNCEBAY

Sayfa Adeti: 111

DEVELOPMENT OF A NEW ELECTROCHEMICAL SENSOR SENSITIVE TO THE ANTIPSYCHOTIC DRUG CLOZAPINE

(MSc. Thesis)

RUMEYSA SAYLAKÇI

NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ UNIVERSITY

INSTITUTE OF SCIENCE

January 2022

ABSTRACT

In this thesis, a nano-structured composite was obtained by decorating tannic acid (TA) with functional multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs). A new electrochemical platform was created by immobilizing this nanostructured composite (TA/MWCNTs) on the glassy carbon electrode (GCE) surface. The resulting platform (TA/MWCNTs/GCE) was characterized by scanning electron microscopy (SEM), energy dispersive X-ray analysis (EDX) and cyclic voltammetry (CV) techniques. The active surface area of this proposed voltammetric platform was calculated and the active surface areas of bare GCE and TA/MWCNTs/GCE were found to be 0.124 cm² and 0.340 cm², respectively. For TA/MWCNTs/GCE surface, pH 8.0 was determined as optimum, and well-defined voltammetric peak currents were observed for 0.42 V at pH 8.0 and Clp at 0.36 V. Under optimum conditions, the peak currents of the square wave voltammograms of Clp with a LOD of 0.55 nM and a LOQ of 1.67 nM showed a linear increase in the range of 0.05 µM ~ 0.375 µM. The developed electrochemical platform (TA/MWCNTs/GCE) exhibited long-term stability, high sensitivity, improved voltammetric behavior and good reproducibility. The proposed platform has been successfully applied for the quantitation of Clp in pharmaceutical, serum and urine samples.

Keywords: *Clozapine, biological samples, electrochemical sensors, electrode modification, tannic acid*

Thesis Supervisor: Dr. Öğr. Üyesi Hilal İNCEBAY

Page Number : 111

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	iii
TEZ BİLDİRİM SAYFASI	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	xv
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2	4
GENEL BİLGİ.....	4
2.1. Antipsikotik İlaçlar	5
2.1.1. Tipik Antipsikotikler	5
2.1.2. Atipik Antipsikotikler	6
2.2. Psikiyatrik Bozuklukların Tedavisinde Kullanılan İlaçlar	6
2.3. Klozapin	6
2.4. Voltametri.....	8
2.4.1. Dönüşümlü Voltametri (CV)	9
2.4.2. Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV)	11
2.4.3. Kare Dalga Voltametrisi (SWV).....	12
2.4.4. Sıyırma Voltametrisi.....	13
2.5. Modifikasyon.....	13
2.6. Modifiye Elektrotlar	15
2.7. Elektrokimyasal Sensörler.....	15
2.8. Karbon Nanoyapılar	16
2.9. Tannik Asit	18
BÖLÜM 3	19
LİTERATÜR ÖZETİ.....	19
BÖLÜM 4	29
MATERYAL METOT.....	29
4.1. Materyal.....	29
4.2. Metot	31
4.2.1. Destek Elektrolitlerin ve Standartların Hazırlanması.....	31

4.2.2. Modifiye Edicilerin Süspansiyonlarının Hazırlanması.....	32
4.3.3. Gerçek numunelerin hazırlanması	32
4.3.4. Çalışma Elektrodunun Temizlenmesi.....	32
4.3.5. Elektrot yüzeylerinin Modifikasyonu	35
4.3.6. Yalın ve Modifiye GCE Yüzeylerin Karakterize Edilmesi	36
4.3.7. TA/MWCNT Nanokompozitinin Optimizasyonu	37
4.3.8. TA/MWCNT/GCE Elektrokimyasal Sensörüne Yönelik Elektrokimyasal Uygulamalar.....	37
4.3.9. TA/MWCNTs/GCE Elektrokimyasal Sensörünün Yeniden üretilebilirliği, Kararlılığı ve Tekrarlanabilirliği	38
4.3.10. TA/MWCNTs/GCE Elektrokimyasal Sensörü ile Gerçek Numunelerde Hedef Analit Clp'in Tayini.....	38
BÖLÜM 5	40
SONUÇ TARTIŞMA.....	40
5.1. MWCNTs/GCE ve TA/MWCNTs GCE Yüzeylerin Taramalı Elektron Mikroskobu ile İncelenmesi	40
5.2. Yalın GCE, TA/GCE, MWCNTs/GCE ve TA/MWCNTs/GCE Yüzeylerin CV ile Karakterizasyonu.....	42
5.3. Yalın GCE, MWCNTs/GCE, TA/GCE ve TA/MWCNTs/GCE Yüzeylerde pH Çalışması	47
5.4. Yalın GCE, TA/GCE, MWCNTs/GCE ve TA/MWCNTs/GCE Yüzeylerde Tarama Hızı Çalışması	52
5.5. Yalın GCE ve TA/MWCNTs/GCE Yüzeyin Elektrokimyasal Performansının İncelenmesi.....	58
5.6. Clp'in Yalın GCE ve Modifiye GCE Yüzeylerdeki Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi.....	59
5.7. pH'in Clp'in Pik Akımı ve Pik Potansiyeline Etkisinin İncelenmesi.....	62
5.8. Tarama Hızının Clp'in Pik akımı ve Pik Potansiyeline Etkisinin İncelenmesi	64
5.9. TA/MWCNTs/GCE Yüzeyinde Clp'in Kantitatif Tayini ve Kalibrasyon Eşitliği	66
5.10. TA/MWCNTs/GCE Elektrokimyasal Sensörün Yeniden Üretilebilirliği, Kararlılığı ve Tekrarlanabilirliği	69
5.10.1 Yeniden Üretilebilirlik ve Tekrarlanabilirlik.....	69
5.11. Kararlılık	69
5.12. Girişim Etkisinin İncelenmesi	70
5.13. Geliştirilen Elektrokimyasal Sensör ile Clp'in Gerçek Numunelerde Saptanması	73
BÖLÜM 6.....	76

SONUÇ ve ÖNERİLER	75
KAYNAKLAR.....	77
ÖZGEÇMİŞ.....	94



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2. 1. Doğrusal taramalı ve dönüşümlü voltametricde potansiyel taramasının zamanla değişimi.....	9
Şekil 2. 2. Diferansiyel puls voltametricinde puls tipi uyarma sinyalinin dalga şekli	10
Şekil 2. 3. Kare dalga voltametricde puls tipi uyarma sinyalinin dalga şekli.....	11
Şekil 2. 4. Sıyırma voltametricinde potansiyel-zaman göstergesi	12
Şekil 2. 5. (a) Tek katmanlı nanotüpler, (b) Çok Katmanlı Nanotüpler.....	16
Şekil 2. 6. Tannik asidin molekül formülü	17
Şekil 4. 1. Yalın GCE yüzeyin 1,0 mM ferrosen çözeltisinde -0,2/+0,4 V potansiyel aralığında Ag/AgNO ₃ referans elektroda karşı 100 mV/s tarama hızında CV tekniği ile alınan voltamogramı.....	32
Şekil 4. 2. Yalın GCE yüzeyin 1,0 mM HCF(III) çözeltisinde +0,6/0,0 V potansiyel aralığında Ag/AgCl/KCl(doy) referans elektroda karşı 100 mV/s tarama hızında CV tekniği ile alınan voltamogramı	32
Şekil 4. 3. Yalın GCE, MWCNTs/GCE, TA/MWCNTs/GCE yüzeylerin hazırlanması	36
Şekil 5.1. (a) MWCNTs/GCE, (b) TA/MWCNTs/GCE yüzeylere ait SEM görüntüleri, c) TA/MWCNTs/GCE yüzeylere ait SEM-EDX görüntüleri.....	38
Şekil 5.2. 1,0 mM HCF(III) çözeltisinde 0,0/0,6 V potansiyel aralığında 100 mV/s tarama hızında Ag/AgCl/KCl(doy) referans elektroduna karşı yalın/GCE, TA/GCE, MWCNTs/GCE, TA/MWCNT/GCE yüzey voltamogramları.....	40
Şekil 5. 3. 1,0 mM Ferrosen çözeltisinde -0,2/0,4 V potansiyel aralığında 100 mV/s tarama hızında Ag/AgNO ₃ referans elektroduna karşı yalın/GCE, TA/GCE, MWCNTs/GCE, TA/MWCNTs/GCE yüzey voltamogramları	41
Şekil 5. 4. 5,0 mM HCF(III)-HCF(II) çözeltisinde -0,3/0,8 V potansiyel aralığında 100 mV/s tarama hızında Ag/AgCl/KCl(doy) referans elektroduna karşı yalın/GCE, TA/GCE, MWCNTs/GCE, TA/MWCNTs/GCE yüzey voltamogramları	42
Şekil 5. 5. 1,0 mM rutenyum hegzamin (III) çözeltisinde -0,5/0,2 V potansiyel aralığında 50 mV/s tarama hızında Ag/AgCl/KCl(doy) referans elektroduna karşı yalın/GCE, TA/GCE, MWCNTs/GCE, TA/MWCNTs/GCE yüzey voltamogramları.....	44
Şekil 5. 6. Yalın GCE yüzeyin pH 2,0-11,0 değerlerinde +0,6-0,0 V potansiyel aralığında 100 mV/s tarama hızında Ag/AgCl/KCl(doy) referans elektroduna karşı 1,0 mM HCF(III) probuna ait CV voltamogramları	45

Şekil 5. 7. MWCNTs/GCE yüzeyin pH 2,0-11,0 değerlerinde +0,6-0,0 V potansiyel aralığında 100m V/s tarama hızında Ag/AgCl/KCl(doy) referans elektroduna karşı 1,0 mM HCF(III) probuna ait CV voltamogramları	46
Şekil 5. 8. TA/GCE yüzeyin pH 2,0-11,0 değerlerinde +0,6-0,0 V potansiyel aralığında 100m V/s tarama hızında Ag/AgCl/KCl(doy) referans elektroduna karşı 1,0 mM HCF(III) probuna ait CV voltamogramları	47
Şekil 5. 9. TA/MWCNTs/GCE yüzeyin pH 2,0-11,0 değerlerinde +0,6-0,0 V potansiyel aralığında 100m V/s tarama hızında Ag/AgCl/KCl(doy) referans elektroduna karşı 1,0 mM HCF(III) probuna ait CV voltamogramları	48
Şekil 5. 10.(a) Yalın GCE yüzeyin 1,0 mM ferrosen çözeltisinde 25; 50; 100; 200; 300; 400; 500; 600; 700 mV/s tarama hızlarında Ag/AgNO ₃ referans elektroduna karşı CV tekniği kullanılarak alınan voltamogramları, (b) Tarama hızının kareköküne karşılık gelen pik akımları grafiği.....	50
Şekil 5. 11.(a) MWCNTs/GCE yüzeyin 1,0 mM ferrosen çözeltisinde 25; 50; 100; 200; 300; 400; 500; 600; 700 mV/s tarama hızlarında Ag/AgNO ₃ referans elektroduna karşı CV tekniği kullanılarak alınan voltamogramları, (b) Tarama hızının kareköküne karşılık gelen pik akımları grafiği.....	51
Şekil 5. 12.(a) TA/GCE yüzeyin 1,0 mM ferrosen çözeltisinde 25; 50; 100; 200; 300; 400; 500; 600; 700 mV/s tarama hızlarında Ag/AgNO ₃ referans elektroduna karşı CV tekniği kullanılarak alınan voltamogramları (b) Tarama hızının kareköküne karşılık gelen pik akımları grafiği,.....	52
Şekil 5. 13.(a) TA/MWCNTs/GCE yüzeyin 1,0 mM ferrosen çözeltisinde 25; 50; 100; 200; 300; 400; 500; 600; 700 mV/s tarama hızlarında Ag/AgNO ₃ referans elektroduna karşı CV tekniği kullanılarak alınan voltamogramları, (b) Tarama hızının kareköküne karşılık gelen pik akımları grafiği	53
Şekil 5. 14. 0,1 M KCl'de hazırlanmış 1,0 mM HCF(III) probunun 25; 50; 100; 200; 300; 400; 500; 600; 700 tarama hızlarında CV tekniği ile alınan voltamogramları yalın GCE;(A), TA/MWCNTs/GCE; (B) , C) A voltamogramlarına ait anodik pik akımı değerlerinin tarama hızlarının kareköküne karşı grafiği, D) B voltamogramlarına ait anodik pik akımı değerlerinin tarama hızlarının kareköküne karşı grafiği	55
Şekil 5. 15. (a) TA/MWCNTs/GCE'un Cl ⁻ yokluğunda pH 8,0 0,1 M PBS 100 mV/s tarama hızında CV tekniği ile alınan voltamogramı, (b) Yalın GCE, MWCNTs/GCE,	

TA/GCE, TA/MWCNTs/GCE'un 100,0 μ M Clp varlığında pH 8,0 0,1 M PBS 50 mV/s tarama hızında CV tekniği ile alınan voltamogramları	56
Şekil 5.16. Clp'in pH 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0 0,1 M PBS çözeltisinde TA/MWCNTs/GCE yüzeyde alınan dönüşümlü voltamogramları.....	58
Şekil 5. 17. TA/MWCNTs/GCE ile 0,1 M PBS çözeltisinin pH'ına karşı Clp'in yükseltgenme pik potansiyellerinin grafiği.....	59
Şekil 5. 18. TA/MWCNTs/GCE yüzeyinde Clp'in reaksiyon mekanizması	59
Şekil 5. 19. (a) 0,1 M pH 8,0 PBS'de TA/MWCNTs/GCE kullanılarak 25 – 250 mV/s tarama hızında CV ile alınan voltamogramlar, (b) Tarama hızı, (c) tarama hızı karekökü ile Clp'in pik akımı değişimini gösteren grafikler, (d) tarama hızlarının logaritmasına karşı, pik akımları logaritması grafiği.....	61
Şekil 5. 20. (a) 0,1 M pH 8,0 PBS TA/MWCNTs/GCE elektrodu kullanılarak Clp'in 0,0 nM; 50 nM; 75 nM; 100 nM; 25 nM, 150 nM; 175 nM 200 nM; 225 nM; 250 nM; 275 nM; 300 nM; 325 nM 350 nM; 375 nM artan konsantrasyonlarına ilişkin alınan kare dalga voltamogramları, (b) Clp'in artan konsantrasyonlarına karşı pik akımları grafiği	63
Şekil 5. 21. 0 saat, 1, 2, 3, 4, 5 gün, 1 hafta, 2 hafta, 3 hafta ve 4 hafta süre pH 8,0 olan PBS ortamında bekletilen TA/MWCNTs/GCE yüzeylerin, CV tekniği ile alınan yüzey voltamogramları	66
Şekil 5. 22. (a) pH 8,0 0,1 M PBS ortamında TA/MWCNTs/GCE yüzeyde bazı girişimci metabolit türleri varlığında Clp'in voltammetrik yanıtına ilişkin voltamogramlar, (b) pH 8,0 0,1 M PBS ortamında girişimci türlerin varlığında ve yokluğunda 50,0 μ M Clp'in voltammetrik yanıtına ilişkin voltamogramlar.....	67

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2. 1. Klinikte kullanılan belli başlı tipik ve atipik antipsikotik ilaçlar.....	5
Tablo 4. 1. Kullanılan kimyasalların listesi.....	27
Tablo 4. 2. Yalın GCE yüzeyin 1,0 mM HCF(III) çözeltisinde +0,6/0,0 V potansiyel aralığında 100 mV/s tarama hızında CV tekniği ile alınan voltamogram verileri.....	31
Tablo 4. 3. Yalın GCE yüzeyin 1,0 mM ferrosen çözeltisinde -0,2/+0,4 V potansiyel aralığında 100 mV/s tarama hızında CV tekniği ile alınan voltamogram verileri.....	31
Tablo 5. 1. Clp tespiti için önerilen sensörün analitik performansının literatürden çeşitli çalışma elektrotları ile karşılaştırılması	64
Tablo 5.2. Tablet, kan serumu ve ürün örneklerinde Clp tayini için TA/MWCNTs/GCE elektrodu ile SWV tekniği kullanılarak alınan voltamogramlarından hesaplanan derişim, % geri kazanım ve % RSD sonuçları	69

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

CNTs	Karbon nanotüpler
TA	Tannik asit
CV	Dönüşümlü voltametri
DPV	Diferansiyel Puls Voltametrisi
SWV	Kare dalga voltametrisi
MWCNT	Çok duvarlı karbon nanotüp
SWCNT	Tek duvarlı karbon nanotüp
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
GCE	Camsı karbon elektrot
TDM	Teröpatik ilaç takibi
TBA-TBF	Tetrabutylamonyum- Tetrafloroborat
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
HCF(II)	Ferrosiyaniür
HCF(III)	Ferrisiyaniür
CPE	Karbon pasta elektrot

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Atipik antipsikotik bir ilaç olan klozapin (clp) (8-kloro-11-(4-metil-1-piperazinil)-5H-dibenzo[b,e][1,4]diazepin) başta şizofreni olmak üzere şizoaffektif bozukluğun akut alevlenmesinde ve sürdürüm sağaltımında, bipolar bozukluğun manik atağında, akut sürdürüm sağaltımında ve demansta görülen psikotik belirtilerde, travma sonrası stres bozukluğunda etkili bir ilaçtır [1]. Clp kararlı durum plazma konsantrasyonuna 7-10 gün sonra ulaşır [2]. Antipsikotik etkinin görülmesi haftalar sürebilir, maksimum etkinin görülmesi için de aylar gerekebilir [3]. Antipsikotik ilaç kullanımı şizofreni hastalarının tedavisinde önemli avantaj sağlamakta, ilaçların yan etki insidansını azaltmakta, hastaneye yatış sürelerini kısaltmakta ve hastalığın seyrini olumlu olarak etkilemektedir [4]. Bununla birlikte antipsikotik ilaç kullanımında etken madde olarak görev yapmakta olan biyoaktiflerin etkileşim yönünden çeşitli riskler taşıdığı, şizofreni hastalarındaki morbidite ve mortalite oranı ile sağlık harcamalarını arttırdığı hem hasta açısından hem ülke ekonomisi açısından ağır yükler getirdiği, ilaca uyumu azalttığı, farmakolojik endikasyonları bakımından hastaya veya çevreye doğrudan zararlar verebildiği yönünde araştırma bulguları da mevcuttur [5, 6]. Bahsedilen bu endikasyonların, tedavi aşamasına geçilmeden önce hatta antipsikotik ilaç üretim ve klinik laboratuvar çalışmaları esnasında güvenli ve yüksek hassasiyete sahip saptama yöntemleri ile belirlenebilmesi hem hasta hem de kullanılacak olan ilaçların güvenilirliği ve etiği açısından oldukça önemlidir. Antipsikotik ilaçların tayinlerine yönelik çalışmalara olan ilginin son yıllarda artmasıyla bu noktada analitik yöntemlerin geliştirilmesine olan ilgi de artmıştır. Elektrokimyasal sensörler, hedef analitlere karşı benzersiz bağlayıcı özelliklere sahip analitik sistemleridir [7, 8]. Bu sistemler klinik eczacılık AR-GE'sinde, farmasötik ilaç endüstrisinde, ilaç teslimi, tıbbi teşhis ve sağlık, analitik kimya, gıda analiz testleri, çevresel izleme ve askeri uygulamalarda çok yaygın olarak kullanılabilirler [9, 10]. Elektrokimyasal sensörler yüksek hassasiyet, düşük maliyet, hızlı ve gerçek zamanlı örnekleme kapasitesi ve düşük saptama limiti açısından birçok avantaja sahiptirler [7]. Son yıllarda bilim insanları sınırlı sayıda olan elektrot malzemelerine yeni özellikler kazandırmak amacıyla yüzey modifikasyon çalışmalarını hızlandırmışlardır. Elektrokimyasal sensörlerde tanı molekülleri için immobilizasyon desteği olarak, altın nanoparçacıklar, metal oksit nanoparçacıklar, karbon nanotüpler(CNTs) ve kuantum noktalar vb. gibi nanomalzemeler

kullanılmaktadır [11]. Diğer nanomateryallere kıyasla CNTs, hızlı elektron transfer kabiliyetleri, küçük boyutları, silindirik şekilleri, geniş yüzey/hacim oranı, yüksek iletkenlik ve biyouyumlulukları, algılama sırasında sinyal hassasiyetini artırmaya yardımcı olmaları, yüksek kimyasal kararlılık, sinyal amplifikasyonu için yüksek yüzey alanı gibi birçok üstün özellikleri nedeniyle elektrokimyasal sensörlerde elektrokimyasal transdüksiyon için en önemli malzemelerden biri olarak kabul edilmiştir [12-15]. Eşsiz yapılarından kaynaklanan farklı elektronik özelliklere sahip olmaları nedeniyle [16] ve hedefin tanınması üzerine üretilen elektrik sinyallerinin iletimi için son derece avantajlıdırlar [17]. Bu avantajlarının yanı sıra CNTs sahip oldukları mekanik, termal ve elektronik özellikleri sayesinde kimyasal türlerle güçlü etkileşimler içinde de bulunabilirler [18].

Tannik asit (TA) bitkilerde doğal olarak bulunan polimerlerdir. Merkezde karbonhidrat (genellikle D-glukoz) ve fenolik gruplarla esterleşmiş hidroksil grupları içerirler. Suda çözünebilen polifenol bileşiği olan TA, yıllardır birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır [19, 20]. Lenfositlerle yapılan bir çalışmada H_2O_2 ile indüklenmiş oksidatif DNA stresinde TA'in DNA hasarını azalttığı gözlenmiştir [21]. TA'in demir iyonlarına bağlanarak (şelasyon) hidroksil radikali oluşumunu önlemek yoluya oksidatif hasarı engellediği ileri sürülmüştür [22]. Çevre, ilaç, gıda ve su analizi gibi çok geniş bir çalışma aralığının olmasından dolayı da TA'in analiz sistemlerine entegrasyonu oldukça önem kazanmaktadır. TA gıda katkı maddesi, tatlandırıcı olarak kullanılmasının [23] yanı sıra antimikrobiyal, antikarsinojenik, antitümör potansiyellerinden dolayı tıp, klinik eczacılık, farmasötik teknoloji alanlarında immobilize bir biyopolimer maddesi olarak kullanılmaktadır [24, 25]. Bununla birlikte TA antioksidan özelliğinden dolayı hücreleri oksidasyona karşı koruma gösterir [26, 27]. Ayrıca TA antioksidan etkisinin in vitro insan lenfositlerinde H_2O_2 aracılı DNA hasarlarında Fe, Cu gibi metalleri ve serbest radikalleri ortamdaki uzaklaştırarak gösterdiği de rapor edilmiştir [21]. Tüm bu avantajlarının yanı sıra TA, hidrolizle parçalanmaya dayanıklı karbon-karbon bağlı flavonoid ünitelerin (ör:flavan-3-ol) oligomer polimerleridir [28, 29]. Bu özelliği sayesinde hem enzimatik hem de kimyasal reaksiyonlar boyunca metalik yapıdaki nanopartiküller ile uyumlu bir şekilde çalışabilmektedir. TA, sensör ara yüzü için uyumlu bir polimer olması sebebiyle karbon temelli nano yapılar veya nanopartiküller ile entegre edildiğinde doğru enzimatik reaksiyonları tetikleyerek modifiye edilmiş elektrodun algılama kabiliyetini önemli

ölçüde arttırabilmektedir. Böylece elektrokimyasal sensör sistemlerinin geliştirilmesi noktasında hızlı, basit, dayanıklı ve doğru, yüksek hassasiyete sahip ölçümleri sağlayabilme potansiyeli sağlamaktadır [30 - 33].

Bu tez çalışmasında, TA ile fonksiyonlandırılmış çok duvarlı karbon nanotüplerin (MWCNTs) entegrasyonu sonucu bir nanokompozit (TA/MWCNTs) hazırlanmış ve yeni modifiye edici bir tür olarak camı karbon eletrotların yüzeyinin modifikasyonunda (TA/MWCNTs/GCE) kullanılması amaçlanmıştır. MWCNTs'in sahip olduğu geniş yüzey alanı, yüksek elektriksel iletkenliği ve yapısındaki fonksiyonel grupların polifenolik yapıdaki tannik asit ile bileşimi sayesinde elde edilen nanokompozitin, klozapin için bir algılama platformu olarak kullanılması bu nanokompozitin umut verici bir aday olduğu gösterilmiştir. Ayrıca TA/MWCNTs, nanokompozitin klozapin için iyi tanımlanmış voltametrik pik akımı, düşük algılama limiti, hızlı cevap süresi, yüksek hassasiyet gibi performans özelliklerini geliştirerek önerilen elektrokimyasal sensörün gerçek numunelere uygulanmasına olanak sağlanmıştır. Böylece önerilen elektrokimyasal sensörün farmasötik, ve biyolojik örneklerde klozapinin nicellendirilmesi için başarıyla uygulanabileceği gösterilmiştir.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİ

Ruhsal bozukluk akıl hastalığı ya da mental bozukluk, sıkıntı, bilişsel işlevlerin bozulması, atipik davranış ve/veya maladaptif davranış ile tanımlanan akıl sağlığı durumlarından birini ifade eder [34]. Ruhsal bozuklukların nedenleri genellikle belli değildir. Zihinsel bozukluklar bir kişinin nasıl davrandığı, hissettiği, algıladığı veya düşündüğünün bir kombinasyonu ile tanımlanır. Bu genellikle sosyal bağlamda, beynin belirli bölgeleri veya işlevleriyle ilişkilendirilebilir [35]. 2019 yılında dünya genelinde yaygın zihinsel bozukluklar arasında yaklaşık 264 milyonu etkileyen depresyon, yaklaşık 45 milyonu etkileyen bipolar bozukluk, yaklaşık 50 milyonu etkileyen bunama ve yaklaşık 20 milyon insanı etkileyen şizofreni ve diğer psikozlar yer alıyor [36]. Şizofreni insanın kişiler arası ilişkilerden ve gerçeklerden ciddi bir ölçüde uzaklaşarak, kendine özgü bir içe kapanım dünyasında yaşadığı; düşünüş, duyuş ve davranışlarda önemli bozuklukların görüldüğü ağır bir ruhsal bozukluktur [37]. Şizofreni, çok etkenli (multiple-hit) bir hastalık olarak kabul edilmiştir [38]. Genetik yatkınlık en önemli risk etkeni olmakla birlikte, bu yatkınlığın hastalıkla sonuçlanması gebelik, doğum komplikasyonları, gebelik sırasındaki enfeksiyonlar, sosyoekonomik sorunlar gibi çevresel faktörlerin de varlığıyla olmaktadır. Şizofreni sıklıkla sinsi başlayan, kronik bir hastalıktır ve kişinin gerek özel hayatında gerekse toplumsal, mesleki ve akademik alanlardaki işlevselliğinde belirgin bozulmalara neden olur [39]. Bu nedenlerden dolayı da bu bozukluğun topluma maliyeti oldukça yüksektir. Şizofreni her toplumda ve her türlü sosyo-ekonomik ortamda görülmektedir. Sosyo-ekonomik yönden düşüklük ya da düzensizlik gösteren kesimlerde daha sık görüldüğüne ilişkin bulgular olduğu bildirilmiştir [40]. Kadınlarda ve erkeklerde şizofreni görülme sıklığı açısından belirgin bir fark saptanmadığı bildirilmiştir [41]. Şizofreni hastalarının yaşam süresinin genel toplumdan %20 oranında daha kısa olduğu bilinmektedir. Şizofreni kronik bir hastalık olmasına rağmen, erken dönemde tanı konulduğunda ve tedaviye başlanıldığında, hastaların belirtilerinde belirgin düzelme sağlanabilir ve hastanın işlevselliği artabilir. Ayrıca iyileşme oranlarının %10 – %60 arasında olduğu ve tüm hastaların %20 ile %30'unun bir biçimde normal bir yaşam sürdürebildiğinin tahmin edilmekte olduğu rapor edilmiştir [42]. Düzenli ilaç tedavisi ve psikososyal tedavilerle hastalıkla baş etmede büyük gelişmeler gözlenmiştir. Antipsikotik ilaç tedavisi uygulanan akut alevlenme

içinde bulunan şizofreni hastalarının yaklaşık %60'ının ortalama 6 hafta içinde büyük ölçüde düzelmekte olduğu, buna karşılık plaseboya yanıt oranının %20 kadar olduğu klinik çalışmalarla belirlenmiştir [43].

2.1. Antipsikotik İlaçlar

Psikoz, gerçekte yaşanan olguları değerlendirebilme yetisinin bozulduğu ruhsal bozukluklara verilen genel bir terimdir [44]. Başta şizofreni olmak üzere bazı psikozların tedavisi boyunca kullanılan ve ortak özellik olarak merkezi sinir sisteminde dopaminerjik aşırımı bloke eden ilaçlardır. Antipsikotik ilaçlar tipik (ilk kuşak) ve atipik (yeni kuşak) antipsikotikler olmak üzere iki grupta sınıflandırılabilir [45]. Tablo 2.1 'de klinikte kullanılan belli başlı tipik ve atipik antipsikotik ilaçlar verilmiştir.

Tablo 2. 1. Klinikte kullanılan belli başlı tipik ve atipik antipsikotik ilaçlar

Tipik Antipsikotikler	Atipik Antipsikotikler
Klorpromazin	Klozapin
Tiyoridazin	Olanzapin
Mezoridazin	Risperidon
Trifluoperazin	Ketyapin
Flufenazin	Sülpirid
Haloperidol	Amisülpirid
Pimozid	Ziprasidon
Zuklopentiksol	Aripiprazol
Flupentiksol	Sertindol

2.1.1. Tipik Antipsikotikler

Tipik antipsikotiklerin ortak ve temel etki mekanizmaları dopaminerjik D2 reseptörlerine yüksek ilgi ve antagonizma (Bir ilacın etkisinin diğer bir ilaç tarafından azaltılması veya tamamen ortadan kaldırılması) göstermeleridir ve bu ilaçların tedavi edici dozlarıyla D2 reseptörlerine bağlanma ilgileri arasında güçlü bir bağlantı bulunmaktadır [46]. Bu ilaçlar negatif belirtiler yerine daha çok pozitif belirtiler üzerine etkilidirler [47]. Bu ilaçlar her psikotik hastada etkili değildir. Çok sayıda ve ciddi nörolojik yan etkilere yol açarlar ve bunlarla uygulanan tedaviye cevap alınan hastalarda bile çoğu zaman ciddi fonksiyon kayıpları söz konusu olmaya devam ederler. Bu sınırlamalar, geleneksel antipsikotik

ilaçlarla aynı ve onlardan daha fazla etkinliği olan, yan etkileri daha az yeni antipsikotik bileşiklerin araştırılmasına sebep olmuştur.

2.1.2. Atipik Antipsikotikler

Atipik antipsikotikler özünde tipik antipsikotiklere göre ekstrapiramidal sistem (kortikol motor alanlar ile oluşturulan sinir ağları) yan etkilerine ve prolaktin yükselmesine daha az yol açan ve en az onlar kadar antipsikotik etki gösteren ilaçlardır [48, 49]. Atipik antipsikotik ilaçların prototipi Clp'dir. Clp ile klasik antipsikotiklere dirençli olgularda sağlanan başarı, bu yeni ilaç grubuna duyulan ilgiyi arttırmıştır.

2.2. Psikiyatrik Bozuklukların Tedavisinde Kullanılan İlaçlar

Psikiyatrik hastalıklar; duygu, düşünce, davranış gibi alanlarda ortaya çıkan ve kişilerin yaşam kalitesini ve ailevi, mesleki, sosyal işlevselliklerini düşüren sorunlardır. Psikiyatrik bozuklukların başında, şizofreni ve benzeri psikotik bozukluklar, delüzyonel (hezeyanlı, sanrılı) bozukluk, şizoaffektif bozukluk, duygudurum bozuklukları (depresif bozukluk, bipolar (iki uçlu) bozukluk, anksiyete bozuklukları, obsesif kompulsif bozukluk, somatoform bozukluklar (bedensel belirti bozukluğu), hipokondriyazis (hastalık anksiyetesi bozukluğu), disosiyatif (konversif) bozukluklar gibi olgular gelmektedir. Psikiyatride bu tür bozuklukların tedavisinde sıklıkla kullanılan tedavi yöntemleri arasında; ilaç tedavileri, psikosomatik tedaviler, çeşitli psikoterapi yöntemleri sayılabilir. Belirtilen bu tedavi yöntemleri arasında sıkça kullanılan yöntem ilaç tedavileridir. Psikiyatrik vakaların tedavisinde kullanılan bu ilaçlar ise antidepresanlar, anksiyolitik (kaygı giderici) ilaçlar, duygudurum düzenleyicileri ve antipsikotikler olarak sınıflandırılabilir. Antipsikotik ilaçlar hem diğer tedavi yöntemlerini destekleyici olarak hem de tedavi edici özelliklere sahip olmaları sayesinde sıklıkla reçete edilmektedir. Antipsikotik ilaçlar içerisinde sıklıkla başvuluranlar ise başta klozapin olmak üzere, olanzapin, risperidon, ketyapin, ziprasidon, aripiprazol, sertindol olarak sıralanabilir.

2.3. Klozapin

Clp, 1958 yılında İsviçre'de imipramin benzeri olarak sentezlenmiş tetrasiklik bir bileşiktir [50]. Clp, üretilen ilk atipik antipsikotiktir ve üstün etkinliği yaygın olarak kabul edilmektedir [51]. Clp ile yapılan klinik çalışmalarda alınan olumlu sonuçlar sayesinde Avrupa'da 1960'lı yıllarda psikotik hastaların tedavisinde kullanılmasına başlanmıştır.

Clp, şizofreni hastalarında düşük ekstrapiramidal semptom insidansı ve iyi derecede antipsikotik etkinliğe sahip etkili bir ilaçtır [52]. Sahip olduğu eşsiz reseptör etkileşim profili, atipik antipsikotikler arasındaki üstün etkinliğin yanı sıra antipsikotikler grubu içerisinde en fazla yan etki meydana getirebilecek bir ilaç olma sebebini de açıklayabilir [53]. Clp'in hem terapötik aralıkta sağladığı yararları, hem de aşırı dozda kullanım durumlarında oluşan olumsuz etkileri büyük ölçüde reseptör farmakolojisi ile açıklanabilir. Antipsikotik ajanların terapötik etkileri, dopamin D2 reseptörlerinin yarışmalı inhibisyonu ile ilişkili görünmektedir [54]. Clp, tüm şizofreni vakalarında tedaviye dirençli hastalar için altın standart tedavi olarak önerilmektedir [55-59]. Bunun nedeni, hem tedaviye dirençli hastalar için en etkili antipsikotik olarak kabul edilmesidir [60] hem de kullanıldığı vakalarda hastaneye yatış oranlarını önemli ölçüde azaltmasıdır [61]. Bu durum ise diğer atipik antipsikotiklerle kıyaslandığında Clp'e klinik ve farmakolojik kullanımlarda üstünlük sağlamıştır. Clp'in diğer klinik üstünlükleri;

- ✓ Düşük ekstrapiramidal yan etki potansiyeli,
- ✓ Klasik nöroleptiklere eşit klinik etkinlik,
- ✓ Plazmada prolaktinde yükselme olmayışı,
- ✓ Hem pozitif hem de negatif belirtilere etkili oluşu,
- ✓ Tedaviye dirençli şizofreni olgularında etkili oluşu,
- ✓ Hastaların yaşam kalitesini arttırması,
- ✓ İntihar düşüncelerini azaltması şeklinde sıralanabilir.

Mevcut literatürler incelendiğinde, Clp'in psikozlu hastalarda agresyonu azaltmada etkili olduğu [62], şizofrenili hastalarda intihar oranını azalttığı [63], yüksek intihar riski olan şizofreni veya şizoefektif hastalığı olan insanlar arasında intihar davranışını önleme bakımından olanzapinden daha etkili olduğu saptanmıştır [64]. Şizofreni tedavisi gören vakaların yanı sıra parkinson hastalığı olan kişilerde de bu hastalığın ciddi bir geç komplikasyonu olan ilaç tarafından indüklenmiş (drug-induced) psikozun tedavisinde de klozapinin etkili olduğu ve iyi tolere edildiği bilinmektedir [65]. Clp'in yan etkileri arasında uyku hali, kilo artışı, salya akması, kan basıncında düşme, baş dönmesi, yüksek dozlarda epileptik nöbetler sayılabilir [66, 67]. En ciddi yan etkisi ise % 1 – 3 oranında görülebilen agranülositozdur (kanda ve kemik iliğinde akyuvarların iyice azaldığı ya da tümüyle yok olduğu ağır hastalık) [68,66]. Clp tedavisi sırasında yeterli dozda ve sürede kullanılmasına rağmen istenen ölçüde yanıt alınamayan vakalarda [69] ortaya çıkabilen

bu tür yan etkiler nedeniyle Clp'in yeterli etkin doza yükseltilemediği rapor edilmiştir [70]. Lipofilik yapıda olan Clp, oral uygulamanın ardından hızlı bir şekilde tamamen absorbe olur ve bu sayede terapötik aralıkta lineer bir kinetik gösterir. Clp'in yaklaşık %95'i plazma proteinlerine bağlanır [2], ilk geçiş etkisine uğramasının ardından ve yaklaşık %27 – 50'si değişmeden sistemik dolaşıma geçer [2, 3], [71, 72]. Plazma konsantrasyonunun hastadan hastaya değişebildiği, sigara içme, hepatik metabolizma, mideden absorpsiyon, yaş, cinsiyet gibi çeşitli kişisel faktörlerin ilaca cevabı değiştirebildiği bilinmektedir [2]. Clp'in başlıca metabolizasyon yolları demetilasyon, aromatik halkanın 7- ve 8- pozisyonlarından oksidasyon ve konjugasyondur [73]. Ayrıca çeşitli metabolitlerine dönüşebilmektedir, bunlar içerisinde sadece norklozapin (N-dezmetil klozapin) farmakolojik olarak aktiftir [2] ve metabolitinin farmakolojik etkisi klozapine benzer fakat etkisi daha zayıf ve kısa sürelidir.

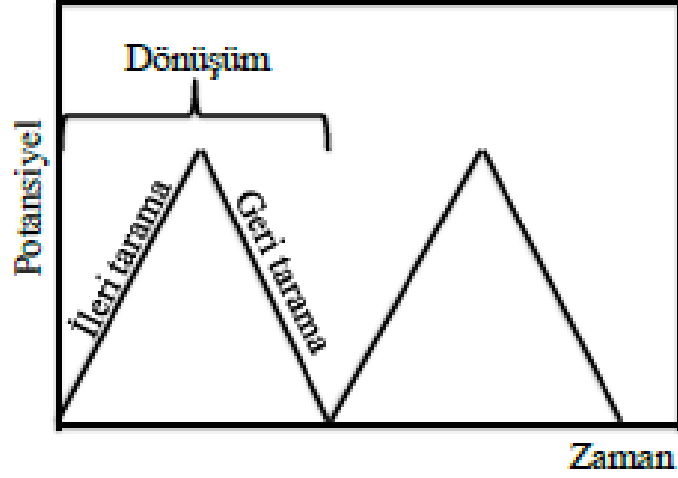
2.4. Voltametri

Voltametri, bir indikatör ya da çalışma elektrodunun polarize olduğu şartlar altında akımın, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak ölçülmesinden faydalanarak, analit hakkında bilgi edinilen bir grup elektroanalitik metottur [74]. Uygulanan gerilimin ölçülen akım değerlerine karşı çizilen grafiğine voltamogram denir. Günümüzde ise; voltametrik ve polarografik yöntemler, eczacılık alanında ve klinik çalışmalarda da yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun nedeni; düşük derişimlerde çalışılabilmesi, numunelerin kolayca hazırlanabilmesi, analiz süresinin kısalığı, bu tekniklerin ürün kalite kontrolünde kullanabilmesi olarak sıralanabilir. Tablet, kapsül, süspansiyon, şurup vb. ilaç formülasyonlarının çözünmeyen kısımlarının veya içlerindeki katkı maddelerinin genelde elektroaktiviteleri bulunmadığı için herhangi bir ayırma işlemine gerek olmadan analizleri yapılabilir. Ayrıca voltametrik yöntemlerin diğer bir avantajı ise ekonomik olmaları ve az miktar numune ile analizin yapılabilmesidir [75]. Voltametrik tekniklerde bir çalışma elektroduna uygulanan potansiyele (E) karşı, elektrokimyasal hücreden geçen akım (i) izlenmektedir. Genellikle uygulanan potansiyel çeşidi ya da izlenen akım, zamanın (t) bir fonksiyonudur. Voltametrik teknikler, potansiyometri gibi pasif tekniklerin aksine, uygulanan potansiyel kuvveti, elektrot yüzeyinde, elektrokimyasal yükseltgeme ya da indirgenme ile elektroaktif türlerin derişiminde bir değişime sebep olduğundan, aktif teknikler olarak kabul edilebilir. Voltametri; çeşitli ortamlarda meydana gelen yükseltgenme ve indirgenme işlemlerinin incelenmesi,

yüzeydeki adsorpsiyon işlemlerinin araştırılması ve elektrot yüzeylerinde gerçekleşen elektron aktarım mekanizmalarının aydınlatılması, moleküler oksijen tayini, farmasötik açıdan önemli türlerin tayini gibi birçok uygulamada kullanılır [76]. Voltametik çalışmalarda yüzey alanı birkaç mm²'den daha küçük olan (mikroelektrotlar) çalışma elektrotları kullanılır ve hatta yüzey alanı birkaç mikrometrekare veya daha küçük olan elektrotlar da kullanılmaktadır. Anot, yükseltgenme reaksiyonlarının gerçekleştiği, katot ise indirgenme reaksiyonlarının gerçekleştiği elektrottur. Katot materyali olarak Hg, C, Ag, Pt, Au ve pek çok metal kullanılabilir. Anot materyali olarak Pt, C, Au veya çeşitli metal oksitler gibi daha sınırlı sayıda materyal kullanılır. Voltametri ile hassas miktarlarda metallerin ve türlerinin, S²⁻, CN⁻, Cl⁻, F⁻ anyonlarının, IO₃⁻, NO₂⁻, SCN⁻, S₂O₃⁻ ve SO₂ gibi inorganik bileşiklerin; aromatikler, peroksitler, eterler, nitroaromatikler, aminler, heterosiklik aminler, fenoller, alifatik halojenler, kinonlar, karboksilliasitler, dienler, asetilen gibi organik bileşiklerin tayini yapılmaktadır [77]. Voltametri, inorganik, fizikokimya, biyokimyada yükseltgenme, indirgenme ve adsorpsiyon olaylarının incelenmesi, hidroliz, çözünürlük, kompleks oluşumu, kimyasal reaksiyonların stokiyometrik ve kinetik incelemelerinde, elektrot reaksiyonlarının mekanizmalarının aydınlatılmasında ve ilaç etken maddeleriyle ilgili çalışmalarda da oldukça yaygın ve etkili bir yöntem olarak kullanılmaktadır [78].

2.4.1. Dönüşümlü Voltametri (CV)

CV, karıştırılmayan bir çözeltideki küçük bir durgun elektrodun akım yanıtının, Şekil 2.1.'de gösterildiği gibi üçgen dalga şekilli potansiyel ile uyarılması ile akımın ölçülmesi esasına dayanmaktadır [79]. Potansiyelin zamanla değişme hızına ise tarama hızı adı verilmektedir.



Şekil 2. 1. Doğrusal taramalı ve dönüşümlü voltametri potansiyel taramasının zamanla değişimi

Potansiyel taramasının E1 ve E2 potansiyel değerleri arasında yapılması durumunda metot, doğrusal taramalı voltametri; E2 potansiyeline ulaşıldıktan sonra, aynı tarama hızıyla, ilk tarama yönüne göre ters yönde tarama yapılması durumunda ise, dönüşümlü voltametri olarak adlandırılır [80]. Ters taramada potansiyel E1'de sonuçlanabileceği gibi, farklı bir E3 potansiyeline de götürebilir. İleri tarama esnasında oluşan ürün, ters taramada tekrar reaktife dönüştürülebilir. İleri taramada indirgenme olmuşsa, ters taramada yükseltgenme meydana gelir. CV'de akım, potansiyele karşı grafiğe geçirilir. Dönüşümlü voltametri tekniğinde, tarama hızı önemli parametrelerden biridir ve tarama hızı-pik akımı değişiminden faydalanılarak adsorpsiyon, difüzyon ve heterojen elektrot reaksiyonunu takip eden kimyasal reaksiyonların özellikleri incelenebilir [81]. Ayrıca bu teknikte, tarama yönünün değiştirilmesi ile reaksiyon mekanizması ve kinetik veriler hakkında fikir edinilebilir. CV, susuz çözeltilerdeki elektrokimyasal çalışmalarda en kullanışlı yöntemlerden biridir [82]. Özellikle, kararsız bir ara ürün veya ürün içeren elektrot reaksiyonlarının incelenmesinde faydalıdır. Elde edilen voltamogramlar incelenerek reaksiyon mekanizmaları tahmin edilebilir ve kararsız türlerin termodinamik ve kinetik özellikleri belirlenebilir [83]. Ayrıca, kimyasal ve elektrokimyasal reaksiyonların her biri farklı reaksiyon hızlarına ve tersinirliklere sahiptir [84]. Bunların hepsi, voltamogramlara yansır. Potansiyel aralığı, tarama hızı, sıcaklık, elektrodun cinsi, çözeltinin bileşimi gibi çeşitli parametreleri değiştirerek bir elektrot reaksiyonunun dönüşümlü voltamogramı alınır ve voltamogramlar uygun bir şekilde analiz edilirse,

elektrot reaksiyonu ile ilgili bilgi edinilebilir [85]. CV tekniğinin, nicel amaçla kullanımı az olmakla birlikte, elektrokimyasal reaksiyonlar hakkında nitel bilgi edinilmesinde en yaygın olarak kullanılan teknik olmasının nedeni, redoks olaylarının termodinamiği, heterojen elektron-transfer reaksiyonlarının kinetiği ve takip eden kimyasal reaksiyonlar ve adsorpsiyon olaylarıyla ilgili güvenilir bilgileri hızlı bir şekilde sağlamasıdır. Elektroanalitik çalışmalarda genellikle ilk olarak uygulanan deneysel basamaktır. Özellikle, elektroaktif türlerin redoks potansiyellerinin yerinin hızlı bir şekilde belirlenmesini ve ortamın redoks reaksiyonuna etkisinin değerlendirilmesini sağlar [86].

2.4.2. Diferansiyel Puls Voltametri (DPV)

Bu teknikte voltametrik hücreye potansiyel pulsları uygulanarak, oluşan akım bu pulsların ömrü süresince zamanın fonksiyonu olarak ölçülür [87]. DPV'sinde, Şekil 2.2'de görüldüğü gibi iki tane akım ölçümü yapılmaktadır. Bunlardan birincisi I_1 ve diğeri ise I_2 'dir. Puls başına akımdaki fark ($I_2 - I_1$) potansiyelin fonksiyonu olarak kaydedilir. Elde edilen diferansiyel eğri pik şeklinde olup yüksekliği derişimle doğru orantılıdır [88]. Tersinir bir reaksiyonda pik potansiyeli yarı-reaksiyonun standart elektrot potansiyeline yaklaşık olarak eşittir [87]. Yöntemin duyarlılığı 10^{-8} mol/L'dür. Bu nedenle doğrusal taramalı voltametriye tercih edilir.



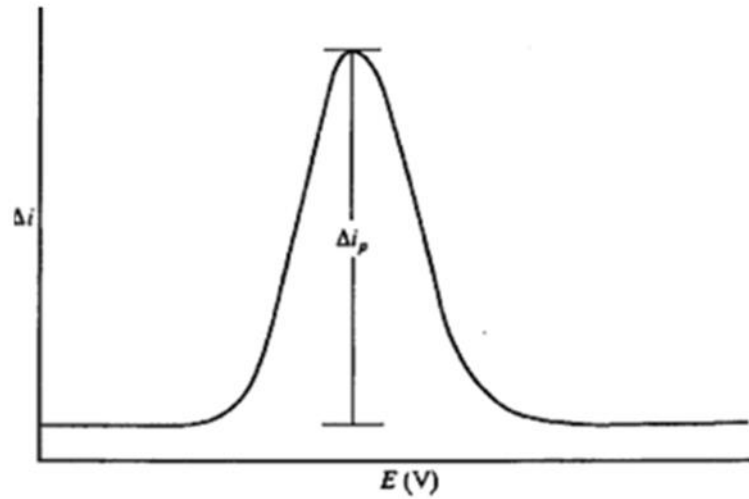
Şekil 2. 2. Diferansiyel puls voltametrisinde puls tipi uyarma sinyalinin dalga şekli

DPV, en çok kullanılan elektroanalitik yöntemlerden biridir. Normal puls voltametriyle karşılaştırıldığında iki üstünlüğü vardır. Birincisi, her bir analitin analitik pikleri birbirinden kolayca ayrılabilmesi için tek bir voltamogramda pek çok analitin belirlenebilmesini sağlamaktır. İkinci üstünlüğü ise, diferansiyel akımla çalışılması ve

böylece voltametrik bir pikin elde edilmesiyle analitik duyarlılığın $5,0 \times 10^{-8} M$ dan $1,0 \times 10^{-8} M$ 'a kadar gelişmesidir [86].

2.4.3. Kare Dalga Voltametrisi (SWV)

SWV, diferansiyel pulstan daha sık tercih edilen elektroanalitik bir yöntemdir [89]. Çalışma elektroduna uygulanan potansiyel, bir diferansiyel teknik olmasını sağlayan simetrik kare dalgalar şeklindedir [90]. Her bir kare dalga döngüsü boyunca, akım iki kez ölçülür. Şekil 2.3. 'de belirtildiği gibi birinci parametre ileri yöndeki pulsun sonunda (t_1), ikinci parametre ise geri yöndeki pulsun sonunda (t_2) olarak ifade edilir. Bu iki akım arasındaki fark, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak grafiğe geçirildiğinde kare dalga voltamogramı elde edilir [91].

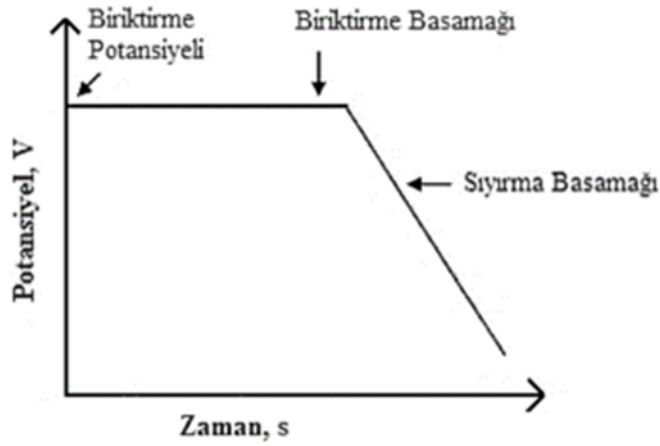


Şekil 2. 3. Kare dalga voltametrinde puls tipi uyarma sinyalinin dalga şekli

SWV'nin en büyük üstünlüğü oldukça hızlı bir teknik olmasıdır [89]. Etkin tarama hızı, kare dalganın frekansı (f) ve basamak yüksekliği (ΔE_s) değiştirilerek belirlenir. Böylece birkaç saniye içinde voltamogramlar kaydedilebilmektedir. Bu ortalama 2–3 dakikayı bulan diferansiyel puls voltamogramının tamamlanması ile karşılaştırıldığında, kare dalga voltametrisinin analiz süresini oldukça kısalttığı bir göstergesidir. SWV yönteminin ikinci büyük üstünlüğü ise, kare dalga yoluyla toplam akıma kapasitif katkıların minimuma indirilmiş olmasıdır [92]. Böylece, tarama hızı çarpıcı bir şekilde artırılabilir, 1 V/s'lik tarama hızına kolaylıkla ulaşılabilir.

2.4.4. Sıyırma Voltametrisi

Sıyırma teknikleri voltametrik analizlerde duyarlılığı artırmaya yönelik olarak geliştirilen iki aşamalı tekniklerdir [93]. İlk aşamada eser düzeydeki türler, uygun bir potansiyel altında genellikle karıştırılan bir çözeltide, elektrot yüzeyinde ön deriştirilir [94]. Ardından potansiyelin anodik veya katodik yönde taranması sonucu yüzeyde deriştirilen maddeye ilişkin akım-potansiyel eğrilerinden gidilerek analiz gerçekleştirilir [94]. Şekil 2.4.'de belirtildiği gibi sıyırma teknikleri; biriktirme, durulma ve sıyırma basamaklarından oluşur. Elektro biriktirme basamağında analitin yalnızca küçük bir kesri elektrot yüzeyinde birikir. Bu yüzden kantitatif sonuçlar, elektrot potansiyelinin kontrol edilmesinin yanı sıra elektrot boyutu, biriktirme süresi, hem numunenin hem de kalibrasyonda kullanılan standart çözeltilerin karıştırma hızı gibi faktörlere de bağlıdır [95].



Şekil 2. 4. Sıyırma voltametrisinde potansiyel-zaman göstergesi

Ön deriştirilmenin niteliği ve sıyırma aşamasında potansiyelin tarama yönüne göre sıyırma teknikleri farklı adlar alır. Bunlar; anodik sıyırma voltametrisi (ASV), katodik sıyırma voltametrisi (CSV) ve adsorptif sıyırma voltametrisi (AdSV) [96].

2.5. Modifikasyon

C, Au, Pt gibi elektrot yüzeylerini kaplayarak; farklı ve istenilen özelliklerde, kararlı, seçici ve duyarlı elektrotlar elde etme yöntemine modifikasyon denir. Modifiye elektrotlarda elektrot yüzeyine, kimyasal maddeler kendiliğinden ya da dışarıdan bir müdahale etkisiyle tutunur. Tutunma sonucunda kimyasal maddeler elektrot üzerinde bir tabaka oluşturabildikleri gibi yüzeyde önceden var olan bir tabaka üzerine de

tutunabilirler. Bu sayede elektrot yüzeyi farklı bir çalışma aralığı sunabilmesinin yanı sıra, seçimlilik ya da katalizörlük gibi üstün özellikler de kazanabilir. Bu esnada elektrot yüzeyine tutunan maddelerin, elektrodun iletkenliğini kaybettirmemesi oldukça önemlidir. Bu sebeple ya modifiye edici madde iletken olmalıdır ya da elektrot iletkenlik özelliklerini kaybetmeyeceği derecede ve biçimde kaplanmalıdır. Modifiye edici malzemeler organik ya da inorganik olabilir. Organik madde olarak genelde polimerler, inorganik madde olarak ise ligandlar, kompleksler ya da metal oksitleri kullanılır. Modifiye edici malzemeler korozyondan korunma, moleküler elektronik ve elektroanalitik kimya gibi birçok alanda oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [97, 98]. Yüzeyde meydana gelen bu değişiklik sayesinde, farklı duyarlığa sahip cihazlar geliştirilebilir. Modifiye elektrotların analitik uygulamalarda birçok önemli avantajı vardır.

- Modifikasyon işleminde kullanılacak kimyasal maddelerde bir sınırlama yoktur, böylece araştırmacılara çok geniş bir seçim olanağı sunar.
- Elektrot yüzeyinin çeşitli moleküllerle kaplanması sonucu elektron aktarım hızı amaca uygun olarak azaltılabilir ya da artırılabilir.
- Belirli türlere karşı duyarlılığı yüksek yüzeyler oluşturulabilir.
- Korozyona ve dış etmenlere karşı daha dayanıklı yüzeyler elde edilebilir.
- Yüzey modifikasyonu oluşumu sayesinde elektron aktarım mekanizması açıklanabilir [98].

Bir modifiye elektrodun güçlü bir elektriksel iletkenliğe sahip olması gerekliliğinin yanı sıra aşağıdaki özelliklere de sahip olması gerekir:

- Korozyona ve içinde bulunduğu çözeltilerden gelen kimyasal etkilere karşı dirençli olmalıdır.
- Mekanik olarak kararlı bir yapıya sahip olmalıdır.
- Eğer modifikasyonda kullanılacak bileşikler elektrot yüzeyine kovalent bağlarla tutturulacaksa elektrot bu bağlanma reaksiyonları için elverişli olmalıdır.

Elektrot malzemesi olarak karbonun pek çok türü kullanılabilir. Tek kristalli grafit, yüksek düzenlilikte pirolitik grafit, toz haline getirilmiş grafit, karbon siyahı, camsı karbon içlerinde en sık kullanılanlarıdır [99].

2.6. Modifiye Elektrotlar

Modifiye elektrotlar, elektrot yüzeyine bir reaktifin çeşitli etkilerle tutturulması ve modifiye yüzeye reaktifin davranışının kazandırılması ilkesine dayanmaktadır. Modifiye edilmiş elektrotlar, iletken bir substratın modifikasyonu ile hedeflenen özellikler kazandırılan, modifiye edilmemiş substrattan farklı özellikleri olan elektrotlardır. Elektrot yüzeylerine çeşitli türlerin kuvvetli ve tersinmez olarak adsorbe olmasıyla elektrotların elektrokimyasal davranışlarının değiştiği bilinmektedir [100]. Kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrotların elektrokatalizlerde kullanılabilmesi, ilginin bu elektrotlara yoğunlaşmasına neden olmuştur. Elektrot yüzeyindeki elektron aktarım hızlarını değiştirebilmek için elektrot yüzeylerinin tabaka ve filmlerle kaplanması gerekmektedir. Aynı zamanda modifikasyon, malzemeleri korozyona veya mekanik etkilere karşı koruma işlemlerinde de kullanılabilir [101]. Bu sayede yeni elektrot yüzeyleri tasarlanabilmekte, pek çok elektroanalitik problem çözülebilmekte, yeni analitik uygulama ve sensör çalışmalarının geliştirilmesi mümkün olabilmektedir. Elektrot yüzeylerinin modifiye edilmesiyle elektrotların seçiciliği ve duyarlılığı da artmaktadır.

2.7. Elektrokimyasal Sensörler

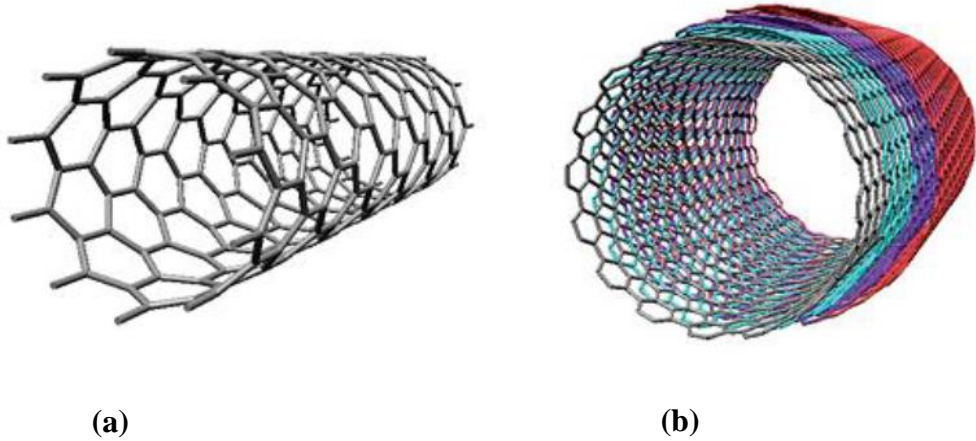
Elektrokimyasal sensörler, etkileşim sırasında elektrokimyasal türlerin harcanması ve yeniden oluşması esnasında ortaya çıkan elektroaktif sinyalin ölçülmesi temeline dayanmaktadır. Elektroaktif analitin, çalışma elektrodunun yüzeyinde indirgenmesi veya yükseltgenmesi sonucu oluşan iyonlar, referans elektrot ile çalışma elektrodu arasında potansiyel farkına neden olur ve sinyal oluşturur. Redoks reaksiyonu sonucu meydana gelen bu değişim, analitin tipine ve konsantrasyonuna bağlıdır [102]. Elektrokimyasal algılama yöntemlerinin büyük bir kısmı potansiyel ve akımda oluşan değişimleri kullanırlar. Elektrokimyasal bir sensörün sahip olması gereken temel özellikler diğer sensör türlerinin çoğuyla aynıdır. Seçicilik, duyarlılık, tekrarlanabilirlik, hızlı cevap zamanı, düşük tayin sınırı, geniş ölçüm aralığı, kararlılık, kullanım ömrü, küçültülebilirlik, hızlı geri dönüş zamanı ve düşük maliyet bir elektrokimyasal sensörün olmazsa olmazıdır [103-105]. Elektrokimyasal sensörlerde analizin başarısını çalışma elektrodunun materyal seçimi belirlemektedir. Elektrokimyasal sensörler nicel ve nitel amaçlı olarak birçok farklı disiplinde kullanılmaktadır. Son zamanlarda nanomalzemelerin (karbon nanotüpler, grafen, peptid nanotüpler, nanopartiküller, biyouyumlu polimerler) sensör sistemine dahil edilmesi, uygulama alanlarını

genişletmiştir [106, 107]. Daha duyarlı ve seçici hale gelen bu sensör sistemleri özellikle hastalıkların teşhis-tanı ve tedavisi için hızlı, pratik, tekrarlanabilir ve doğru analiz sonuçları veren küçük, portatif veya tek kullanımlık ölçüm sistemlerinin hazırlanmasına olanak sağlamıştır. Elektrokimyasal sensörlerin tıp, eczacılık, tarım, gıda, adli kimya, çevre analizleri başta olmak üzere farklı uygulama alanları vardır [108].

2.8. Karbon Nanoyapılar

Bütün canlıların karbon esaslı bir hayata sahip olması ve karbonun organik maddelerde yaygın olarak yer alması nedeni ile karbon vazgeçilmez bir elementtir. Karbon elementi doğada çeşitli birleşikler halinde bulunabilir. Bileşiklerdeki çeşitliliğin önemli sebeplerinden biri, karbon atomlarının diğer elementlerle olduğu gibi kendi içerisinde karbon atomlarıyla da birleşebilme yeteneğine sahip olmasıdır. Sahip oldukları bu özellik sayesinde, karbon atomlarının farklı formlarda bir araya gelmesi ile grafenler, nanotüpler, fullerenler, nanokoniler(nanocones), nanoteller, nanohuniler (nanohorns), nanokristal elmaslar ve grafitler gibi çeşitli karbon bazlı nanoyapılar oluşmaktadır. Bütün canlıların karbon esaslı bir hayata sahip olması, dolayısıyla karbonun organik maddelerde yaygın olarak yer alması ve vazgeçilmez bir element olması nedeni ile karbon temelli malzemeler nanoteknoloji alanında vazgeçilmez malzemeler arasında yer almaktadır [109, 110]. Bu sebeple, grafen, fulleren ve karbon nanotüp gibi karbon temelli nanoyapılar, nanoteknolojinin uygulama aşamasında önemli çalışmaların yapıldığı alt dallarından biri haline gelmiştir. Geleneksel malzemelerde bulunmayan kendilerine özgü yapıları ve üstün termal, elektrik, optik, mekanik ve kimyasal özelliklerinin yanı sıra geniş en/boy oranları ve oldukça yüksek spesifik yüzey alanlarına sahip olmaları neticesinde, fotovoltaiik, alan emisyon transistörleri, sensörler, güneş hücreleri, antibakteriyel malzemeler, enerji depolama cihazları, süperkapasitörler, kompozitler ve biyomalzemeler gibi son yıllarda bilim adamları ve araştırmacıların büyük bir ilgi ile üzerlerinde durduğu nano yapılar olmuşlardır. Böylesine geniş bir kullanım alanı olanağına sahip olmaları sebebiyle literatürde grafen, fullerenler ve karbon nanotüpler gibi karbon bazlı malzemelerin davranışını araştıran çok sayıda deneysel ve teorik çalışma bulunmaktadır [111-115]. Literatüre sunulmuş olan bu çalışmaların çoğu, karbon bazlı nano yapıların bireysel özelliklerine ve kullanım alanlarına odaklanırken, son yıllarda, farklı karbon bazlı üniteler ile yapılan hibrit nanomalzemelerinin tasarım ve analizlerine olan ilgi de artmaktadır. Bu yapıların bir araya getirilmesi ile yeni ve üstün

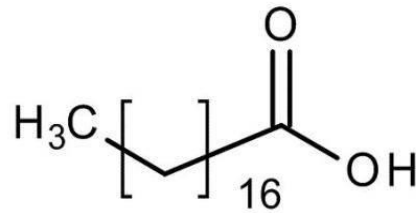
özelliklere sahip hibrit nano yapıların elde edilmesinin mümkün olduğu gösterilmiştir. Karbon nanotüplerin iki yapısal formu vardır, tek duvarlı (SWCNT) ve çok duvarlı karbon nanotüpler (MWCNT). MWCNT'ler ilk olarak 1991 yılında keşfedilmiştir [116]. Tek ve çok duvarlı olarak adlandırılmış olan bu karbon nanotüp yapılar, 3,5 Ångström ($3,5 \text{ \AA} = 0,35 \text{ nm}$) sabit ara katman ayrımı ile çoklu duvarlara sahip tek bir yapı oluşturan çoklu eş merkezli açık uçlu tek duvarlı nanotüplerden oluşur. 2 – 100 nm aralığı ve onlarca mikrona kadar uzunluklara sahip SWCNT'lerin çapı yaklaşık 1 nm'dir ve tek bir grafit levha, her iki ucunda kapaklı dikişsiz bir silindire sarılır ve santimetreye kadar uzunluklara sahip olabilir [117, 118]. CNTs şimdiye kadar bilinen en sert ve en mukavemetli insan yapımı nano malzemeler olarak kabul edilmektedir. Sunmuş olduğu tüm avantajlarının yanı sıra, sahip oldukları yüksek elektrik iletkenlik özellikleri sayesinde, elektrikli cihazlar ve haberleşme ile ilgili alanlarda da ilgi uyandırmışlardır. Ayrıca, çok küçük boyutlara sahip olmaları nedeniyle bu yapılardan matrislere homojen bir şekilde gömülmesi halinde de yararlanılabilir. CNTs'in polimer matrislerine kimyasal afinitesini arttırmak için, grafitik yan duvarların ve uçların kimyasal modifikasyonu gereklidir [119]. CNTs'in özellikleri ve uygulamaları, son on yılda çok aktif araştırma alanları olmuştur. CNTs yüksek esnekliğe, düşük kütle yoğunluğuna ve büyük en boy oranına (tipik olarak >1000) sahiptirler. MWCNT'ler elektronları önemli bir kesinti olmaksızın uzun uzunluklar boyunca taşıyabilir ve bu durum onları bakırdan daha iletken yapar. CNTs'in bir dizi uygulamada ideal takviye maddeleri olarak kullanılmasını sağlayan asıl üstünlük, sahip oldukları mekanik ve elektriksel özelliklerinden kombine olarak yararlanılabiliyor olmasıdır [120, 121].



Şekil 2. 5. (a) Tek katmanlı nanotüpler, (b) Çok Katmanlı Nanotüpler

2.9. Tannik Asit

Tanenler, tannik asit adıyla da bilinmektedir. Tanenler polifenolik yapılara sahip bileşikler olup çay, kolza, bakla ve sorgum gibi bitkilerden elde edilir. TA çeşitli sebze ve meyvelerde, şarap, bira, kahve, siyah çay ve beyaz çay gibi bazı içeceklerin içerisinde bulunur. Aynı zamanda yapılarında çok sayıda hidroksil grubu ve fonksiyonel grup içerdikleri için protein ve diğer makro moleküllerle birlikte çapraz bağlar oluşturabilmektedir. Suda çözünebilir bir polifenol bileşiği olan TA, yıllardır birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır [19, 20]. Çevre, ilaç, gıda gibi çok geniş bir çalışma aralığının olmasından dolayı da TA analizi oldukça önem kazanmaktadır. TA gıda katkı maddesi, tatlandırıcı olarak kullanılmasının [23] yanı sıra antimikrobiyal, antikarsinogenik, antitümör potansiyellerinden dolayı tıp ve veterinerlik alanlarında katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda TA antioksidan özelliğinden dolayı hücreleri oksidasyona karşı koruma gösterir [26, 27]. Meyve, çay ve biranın içerdiği tannik asit miktarını belirlenebilmesi, ürünün kalitesini değerlendirmesi açısından oldukça önemlidir [122]. Tıpta da çok geniş bir kullanım alanı bulunan bu madde damarları ve mukozayı büzücü etkilerinden ötürü bademcik, farenjit, hemoroit ve bazı hastalıkların tedavisinde kullanılır. Bu bileşik ayrıca antioksidan, antitümör, antitümör ve antivirüs özelliklerine ve diğer fizyolojik aktivite türlerine sahiptir [123-125]. TA'nin önemli bir özelliği metal iyonları, polimerler ve proteinlerle güçlü etkileşimidir [126]. TA molekülü çok sayıda aktif fenolik grup içerir ve kovalent ve/veya kovalent olmayan bağlar yoluyla çeşitli moleküllere yapışabilen poli (tanik asit) (PTA)'a kolayca dönüştürülür. Bu nedenle, PTA, iyi yapışması, mükemmel biyoyumluluğu, biyolojik olarak parçalanabilirliği, antimikrobiyal ve antioksidan etkileri nedeniyle yüzey modifikasyonunda büyük ilgi görmüştür [127, 128].



Şekil 2. 6. Tannik asidin molekül formülü

BÖLÜM 3

LİTERATÜR ÖZETİ

Son yıllarda nanoyapılar, sahip oldukları üstün fiziksel ve kimyasal özelliklerinin yanısıra, nano boyutlarından dolayı büyük oranda kütle taşıması, yüzey alanının artması ve elektrokatalitik aktivitenin yüksek olması gibi avantajları da beraberinde getirmektedir. Bütün bu sağladığı avantajların bir getirisi olarak elektroanalizde sıklıkla kullanılmaktadır [129]. Bu nanoyapılar arasında, gelişmiş elektrokimyasal performanslara sahip çeşitli yeni karbon malzemeleri ortaya çıkmış ve nano boyutlarına ve özel yapılarına bağlı olarak elektroanalizde güvenilir alternatifler olarak tercih edilmeye başlanmıştır [130]. Elektrokimyasal nanosensörler, diğer sensör yapılarıyla kıyaslandığında, daha geniş doğrusal tepki aralığı, daha yüksek kararlılık, tekrar üretilebilirlik gibi üstünlüklere sahip olduğu için farmasötik ve biyomedikal endüstrilerinde geniş bir kullanım olanağı bulmuştur [131]. Günümüzde nanoteknolojinin hızla gelişmesiyle birlikte karbon nanotüpler elektrokimyasal sensörlerin hazırlanması aşamasında da büyük bir ilgi odağı haline gelmiştir [132]. İnsan idrarında ve farmasötik numunelerde morfinin hassas tayini için hidrofilik iyonik bir sıvı ile modifiye edilmiş NiO/CNTs karbon pasta elektrodu (IL/NiO/CNTCPE) üretilmiştir. Yaygın olarak tercih edilen diğer karbon pasta elektrotlarıyla karşılaştırıldığında, önerilmiş olan bu platformun morfin elektrooksidasyonu için elektrokimyasal tepkisini büyük ölçüde iyileştirdiği saptanmıştır [132]. Biyolojik numunelerde Bisfenol A'nın (BPA) hassas tayini için MWCNT ve altın nanoparçacık (AuNP) kompozit ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrot içeren yeni bir elektrokimyasal sensör geliştirilmiştir. Geliştirilmiş olan sensörün tekrarlanabilirliği ve kararlılığı incelenmiş ve BPA sensörleri için benzer sensör yapıları kullanılarak literatürde bildirilenlerden daha üstün olduğu ortaya konmuştur [133]. Fe₃O₄@SiO₂ nanoparçacıkları (Fe₃O₄@SiO₂/MWCNT'ler) ile süslenmiş MWCNTs'e dayalı yeni bir nanokompozit türü hazırlanmış ve modifiye edilerek bir karbon pasta elektrodu (CPE) üretmek için kullanılmıştır. Manyetit (Fe₃O₄) biyoyumluluğu, güçlü süper paramanyetik özelliği, düşük toksisite ve kolay hazırlanabilir olması gibi avantajları sebebiyle yaygın olarak kullanılan manyetik malzemelerden biridir. Ürik asidin (UA) elektrokimyasal davranışı Fe₃O₄@SiO₂/MWCNTs-CPE üzerinde CV ile araştırılmış ve önerilen sensör, biyolojik sıvılarda UA'nın belirlenmesi için başarıyla uygulanmıştır

[134]. Terbutalinin ilaç formülasyonlarındaki teröpatik kullanımını izlemek amacıyla, MWCNT'ler ve zirkonyum oksit nanoparçacıklarının (ZrO_2NP 'ler) bir bileşimi ile modifiye edilmiş bir GCE geliştirilmiştir. $ZrO_2NPs/MWCNTs/GCE$ sisteminin uzun süreli kararlılık ve iyi tekrarlanabilirlik faktörlerini yerine getirdiği gözlemlenmiştir [135].

Elektroanalitik yöntemler, tercih edildiği her alanda seçicilik, doğruluk, yüksek hassasiyet ve tekrarlanabilirlik sunan güçlü ve çok yönlü analitik araçlar olmalarının yanı sıra nispeten basit, ucuz ve hızlı analiz süresi gibi üstünlükler de sunmaktadırlar. Ayrıca elektroanalitik yöntemler oldukça geniş bir konsantrasyon aralığında çalışılabilirliği nedeniyle de oldukça ciddi faydalar sağlamaktadırlar. CNPs süspansiyonunun GCE üzerine damla damla immobilizasyonu yoluyla hassas ve seçici bir elektrokimyasal sensör üretilmiştir. Bu sensörün uygulaması farmasötik dozaj formunda asetaminofen (ACE) ve tramadol (TRA) ilaçlarının eş zamanlı tayininde ve insan plazmasında ACE tayininde yapılmıştır. İlaçların elektrokimyasal davranışlarını incelemek için, modifiye edilmiş GCE ve yalın GCE'nin yüzeylerinde ACE ve TRA'nın CV ve DPV çalışmaları yapılmıştır. Elektrokimyasal araştırmaların sonuçları CNP'lerin gözenekli bir tabaka içindeki difüzyona dayalı ince bir tabaka modeli aracılığıyla elektroaktif yüzey alanını arttırdığı ve pik akımlarında kayda değer bir artış meydana getirdiğini göstermiştir. Böylece önerilen platform farmasötik dozaj formlarında geniş bir teröpatik ve konsantrasyon aralığında çalışma olanağı sunarak insan plazmasında ACE ve TRA analitlerinin tayininde başarıyla uygulanmıştır [136].

Voltametri, yeni sistemlerin elektrokimyasal reaksiyonları hakkında nitel bilgi elde etmek amacıyla kullanılan en yaygın tekniktir. Ayrıca voltametrik yapıların özellikle organik kimya ve farmasötik bileşikler alanında oldukça kompleks elektrot reaksiyonları hakkında sade ve anlaşılabilir bilgi edinebilme noktasında çok yararlı olduğu da literatür çalışmalarıyla kanıtlanmıştır. Bir poli (Nil mavisi) modifiye camı karbon elektrotu (PNBMGCE), Nil mavisi (NB) monomerinin CV kullanılarak elektropolimerizasyonu ile üretilmiş ve parasetamol (ACOP), tramadol (TRA) ve kafeinin (CAF) belirlenmesi için kullanılmıştır. Elektrokimyasal araştırmalar, GCE yüzeyinde oluşan PNB filminin elektroaktif yüzey alanını iyileştirdiğini ve çıplak elektrotla karşılaştırıldığında pikakımında dikkate değer bir artış ve ACOP, TRA ve CAF aşırı potansiyelinde önemli bir azalma gösterdiğini göstermiştir. Böylece bu çalışma ile önerilmiş olan PNBMGCE

voltametik platform, farmasötik dozaj formlarında ACOP, TRA ve CAF'nin belirlenmesinde hızlı ve başarılı bir şekilde uygulanmıştır [137]. Klorojenik asitin hassas tayininde titanyumdioksit nanomalzeme temelli bir sensör geliştirilmiştir. Metal-organik çerçevelerin titanyumdioksit ile kombinasyonu sonucu oluşan UiO-66-NH₂/TiO₂ nanokompoziti basit bir hidrotermal reaksiyonla hazırlanmıştır ve UiO-66-NH₂ ve TiO₂'nin sinerjik etkisinden dolayı klorojenik asit oksidasyonu için mükemmel elektrokatalitik aktivite sergilemiştir. NH₂/TiO₂ nanokompozitleri asidik tampon çözeltisinde önemli stabilite göstermiş ve elektrokatalitik aktivitelerini en az 90 döngüye kadar korumuşlar. Bu çalışma kapsamında geliştirilen son derece hassas, seçici ve kararlı ardışık olarak klorojenik asit izleme özelliğine sahip UiO-66-NH₂/TiO₂ bazlı sensörün, elektrokimyasal sensörlerde yüksek düzeyde aktif elektro katalizör yapımı için umut verici bir aday olduğu tespit edilmiştir [130].

Nanoyapılı modifiye elektrotlar son zamanlarda hem farmasötik preparatların hem de gıda örneklerinin araştırılması, geliştirilmesi ve analizinde kapsamlı uygulama alanları bulmuştur. Modifiye elektrotların çalışma alanları incelendiğinde, sahip oldukları üstün özellikleri nedeniyle yeni bir elektrot materyallerinin araştırılması ve elektrokimyasal sensörlerin geliştirilmesine olan yönelimi artırma noktasında önemli katkılar sağladığı görülmektedir [138]. Kimyasal olarak modifikasyona tabi tutulmuş olan bu elektrotlar, elektroanalitik uygulamalar alanlarında çalışılan alanın ihtiyaçlarını karşılamaya yönelik olarak istenilen spesifiklikte yüzey özellikleri elde etmek amacıyla farklı reaktifler kullanılarak modifiye edilmiş iletken veya yarı iletken malzemelerden oluşmaktadırlar [139]. Bu ve benzeri elektroanalitik amaçlar için, elektrot yüzeylerinin hedeflenen amaçlar doğrultusunda bilinçli olarak değiştirilmesi, tayin noktasındaki hassasiyeti, seçiciliği ve stabiliteyi geliştirmeyi amaçlamaktadır [140]. Asetaminofen (ACP) ve tramadolün (TRA) eş zamanlı tespiti için katodik olarak ön işleme tabi tutulmuş bor katkılı elmas elektrot (BDDE) kullanılarak çoklu puls amperometrik algılama (FIA-MPA) ile bir analitik prosedür geliştirilmiştir. Önerilen yöntem, farmasötik numunelerde ve sentetik biyolojik sıvılarda ACP ve TRA'nın aynı anda belirlenmesi için iyi bir alternatif sunmuştur. Elde edilen doğruluk ve saptama limiti verileri yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) sonuçlarıyla da karşılaştırılarak doğrulanmış ve sunulan yöntemin çok düşük miktarlarda tayine olanak sağlaması ve HPLC gibi ön işlem prosedürü gerektirmemesi sebebiyle çok daha üstün bir yöntem olduğu belirlenmiştir

[141]. Quercetin (Q) ve Triptofan'ın (Trp) eş zamanlı tayini için tek tip üç boyutlu (3D) $Fe_3O_4@NiO$ manyetik nanoparçacıklar (MNP'ler) modifiye karbon pasta elektroduna ($Fe_3O_4@NiO/CPE$) dayalı bir elektrokimyasal algılama elektrodu geliştirilmiştir. Elektrokimyasal çalışmalar için önerilen bu sensörün, yüksek etkili yüzey alanı, çok sayıda reaktif bölge ve Q ve Trp'nin oksidasyonuna karşı mükemmel elektrokimyasal katalitik aktivite dahil olmak üzere bazı önemli avantajlar sergilediğini ortaya koymuştur [142]. Trp'nin elektrokatalitik oksidasyonunun, MWCNT/CoSal ile modifiye edilmiş elektrotun yüzeyinde incelendiği bir çalışmada, modifiye edilmiş bir karbon pasta elektrotu, MWCNT ve kobalt salofen (CoSal) birleştirilerek hazırlanmıştır. Modifiye elektrot kullanılarak yapılan bu voltametrik çalışmada aminoasit, sistein ve Trp için iyi çözülmüş üç anodik tepe noktası gösterdiği ve elektrotun karışımlarda bu bileşiklerin eşzamanlı elektrokimyasal tespitleri için uygulanabilirliğinin olduğu gösterilmiştir [143]. GCE yüzeyinin, bir zwitter iyonik yüzey aktif madde olan 3-(1-tetradecil-3-imidazolyum) propan sülfonat (ImS3-14) içinde stabilize edilmiş rodyum nanoparçacıklarla kaplanmasıyla fenolik bileşiklerin biyolojik sıvılarda analizi için yeni bir sensör geliştirilmiştir. Modifiye edicinin, elektrot yüzeyindeki elektriksel iletkenliği artırarak elektron transfer direncini düşürdüğü bildirilmiştir. Çıplak GCE'ye kıyasla önerilen sensör kullanıldığında elektroanalitik tepkideki artışı belirlemenin çok daha başarılı olduğu, bir selülozik matriste p-kumarik asit tayininde beklenen performansı gösterdiği belirtilmiştir [144].

Günümüzde farmasötik preparatların kalite kontrolündeki gerekliliklerin karşılanması ve farmakolojik preparatlardaki ilaç etken maddelerinin konsantrasyonlarındaki çeşitli kimyasalları tayin edebilmek için yüksek seçiciliğe sahip yeni analitik metotların geliştirilmesi noktasında önemli derecede bir beklenti vardır. Bu beklenti sebebiyle de farmasötik numunelerin hızlı, basit, ucuz ve güvenilir bir şekilde analizinde, elektrokimyasal tekniklerin kullanımı son yıllarda gittikçe önem kazanmaktadır. Voltametrik sensörler özellikle güçlü bir elektroanalitik aracı temsil etmektedir. Voltametri, ayrıca farmasötik örneklerin analizinde sıklıkla tercih edilen oldukça etkili bir elektroanalitik tekniktir. Son yıllarda klinikte hastalıklarının teşhis, tedavi ve önlenmesinde sıklıkla tercih edilen farmasötik olarak aktif bileşiklerin, hassas analizi yöntemlerinde oldukça önemli ilerlemeler kaydedilmiştir [129], [137], [145]. Farmasötik, tıbbi ve biyomedikal analiz uygulamaları, uygulamalı analitik kimyanın en önemli çalışma

alanları arasındadır. Tüm bu avantajların yanı sıra günümüzde elektroanalitik yöntemlerin çeşitliliği ve ön işlem gerektirmemesi, elektrokimyanın farmakoloji ve eczacılık AR-GEsinin keşiften üretime kadar uzanan çeşitli aşamalarında uygulanmasına olanak sağlamaktadır [146, 147]. Ayrıca farmakolojik açıdan kompleks yapıya sahip moleküllerin elektroorganik sentezinde, fonksiyonel grupların oksidasyonu ve indirgenmesine katkı sağlamaları sebebiyle elektroanalitik yöntemler ilaç araştırmalarının başlangıç fazlarında da kullanılabilirler. Üstelik elektroanalitik teknikler kullanılarak, farmakolojik açıdan ilaçların vücut sıvıları içinde hassas tayinlerinin yapılabilmesinin yanı sıra birbirleriyle olan etkileşimleri de incelenebilmektedir [148]. Literatürler tıbbi ve farmakolojik açıdan incelendiğinde şizofreni ve benzeri gibi, ruhsal hastalıklara sahip hastaların plazmalarında ve ürün örneklerinde klozapin miktar tayini için; geleneksel tedavi yöntemlerine dirençli çoklu ilaç tedavisi gören şizofreni hastalarının plazmasındaki antipsikotik ilaçlar olan levomepromazin ve klozapin ve bunların ana metabolitlerinin eş zamanlı olarak belirlenebilmesi için katı faz ekstraksiyonu yoluyla güvenilir bir biyolojik numune ön işleme prosedürü uygulanmasının ardından, HPLC yöntemi ile eş zamanlı tespiti sağlanarak, yöntemin ekstraksiyon verimi, kesinliği ve doğruluğu gibi parametreler %92'den yüksek RSD değerlerinin saptanmasıyla doğrulanmıştır, böylece yöntemin, levomepromazin ve klozapin ile çoklu ilaç tedavisi gören hastaların terapötik ilaç takibi (TDM) için uygun olduğu belirlenmiştir [149]. Plazmada klozapin ve ana metaboliti norklozapinin belirlenmesi için, her iki analitin katı faz ekstraksiyonu ve TFAA ile daha fazla türevlendirilmesiyle elde edilen numune örnekleri katı faz ekstraksiyonu yoluyla ön işlem prosedüründen geçtikten sonra hassas ve spesifik bir GC/MS yöntemi geliştirilmiş, optimize edilmiş ve doğrulanmıştır. Bununla birlikte geliştirilen yöntemin, klinik veya adli amaçlar için beklenen konsantrasyon aralığını kapsadığı saptanmıştır [150]. Terbutalin sülfat (TBS) ve guaifenesinin (GF) eşzamanlı tayini için grafen nano-tabaka-çok duvarlı karbon nanotüp-polianilin kompoziti (GNS-MWCNT-PANI) ile modifiye edilmiş bir karbon pasta elektrodunda hassas bir elektrokimyasal yöntem geliştirilmiştir. TBS ve GF'nin elektrokimyasal davranışı, döngüsel voltametri, adsorptif sıyırma diferansiyel puls voltametri ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi yoluyla çalışılmıştır. Nanokompozit bazlı bu sensör, TBS ve GF'nin oksidasyonuna karşı oldukça iyi bir elektrokimyasal aktivite göstermiştir. Önerilen sensör, çok basit bir yöntemle ve son derece düşük bir maliyetle, yüksek hassasiyet, seçicilik ve kararlılıkla üretilmiştir ve

bu nedenle kalite kontrol laboratuvarlarında TBS/GF'yi algılamak için umut verici bir araç olarak sunulmuştur. İnsan plazmasında klozapin ve ana metaboliti olan desmetilklozapinin belirlenmesi için hızlı ve hassas, yüksek performanslı bir kapiler elektroforetik yöntem geliştirilmiştir. Katı faz ekstraksiyonu ve ardından konsantrasyon yoluyla doğru bir numune ön tedavisi, ilaçla tedavi gören şizofreni hastalarının plazmasındaki klozapin miktarının güvenilir bir şekilde belirlenmesini sağlamıştır [151].

Klozapin, trazodon, doksepin, paroksetin, fluvoksamin, imipramin, amitriptilin, fluoksetin, sertralin ve klomipramin olmak üzere 10 tane ilaç etken maddesinin insan idrarı ve plazmasından analizi için hızlı ve hassas bir yöntem önerilmiştir. Belirtilen amaç doğrultusunda, otomatik bir tüp içi katı fazlı mikro ekstraksiyon-sıvı kromatografi-kütle spektrometrisi (SPME/LC-MS) yöntemi geliştirilmiştir. Siyanoetil fonksiyonel gruplara sahip bir hibrit organik-inorganik silika monolit hazırlanmış ve tüp içi SPME için bir sorbent olarak kullanılmıştır. Numune ekstraksiyonu noktasında LC ayırma ve MS tespitinin tek bir sisteme entegrasyonunun yapılmış olması sayesinde filtrasyondan sonra seyreltilmiş idrar veya plazmanın doğrudan enjeksiyonuna olanak sağlanmıştır. Bu çalışmada numune alma, ekstraksiyon ve ayırma işlemlerinin otomasyonu bir program kontrolünde gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen bu otomatikleştirilmiş yöntem, antidepresan tedavisi gören yaşlı hasta gruplarından alınan idrar ve plazma örneklerini analiz etmek için kullanılmıştır [152]. Filtre kağıdı üzerindeki kurumuş kan lekelerinde klozapin ve metabolitlerinin belirlenebilmesi için, paketlenmiş sorbent prosedürü ile mikro ekstraksiyon ile birleştirilmiş kromatografik bir yöntem kullanılarak yeni bir analitik yaklaşım geliştirilmiştir. Klozapin ve metabolitleri, fosfat tamponu ile kurutulmuş kan lekelerinden ekstrakte edildikten sonra, iyi ekstraksiyon verimleri elde edilerek numune temizliği için paketlenmiş sorbent prosedürü ile bir mikro ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Bu nedenle, önerilen yöntem, terapötik ilaç izleme amacıyla psikiyatri hastalarından alınan DBS'lerde klozapin ve metabolitlerinin analizi için uygulanmıştır [153]. Sertralin, fluoksetin, sitalopram, paroksetin, venlafaksin, klozapin, olanzapin, ketiapin, risperidon ve bunların aktif ve aktif olmayan metabolitlerinin insan serum örneklerinde eş zamanlı tespiti için sıvı kromatografisi-tandem kütle spektrometrisi yöntemi geliştirilmiştir. Tespit, çoklu reaksiyon izleme ile üçlü ve dört kutuplu tandem kütle spektrometresi üzerinde gerçekleştirilmiştir. Serumda gözlemlenen tekil ilaçların farklı konsantrasyon aralıkları nedeniyle analitler düşük, orta ve yüksek seviyeli üç gruba ayrılmıştır. Yöntem,

ayırıştırıcı bileşiklerin ihmal edilebilir bir matris etkisine sahip olması nedeniyle elektrosprey iyonizasyonunu (ESI) kullanılmıştır. Geliştirilmiş olan bu yöntem henüz yayınlanmamış yeni bir ilaç grubu ve rutin kullanıma uygun metabolitlerinin kısa sürede belirlenmesine olanak sağlamıştır [154]. İnsanın ölüm sonrası beyin dokusunda klozapin dahil olmak üzere 17 antipsikotik ilacın eş zamanlı tespiti için nicel bir LC-MS/MS yöntemi geliştirilmiştir. Numunelerin hazırlanması aşamasında endojen protein ve fosfolipid etkileşimlerinin giderilmesi için Hibrit Katı Faz Ekstraksiyon-Çökeltme teknolojisi kullanılmıştır. Analitlerin miktar tayini, bir elektrosprey iyonizasyon arayüzü kullanılarak dinamik çoklu reaksiyon izleme (dMRM) modunda çalıştırılarak gerçekleştirilmiştir. Yöntem, insanın ölüm sonrası beyin dokularında antipsikotik ilaçların kesin olarak tanımlanmasına ve doğru bir şekilde ölçülmesi amacıyla geliştirilmiştir. Bu nedenle, bu yöntemin adli soruşturmalarda kullanılabilir olduğu saptanmıştır [155]. İnsan serumu veya tükürük numunelerinde yedi psikotrop ilacın (risperidon, sitalopram, klozapin, ketiapin, levomepromazin, perazin ve aripiprazol) eş zamanlı tespiti için HPLC-DAD ve HPLC-MS yöntemi geliştirilmiş ve doğrulanmıştır. Kromatografik analizler, bir mobil faz ile bir XSELECT CSH Fenil-Heksil kolonu üzerinde gerçekleştirilmiştir. Uygulanan kromatografik sistemde incelenen tüm ilaçların tam olarak ayrılması, iyi pik simetrisi ve eş zamanlı olarak yüksek sistem verimliliği elde edilmiştir. Yöntemin, özellikle kombine tedavi durumlarında farmakoterapinin kontrolü için psikiyatrik vakalarda insan plazmasında veya tükürüğünde araştırılan ilaçların analizi için uygun olduğu belirtilmiştir. Hastalardan alınan ilaçların ve metabolitlerinin serum ve tükürük numunelerindeki varlığının doğrulanması için HPLC-MS uygulanmıştır. Önerilen yöntem, araştırılan ilaçların gerçek serum ve tükürük örneklerinde miktar tayini için başarıyla uygulanmıştır. Psikotropik ilaçların belirlenmesi için serum veya plazma yerine tükürüğün kullanılmasının, toplanması daha basit, invaziv olmayan ve ağrısız olması nedeniyle psikiyatrik hastalarda terapötik ilaç izlemesi için çekici bir alternatif olduğu bu çalışmayla gözlemlenmiştir [156]. Üç antipsikotik ilaç olan klozapin, klorpromazin ve tiyordazinin farmasötik atık su ve insan plazması dahil olmak üzere bazı katkılı örneklerde etkili, kolay, hızlı ve temiz tespiti için HPLC-ultraviyole algılama yöntemi ile birlikte ikili dağılımlı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır. Üç psikotrop ilaç olan klozapin, klorpromazin ve tiyordazinin TDLLME'si (tandem dispersive liquid-liquid microextraction), iki ardışık dağıtıcı sıvı-sıvı mikro özütleme yoluyla kolaylıkla gerçekleştirilmiştir. Önerilen yönteminin geçerliliği, psikotrop ilaçların

mikroekstraksiyonunda ve bazı eklenmiş örneklere uygulanabilirliği rapor edilmiştir [157].

İdrar örnekleri kullanılarak antipsikotik ilaç zehirlenmelerinin izlenmesi için kahve halkası etkisine dayalı yüzey destekli Raman spektroskopisi (CRE-SERS) yöntemi geliştirilmiş ve başarıyla kullanılmıştır. Kahve halkası etkisi, SERS tabanlı yöntemin pratik uygulamaları için pek çok fırsat sunmuştur. İdrar örneklerine eklenen klozapin, toksisite eşiklerinin üzerindeki konsantrasyonlarda kantitatif olarak tespit edilmiştir. CRE-SERS yöntemi, klozapin ve metabolitlerinin gerçek zehirlenme idrar örneklerinden nihai olarak ayırt edilmesini sağlamıştır [158]. İnsan plazmasında altı antipsikotik (olanzapin (OLA), risperidon (RIS), paliperidon (PAL), ketiapin (QUE), klozapin (CLP) bunların iki metaboliti olan aripiprazol (ARI) ve dehidro-aripiprazolün (DARI) ve kafeinin (CAF) eş zamanlı tayini fosfolipid-çıkartma-mikro elüsyon-katı faz ekstraksiyon yöntemi kullanılarak LC-MS/MS ile gerçekleştirilmiştir. CAF, yarışmalı inhibisyon nedeniyle ilaç metabolizması üzerinde etkisi olabileceğinden yöntemde dahil edilmiştir. Bahsedilen bileşikler ve bunların izotop etiketli dahili standartları, karşılaştırma için hem etkili fosfolipidleri ortadan kaldıran üç aşamalı mikroelüsyon-katı-faz ekstraksiyonu (u-SPE) hem de protein çökeltmesi (PPT) ile 200 µL insan plazma örneklerinden ekstre edilmiştir. Önerilen bu yöntem klinik laboratuvarında ve rutin TDM için başarıyla uygulanmıştır [159]. Klozapin başta olmak üzere dokuz antipsikotik ilacın hassas analizi için mikro karbon kalem-kurşun elektrot (çalışma elektrotu olarak standart olmayan, 0,2 mm çaplı Pentel AinStein kalem grafiti) kullanarak elektrokimyasal dedektörle birleştirilmiş yüksek performanslı sıvı kromatografisi yöntemi kullanılmıştır. Çalışılan sete dahil edilen hem tipik hem de atipik antipsikotiklerin, kurşun kalem grafit elektrotunda döngüsel voltametriye iyi tanımlanmış anodik dalgalarla kendini gösteren elektrokimyasal aktivite sergilediği kanıtlanmıştır. Böylece bu çalışmada, bir kılcal çalışma elektrodu olarak standart olmayan, 0,2 mm çaplı kurşun kalem kullanan sıvı kromatografisi için elektrokimyasal algılama kurulumunun, fizyolojik konsantrasyon seviyelerinde seçilen dokuz antipsikotik ilacın aynı anda ayrılmasına izin verdiğini gösterilmiştir [160]. İnsan plazmasında 13 antipsikotik ilacın (imipramin, desipramin, fluoksetin, norfluoksetin, paroksetin, maprotilin, sertralin, sitalopram, klomipramin, trazodon, doksepin, klozapin ve amitriptilin) hassas tespiti için desteklenen sıvı ekstraksiyonu (SLE) ile ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi-tandem kütle

spektrometrisi (UPLC-MS/MS) yöntemi geliştirilmiştir. Tayin sınırları (LOD'ler), 0,0003 – 0,003 ng/mL aralığındadır ve kalite kontrol numuneleri için % 82,5 – 110,4 arasında değişen makul matris etkisi (ME) değerleri elde edilmiştir. Doğrulama parametreleri, mevcut metodolojinin kan numunelerindeki antidepresanların belirlenmesi için güvenilir olduğunu ve sunulan bu yöntemin biyomedikal alanlarda ve adli vakalarda antidepresanların izlenmesinde geniş bir uygulamaya sahip olduğunu ortaya koymuştur [161].

İnsan plazmasında klozapin ve ana metaboliti olan desmetilklozapinin belirlenmesi yüksek performanslı bir kapiler elektroforetik yöntem geliştirilmiştir. İki analitin ayrılması, pH 2,5'te b-siklodekstrin içeren bir arka plan elektroliti ile doldurulmuş, işlenmemiş bir kaynaşmış silika kapiller içinde gerçekleştirilmiştir. Yöntemin sunmuş olduğu %88 ekstraksiyon verimi ile ilaçla tedavi gören şizofreni hastalarının plazmasındaki klozapin miktarının güvenilir bir şekilde belirlendiği tespit edilmiştir. Antipsikotik bir ilaç olan, olanzapin içeren farmasötik formülasyonların kalite kontrolü için dört analitik yöntem geliştirilmiştir: (HPLC), kapiler bölge elektroforezi (CZE), türev spektrometrisi ve lineer voltametri. Belirlenmiş olan bu yöntemlerin tamamı, analizden önce tabletlerden olanzapinin bir ekstraksiyon prosedürünü gerektirir. Herhangi bir tahlilde belirgin bir etkileşim bulunmadığından, tüm yöntemlerin seçiciliğinin yeterli olduğu, kesinlik ve doğruluk açısından benzer sonuçlar verdiği ve olanzapinin nicelendirilmesi için uygun yöntemler olduğu rapor edilmiştir [151]. Haloperidolün (Hp) voltametrik yöntemlerle belirlenmesi için Fe₃O₄ nanoparçacıkları ile dekore edilmiş MWCNTs hazırlanmıştır. Modifiye edilmiş olan bu sensör, az miktarda Hp'ün belirlenmesi için seçici bir elektrokimyasal sensör olarak kullanılmıştır. Hp için saptama limitleri, DPV ve SWV yöntemleri için sırasıyla $7,02 \times 10^{-4}$ ve $1,33 \times 10^{-4}$ $\mu\text{mol L}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar, MWCNTs ve Fe₃O₄ nanoparçacıkların kombinasyonunun, Hp belirleme duyarlılığında çarpıcı bir artışa neden olduğunu göstermiştir. Bu sensörün, farmasötik numunelerde ve biyolojik sıvılarda Hp'ü belirlemek için başarıyla uygulanabilir olduğu belirlenmiştir [162]. GCE üzerinde klozapinin adsorptif ve elektrokimyasal özelliklerinin incelenmesi amacıyla, GCE ön işlem prosedürüne tabi tutularak DPV tekniği ile farmasötik preparatlarda ve idrar örneklerinde klozapinin belirlenmesi için uygulanmıştır. İlacın seçici olarak belirlenmesi için ön-konsantrasyon ortamı değişim yaklaşımı kullanılmıştır. Önerilen voltametrik yöntemin

geri kazanım seviyeleri, idrar ve plazma numuneleri için sırasıyla %96 (RSD, %1,8) ve %90 (RSD, %2,8) olarak hesaplanmıştır [163]. TiO₂ nanoparçacıkları (TiO₂NP-MCPE) ile kimyasal olarak modifiye edilmiş yeni bir karbon macun elektrodu, çok düşük miktarda klozapinin seçici ve hassas elektrokimyasal tayini için hazırlanmış ve kullanılmıştır. Modifiye edilmiş elektrodun elektrokimyasal davranışı ve klozapinin oksidasyon mekanizması, CV tekniği kullanılarak araştırılmıştır. TiO₂ nanoparçacıklarının varlığı, elektrodun mevcut yüzey alanını arttırdığı ve pik akımlarında artırarak hassasiyeti iyileştirdiği gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, önerilen bu yöntem, tatmin edici sonuçlarla klozapin tabletlerinde klozapinin belirlenmesi için kullanılmıştır [164]. Klozapinin elektrokimyasal tayini için, çok duvarlı karbon nanotüpler ve WO₃ nanopartiküller hidridin a - terpineol (MWWT) bileşimi ile modifiye edilmiş camsı karbon (GC) elektroduna dayalı basit ve hassas bir sensör geliştirilmiştir. Klozapinin elektro-oksidasyonu, modifiye edilmiş GC elektrotları üzerinde CV ve SWV yöntemleri ile araştırılmıştır. Optimum koşullar altında sensörün, klozapin için 0,1-2 µM ve 2-150 µM aralığında 30 nM algılama sınırıyla iki doğrusal SWV yanıtı sağladığı görülmüştür. Önerilen sensörün, serum ve idrar örneklerinde klozapini belirlemek için başarıyla kullanılabilceği belirtilmiştir [165]. İncelenmiş olan literatür çalışmalarında da belirtildiği gibi hedef ilaçların düşük konsantrasyona sahip olması ve karmaşık matrislerde bulunması nedeniyle, genellikle enstrümantal analizden önce örneklerin ön işlemden geçirilmesi gerekmektedir. Antipsikotik ilaçların belirlenmesi için sıvı-sıvı ekstraksiyonu (LLE) ve SPE gibi bazı ayırma/ön konsantrasyon prosedürleri uygulanmaktadır. Bununla birlikte, mevcut yöntemler oldukça zaman alıcıdır ve normalde insan sağlığı için potansiyel olarak tehlikeli olan büyük miktarlarda organik çözücüler gerektirme, belirli adsorpsiyon malzemesi ile yüklenen belirli bir cihazın yanı sıra nispeten pahalı olabilen yüksek basınçlı bir dağıtım sistemine de ihtiyaç duyabilmektedirler. Belirtilen bu dezavantajlar göz önünde bulundurularak, bu çalışmanın farmakolojik numunelerin elektroaktif bileşenlerinin yukarıda belirtilmiş olan tayin yöntemlerine göre daha basit, hızlı, düşük maliyetli insan sağlığına ve çevreye dost, ucuz ekipman gerektiren yüksek hassasiyetli voltametrik yöntemler ile saptanmasıyla literatüre bir alternatif kazandıracağına inanılmaktadır.

BÖLÜM 4

MATERYAL METOT

4.1. Materyal

Tez çalışması süresince kullanılan kimyasal maddeler herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan ilgili firmalardan alındığı halleriyle kullanılmıştır. Tablo 4.1. sıralanan kimyasal maddelerin yanı sıra pH metrenin kalibre edilmesi için pH 4,0; 7,0 ve 10,0 olan ticari tampon çözeltiler (marka) de kullanılmıştır.

Tablo 4. 1. Kullanılan kimyasalların listesi

Adı	Formülü	Marka
Potasyum Ferrisiyanür	$K_3Fe[CN]_6$	Acros Organics
Ferrosen	$(C_2H_5)_2Fe$	Aldrich
Tetrabutylamonyum tetrafloroborat	$C_{16}H_{36}BF_4N$	Aldrich
Asetonitril	C_2H_3	Aldrich
Asetik Asit	CH_3COOH	Merck
Borik Asit	H_3BO_3	Merck
Fosforik Asit	H_3PO_4	Merck
Potasyum Klorür	KCl	Aklar Kimya
Nitrik Asit	HNO_3	Merck
Sodyum Asetat	NaAc	Merck
Potasyum Dihidrojen Fosfat	KH_2PO_4	Merck
Disodyum monohidrojen fosfat dodekahidrat	$HNa_2O_4P.12H_2O$	Sigma Aldrich

Amonyum Klorür	NH ₄ Cl	Sigma Aldrich
Amonyak	NH ₃	Merck
Laktoz	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	Enka
Tartarik asit	C ₄ H ₆ O ₆	Reidel
Ürik asit	C ₅ H ₄ N ₄ O ₃	Merck
Askorbik asit	C ₆ H ₈ O ₆	Merck
Dopamin	C ₈ H ₁₁ NO ₂	Dopadren
Glisin	C ₂ H ₅ NO ₂	Kimetsan
Sitrik asit	C ₆ H ₈ O ₇	Sigma
Sükroz	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	Himedia
Üre	CH ₄ N ₂ O	Sigma
Haliperidol	C ₂₁ H ₂₃ ClFNO ₂	Sigma
Risperidon	C ₂₃ H ₂₇ FN ₄ O ₂	Sigma aldrich
Hidroklorik asit	HCl	Merck
Sodyum hidroksit	NaOH	Sigma Aldrich
Klozapin	C ₁₈ H ₁₉ ClN ₄	TCI Europe N.V
Tannik Asit	C ₇₆ H ₅₂ O ₄₆	Merck
Ticari kan serumu		Seronorm Human, high (serum control for clinical chemistry), SERO203005

Elektrokimyasal işlemler için Gamry Interface 1000B Potentiostat/Galvanostat/ZRA cihazı ve Bionalytical System (BAS) C3 hücre sistemi kullanılmıştır. Üç elektrotlu Bioanalytical System (BAS) hücre sistemi için karşıt elektrot olarak platin tel (Pt), referans elektrot olarak sulu ortam çalışmalarında Ag/AgCl/KCl(doy) referans elektrot,

susuz ortam çalışmalarında ise Ag/AgNO₃ referans elektrot ve çalışma elektrodu olarak modifiye edilmiş camsı karbon elektrot kullanılmıştır. pH ölçümlerinde Thermo scientific Orion 4 Star markalı cihaz kullanılmıştır. Ayrıca Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) ve EDX analizleri için Zeiss Evo LS 10 görüntüleme cihazı kullanılmıştır. Deneysel çalışmalar boyunca kullanılan her cihazın kalibrasyonları sıklıkla ve düzenli aralıklarla yapılmıştır.

4.2. Metot

4.2.1. Destek Elektrolitlerin ve Standartların Hazırlanması

1mM Klozapin çözeltisi: 3,95 mg Clp'nin 0,1 M HNO₃ çözeltisi içerisinde sonike edilerek çözülmesiyle stok çözeltisi hazırlanmıştır.

1 mM HCF(III) çözeltisi: 0,0825g K₃Fe[CN]₆'ün BR tamponu çözeltisi ile 50 mL'ye tamamlanmasıyla hazırlanmıştır.

1 mM Ferrosen çözeltisi: 0,0093 g (C₂H₅)₂Fe' nin 0,1 M'lık tetrabutilamonyum tetrafloroborat (TBATFB) çözeltisi ile 50 mL'ye tamamlanmasıyla hazırlanmıştır.

1 mM Rutenyum hegzamin (III) klorür çözeltisi: 28,543 mg Ru(NH₂)₆H₂O' nun 100 mM KCl çözeltisi ile 1 L'ye tamamlanmasıyla hazırlanmıştır.

1mM'lık 50mL HCF(III) – HCF(II) çözeltisi: 0,0165g HCF(III) ve 0,0211g HCF(II) bileşiklerinin, 0,1M KCl çözeltisi ile 50mL'ye tamamlanmasıyla hazırlanmıştır.

100 mM PBS: 2,051 g CH₃COONa, 3,4023 g KH₂PO₄, 8,9095 g HNa₂O₄P.12H₂O ve 3,723 g KCl'ün 500 mL'ye saf su ile tamamlanmasıyla hazırlanmıştır. İstenilen pH değerlerine 0,1 M'lık NaOH ve HCl çözeltilerinin ilaveleri yapılarak ayarlanmıştır.

100 mM BR tamponu: 0,572 mL saf HAc, 0,61g H₃BO₃, 0,67mL %85'lik H₃PO₄, 0,36g KCl'ün 250 mL'ye ultra saf su ile tamamlanmasıyla hazırlanmıştır.

100 mM TBATFB çözeltisi: 32,928 g C₁₆H₃₆BF₄N' in CH₃CN ile 1 L'ye tamamlanmasıyla hazırlanmıştır.

4.2.2. Modifiye Edicilerin Süspansiyonlarının Hazırlanması

Modifiye edici süspansiyonlar hazırlanmadan önce ticari olarak edinilmiş MWCNTs 5 saat boyunca derişik HNO₃ ve HClO₄ (7;3, V;V) çözelti karışımında sonike edilerek fonksiyonlandırılmıştırⁱ. Ardından ultra saf su ile nötralleşene kadar dekantasyon işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra filtrelenerek oda sıcaklığında kurutulmaya bırakılmış ve kullanıma hazır hale getirilmiştir.

MWCNTs Süspansiyonu: 1 mg MWCNTs'ün 5 mL kloroform içerisinde 60 dk sonike edilmesiyle hazırlanmıştır.

TA Süspansiyonu: 1 mg TA'in 5 mL kloroform içerisinde 60 dk sonike edilmesiyle hazırlanmıştır.

TA/MWCNTs Süspansiyonu: 1 mg MWCNTs 5 mL kloroform içeriisinde 5 dk süreyle sonike edilmesinin ardından çözeltiye 10 mg TA eklenerek çözeltinin 60 dk daha sonike edilmesiyle hazırlanmıştır.

4.3.3. Gerçek numunelerin hazırlanması

Klozapin tabletler: 4 adet klozapin tabletin 25 mL saf su içerisinde sonike edilmesiyle hazırlanmıştır.

Ürün: Soğutulmuş ürün örneği 2500 rpm'de 15 dk satrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası oluşan süpernatant filtre edilmiş ve 2 mL'si alınarak pH 8,0 PBS ile 15 mL'ye tamamlanmıştır.

Kan serumu: İnsan kan serumu ticari olarak temin edilmiştir (Serorm Human, high (serum control for clinical chemistry), SERO203005-10x5mL). Başka bir işleme tabi tutulmadan 2 mL ticari kan serumu alınarak ve 10 mL'ye pH 8,0 PBS ile tamamlanmıştır.

4.3.4. Çalışma Elektrodunun Temizlenmesi

GCE, çalışma elektrodu olarak kullanılmıştır. Elektrotların yüzeyi ultra saf su ile yıkanarak temizleme standında 2 farklı bölme olarak bulunan kadife kumaş yüzeylere 0,30 µm ve 0,05 µm boyutlarında alümina bulamaçları ayrı ayrı damlatılmıştır. Daha sonra GCE'abu kumaş yüzeylerdeki alümina bulamaçlarında sırasıyla ve eşit sayılarda hem saat yönünde hem de tersi yönde dairesel hareketler uygulanarak temizlikleri yapılmış ve elektrot yüzeyleri parlak hale getirilmiştir. Ardından yüzeyi temizlenen

elektrotlar 3 dakika saf suda sonikasyon işlemine tabi tutularak yüzeyde kalan alümina kalıntılarından tamamen arındırılmıştır. Ancak elektrot yüzeyinde kalabilecek olası diğer safsızlıklara karşı bunların arındırılması için temizleme solüsyonunda 3 dakika daha sonike edilerek olası safsızlıklar uzaklaştırılmıştır. Böylece ard arda uygulanan 2 aşamalı sonikasyon işleminden sonra elektrot yüzeyi tüm safsızlıklardan temizlenmiş, parlatılmış ve elektroanalitik çalışmalarda kullanım için hazır hale getirilmiştir. Bu işlemlere ek olarak çalışma elektrodunun yüzey temizliğinin kontrol edilebilmesi amacıyla temizlenmiş GCE yüzeyleri öncelikle 1,0 mM ferrosen çözeltisinde Ag/AgNO₃ referans elektroda karşı (Şekil 4.1.) daha sonra ise 1,0 Mm HCF(III) çözeltisinde Ag/AgCl/KCl(doy) referans elektroda karşı (Şekil 4.2.) CV tekniği ile karakterize edilmiştir. Redoks reaksiyonlarına ait piklerin potansiyel farkları değerlendirilerek Tablo 4.2.' ve Tablo 4.3.'de verilmiştir.

Tablo 4. 2. Yalın GCE yüzeyin 1,0 mM HCF(III) çözeltisinde +0,6/0,0 V potansiyel aralığında 100 mV/s tarama hızında CV tekniği ile alınan voltamogram verileri

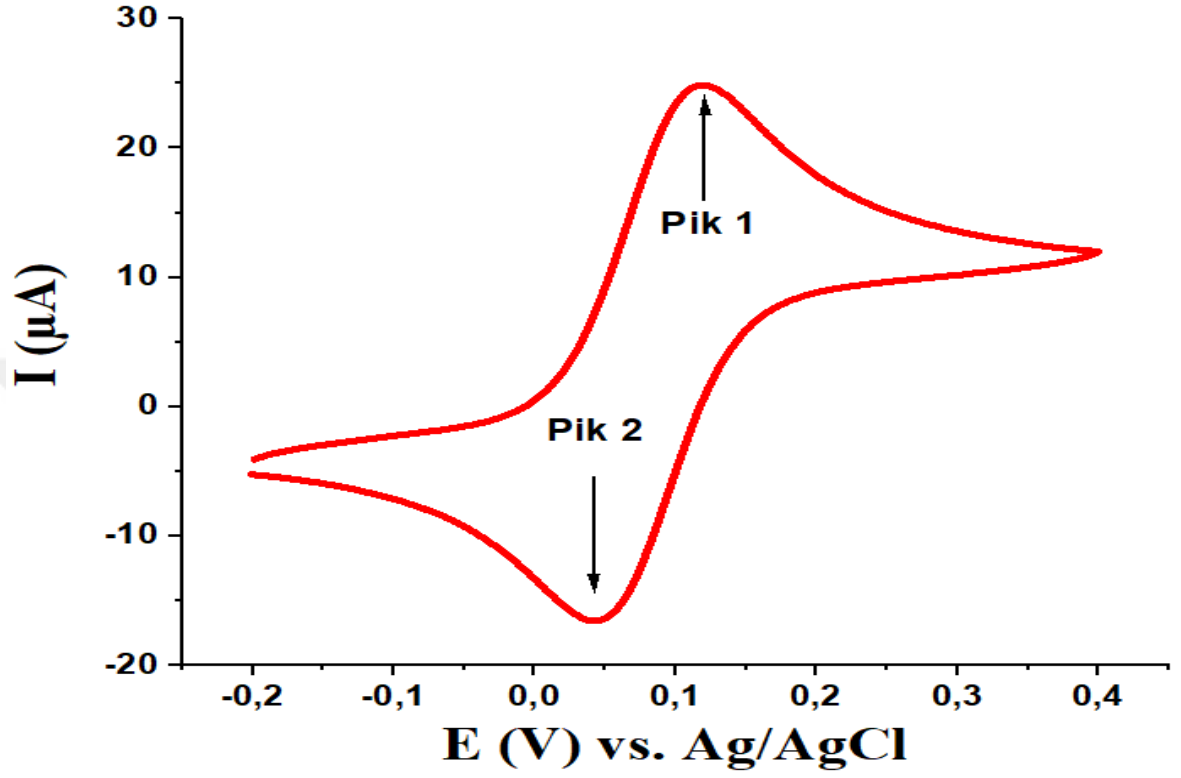
	Akım (µA)	Potansiyel (mV)	Sinyal	Yükseklik
Pik 1	15,37	333,6	2	15,37
Pik 2	-16,63	261,5	2	-16,63

Tablo 4. 3. Yalın GCE yüzeyin 1,0 mM ferrosen çözeltisinde -0,2/+0,4 V potansiyel aralığında 100 mV/s tarama hızında CV tekniği ile alınan voltamogram verileri

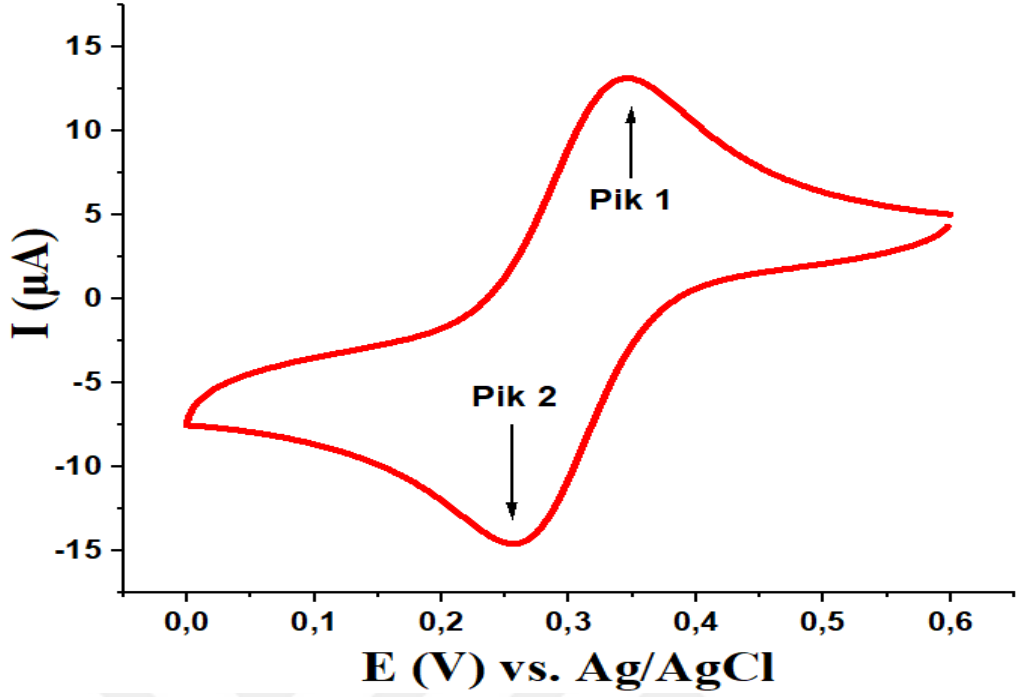
	Akım (µA)	Potansiyel (mV)	Sinyal	Yükseklik
Pik 1	24,84	121,4	2	24,84
Pik 2	-16,41	49,39	2	-16,41

Tablo 4.2. ve Tablo 4.3.'de verilen voltamogramlara ait pik potansiyelleri farkı (ΔE_p) ferrosen ve HCF(III) çözeltileri için sırasıyla 72,01mV ve 72,1 mV olarak hesaplanmıştır. Tersinir bir elektrot reaksiyonu için pik potansiyelleri farkının $59/n$ (Tersinirlik kriterleri $\Delta E_p = E_{pa} - E_{pk} = 59/n$ mV) olması gerektiği bilinmektedir [166, 167]. Her iki redoks probununda belirtilen tersinirlik sabiti kriterinin kapsamında oluşu temizlenmiş yalın GCE yüzeyin elektrokimyasal olarak aktif olduğunu ve hem referans hem de çalışma elektrotlarının doğru ve hassas bir şekilde çalıştığını göstermektedir. Böylece çalışma

elektrodu olarak kullanılması planlanan GCE'un, elektrokimyasal ölçümler için başarıyla uygulanabilir olduğu söylenebilir.



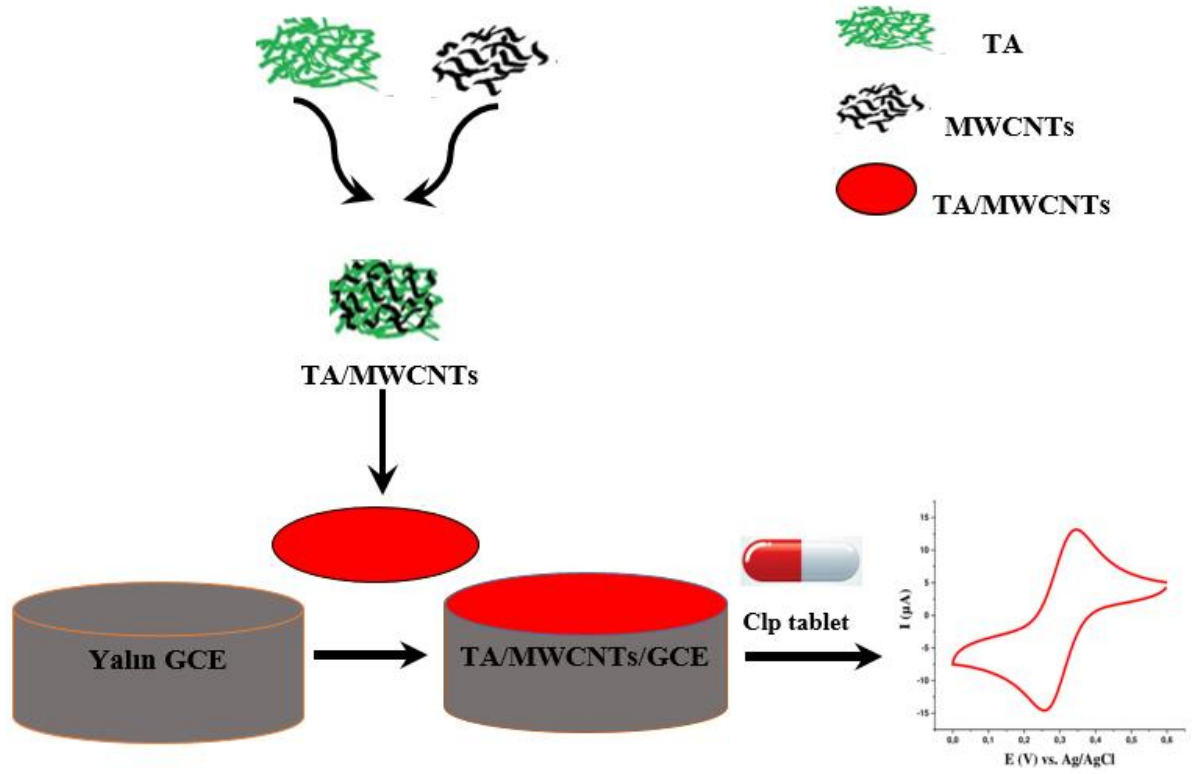
Şekil 4. 1. Yalın GCE yüzeyin 1,0 mM ferrosen çözeltisinde -0,2/+0,4 V potansiyel aralığında Ag/AgNO₃ referans elektroda karşı 100 mV/s tarama hızında CV tekniği ile alınan voltamogramı



Şekil 4. 2. Yalın GCE yüzeyin 1,0 mM HCF(III) çözeltisinde +0,6/0,0 V potansiyel aralığında Ag/AgCl/KCl(doy) referans elektroda karşı 100 mV/s tarama hızında CV tekniği ile alınan voltamogramı

4.3.5. Elektrot yüzeylerinin Modifikasyonu

Yalın GCE yüzeyine; 5,0 µL MWCNTs süspansiyonunun immobilize edilmesiyle MWCNTs/GCE yüzey, 5,0 µL TA süspansiyonu immobilize edilmesiyle TA/GCE yüzey ve 5,0 µL TA/MWCNTs nanompozit süspansiyonunun immobilize edilmesiyle TA/MWCNTs/GCE yüzey elde edilmiş ve bu işlem şematize edilerek Şekil 4.3.'de gösterilmiştir.



Şekil 4. 3. Yalın GCE, MWCNTs/GCE, TA/MWCNTs/GCE yüzeylerin hazırlanması

4.3.6. Yalın ve Modifiye GCE Yüzeylerin Karakterize Edilmesi

Hem yalın GCE, hem de TA/GCE, MWCNTs/GCE ve TA/MWCNTs/GCE modifiye yüzeylerin, ferrosen, HCF(III), rutenyum hegzamin (III) klorür ve HCF(II) – HCF(III) redoks problemlerinde CV tekniği ile karakterizasyonları için sırasıyla;

- ✓ 1,0 mM ferrosen çözeltinde, -0,2 / +0,4 V potansiyel aralığında, 100 mV/s tarama hızında, Ag/AgNO₃ referans elektroda,
- ✓ 1,0 mM HCF(III) çözeltisinde, +0,6 / 0,0 V potansiyel aralığında, 100 mV/s tarama hızında, Ag/AgCl referans elektroda,
- ✓ 1 mM Rutenyum hegzamin (III) klorür çözeltisinde -0,5/0,2 V potansiyel aralığında 100 mV/s tarama hızında Ag/AgCl referans elektroda,
- ✓ 5mM HCF(III)-(II) çözeltisinde, -0.3 / 0.8 V potansiyel aralığında 100mV/s tarama hızında Ag/AgCl referans elektroda karşı voltamogramları kaydedilmiştir.

TA, MWCNTs ve TA/MWCNTs yapılarının GCE yüzeyine tutunma biçimine dair fikirler sunabilmek ve modifikasyondan sonra yüzeylerde protonlanabilecek aktif bir grup veya grupların olup olmadığına dair bilgi edinmek için yalın GCE, TA/GCE, MWCNTs/GCE ve TA/MWCNTs/GCE yüzeylerinin her birinin voltamogramları pH'ı 2,0; 3,0; 5,0; 7,0; 9,0;

ve 11,0'e ayarlanmış BR tampon çözeltileri hazırlanmış 1,0 mM HCF(III) probalarında ayrı ayrı kaydedilmiştir (+0,6/0,0 V potansiyel aralığında, 100 mV/s tarama hızında ve Ag/AgCl/KCl(doy) referans elektroduna karşı).

TA, MWCNTs ve TA/MWCNTs yapılarının GCE yüzeyindeki elektron transfer biçiminin belirlenebilmesi için yalnız GCE, TA/GCE, MWCNTs/GCE ve TA/MWCNTs/GCE yüzeylerinin her birinin voltamogramları 100 mM TBA-TFB içeren CH₃CN'de hazırlanan 1,0 mM ferrosen probunda, -0,2/0,4 V potansiyel aralığında, 25; 50; 100; 200; 300; 400; 500; 600; 700; mV/s tarama hızlarında Ag/AgNO₃ referans elektroduna karşı kaydedilmiştir.

TA/GCE, MWCNTs/GCE ve TA/MWCNTs/GCE modifiye yüzeylerin morfolojik özelliklerini belirleyebilmek için GCE plakalar optimum koşullarda modifiye edilmiş ve 200 nm'de SEM görüntüleri alınmış, TA/MWCNTs/GCE yüzeyde ise ayrıca EDX analizi yapılarak yüzeydeki nanokompozitin başlıca elementleri belirlenmiştir.

4.3.7. TA/MWCNT Nanokompozitinin Optimizasyonu

TA ve MWCNTs, sırasıyla 0,5:0,5 mg; 1,0:0,5 mg; 0,5:0,1 mg; 1,0:0,1 mg ve 0,1:1,0 mg oranlarında karıştırılarak Clp için oluşturdukları elektrokimyasal cevapları karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Bununla birlikte GCE yüzeyine TA/MWCNTs kombinasyon süspansiyonu 1,0, 3,0, 5,0 ve 7,5 µL miktarlarında immobilize edilerek modifiye edilmiş ve Clp için elektrokimyasal duyarlılığı CV tekniği ile incelenmiştir. GCE yüzeyine modifiye edilen TA/MWCNTs kombinasyon süspansiyonun karışma oranı 1,0:0,1 mg ve damlatılan süspansiyon miktarı 5,0 µL olduğunda Clp için iyi tanımlanmış daha yüksek akımda voltametrik bir pik oluşumu gösterdiği tespit edilmiştir.

4.3.8. TA/MWCNT/GCE Elektrokimyasal Sensörüne Yönelik Elektrokimyasal Uygulamalar

pH etkisinin incelenmesi: TA/MWCNTs/GCE yüzeyin 0,2/0,9 V/s potansiyel aralığında 50mV/s tarama hızında ve sırasıyla pH'ı 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0 ve 9,0 olan 0,1 M PBS çözeltilerinde CV tekniği ile voltamogramları alınmıştır.

Tarama hızı etkisinin incelenmesi: TA/MWCNTs/GCE yüzeyin 0,1 M pH 8,0 PBS'de 25; 50; 75; 100; 125; 150; 175; 200; 225; 250; 275 mV/s tarama hızlarında CV tekniği ile voltamogramları alınmıştır.

4.3.9. TA/MWCNTs/GCE Elektrokimyasal Sensörünün Yeniden üretilebilirliği, Kararlılığı ve Tekrarlanabilirliği

Clp'nin hassas tayini için geliştirilmiş olan voltametrik platformun (TA/MWCNTs/GCE) performansının değerlendirilebilmesi için optimum koşullarda yeniden üretilebilirlik, kararlılık ve tekrarlanabilirlik gibi performans kriterleri incelenmiştir.

Yeniden Üretilebilirlik: Aynı koşullarda 4 farklı GCE kullanılarak 4 yeni TA/MWCNTs/GCE hazırlanmış ve 10,0 µM Clp içeren pH 8,0 PBS'de 50 mV tarama hızında CV tekniği ile voltamogramları kaydedilmiştir.

Kararlılık: TA/MWCNTs/GCE sırasıyla pH 8,0 PBS'de 0 saat, 1, 2, 3, 4, 5 gün, 1 hafta, 2 hafta, 3 hafta ve 4 hafta süreyle bekletilmiş ardından oda sıcaklığında kurutulmuş ve 50 mV tarama hızında voltamogramları kaydedilmiştir. Ayrıca kullanım ömrü hakkında fikir edinilebilmesi amacıyla geliştirilen sensörün 20 kez ard arda dönüşümlü voltamogramları alınmıştır.

Tekrarlanabilirlik: Bir tane GCE aynı prosedürle 4 kez hazırlanarak TA/MWCNTs/GCE elde edilmiş ve 10,0 µM Clp içeren pH 8,0 PBS'de 50 mV tarama hızında dönüşümlü voltamogramları alınmıştır.

Girişim etkisi: Önerilen sensörün (TA/MWCNTs/GCE) klozapinin seçiciliğindeki etkisini incelenmek için pH 8,0 PBS'de 100 kat daha yüksek derişime sahip laktoz, tartarik asit, ürik asit, askorbik asit, dopamin, glisin, sitrik asit, sukroz, üre, haloperidol, risperidon türlerini bir arada içeren ve içermeyen 50,0 µM'lık Clp çözeltileri hazırlanmış ve voltamogramları kaydedilmiştir. Daha sonra her bir bileşenin Clp'in voltametrik sinyalleri üzerinde oluşturabileceği potansiyel etkisini tek tek incelenmek için 100 kat daha yüksek derişime sahip laktoz, tartarik asit, ürik asit, askorbik asit, dopamin, glisin, sitrik asit, sakaroz, haloperidol, risperidon, ürenin 50,0 µM'lık Clp ile ayrı ayrı çözeltileri hazırlanmış ve voltamogramları kaydedilmiştir.

4.3.10. TA/MWCNTs/GCE Elektrokimyasal Sensörü ile Gerçek Numunelerde Hedef Analit Clp'in Tayini

Geliştirilen sensörün gerçek numunelerde Clp tayininde gösterebileceği hassasiyeti tespit etmek amacıyla 4 adet klozapin tablet 25 mL saf su içinde sonikasyon işlemine tabi tutularak çözülmüş ve tablet solüsyonu elde edilmiştir. Ticari olarak satın alınan kan serumu ve ürün örneklerine standart ekleme yöntemi kullanılarak 1,0, 2,0, 4,0 ve 6,0

nM'lık konsantrasyonlarda Clp ilaveleri yapılmış ve pH 8,0 PBS ortamında SWV tekniği ile kare dalga voltamogramları alınmıştır.



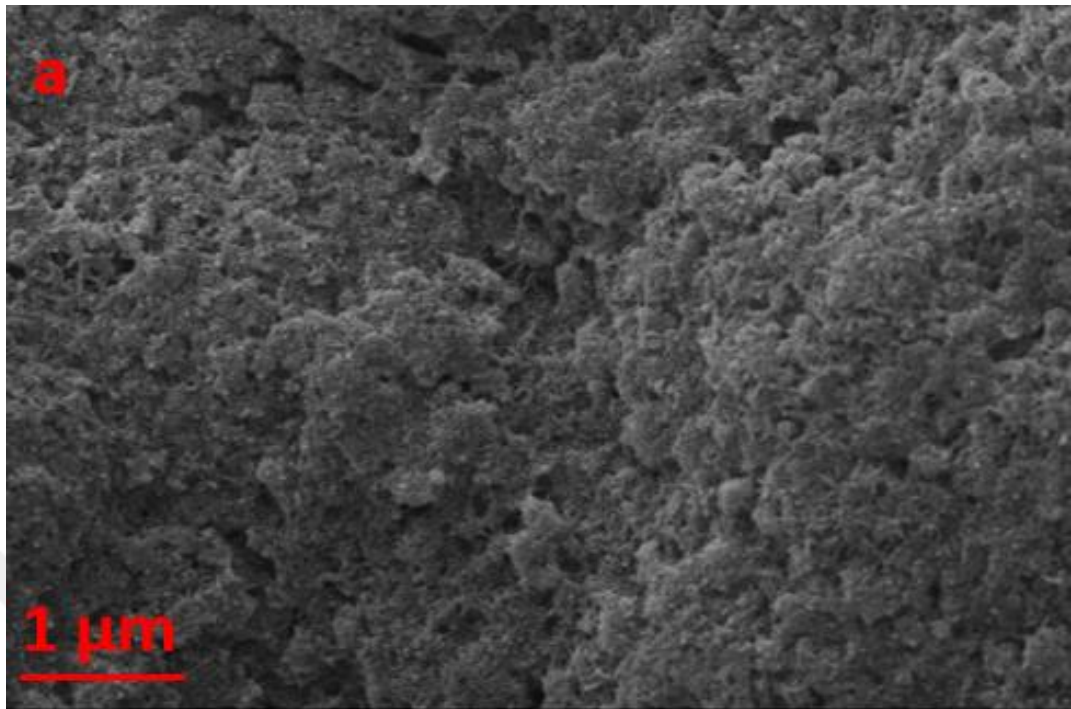
BÖLÜM 5

SONUÇ TARTIŞMA

Sunulan tez çalışması kapsamında ilk bölümde ticari MWCNTs'in fonksiyonlandırılması, ardından TA, MWCNTs ve TA/MWCNTs nanokompozit süspansiyonlarının elde edilmesi ve elde edilen bu süspansiyonların yalnız GCE yüzeylerine immobilize edilerek modifiye yüzeylerin (TA/GCE, MWCNTs/GCE, TA/MWCNTs/GCE) oluşturulması ve karakterize edilmesi sağlanmıştır. İkinci bölüm ise geliştirilen elektrokimyasal sensör platformunun Clp'in kantitatif tayininde kullanımına yönelik geçerliliğinin saptanabilmesi, gerçek numunelere uygulanabilirliğini, kararlılığını ve bu amaçlar doğrultusunda elde edilmiş olan elektrokimyasal sonuçları kapsamaktadır.

5.1. MWCNTs/GCE ve TA/MWCNTs GCE Yüzeylerin Taramalı Elektron Mikroskobu ile İncelenmesi

Hedef analit Clp'in yüksek hassasiyetle tayininin gerçekleştirilebilmesinde kullanılan modifiye yüzeylerin morfolojisinin aydınlatılması önemli fikirler sunmaktadır. Bu nedenle kloroform içine dispers edilen MWCNTs ve TA/MWCNTs modifiye edicilerin GCE elektrot yüzeyleri üzerine immobilize edildikten sonra SEM tekniği ile 200 nm boyuttaki yüzey görüntüleri kaydedilmiş ve Şekil 5.1.'de sunulmuştur. Şekil 5.1.(a)'da verilen MWCNTs/GCE yüzeye ait SEM görüntüsü incelendiğinde aglomerasyon olmadan MWCNT'lerin GCE yüzeyinde homojen olarak dağıldığı gözlenmektedir. Şekil 5.1.(b)'de sunulan TA/MWCNTs/GCE yüzeye ait SEM görüntüsü TA'in parçalanmaya dayanıklı, çok kollu polifenol yapısına sahip ve flavonoid oligomer polimerleri sayesinde fonksiyonlandırılmış MWCNTs'lerin yapısına homojen dağılarak grift bir yapı sergilediğini göstermiştir. Ayrıca modifiye TA/MWCNTs/GCE yüzeyinin elementel bileşimi SEM-EDX tekniği ile incelenmiştir (Şekil 5.1.(c)) ve beklenildiği gibi, EDX sonuçları kompozitin yapısındaki ana elementler olan C, O ve N'un yüzeyde olduğunu göstermiştir.

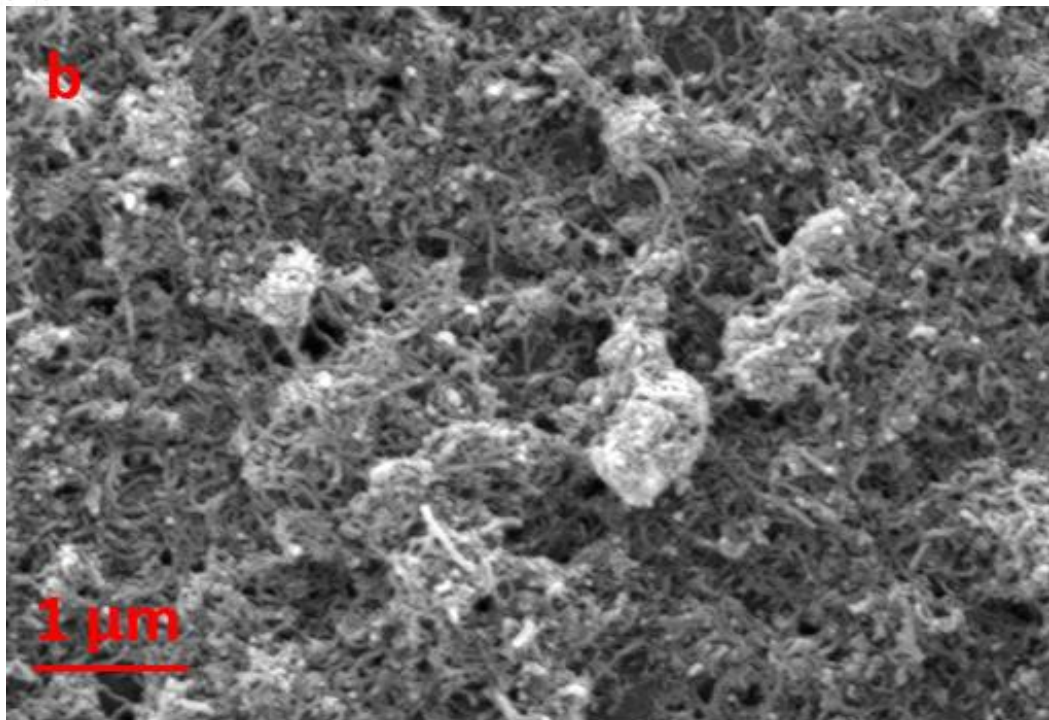


1 μm

EHT = 25.00 kV

Mag = 10.00 K X

 **ernam**
ELECTRONIC NANOSCALE ANALYSIS
MATERIALS CHARACTERIZATION

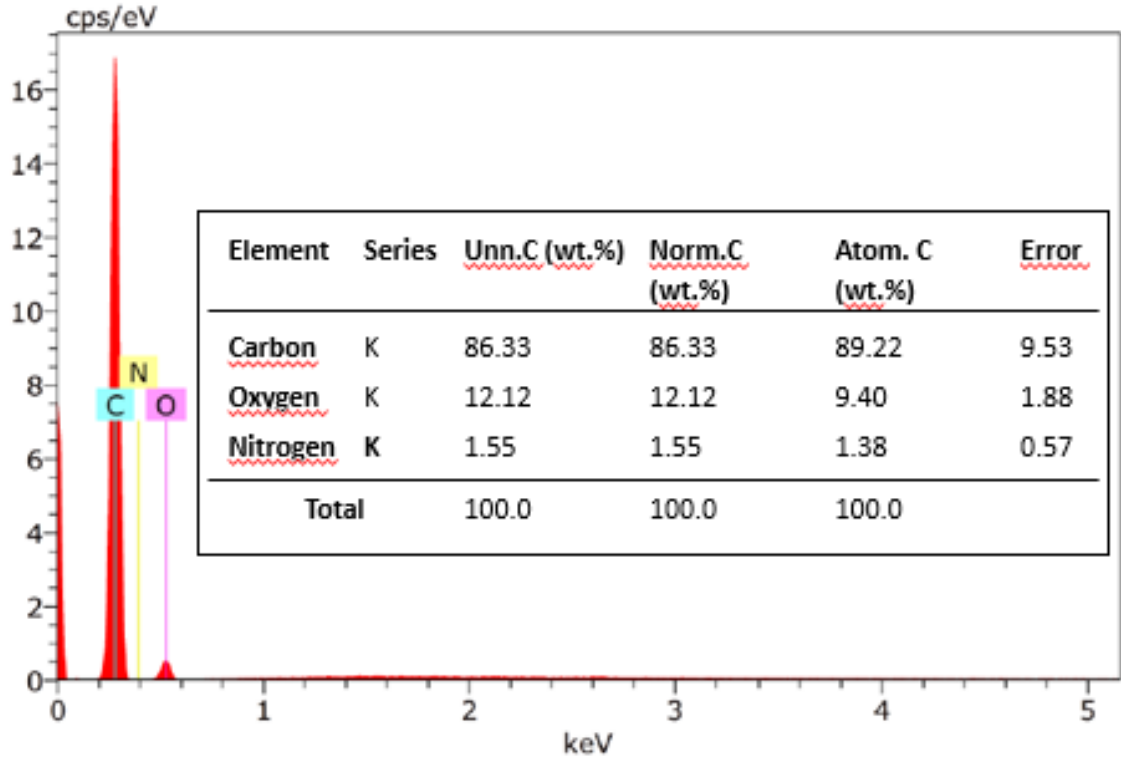


1 μm

EHT = 25.00 kV

Mag = 25.00 K X

 **ernam**
ELECTRONIC NANOSCALE ANALYSIS
MATERIALS CHARACTERIZATION

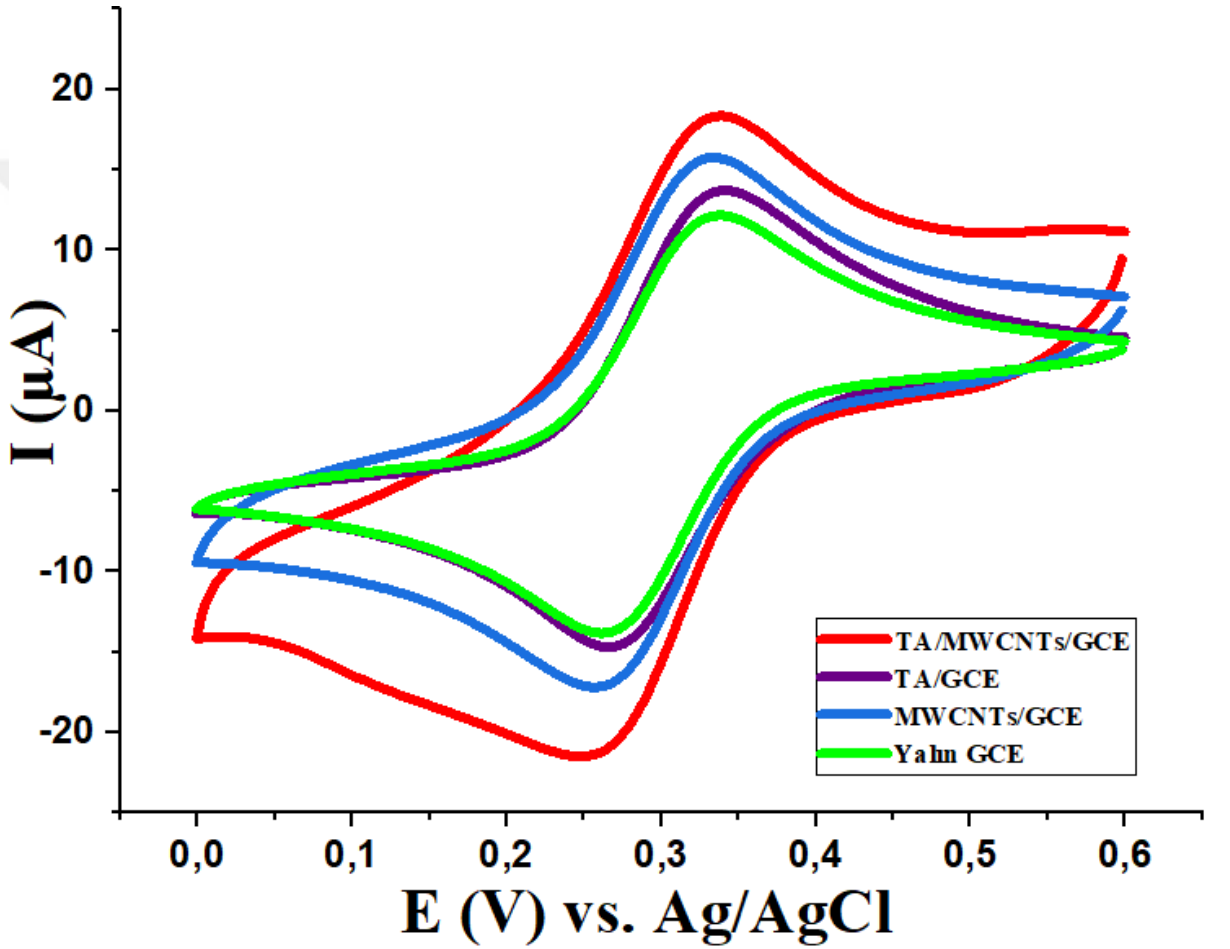


Şekil 5.1. (a) MWCNTs/GCE, (b) TA/MWCNTs/GCE yüzeylere ait SEM görüntüleri, (c) TA/MWCNTs/GCE yüzeylere ait SEM-EDX görüntüleri

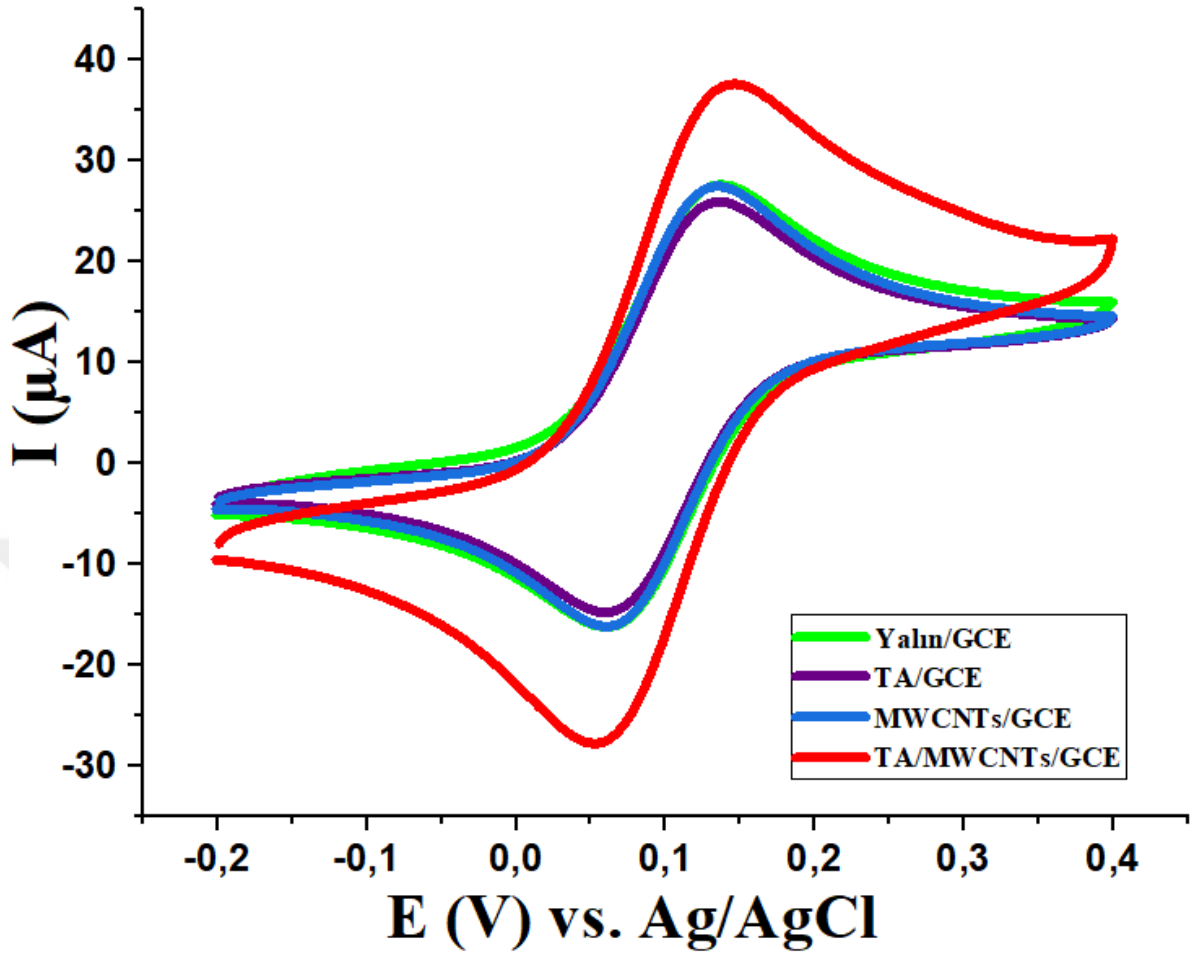
5.2. Yalın GCE, TA/GCE, MWCNTs/GCE ve TA/MWCNTs/GCE Yüzeylerin CV ile Karakterizasyonu

Redoks problemler varlığında gerçekleştirilen yüzey testlerinde CV tekniği, yüzey ile elektrolit arasında elektron transferi olup olmadığını ortaya koyan etkili bir yöntemdir. Bu nedenle yalın GCE, TA/GCE, MWCNTs/GCE ve TA/MWCNTs/GCE yüzeylerinin elektrokimyasal davranışları CV tekniği kullanılarak sırasıyla HCF(III), ferrosen, HCF(II) – HCF(III) ve rutenyum hegzamin (III) klorür problemlerinde ayrı ayrı incelenmiştir. Modifiye GCE yüzeylerin elektrokimyasal davranışları yalın GCE yüzeyin elektrokimyasal davranışı ile karşılaştırılmıştır. Şekil 5.2.'de yalın/GCE, MWCNTs/GCE; TA/GCE; TA/MWCNTs/GCE yüzeylerin 0,0/0,6 V potansiyel aralığında, 100 mV/s tarama hızında HCF(III) probundaki voltamogramları verilmiştir. HCF(III) probundaki voltamogramlar incelendiğinde MWCNTs/GCE'un pik akımının TA/MWCNTs/GCE'dan daha büyük olduğu görülmektedir. Bu durum MWCNTs'in sahip olduğu geniş yüzey alanı ve elektrot yüzeyinde katalitik aktiviteyi artırmalarına olanak sağlayan fonksiyonel grupların varlığının iletkenliği artırmasıyla açıklanabilir [168-170]. TA/MWCNTs/GCE'un TA/GCE ve MWCNTs/GCE modifiye yüzeyleriyle

kıyaslandığında en iyi voltametrik pik akımı yanıtını göstermesi MWCNTs'in sahip olduğu yüksek elektriksel iletkenliği ve yapısındaki fonksiyonel grupların, çok kollu polifenolik yapıdaki TA'in yapısındaki fonksiyonel gruplar ile birleşimi sayesinde elde edilen nanokompozitin yüzeyin algılama kabiliyetini geliştirmesi ve elektrot yüzey alanını ve iletkenliğini arttırarak, elektron aktarım hızını iyileştirmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir [171].



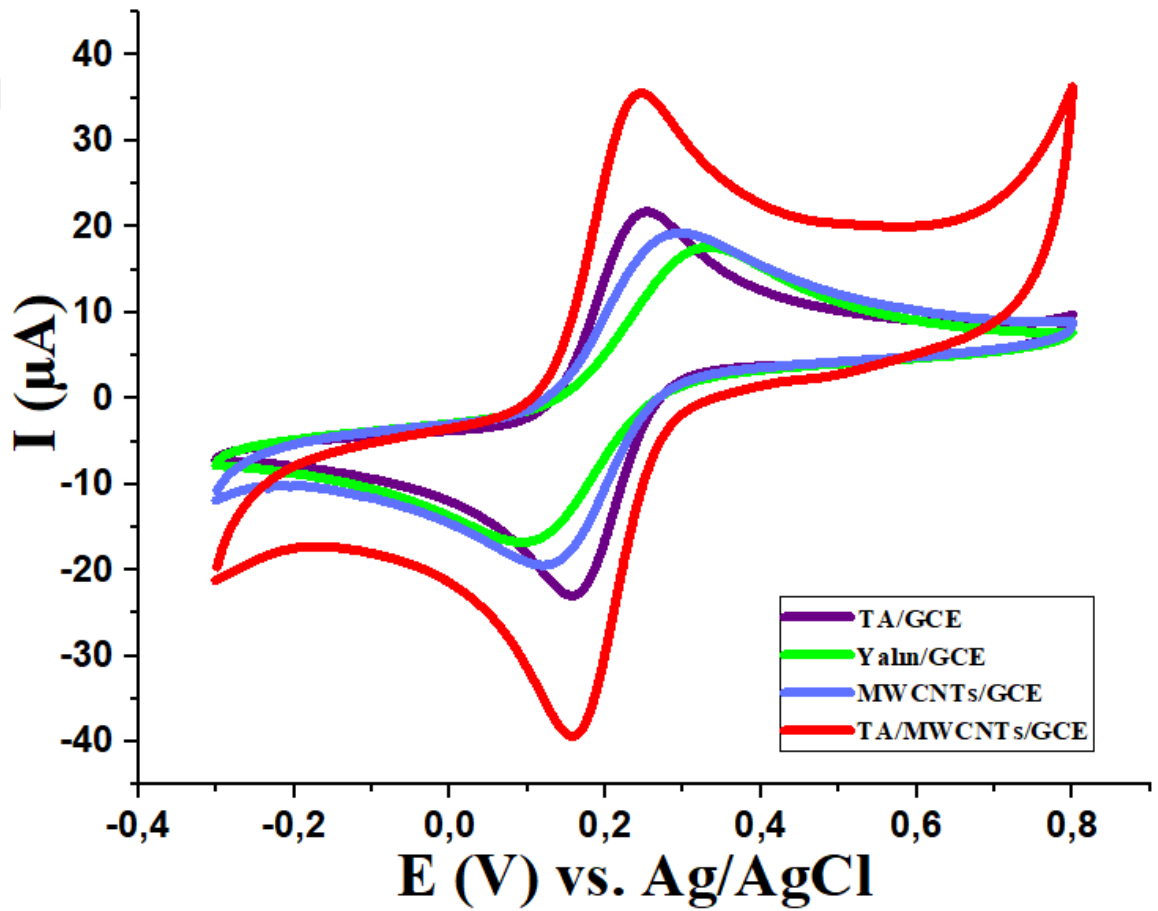
Şekil 5.2. 1,0 mM HCF(III) çözeltisinde 0,0/0,6 V potansiyel aralığında 100 mV/s tarama hızında Ag/AgCl/KCl(doy) referans elektroduna karşı yalın/GCE, TA/GCE, MWCNTs/GCE, TA/MWCNT/GCE yüzey voltamogramları



Şekil 5. 3. 1,0 mM ferrosen çözeltisinde -0,2/0,4 V potansiyel aralığında 100 mV/s tarama hızında Ag/AgNO₃ referans elektroduna karşı yalın/GCE, TA/GCE, MWCNTs/GCE, TA/MWCNTs/GCE yüzey voltamogramları

Şekil 5.3. 'de yalın/GCE, TA/GCE, MWCNTs/GCE, TA/MWCNTs/GCE yüzeylerin -0,2/0,4V potansiyel aralığında 100 mV/s tarama hızında ferrosen probundaki voltamogramları verilmiştir. Yüzeylerin ferrosen probundaki voltamogramları incelendiğinde, yalın GCE, TA/GCE ve MWCNTs/GCE yüzeylerin oluşturduğu anodik pik akım değerlerinin birbirine yakın olduğu TA/MWCNTs yüzeyin ise en iyi elektrokatalitik aktiviteyi göstererek en yüksek pik akımı sağlediği görülmektedir. Bu durum TA'in yapısında çok sayıda hidroksil grubu ve fonksiyonel grup içermesi sebebiyle elektrokimyasal moleküllerle çapraz bağlar oluşturabilmesiyle ve çok sayıda aktif fenolik grup içermesi nedeniyle de kovalent ve/veya kovalent olmayan bağlar yoluyla çeşitli elektrot yüzeylerine tutunabilen çoklu TA yapısına dönüşerek yüzeyin modifikasyonunu başarılı bir şekilde değiştirmesiyle ilişkilendirilmektedir. Çoklu fonksiyonel yapıdaki TA'in elektrot yüzeyinde oluşturduğu iyi tutunma sayesinde yüzeyde mükemmel bir

biyoyumluluk göstermesi, biyolojik olarak yüzeyde meydana gelebilecek parçalanmayı önleyerek yüzeyin modifiye formunu koruması sayesinde ferrosenin prob olarak kullanıldığı TA/MWCNTs/GCE yüzeyde elektron aktarımına izin verdiği, yani modifiye edici tür olarak kullanılan kompozit yapıların elektrot yüzeyini elektroaktif hale getirmediği gözlenmiştir. Bu nedenle ferrosen probuna ait reaksiyonlarda elde edilen voltametrik yanıtların yalnız GCE ve modifiye GCE yüzeylerde elektron aktarımı engelleyen bir blokaj oluşturmada elektron transferine izin verdiği sonucu elde edilmiştir.

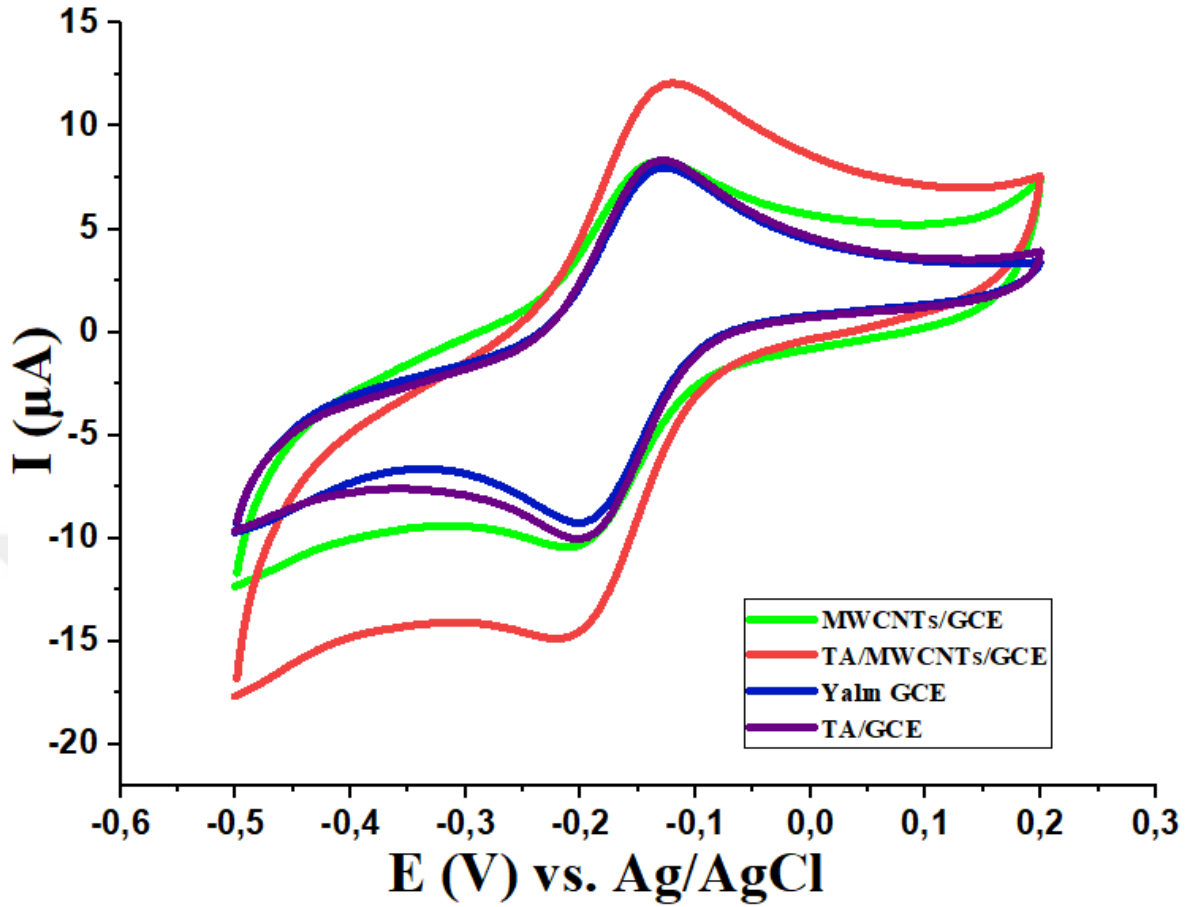


Şekil 5. 4. 5,0 mM HCF(III)-HCF(II) çözeltisinde -0,3/0,8 V potansiyel aralığında 100 mV/s tarama hızında Ag/AgCl/KCl(doy) referans elektroduna karşı yalnız/GCE, TA/GCE, MWCNTs/GCE, TA/MWCNTs/GCE yüzey voltamogramları

Şekil 5.4'. de yalnız/GCE, TA/GCE, MWCNTs/GCE, TA/MWCNTs/GCE yüzeylerin -0,3/0,8 V potansiyel aralığında 100 mV/s tarama hızında alınan HCF(III)-HCF(II) probuna ait yüzey voltamogramı verilmiştir. Yalnız GCE ve modifiye GCE elektrot yüzeylerde indirgenme ve yükseltgenmeye ait pikler görülmüştür. Bunun nedeni çözelti

içerisinde bulunan Fe^{2+} iyonları önce Fe^{3+} iyonlarına yükseltgenirken, sonrasında tam tersi olay gerçekleşmekte ve Fe^{3+} iyonları Fe^{2+} iyonlarına indirgenmektedir. Ayrıca HCF(III)-HCF(II) probuna karşı elde edilen voltametrik yanıtlar incelendiğinde yalnız GCE ve MWCNTs/GCE yüzeyin birbirine benzer pik akımı yanıtları sergilediği ve pik potansiyellerinde kaymalar olduğu, ancak en iyi voltametrik yanıtı TA/MWCNTs/GCE yüzeyin sergilediği görülmüştür. Gözlemlenen bu sonuç TA'nın hidrolizle parçalanmaya karşı dayanıklı karbon – karbon bağlı flavonoid ünitelerindeki oligomer polimerlerinin, fonksiyonlandırılmış karbon nanotüplerle kombine halinde buldukları yüzeylerde mükemmel bir yüzey uyumu göstermesine atfedilebilir. Bu sayede TA/MWCNTs nanokompoziti GCE yüzeydeki elektron transferini HCF(III)-HCF(II) probunda daha fazla katalizlemiştir.

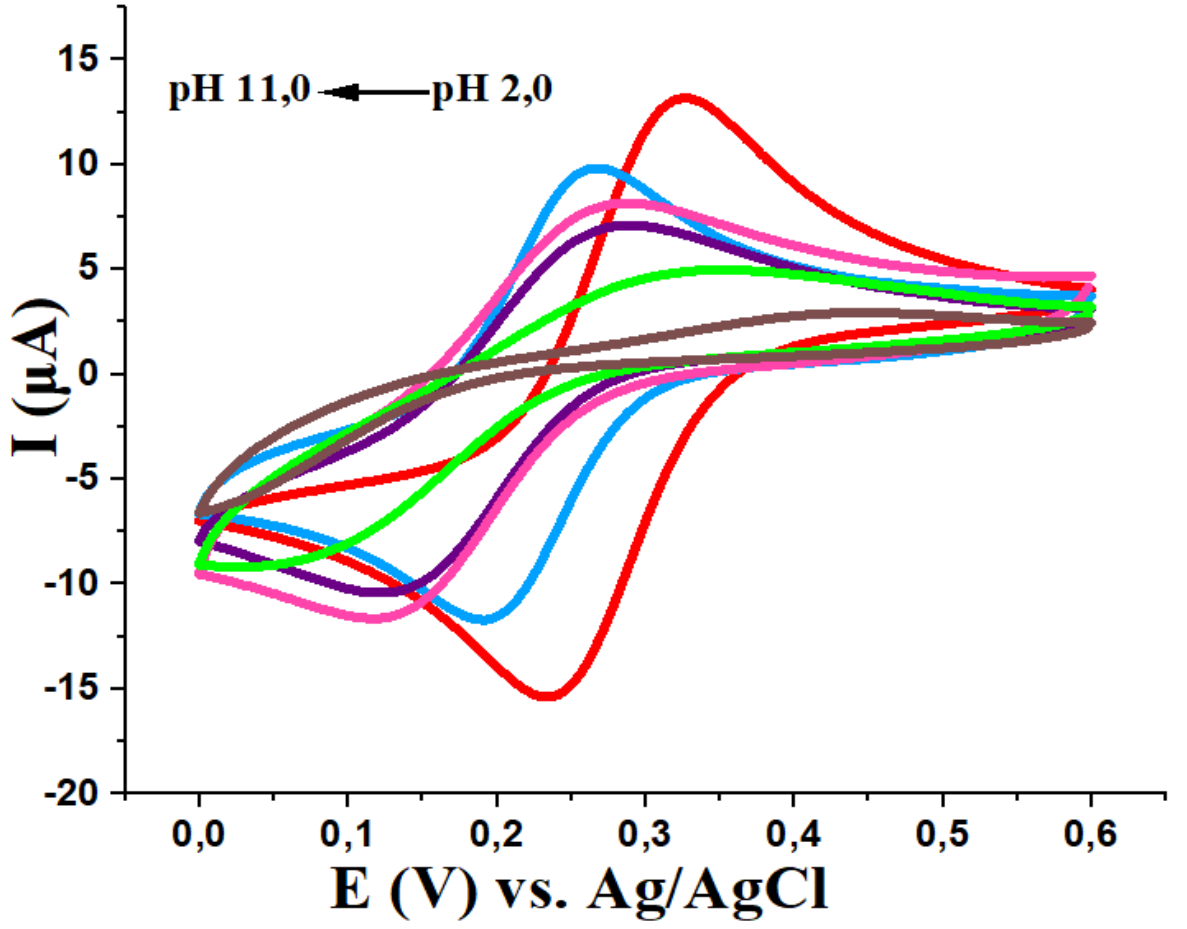
Şekil 5.5.'de yalnız GCE, TA/GCE, MWCNTs/GCE, TA/MWCNTs/GCE yüzeylerin -0,5/0,2 V potansiyel aralığında 100 mV/s tarama hızında alınan rutenyum hegzamin (III) probuna ait yüzey voltamogramı verilmiştir. Rutenyum hegzamin (III) probuna ait voltamogramlar incelendiğinde indirgenme ve yükseltgenme reaksiyonları için hem yalnız GCE hem de TA/GCE, MWCNTs/GCE, TA/MWCNTs/GCE yüzeylerin rutenyuma karşı duyarlı olduğu görülmektedir. Yalnız GCE, MWCNTs/GCE ve TA/GCE yüzeyleri rutenyum hegzamin (III) probuna karşı hemen hemen aynı duyarlılıkta bir voltametrik yanıt oluştururken, TA/MWCNTs/GCE yüzeyi oldukça iyi tanımlanmış bir pik akım sergilemiştir. Rutenyum hegzamin (III) probuna karşı TA/MWCNTs/GCE yüzeyin göstermiş olduğu bu yüksek duyarlılık, TA'nın elektokimyasal bir sensörün arayüzü olma noktasında uyumlu bir polimer maddesi olması sebebiyle karbon temelli nano yapılar ile entegrasyona girdiğinde, TA/MWCNTs nanokompozit yapılarında bulunan fenolik yapılarla esterleşmiş hidroksil gruplarının istiflenme şeklinde oluşturdukları güçlü π - π etkileşimleri sayesinde modifiye edilmesi istenen elektrot yüzeyinin algılama kabiliyetini ve hassasiyetini ciddi ölçüde arttırabilmesinden kaynaklandığı düşünülmüştür.



Şekil 5. 5. 1,0 mM rutenyum hegzamin (III) çözeltisinde -0,5/0,2 V potansiyel aralığında 50 mV/s tarama hızında Ag/AgCl/KCl(doy) referans elektroduna karşı yalın/GCE, TA/GCE, MWCNTs/GCE, TA/MWCNTs/GCE yüzey voltamogramları

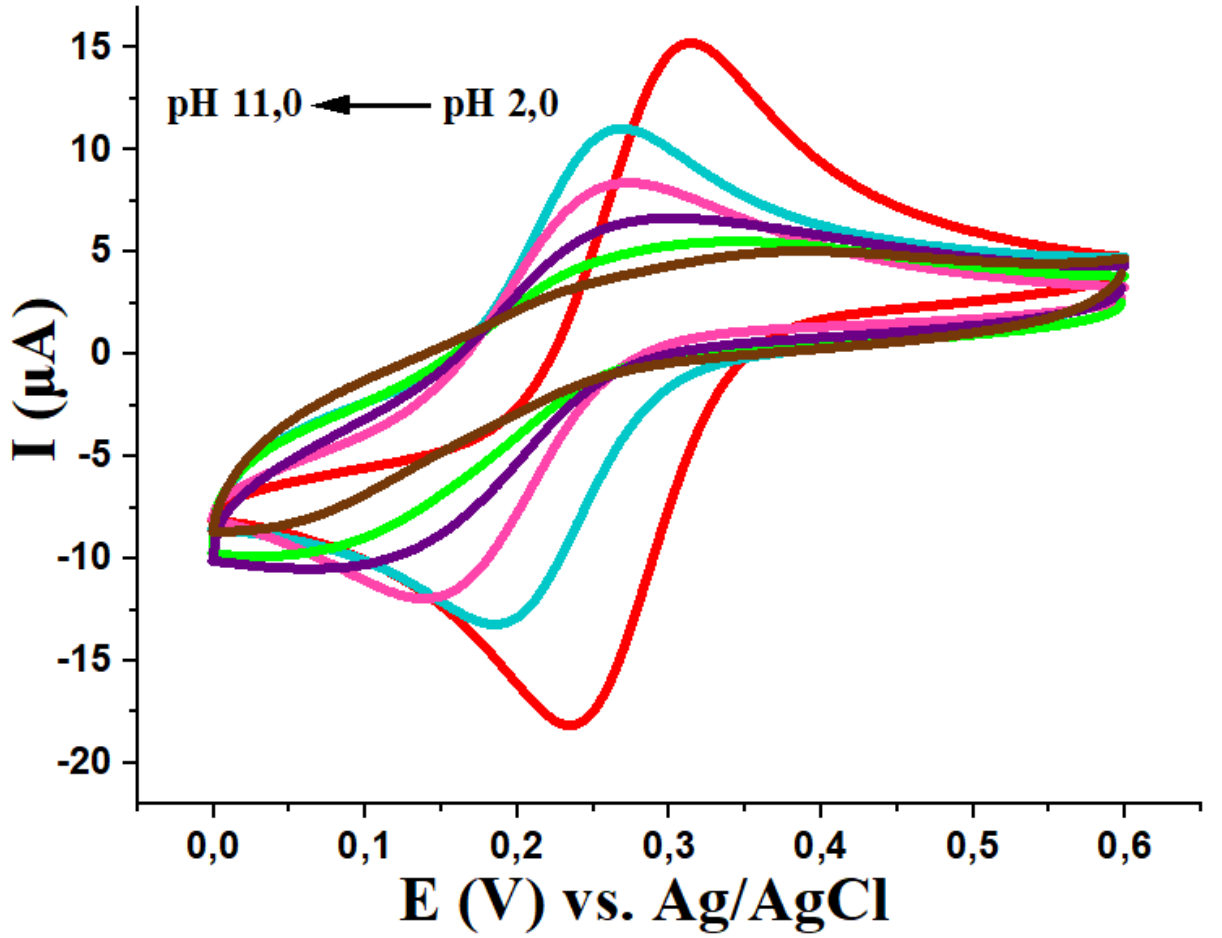
5.3. Yalın GCE, MWCNTs/GCE, TA/GCE ve TA/MWCNTs/GCE Yüzeylerde pH Çalışması

Yalın GCE, TA/GCE, MWCNTs/GCE ve TA/MWCNTs/GCE yüzeylerde +0,6-0,0 V potansiyel aralığında 100m V/s tarama hızında CV tekniği kullanılarak 2,0 - 11,0 pH değerleri aralığında 1,0 Mm HCF(III) redoks probunun Ag/AgCl/KCl(doy) referans elektroduna karşı alınan voltametrik yanıtları incelenmiş ve Şekil 5.6.'da verilmiştir. Şekil 5.6. incelendiğinde yalın GCE yüzeyinde pH 2,0 ve 3,0'de alınan dönüşümlü voltamogramlarında pik akımı gözlemlenmemiştir. Ancak yalın GCE yüzeyde pH artışıyla birlikte pik akımlarında da artışlar görülmüş ve yalın GCE yüzeyin pH'a karşı duyarlılık gösterdiği sonucuna varılmıştır. Ayrıca yalın GCE yüzeyde pH artışıyla birlikte pik akımlarında artışlar gözlenmesinin yanı sıra pH 7,0'den sonra ise pik potansiyellerinde kaymalar olduğu görülmüştür.



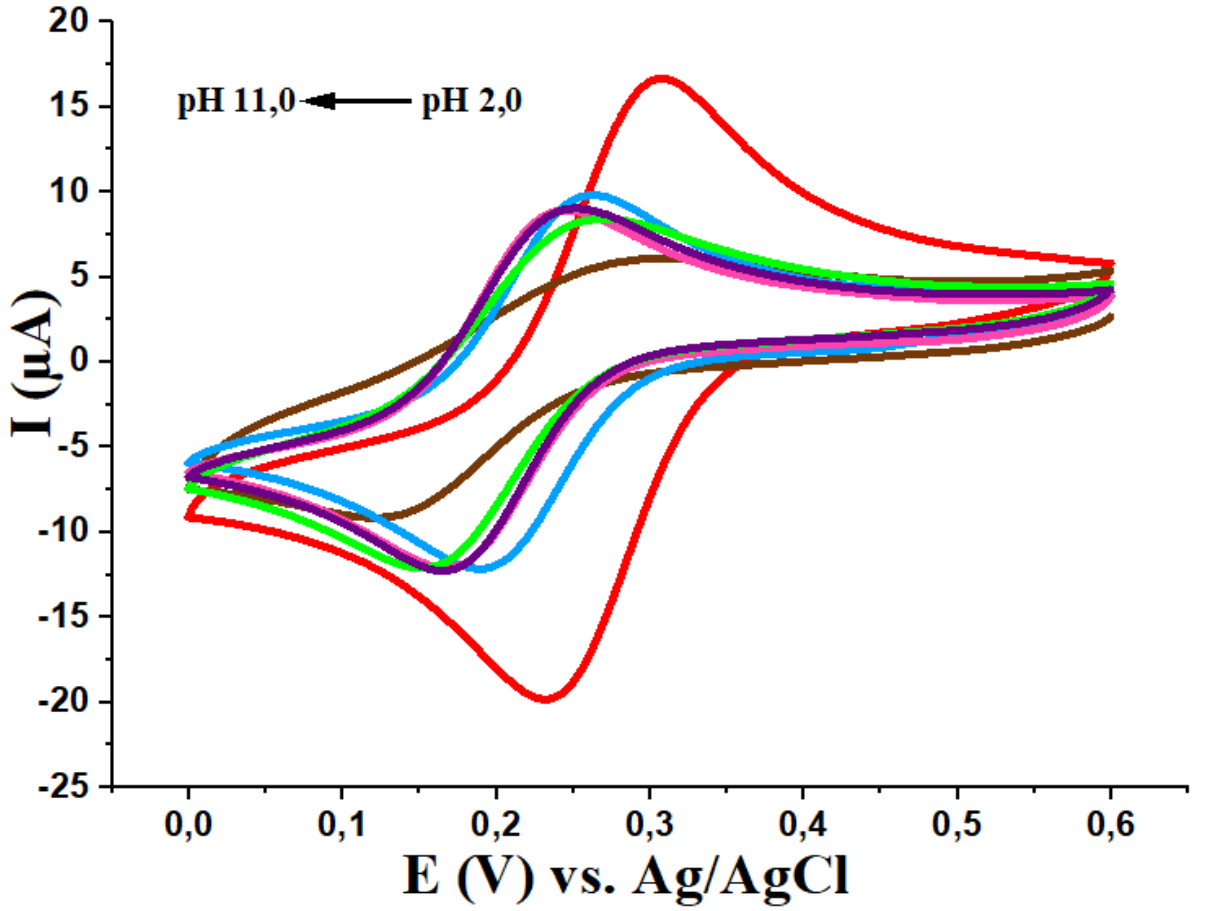
Şekil 5. 6. Yalın GCE yüzeyin pH 2,0-11,0 değerlerinde +0,6-0,0 V potansiyel aralığında 100 mV/s tarama hızında Ag/AgCl/KCl(doy) referans elektroduna karşı 1,0 mM HCF(III) probuna ait CV voltamogramları

Şekil 5.7. incelendiğinde MWCNTs/GCE yüzeyin pH'a karşı duyarlı olduğu ancak pH 7,0, 9,0, 11,0 gibi bazı pH değerlerinde yüzeyde pik akımı gözlemlenmezken, asidik pH değerlerinde özellikle pH 2,0'da iyi bir pik akımı elde edilmiştir. pH artışıyla pik akımlarında oluşan bu azalmanın nedeni, ortamın bazikleşmesi sonucu artan negatif yüklü OH^- iyonlarının, negatif yüklü HCF(III) iyonlarını itmesi sonucu elektron transferini azalttığı ve bunun sonucu olarakta MWCNTs/GGCE yüzeyinde oluşan voltametrik pik akımlarının azalmasıyla ilişkilendirilebilir.



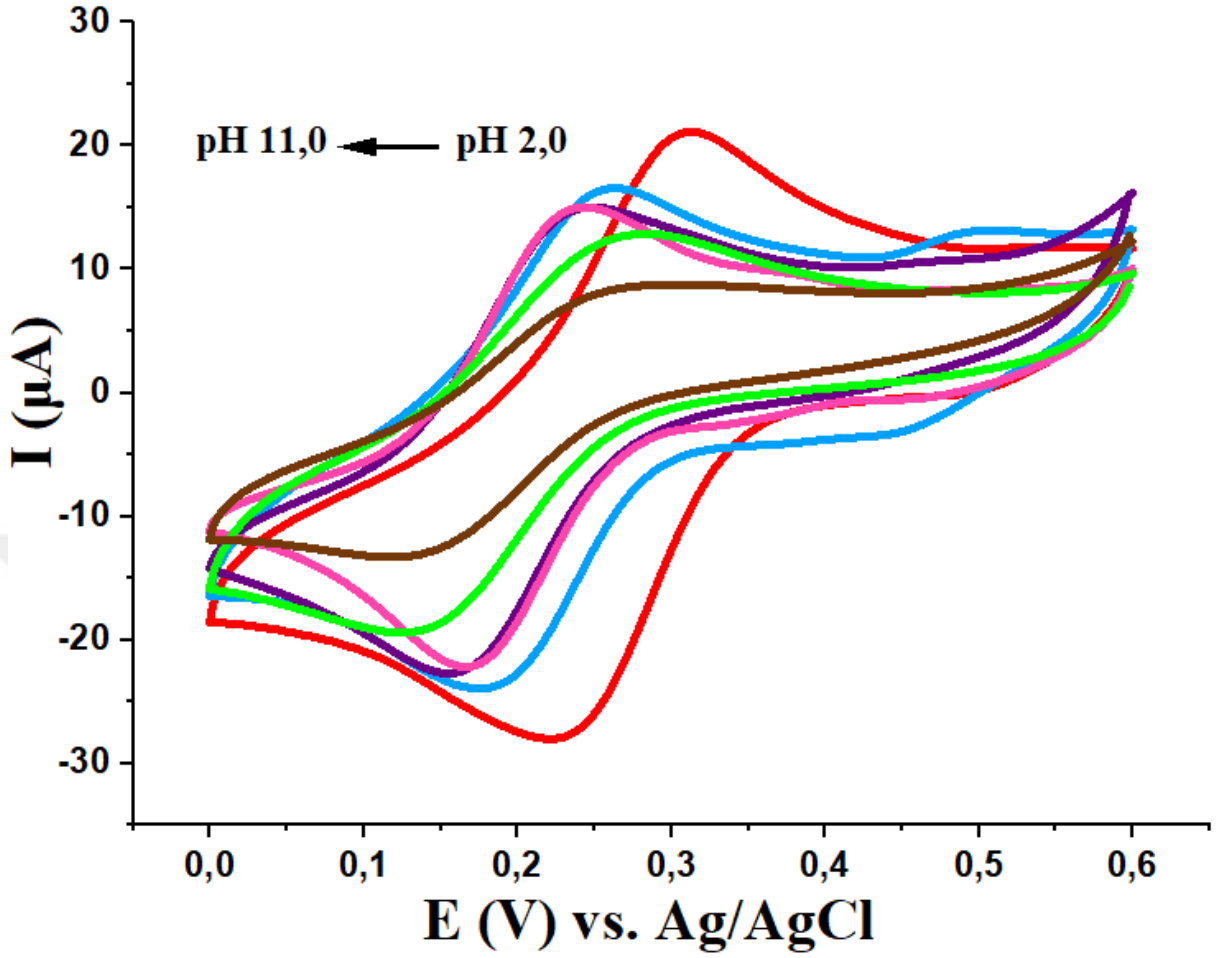
Şekil 5. 7. MWCNTs/GCE yüzeyin pH 2,0-11,0 değerlerinde +0,6-0,0 V potansiyel aralığında 100m V/s tarama hızında Ag/AgCl/KCl(doy) referans elektroduna karşı 1,0 mM HCF(III) probuna ait CV voltamogramları

Şekil 5.8. incelendiğinde TA/GCE yüzeyin pH 3,0, 5,0, 7,0 ve 9,0 değerlerinde pik potansiyellerinde küçük kaymalar gözlemlenmesiyle birlikte birbirine benzer pik akımı yanıtları verdiği, en iyi voltametrik pik akımının ise pH 2,0'de olduğu gözlenmiştir. Ancak pH 11,0 gibi bazik pH değerlerinde bloklanarak pik akımı oluşturmadığı görülmektedir. Bu durumun nedeni hem TA'in negatif yüke sahip bir molekül olması nedeniyle yüksek pH'lar da ortamda artan OH⁻ iyonlarını itmesi hem de yapısında bulunan gallik asit ve polifenolik asit gibi yapıların yüzeydeki elektron transferini olumsuz olarak etkileyerek voltametrik bir yanıtın oluşumunu engellemesiyle açıklanabilir [172, 173].



Şekil 5. 8. TA/GCE yüzeyin pH 2,0-11,0 değerlerinde +0,6-0,0 V potansiyel aralığında 100m V/s tarama hızında Ag/AgCl/KCl(doy) referans elektroduna karşı 1,0 mM HCF(III) probuna ait CV voltamogramları

Şekil 5.9. verilen voltamogramlar incelendiğinde TA/MWCNTs/GCE yüzeyin pH 3,0, 5,0, 7,0 değerlerinde sergilemiş oldukları birbirine yakın olan pik akımları ve pik potansiyeli yanıtları sebebiyle, belirtilen pH değerlerinde modifiye GCE yüzeye karşı benzer duyarlılık gösterdiği gözlenmiştir. pH 2,0'de pik potansiyelinde kayma meydana gelmesiyle birlikte iyi tanımlanmış bir pik akımı elde edilmiştir. Fakat pH 11,0'de yüzeyin bloklanarak pik akımı yanıtı oluşturmadığı saptanmıştır. Bu durumun nedeni ise TA'in yapısının merkezindeki karbonhidrat (genellikle D- glukoz) ve fenolik gruplara bağlı OH⁻ grubunun bulunmasıyla, pH 11,0 gibi bazik pH değerlerinde ortamda artan OH⁻ iyonlarının birbirini iterek modifiye yüzeyin elektrokatalitik aktivitesini olumsuz olarak etkilemesiyle ilişkilendirilebilir.



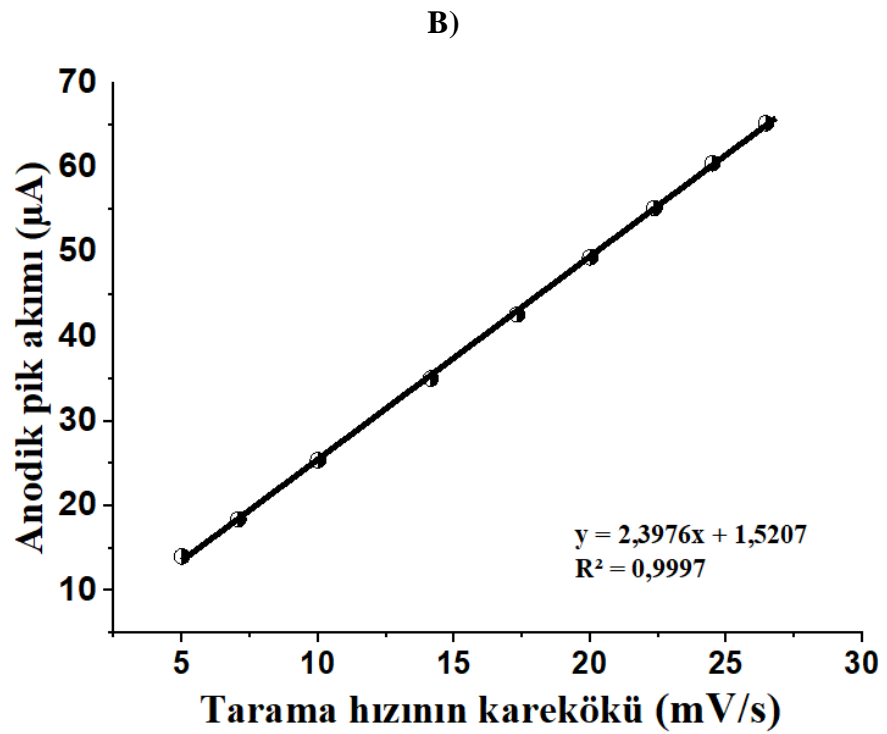
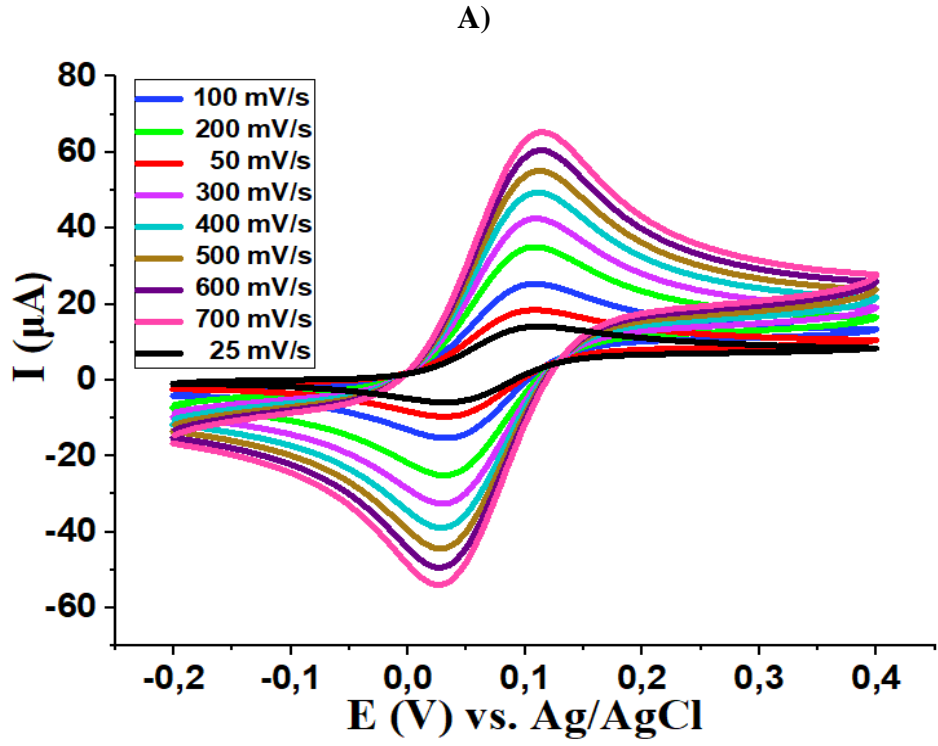
Şekil 5. 9. TA/MWCNTs/GCE yüzeyin pH 2,0-11,0 değerlerinde +0,6-0,0 V potansiyel aralığında 100m V/s tarama hızında Ag/AgCl/KCl(doy) referans elektroduna karşı 1,0 mM HCF(III) probuna ait CV voltamogramları

Şekil 5.6. - 5.9.'da verilen voltamogramlar incelendiğinde yalın GCE yüzeyin ve modifiye MWCNTs/GCE, TA/GCE, TA/MWCNTs/GCE) yüzeylerin voltametrik yanıtlarının farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir. Yalın GCE yüzeyi bazik pH aralıklarında iyi pik akımı yanıtları verirken, modifiye GCE yüzeyler ise daha çok asidik pH aralıklarında iyi tanımlanmış yüksek pik akımı yanıtlarını vermiştir. MWCNTs/GCE, TA/GCE ve TA/MWCNTs/GCE yüzeylerde düşük pH'lar da ortamdaki yoğun H_3O^+ iyonu varlığında alınan voltamogramlarda pik akımı gözlenirken, ortam pH'nın yükselmesi sonucu OH^- iyonu arttıkça pik akımlarında da azalma görülmektedir. Ortamda bulunan asitlik derecesi arttığında TA'in yapısında bulunan negatif yüklü polifenolik asitlerin ilgili fonksiyonel grupları HCF(III) redoks probundaki fonksiyonel gruplar ile etkileşime girerek pik akımı oluşturmaktadır. Fakat yüksek pH değerlerinde belirtilen etkileşim OH^- iyonlarının

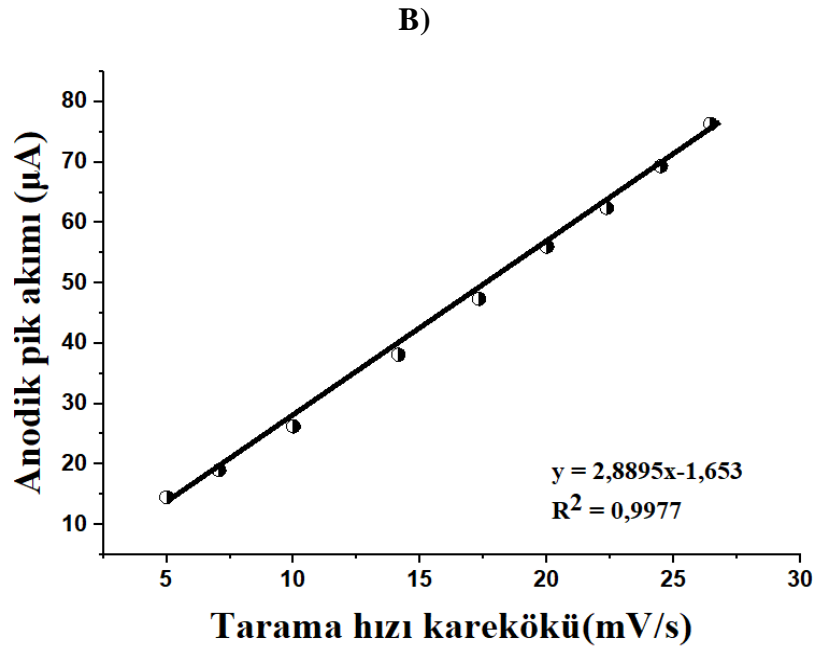
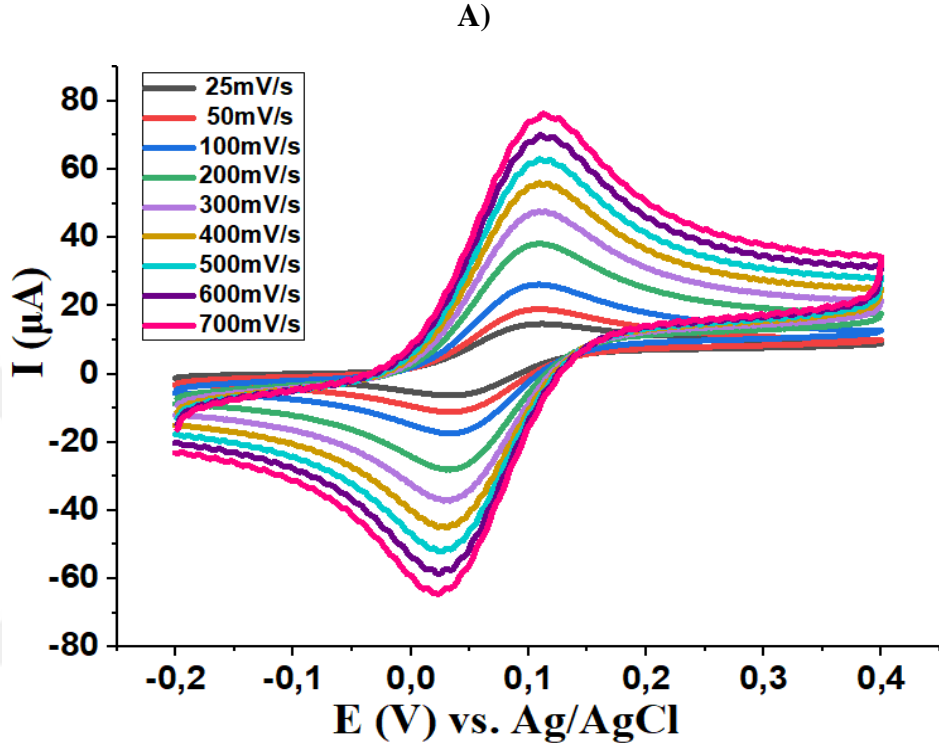
varlığı sebebiyle gerçekleşmemekte ve dolayısıyla da pik akımları gözlenmemektedir. Sonuç olarak modifiye GCE yüzeylerde düşük pH değerlerinde HCF(III) redoks probuna ait reaksiyonların yalnız GCE yüzeyle karşılaştırıldığında daha tersinir olduğu görülmüştür.

5.4. Yalın GCE, TA/GCE, MWCNTs/GCE ve TA/MWCNTs/GCE Yüzeylerde Tarama Hızı Çalışması

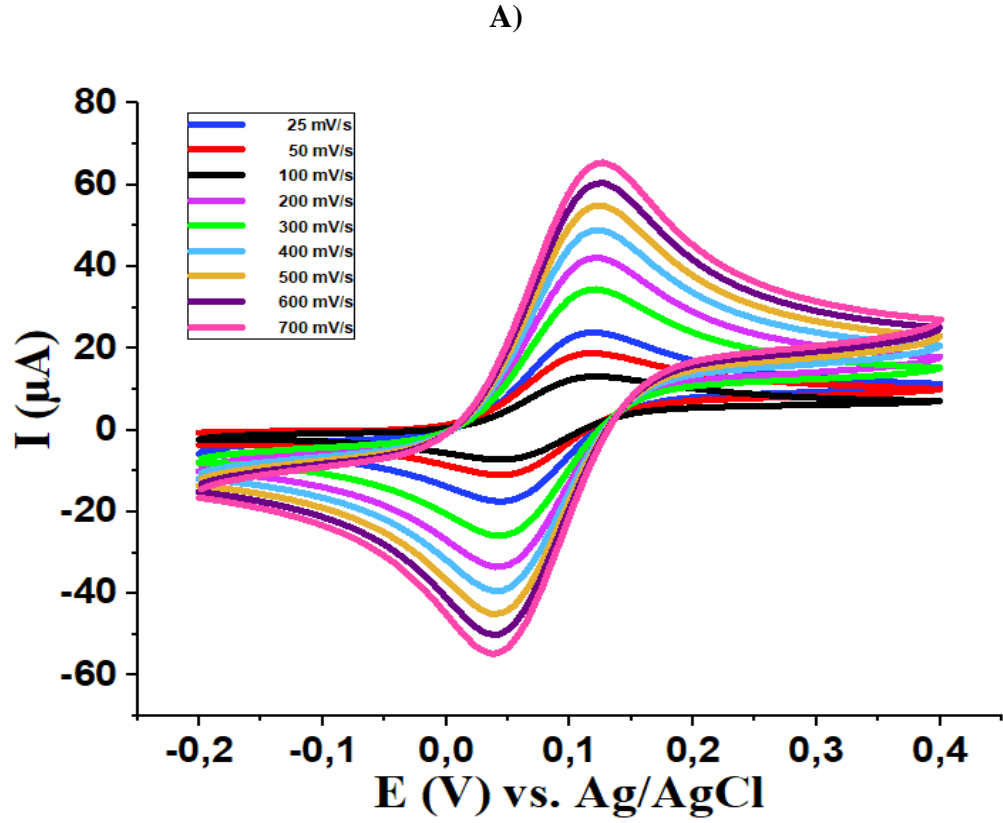
Yalın GCE, TA/GCE, MWCNTs/GCE ve TA/MWCNTs/GCE yüzeylerinde Clp'in tersinirlik ve elektron transfer biçimi gibi parametrelerinin elektrokimyasal davranışlarını incelemek amacıyla 1,0 mM ferrosen probunda CV tekniği kullanılarak -0,2/0,4 V potansiyel aralığında Ag/AgNO₃ referans elektroduna karşı yalın GCE, TA/GCE ve MWCNTs/GCE ve TA/MWCNTs/GCE yüzeylerin 25; 50; 100; 200; 300; 400; 500; 600 ve 700 mV/s tarama hızlarında voltamogramları alınmış ve Şekil 5.10.(a), 5.11.(a), 5.12.(a), 5.13(a) 'da verilmiştir. Yalın GCE ve modifiye GCE yüzeylere ait 25 - 700 mV/s arasında alınan dönüşümlü voltamogramlar incelendiğinde, tarama hızlarının artmasıyla pik potansiyellerinde neredeyse değişim gözlemlenmezken, pik akımlarında doğrusal bir artış gözlemlenmiştir. Ayrıca ters taramada da tarama hızının artmasıyla aynı şekilde doğrusal olarak artmakta olan pik akımları gözlemlenmiştir. Elektrot yüzeyinde gerçekleşen reaksiyon mekanizmasının daha anlaşılabilir olması amacıyla, tarama hızı ve tarama hızının kareköküne karşılık pik akımları grafiksel olarak ifade edildiğinde tarama hızının karekökü ile pik akımları arasında doğrusal bir ilişki elde edilmiştir ve elde edilen grafik Şekil 5.10.(b), 5.11.(b), 5.12.(b), 5.13.(b) 'de verilmiştir. Hem yalın GCE hemde modifiye TA/MWCNTs/GCE elektrot yüzeyinde absorpsiyon kontrolünden söz edebilmek için grafiğinin doğrusal ve eğiminin 0,5 değerinden daha büyük bir değerde olması gerekir. Ancak 0,5'den daha küçük bir eğim değeri olması durumunda reaksiyon difüzyon kontrollü olarak gerçekleştiği bilinmektedir. Tarama hızının kareköküne karşı pik akımları grafiğinde R² değerleri hesaplanmış ve yalın GCE yüzey için R² = 0,9997, MWCNTs yüzey için R² = 0,9977, TA/GCE yüzey için R² = 0,9989, TA/MWCNTs/GCE yüzey için R² = 0,9997 olarak bulunmuştur. Elde edilen R² değerlerinin 1,0'e oldukça yakın bir değer olması ve eğim değerlerinin 0,5 değerinden büyük olması nedeniyle yalın GCE, MWCNTs/GCE, TA/GCE ve TA/MWCNTs/GCE yüzeylerinde gerçekleşen elektrokimyasal reaksiyonun adsorpsiyon kontrollü bir reaksiyon olduğu belirlenmiştir.

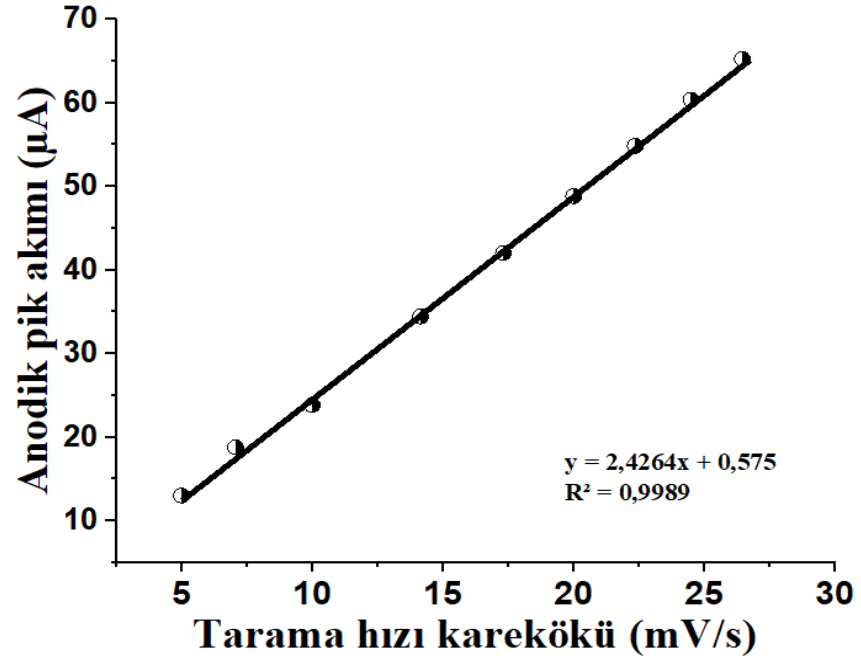


Şekil 5. 10.(a) Yalın GCE yüzeyin 1,0 mM ferrosen çözeltisinde 25; 50; 100; 200; 300; 400; 500; 600; 700 mV/s tarama hızlarında Ag/AgNO₃ referans elektroduna karşı CV tekniği kullanılarak alınan voltamogramlar, **(b)** Tarama hızının kareköküne karşılık gelen pik akımları grafiği



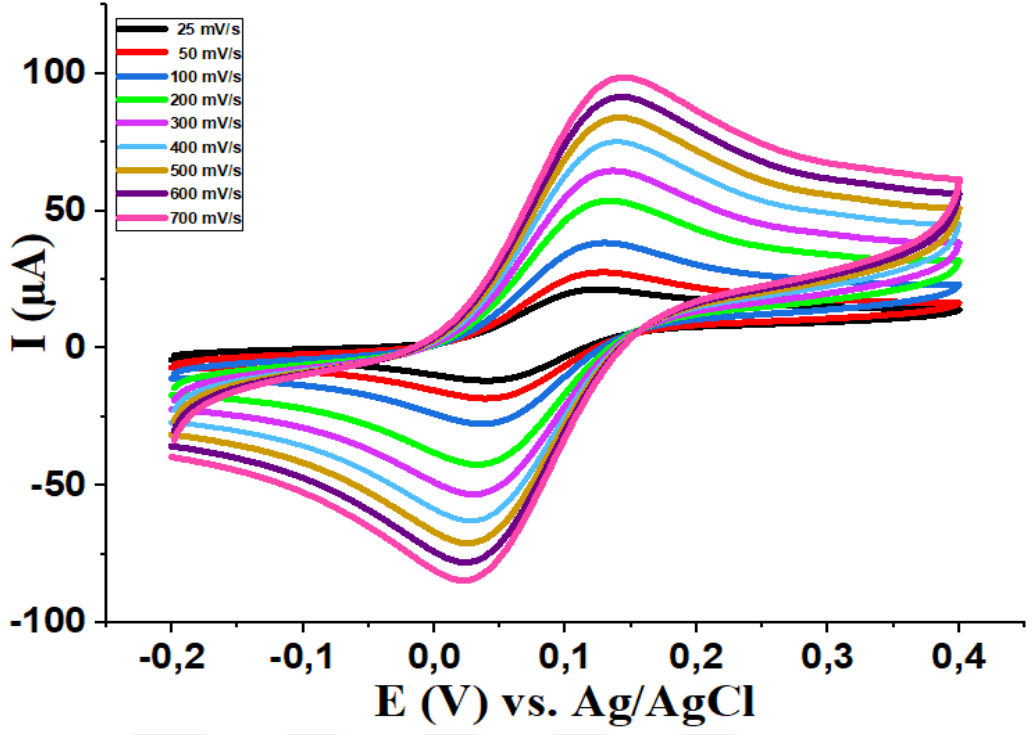
Şekil 5. 11.(a) MWCNTs/GCE yüzeyin 1,0 mM ferrosen çözeltisinde 25; 50; 100; 200; 300; 400; 500; 600; 700 mV/s tarama hızlarında Ag/AgNO₃ referans elektroduna karşı CV tekniği kullanılarak alınan voltamogramları, **(b)** Tarama hızının kareköküne karşılık gelen pik akımları grafiği



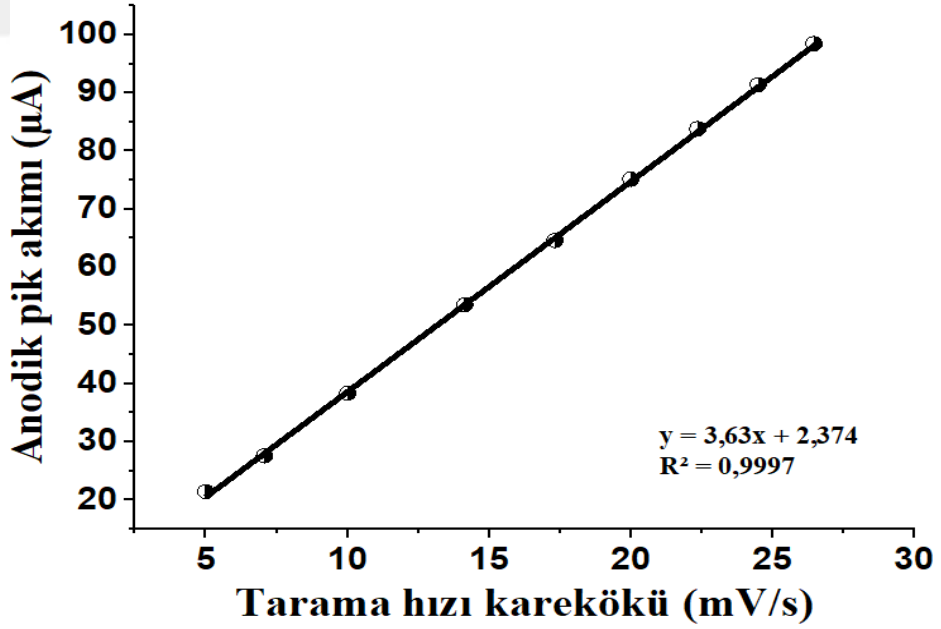


Şekil 5. 12.(a) TA/GCE yüzeyin 1,0 mM ferrosen çözeltisinde 25; 50; 100; 200; 300; 400; 500; 600; 700 mV/s tarama hızlarında Ag/AgNO₃ referans elektroduna karşı CV tekniği kullanılarak alınan voltamogramları, (b) Tarama hızının kareköküne karşılık gelen pik akımları grafiği

A)



B)

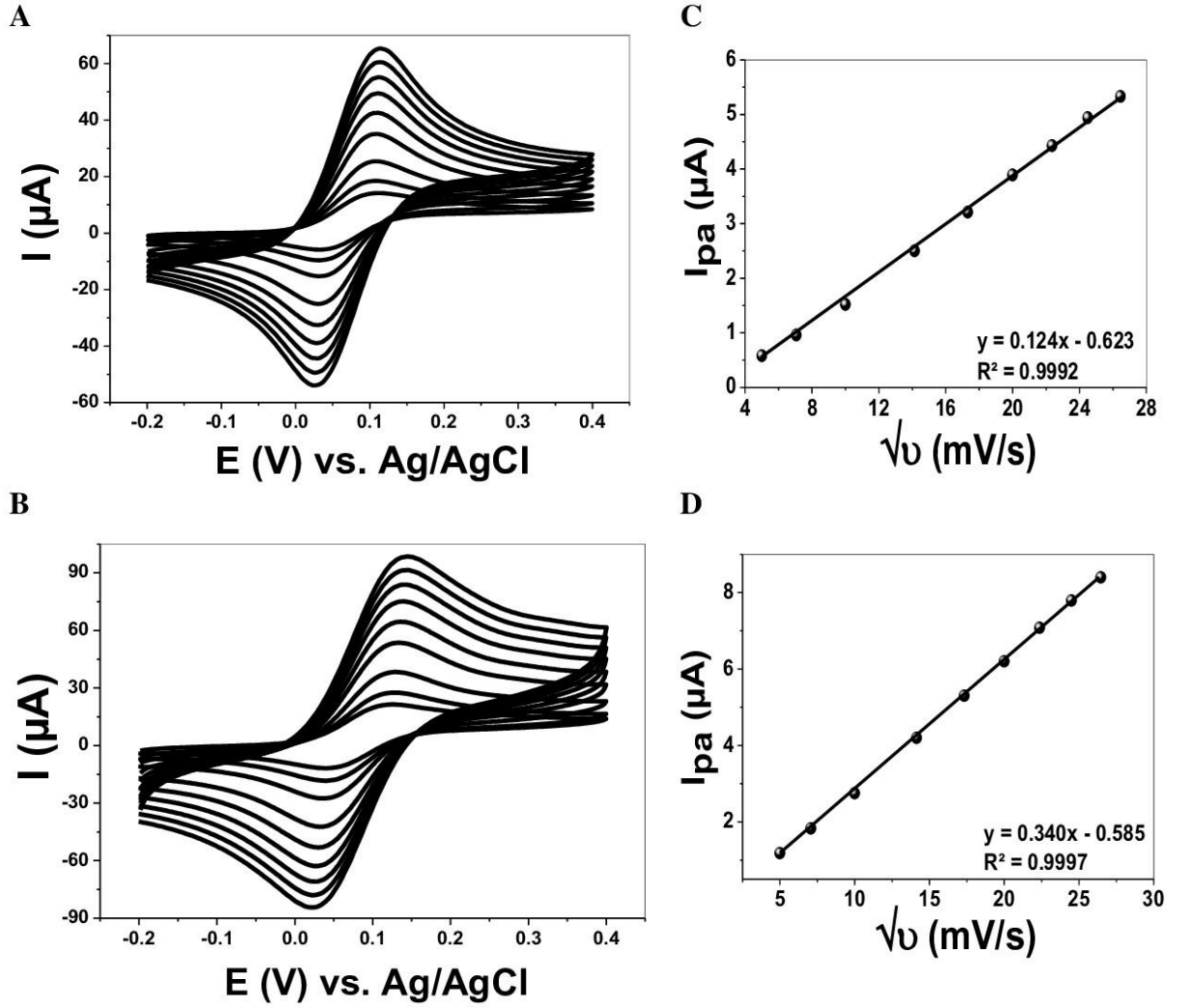


Şekil 5. 13.(a) TA/MWCNTs/GCE yüzeyin 1,0 mM ferrosen çözeltisinde 25; 50; 100; 200; 300; 400; 500; 600; 700 mV/s tarama hızlarında Ag/AgNO₃ referans elektroduna karşı CV tekniği kullanılarak alınan voltamogramları, (b) Tarama hızının kareköküne karşılık gelen pik akımları grafiği

5.5. Yalın GCE ve TA/MWCNTs/GCE Yüzeyin Elektrokimyasal Performansının İncelenmesi

Yalın GCE ve modifiye TA/MWCNTs/GCE yüzeylerinin aktif yüzey alanlarını karşılaştırabilmek amacıyla 0,1 M KCl'de hazırlanmış olan 1,0 mM HCF(III) çözeltisi kullanılmıştır. Randles-Sevcik denklemini kullanarak elektrotların aktif yüzey alanını belirlemek için CV tekniği ile -0,2/0,4 V potansiyel aralığında yalın GCE ve TA/MWCNTs/GCE yüzeylerin 25; 50; 100; 200; 300; 400; 500; 600; 700 mV/s tarama hızlarında alınan voltamogramları kaydedilmiştir.

Randles-Sevcik denklemi ($I_{pa} = 2.69 \times 10^5 n^{3/2} A C_0 D^{1/2} v^{1/2}$) (at 25°C) tersinir işlemlerde etkili yüzey alanını belirlemek için kullanılır [174]. HCF(III) probu için kullanılan elektron transfer sayısı ($n = 1$), difüzyon katsayısı ($D = 7.6 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$) ve HCF(III) ($C^0 = 1 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$) konsantrasyonu gibi tüm parametreler sabittir. Bu nedenle anodik pik akımına karşı (I_{pa}) tarama hızının karekökünün ($v^{1/2}$) çizilen grafiğinin eğimi modifiye edilmiş elektrodun etkili yüzey alanıyla orantılıdır [175]. Şekil 5.14.(a), (b) yalın GCE ve TA/MWCNTs/GCE yüzeylerin farklı tarama hızlarındaki 1,0 mM HCF(III) probunda alınan dönüşümlü voltamogramlarını göstermektedir. I_{pa} vs $v^{1/2}$ eğimlerinden (Şekil 5.14.(c), (d)) hesaplanan aktif yüzey alanı yalın GCE ve TA/MWCNTs/GCE için sırasıyla 0,124 cm^2 ve 0,3405 cm^2 olarak hesaplanmıştır. İki eğimin karşılaştırılması TA/MWCNTs kombinasyonu ile modifiye edilen GCE'un, yalın GCE'tan 2,74 kat daha büyük olduğunu göstermiştir. Bu, büyük spesifik yüzey alanına sahip MWCNTs'in muhtemel etkisiyle birlikte beş polifenol kollu bir yapıya sahip TA'in fonksiyonlandırılmış MWCNTs ile kombinasyonun mükemmel etkileşimine atfedilebilir [176 - 177].



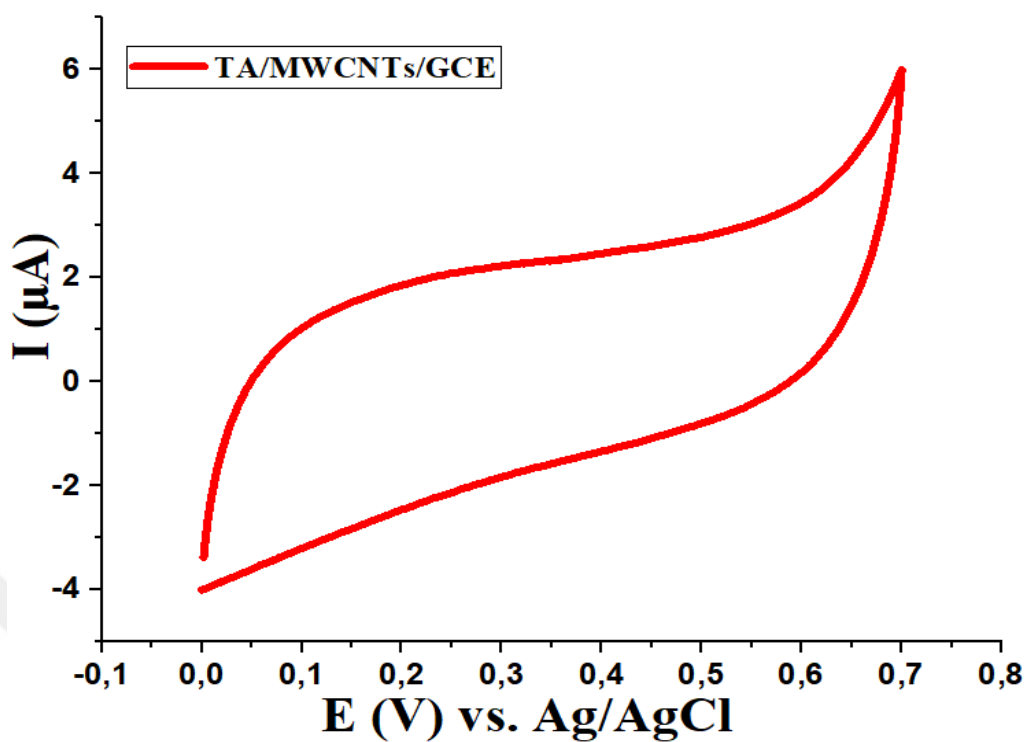
Şekil 5. 14. 0,1 M KCl'de hazırlanmış 1,0 mM HCF(III) probunun 25; 50; 100; 200; 300; 400; 500; 600; 700 tarama hızlarında CV tekniği ile alınan voltamogramları yalın GCE;(A), TA/MWCNTs/GCE; (B), C) A voltamogramlarına ait anodik pik akımı değerlerinin tarama hızlarının kareköküne karşı grafiği, D) B voltamogramlarına ait anodik pik akımı değerlerinin tarama hızlarının kareköküne karşı grafiği

5.6. Clp'in Yalın GCE ve Modifiye GCE Yüzeylerdeki Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi

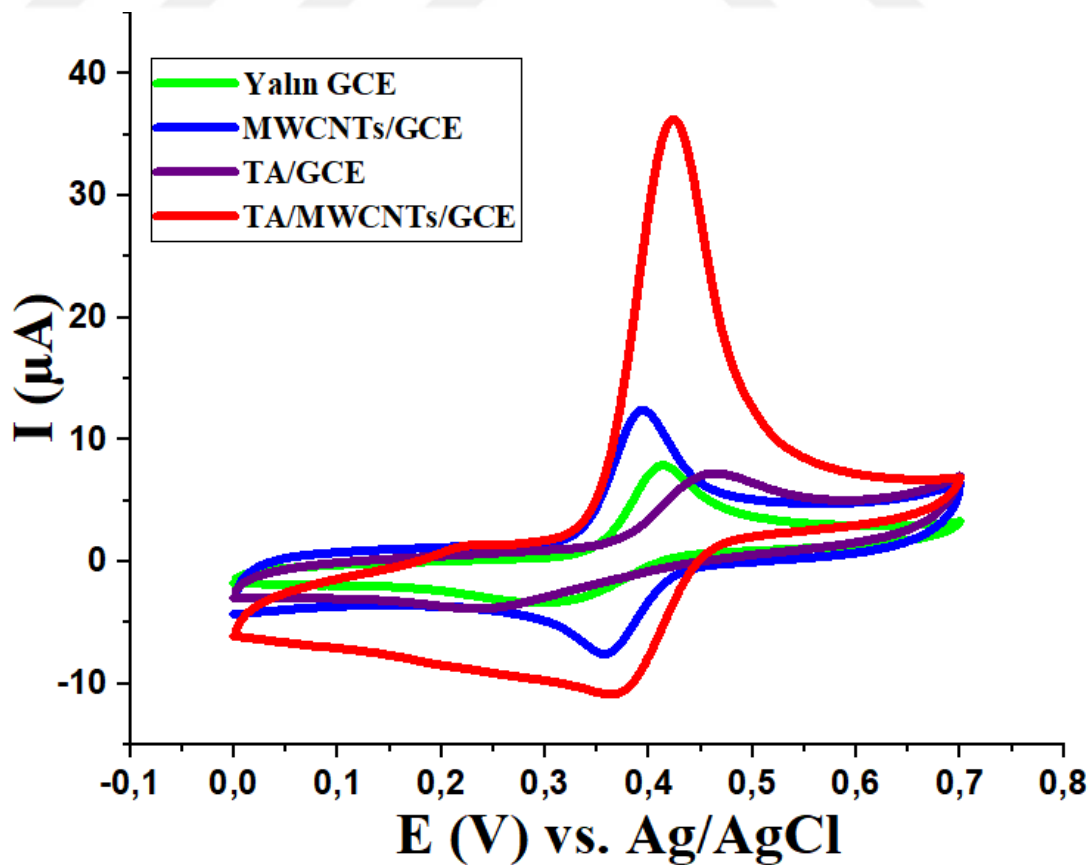
Clp'in kantitatif tayininde kullanılan yalın GCE ve modifiye GCE yüzeylerinin duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla yalın GCE, TA/GCE, MWCNTs/GCE ve TA/MWCNTs/GCE yüzeylerde pH 8,0 0,1 M PBS'de 100,0 μ M Clp'in 0,0/0,7 potansiyel aralığında 100 mV/s tarama hızında CV tekniği kullanılarak dönüşümlü voltamogramları alınmıştır.

Şekil 5.15.(a) TA/MWCNTs/GCE'un pH 8,0 0,1 M PBS'de Clp yokluğunda elde edilen dönüşümlü voltamogramını göstermektedir. Clp yokluğunda TA/MWCNTs/GCE yüzeyinde herhangi bir pik akımı gözlemlenmemiştir. Şekil 5.15.(b)'de yalnız GCE, MWCNTs/GCE, TA/GCE, TA/MWCNTs/GCE yüzeylerinin pH 8,0 0,1 M PBS'de 100,0 µM Clp varlığında, Clp'in saptanmasına karşılık göstermiş oldukları dönüşümlü voltamogramlar verilmiştir. Şekil 5.15.(b)'de yalnız GCE yüzeyde 0,41 V, MWCNTs/GCE'de 0,39 V ve TA/GCE'de 0,46 V'ta Clp'e ait küçük anodik pik akımları ve zayıf katodik pik akımları gözlemlenmiştir. Ayrıca TA/MWCNTs/GCE yüzeyde 0,42 V'ta Clp'e ait oldukça gelişmiş ve iyi tanımlanmış anodik bir pik akımı ve zayıf bir katodik pik akımı olduğu gözlemlenmiştir. Bu nedenle, indirgenme sürecinin kısmen tersine çevrilebilir olduğu söylenebilir [178]. TA/MWCNTs kombinasyonu ile hazırlanan elektrodun iyi voltametrik davranış göstermesi, önceki birçok çalışmanın sonuçlarında belirtildiği gibi MWCNTs'in yüksek özgül yüzey alanı, elektronik özellikler, güçlü adsorpsiyon yeteneği ve fonksiyonel gruplara sahip olmasıyla sergilediği mükemmel özelliklere bağlanabilir [170, 179-182]. Ayrıca beş kollu polifenol yapısına sahip TA'in MWCNTs'le dekore edilmesi, adsorptif bölgeleri arttırarak oksidasyon akımında önemli bir artışa neden olmuştur [183]. Bu kombinasyonla elde edilen TA/MWCNTs/GCE elektrodun diğer modifiye GCE elektrotlar ile karşılaştırıldığında yaklaşık 3 katlık bir artış göstermesi aktif yüzey alanındaki büyüklükten de kaynaklanmaktadır.

A)



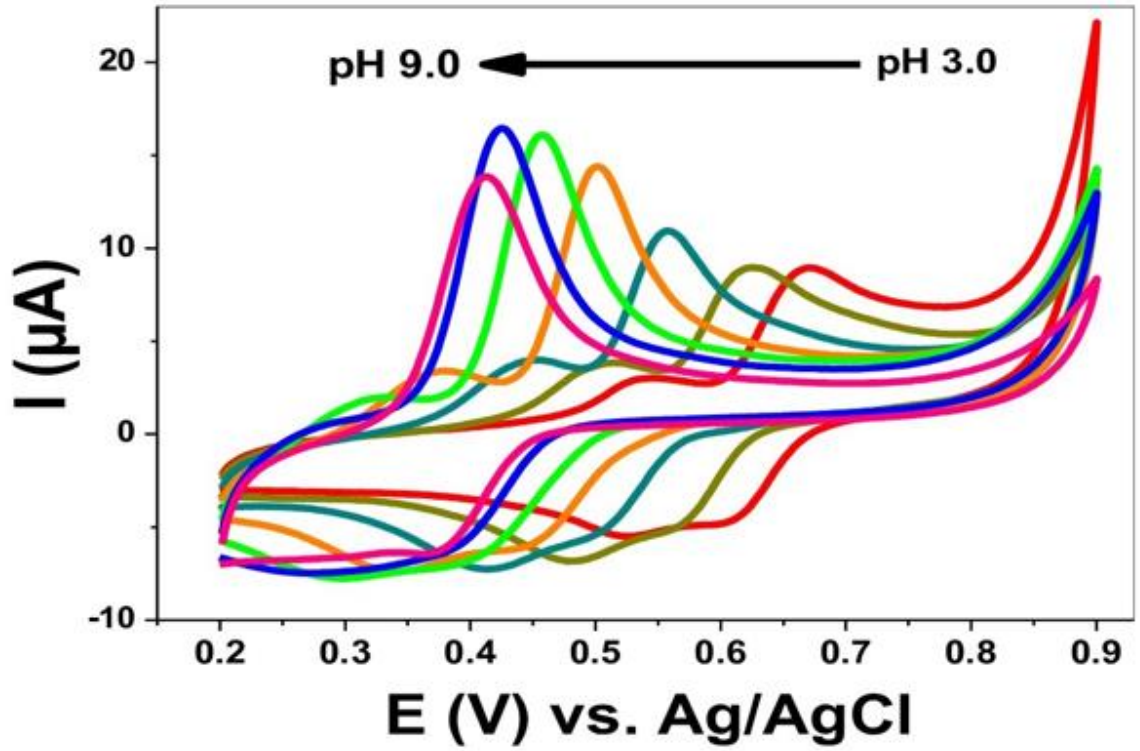
B)



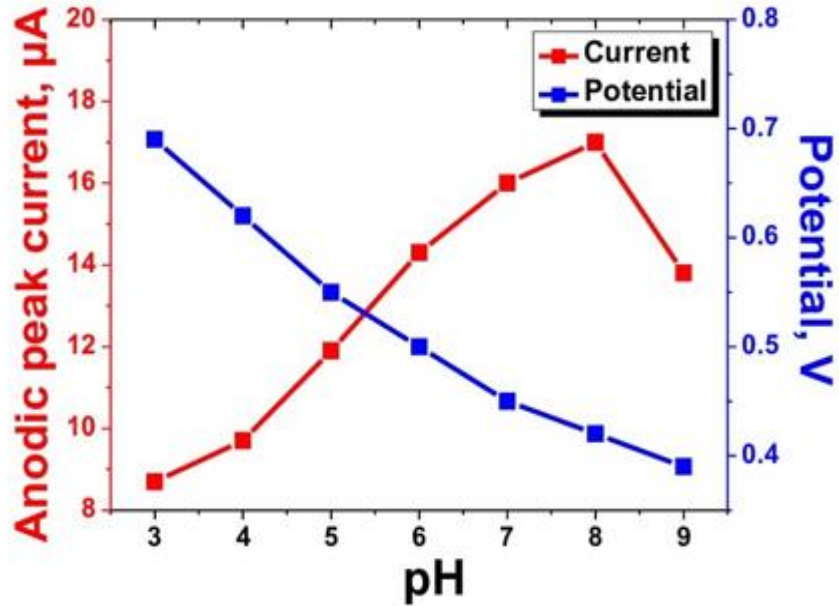
Şekil 5. 15. (a) TA/MWCNTs/GCE'un Clp yokluğunda pH 8,0 0,1 M PBS 100 mV/s tarama hızında CV tekniği ile alınan voltamogramı, **(b)**Yalın GCE, MWCNTs/GCE, TA/GCE, TA/MWCNTs/GCE'un 100,0 µM Clp varlığında pH 8,0 0,1 M PBS 50 mV/s tarama hızında CV tekniği ile alınan voltamogramları

5.7. pH'ın Clp'in Pik Akımı ve Pik Potansiyeline Etkisinin İncelenmesi

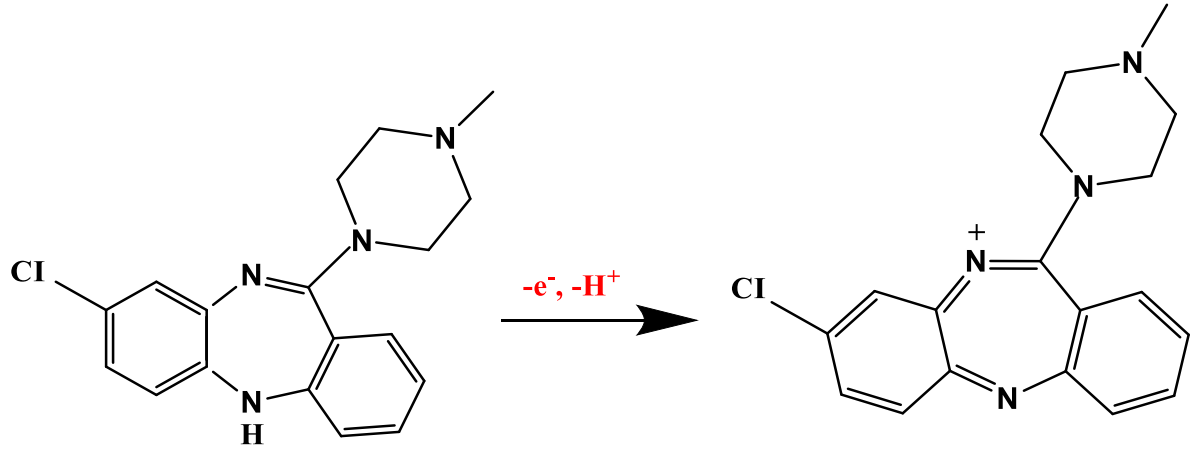
Clp'in hassas tayinine yönelik geliştirilen TA/MWCNTs/GCE yüzeyde 3,0 – 9,0 aralığında değişen pH'ların voltametrik pik akımları ve pik potansiyelleri üzerinde oluşturduğu etkinin incelenebilmesi amacıyla TA/MWCNTs/GCE yüzeyin 50,0 uM Clp içeren 0,1 M PBS çözeltilerinde CV tekniği kullanılarak voltamogramları alınmıştır. Şekil 5.16. TA/MWCNTs/GCE yüzeyin 0,2/0,9 V/s potansiyel aralığında 50 mV/s tarama hızında ve sırasıyla pH'ı 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0 olan ve 50,0 µM Clp içeren 0,1 M PBS çözeltilerinde alınan dönüşümlü voltamogramlarını göstermektedir. pH artışı ile birlikte Clp'e ait iyi tanımlanmış anodik pik akımları ve zayıf katodik pik akımlarının pH'ın artmasıyla daha negatife doğrusal bir şekilde kaydığı gözlenmektedir. Clp'in sergilemiş olduğu pik akımlarında, deprotonasyon sebebiyle pH 8,0'a kadar bir artış ve ardından azalma görülmüştür. Bu, Clp oksidasyonunun pik potansiyelinin ve şeklinin çözeltilinin pH'ına bağlı olduğu göstermektedir. Genel olarak, çözeltilinin pH'ı pKa'dan çok daha düşük olduğunda, güçlü protonasyon nedeniyle oksidasyon zorlaşabilir ve analitik sinyal daha düşük olur. Çözeltilinin pH'ının pKa'yı aşması ise, Clp'in çözünürlüğünün azalmasına ve çökeltme meydana getirerek pik akımlarının düşmesine neden olabilir [184, 185]. Bu nedenle TA/MWCNTs/GCE yüzeyde daha yüksek pH değerlerinde çalışılmamış ve en iyi analitik sinyalin elde edildiği pH 8,0 optimum olarak kabul edilmiştir. Şekil 5.17. çözeltili pH'ına karşı Clp'in anodik pik potansiyelleri (Epa) ve pik akımlarının ilişkisini göstermektedir. Anodik pikler için doğrusal denklem $E_{pa}(V) = -0.055pH + 0.817$ ($R^2 = 0.973$) olarak hesaplanmış ve -55.2 mV/pH'lık bir eğim elde edilmiştir. Hesaplanan eğimin teorik değere (59 mV) yaklaşık olarak eşit olması, önerilen elektrodun Clp oksidasyonunda elektron ve proton oranının $1e^-/1H^+$ olduğunu göstermektedir. Elde edilen bu sonuç, Şekil 5.18'de gösterildiği gibi Clp'in elektrokimyasal reaksiyon mekanizmasına uygun olduğunu göstermiştir [175], [186].



Şekil 5.16. Clp'in pH 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0 0,1 M PBS çözeltisinde TA/MWCNTs/GCE yüzeyde alınan dönüşümlü voltamogramları



Şekil 5. 17. TA/MWCNTs/GCE ile 0,1 M PBS çözeltisinin pH'ına karşı Clp'in yükseltgenme pik potansiyellerinin grafiği

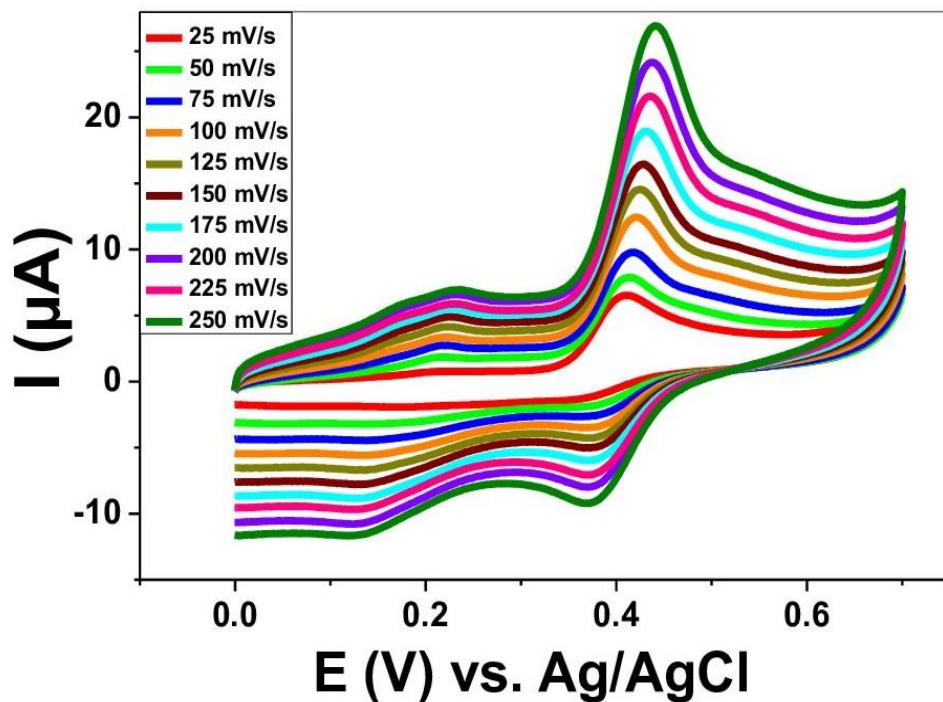


Şekil 5. 18. TA/MWCNTs/GCE yüzeyinde Clp'in reaksiyon mekanizması

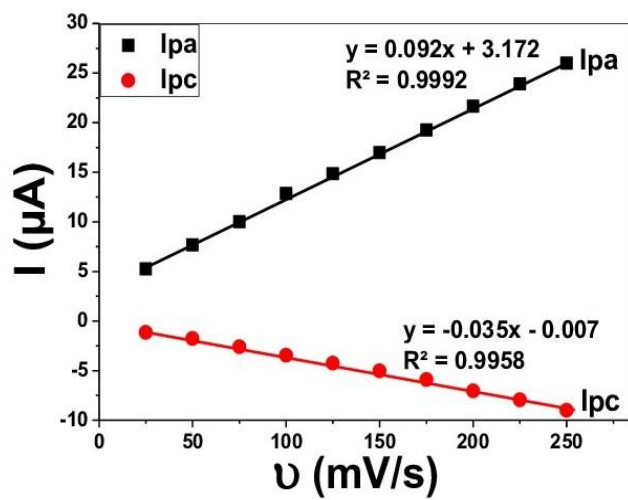
5.8. Tarama Hızının Clp'in Pik akımı ve Pik Potansiyeline Etkisinin İncelenmesi

Tarama hızı etkisi, elektrot yüzeyindeki reaksiyon mekanizmasının ve ilgili sensör sürecinin anlaşılmasında önemli bir rol oynar [187]. Bu nedenle TA/MWCNTs/GCE yüzeyinde 50,0 μM Clp içeren pH 8,0 PBS'de farklı tarama hızlarındaki (25 ~ 250 mVs^{-1}) dönüşümlü voltamogramları kaydedilerek Şekil 5.19.(a)'da verilmiştir. Tarama hızının (ν) artmasıyla birlikte anodik (I_{pa}) ve katodik (I_{pc}) pik akımlarının doğrusal olarak arttığı kanıtlanmıştır (Şekil 5.19.(b)). Clp, TA/MWCNTs/GCE yüzeyde daha keskin ve yüksek akımlı oksidasyon piklerine sahip iken indirgenme süreci kısmen geri dönüşümlü olduğu [188] için tarama hızının kareköküne karşı anodik pik akımları değerlendirilmiştir. Böylece, Şekil 5.19.(c)'de $R^2 = 0.9898$ regresyon katsayısına sahip $I_{pa} (\mu\text{A}) = 2.007\sqrt{\nu} - 6.817$ denklemi elde edilmiştir $\sqrt{\nu} - I_{pa}$ arasındaki doğrusal korelasyonun 1.0 olan teorik değere yakın olmaması elektrot yüzeyinde Clp oksidasyonunun adsorpsiyon kontrollü bir işlem ile olabileceğini göstermiştir [175]. Bununla birlikte, artan tarama hızı değerleriyle bir $\log\nu - \log I_{pac}$ grafiği oluşturulmuş ve $I_{pa} (\mu\text{A}) = 0,721 \log\nu - 0,332$ denklemine sahip doğrusal bir grafik elde edilmiştir (Şekil 5.19.(d)). Bu denkleme karşılık gelen 0,721 eğim değerinin teorik değer olan 0,5'ten büyük olması, elektrokimyasal reaksiyonun adsorpsiyon kontrollü bir işlemle gerçekleştiğini kanıtlamıştır [187].ⁱⁱ TA/MWCNTs/GCE elektrot yüzeyinde gerçekleşen reaksiyonun adsorpsiyon kontrollü olarak gerçekleşebilmesi için logaritmalarının grafiğinin doğrusal ve eğiminin 0,5'den daha büyük bir değerde olması gerekir. Ancak 0,5'den daha küçük bir eğim değeri olması durumunda reaksiyon difüzyon kontrollü olarak gerçekleşir [189-191].

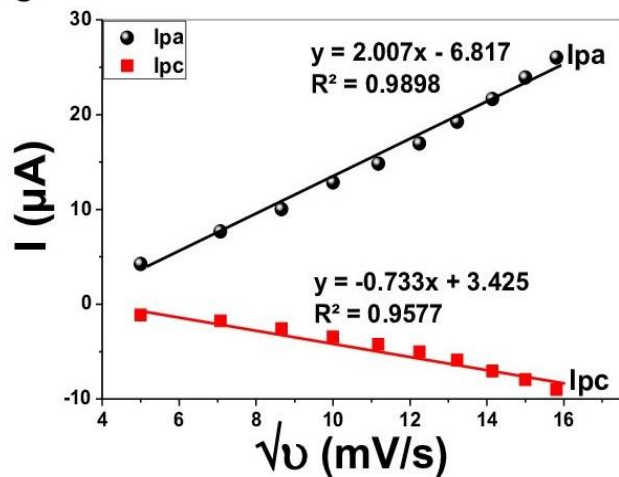
A



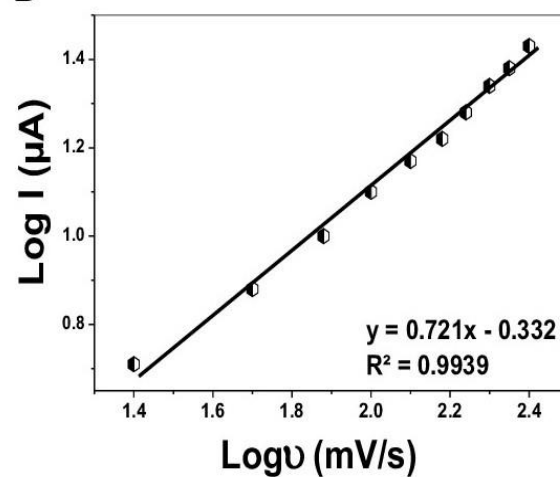
B



C



D



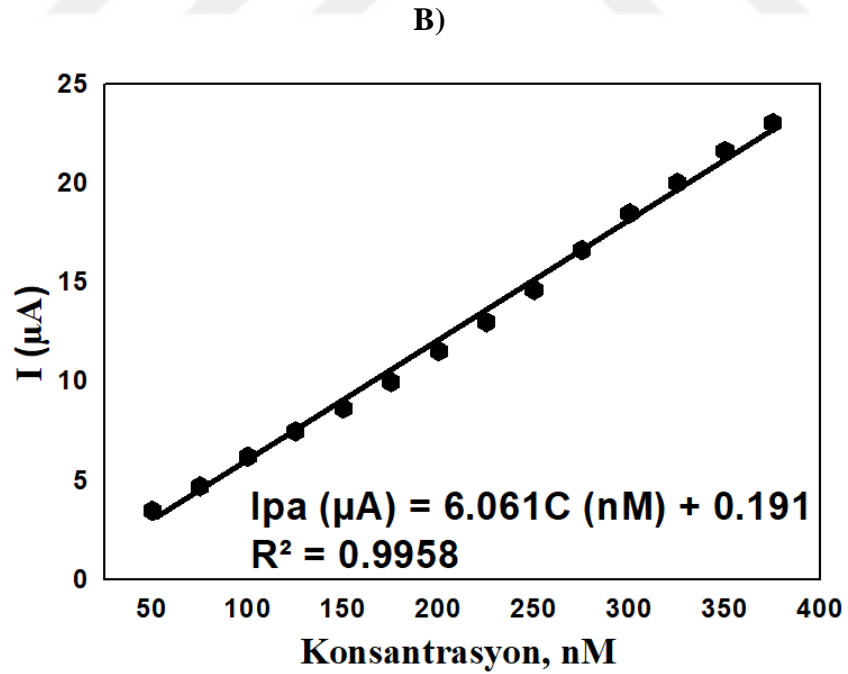
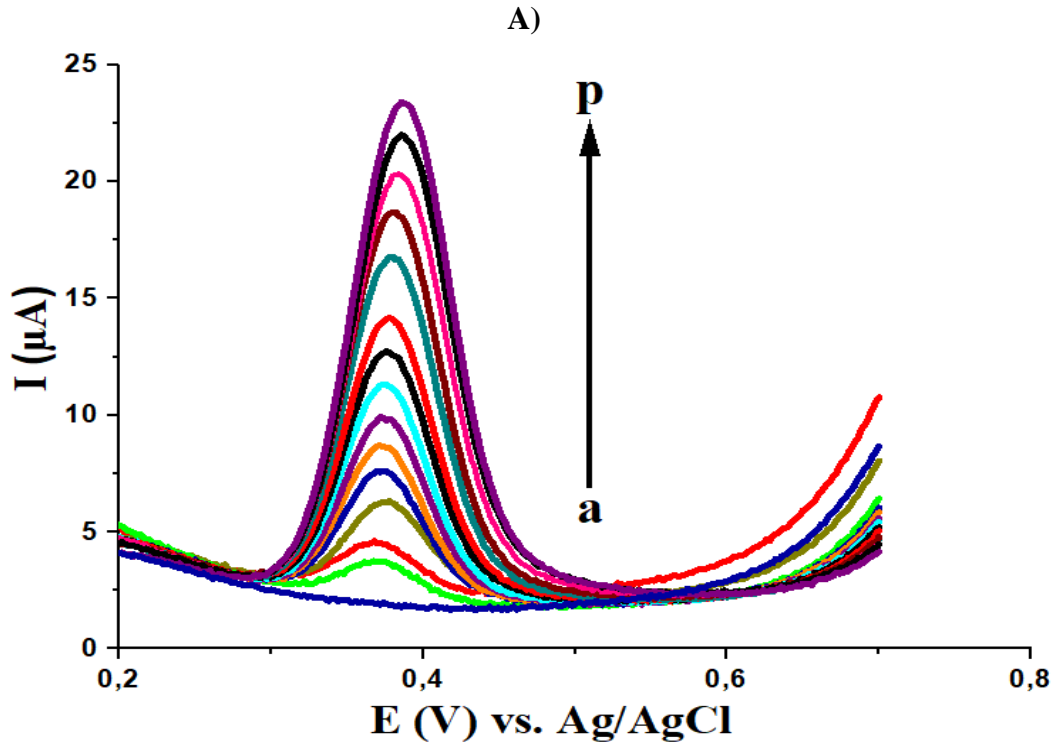
Şekil 5. 19. (a) 0,1 M pH 8,0 PBS'de TA/MWCNTs/GCE kullanılarak 25 – 250 mV/s tarama hızında CV ile alınan voltamogramlar, (b) Tarama hızı, (c) tarama hızı karekökü ile Clp'in pik akımı değişimini gösteren grafikler, (d) tarama hızlarının logaritmasına karşı, pik akımları logaritması grafiği

5.9. TA/MWCNTs/GCE Yüzeyinde Clp'in Kantitatif Tayini ve Kalibrasyon Eşitliği

Büyük kapasitif akımdan kaçınmak, çözünürlük ve hassasiyeti daha iyi hale getirmek için TA/MWCNTs/GCE yüzeyde Clp'in kantitatif tayini SWV tekniği ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla Clp'in 50 ~ 375 nM konsantrasyon aralığında elde edilen kare dalga voltamogramları ve kalibrasyon eğrileri Şekil 5.20.(a)'da sunulmuştur. TA/MWCNTs/GCE yüzeyde, Clp konsantrasyonuna karşı pik akımlarının grafiği 0.05 μM ile 0,375 μM aralığında $I_{pa}(\mu\text{A}) = 6.061C(\text{nM}) + 0.191$ denklemi ve 0,9958 korelasyon katsayısı ile bir doğrusallık göstermiştir (Şekil 5.20.b)). Hesaplamalardan 0,55 nM'lik LOD ve 1,67 nM'lik LOQ, 3.3(Sb/m) and 10(Sb/m) (S: boş standart sapma, M: eğim) eşitlikleri kullanılarak elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, önerilen platformun Clp'in tayini ve nicellendirilmesi için literatürde benzer tekniklerle rapor edilen platformlara kıyasla çok daha yüksek bir hassasiyetle cevap verdiğini göstermiştir

(Tablo 5.1.) Bunun nedeni , tannik asit üzerindeki –OH gruplarının fonksiyonel karbon nanotüpler ile etkileşimi sayesinde TA/MWCNTs/GCE yüzeyinde iyi bir elektrokatalitik etki yaratmasına atfedilebilir [192]. Bu sayede

Clp'in çok düşük tespit limiti için önerilen elektrokimyasal sensörün (TA/MWCNTs/GCE) umut vaat ettiği önerilmektedir.



Şekil 5. 20.(a) 0,1 M pH 8,0 PBS TA/MWCNTs/GCE elektrodu kullanılarak Clp'in 0,0 nM; 50 nM; 75 nM; 100 nM; 25 nM, 150 nM; 175 nM 200 nM; 225 nM; 250 nM; 275 nM; 300 nM; 325 nM 350 nM; 375 nM artan konsantrasyonlarına ilişkin alınan kare dalga voltamogramları, (b) Clp'in artan konsantrasyonlarına karşı pik akımları grafiği

Tablo 5. 1. Clp tespiti için önerilen sensörün analitik performansının literatürden çeşitli çalışma elektrotları ile karşılaştırılması

Elektrot Konfigürasyonu	Metot	Lineer Aralık/μM	Saptama Limiti/μM	Referans
RuTiO ₂ -CPE ^a	SWV	0,9 – 40	0,43	[193]
GPE ^b	DPV	0,0095 – 1,5	2,86	[194]
WO ₃ -TRP-GCE ^c	SWV	2,0 – 150	0,03	[175]
EPGCE ^d	DPV	0,1 – 1,0	8,0	[185]
RuTiO ₂ /MWCNTs-CPE ^e	SWV	0,01 – 0,07	0,057	[195]
TiO ₂ NP/CuO/CPE ^f	DPV	$1,0 \times 10^{-3}$ - $1,0 \times 10^4$	0015	[196]
MWCNT/CPE ^h	CV	$1,0 \times 10^3$ - $3,5 \times 10^3$	950	[197]
TA/MWCNTs/GCE	SWV	0,05 – 0,375	$5,5 \times 10^{-4}$	Bu çalışma

^a Rutenyum katkılı TiO₂ nanoparçacıklarıyla modifiye karbon macun elektrot

^b Grafit kalem elektrot

^c WO₃ nanoparçacıkları ve α -t erpineol hibrit modifiye camısı karbon elektrot

^d Elektrokimyasal olarak ön işlemden geçirilmiş camısı karbon elektrot

^e Ru katkılı TiO₂ nanopartiküller ve çok duvarlı karbon nanotüplerle hibrit modifiye karbon macun elektrot

^f Titanyum nanopartiküller ve bakır oksitle modifiye karbon macun elektrot

^h Çok duvarlı nanotüplerle modifiye karbon macun elektrotu

5.10. TA/MWCNTs/GCE Elektrokimyasal Sensörün Yeniden Üretilirliği, Kararlılığı ve Tekrarlanabilirliği

Hazırlanan TA/MWCNTs/GCE yüzeyin pratik kullanımını ve elektrokimyasal olarak incelemesini değerlendirmek için yeniden üretilirliği, kararlılığı ve tekrarlanabilirliği test edilmiştir.

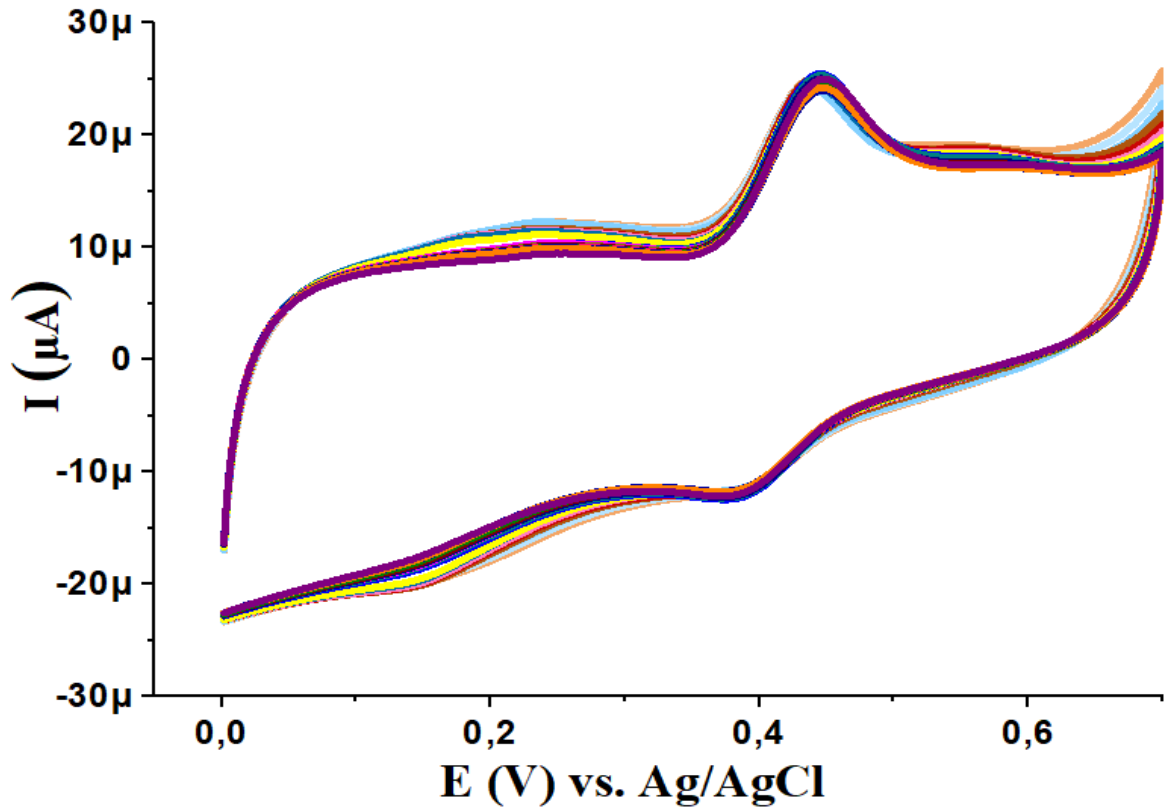
5.10.1 Yeniden Üretilirlik ve Tekrarlanabilirlik

Yeniden üretilirlik parametresinin sağlanabilirliği için 4 farklı yalın GCE yüzey TA/MWCNTs nanokompozit ile modifiye edilmiş ve elde edilen TA/MWCNTs/GCE yüzeylerin $10.0 \mu\text{M}$ Clp içeren pH 8,0 PBS'de 50 mV tarama hızında CV tekniği kullanılarak alınan voltamogramları alınmıştır. Aynı prosedürle birbirinden bağımsız olarak üretilen bu elektrotlar için 2,7'lik bir RSD (bağıl standart sapma) değeri hesaplanmıştır. Bu sonuç, Clp'e duyarlı TA/MWCNTs/GCE sensörün hazırlanma sürecinde ve elektrokimyasal tayinlerde iyi bir yeniden üretilirliğe sahip olduğunu doğrulamıştır. Bununla birlikte tekrarlanabilirlik için ise bir elektrot aynı deneysel prosedürle 4 kez hazırlanarak $10,0 \mu\text{M}$ Clp içeren pH 8,0 PBS'de 50 mV tarama hızında CV tekniği ile voltamogramları kaydedilmiştir. Her defasında aynı prosedürle hazırlanan bu elektrodun elektrokimyasal cevapları ile 1.8'lik bir RSD değeri hesaplanmıştır. Elde edilen bu sonuçlar, Clp'e duyarlı TA/MWCNTs/GCE sensörün iyi bir tekrarlanabilirliğe sahip olduğunu göstermiştir.

5.11. Kararlılık

Geliştirilmiş olan sensörün kararlılığının izlenebilmesi için TA/MWCNTs/GCE yüzeyin, $10,0 \mu\text{M}$ Clp içeren pH 8,0 0,1 M PBS' de optimum koşullarda hazırlandığı an CV tekniği ile voltamogramı alınmıştır. Ardından TA/MWCNTs/GCE elektrot yüzeyi temizlenerek her defasında yeniden hazırlanıp, pH 8,0 0,1 M PBS ortamında sırasıyla 1 gün, 2 gün, 3 gün, 4 gün, 5 gün, 1 hafta, 2 hafta, 3 hafta ve 4 hafta boyunca inkübe edildikten sonra oda sıcaklığında kurutulmuş ve CV tekniği ile voltamogramları kaydedilmiştir. Şekil 5.21.'de sunulan voltamogramlar incelendiğinde belirtilen zaman aralıkları boyunca Clp'e karşı oluşan pik akımları büyüklüklerinde çok küçük değişiklikler görülmüştür. İnkübe edilmeden önceki voltamogramlarıyla karşılaştırıldığında, Clp'in pik akımlarında sadece %5,81'lik hafif bir düşüş gözlemlenmiştir. 4 haftanın sonunda Clp'in pik akımlarında meydana gelen bu hafif düşüş, elektrot yüzeyinde oluşan kombinasyonun uzun süreli

olarak kararlılığını koruyabildiğini göstermiştir. TA/MWCNTS/GCE yüzeyin 4 haftalık inkübasyonu sonucunda özellikle 4. haftadaki pik akım değerleri Clp'e karşı oluşturulan TA/MWCNTs/GCE'un hassasiyetinde ciddi bir değişiklik olmaması geliştirilen sensörün yüksek kararlılıkla çalıştığını ve 4. hafta sonunda bile kullanılabilir olduğunu göstermiştir. Ayrıca geliştirilen TA/MWCNTS/GCE sensör, 20 kez ard arda kullanımdan sonra pik akımlarında net bir düşüş göstermemesi kullanım ömrünün uzun olduğunu ve iyi bir stabiliteye sahip olduğunu göstermektedir.

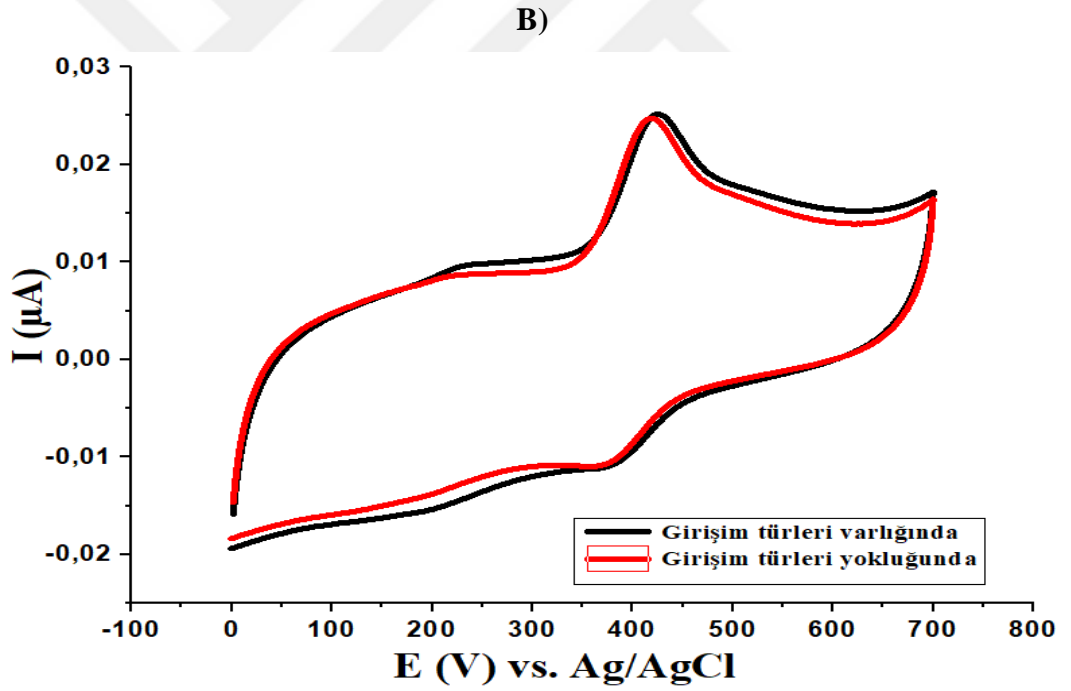
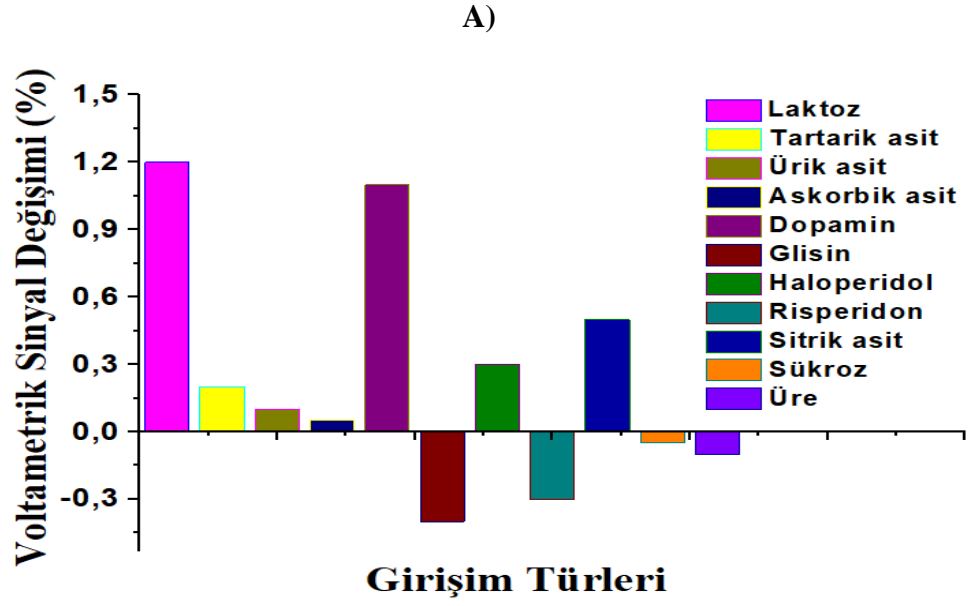


Şekil 5. 21. 0 saat, 1, 2, 3, 4, 5 gün, 1 hafta, 2 hafta, 3 hafta ve 4 hafta süre pH 8,0 olan PBS ortamında bekletilen TA/MWCNTs/GCE yüzeylerin, CV tekniği ile alınan yüzey voltamogramları

5.12. Girişim Etkisinin İncelenmesi

Seçicilik, hedef analitin gerçek numune analizlerinde uygulanabilirliğinin değerlendirilmesinde önemli bir faktördür. Bu nedenle geliştirilmiş olan TA/MWCNTs/GCE sensörün, Clp analiz sonuçlarını çeşitli girişim türleri varlığında nasıl etkilendiği incelenmiştir. Bu amaçla klinik ve gerçek numunelerde sıklıkla Clp ile birlikte bulunan bazı genel biyolojik bileşiklerin (laktoz, tartarik asit, ürik asit, askorbik

asit, dopamin, glisin, sitrik asit, sukroz, üre, haloperidol, risperidon) Clp'den 100 kat daha yüksek derişime sahip olan çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltilerin 100 kat daha yüksek derişime sahip olmasının nedeni, genellikle vücut çevremizin doğal bileşiklerinin analit konsantrasyonuna kıyasla yüksek konsantrasyonları içermesiyle açıklanır [195]. Optimum koşullar altında girişim etkisi yaratabilecek her bir bileşenin Clp'in voltametik sinyalleri üzerindeki etkisi tek tek incelenmiştir. Şekil 5.22.(a) incelendiğinde girişim türlerinin, Clp'in voltametik yanıtları üzerinde önemli bir etkiye neden olmadığı açıkça görülmüştür. Bununla birlikte önerilen sensörün pH 8,0 PBS'de 100 kat daha yüksek derişime sahip laktoz, tartarik asit, ürik asit, askorbik asit, dopamin, glisin, sitrik asit, sukroz, üre, haloperidol, risperidon türlerini bir arada içeren ve içermeyen 50.0 µM'lık Clp çözeltilerine ait voltamogramlar karşılaştırılmıştır. (Şekil 5.22.(b)). Elde edilen sonuçlar, Clp'in pik potansiyelinin çok hafif bir kayma gösterdiğini ancak pik akımında neredeyse hiç bir değişiklik olmadığını göstermiştir. Bu, geliştirilen sensörün algılama hassasiyetinde Clp reaksiyonlarının ortamdaki herhangi bir türden etkilenmediğini göstermiştir. Bu nedenle geliştirilen TA/MWCNTs/GCE sensörün, iyi bir doğruluğa sahip olduğu, Clp tespitinde oldukça yüksek seçicilik gösterdiği ve pratikte kullanımının başarıyla uygulanabilir olduğu söylenebilir.



Şekil 5. 22. a) pH 8,0 0,1 M PBS ortamında TA/MWCNTs/GCE yüzeyde bazı girişimci metabolit türleri varlığında Clp'in voltammetrik yanıtına ilişkin voltamogramlar, b) pH 8,0 0,1 M PBS ortamında girişimci türlerin varlığında ve yokluğunda 50,0 μM Clp'in voltammetrik yanıtına ilişkin voltamogramlar

5.13. Geliştirilen Elektrokimyasal Sensör ile Clp'in Gerçek Numunelerde Saptanması

Geliştirilmiş TA/MWCNTs/GCE sensörün ve önerilen elektrokimyasal yöntemin pratik kullanımda güvenilirliğinin yanı sıra geçerliliğinin de doğrulanabilmesi amacıyla ticari insan kan serumu, ürün ve ilaç tabletleri gibi gerçek örneklerde Clp'in saptanması SWV tekniği ile test edilmiştir. Ancak kan serumu ve ürün örnekleri hedef analiti içermediği için Clp'e ait herhangi bir voltametrik pik akımı gözlemlenmemiştir. Bu nedenle kan serumu ve idrar örneklerine standart ekleme yöntemi kullanılarak 1,0 ~ 6,0 nM konsantrasyonlarında Clp ilaveleri yapılmış ve kare dalga voltamogramları kaydedilmiştir. Geri kazanım değerleri, belirlenen konsantrasyonlar ile eklenen konsantrasyonların karşılaştırılması ile hesaplanmıştır. RSD ve geri kazanım sonuçları beş tekrara dayalı olarak elde edilmiş ve Tablo 5.2.'de sunulmuştur. Tablo 5.2.'de sunulan sonuçlar TA/MWCNTs/GCE'un bu örneklerde Clp tayini için iyi bir doğrulukla tatmin edici sonuçlar verdiğini göstermiştir. Geliştirilen elektrokimyasal sensör için % 91,46 ve %104,21 arasında oldukça iyi geri kazanım yüzdeleri ve %0,46 ve %2,62 arasında ki %RSD değerleri, gerçek numunelerin karmaşık matrislere sahip olmalarına rağmen Clp saptanması üzerine hiçbir türün girişim etkisi yapmadığını gösterir. Bu , geliştirilen sensör ve önerilen elektrokimyasal yöntemin Clp'insaptanmasında iyi bir hassasiyete ve doğruluğa sahip olduğunu gösterir ve klinik uygulamalar için başarıyla uygulanabilir olduğunu düşündürür.

Tablo 5.2. Tablet, kan serumu ve ürün örneklerinde Clp tayini için TA/MWCNTs/GCE elektrodu ile SWV tekniği kullanılarak alınan voltamogramlarından hesaplanan derişim, % geri kazanım ve % RSD sonuçları

Örnek	Eklenen miktar (nM)	Saptanan miktar (nM)	Pik akımı (µA)	Geri kazanım (%)	RSD (%)	Err Or (%)
Tablet	1	1,02	11,40	101,79	0,84	+1,70
	2	2,05	12,65	102,57	1,89	+2,57
	4	3,96	13,82	99,05	2,18	-0,94
	6	5,86	15,51	97,68	2,74	-2,31
	8	8,10	16,32	101,35	1,96	+1,35
Kan serumu	0	–	10,21	–	–	–
	1	0,92	14,53	92,97	2,27	-7,02
	2	2,08	16,53	104,21	1,32	+4,21
	4	4,00	18,63	100,13	0,80	+0,13
	6	5,97	20,42	99,65	0,46	-0,34
Ürün serumu	0	–	11,47	–	–	–
	1	0,91	12,75	91,46	2,62	-8,53
	2	2,06	14,61	103,11	1,97	3,11
	4	4,08	17,35	102,15	1,08	2,15
	6	5,93	19,41	98,91	0,65	-1,08

BÖLÜM 6

SONUÇ ve ÖNERİLER

Elektrokimyasal yöntemler, ilaç etken maddelerin doğru ve hassas analizi, farmasötik çalışmalarda biyoyararlanımın değerlendirilmesi ve etken maddelerin in vivo davranışlarının incelenip anlaşılabilmesi açısından son derece önem arz etmektedir. Ayrıca geliştirilen bu yöntemlerin varlığı sayesinde, kan serumu, ürün gibi bazı biyolojik örneklerde ve farmasötik formülasyonlardaki ilaç etken maddelerinin miktarlarının belirlenebilmesiyle etken maddelerin toksisitesinin yanı sıra farmakolojik formülasyonlarda göstermiş oldukları kararlılıkları da değerlendirilebilir. Bu bağlamda, gerçekleştirilen tez çalışması kapsamında antipsikotik etkili bir ilaç etken maddesi olan klozapinin elektrokimyasal yöntemle kesin, duyarlı ve pratik olarak tayin edilmesine yönelik etkin bir elektrokimyasal sensör geliştirilmiştir.

Bu kapsamda yapılan çalışmanın ilk bölümünde, MWCNTs, TA ve TA/MWCNTs süspansiyonları kullanılarak modifiye yüzeyler elde edilmiştir. Modifiye MWCNTs/GCE ve TA/MWCNTs/GCE yüzeylerin SEM görüntüleri incelenmiştir ve MWCNTs/GCE yüzeyinde aglomerasyon olmadan MWCNTs'in GCE yüzeyinde homojen olarak dağıldığı, TA/MWCNTs/GCE yüzeyinde TA'in parçalanmaya dayanıklı, çok kollu polifenol yapısına sahip ve flavonoid oligomer polimerleri sayesinde fonksiyonlandırılmış MWCNTs'in yapısına TA'in homojen dağılarak grift bir yapı sergilediği gözlenmiştir. Ayrıca modifiye TA/MWCNTs/GCE yüzeyinin elementel bileşimine ait EDX sonuçları kompozitin yapısındaki ana elementler olan C, O ve N'un yüzeyde olduğunu göstermiştir

- ✓ Modifiye yüzeylerin karakterizasyonu noktasında yalnız GCE, TA/GCE, MWCNTs/GCE ve TA/MWCNTs/GCE yüzeylerin CV tekniği ile ferrosen, HCF(III), rutenyum hekzaamin(III) ve HCF(II)–HCF(III) problemlerine ait voltamogramları karşılaştırıldığında TA/MWCNTs/GCE yüzeyin en iyi voltametrik davranışı sergileyen yüzey olduğu saptanmıştır.
- ✓ Geliştirilen elektrokimyasal platformun performansı optimum koşullarda değerlendirildiğinde, pH ve tarama hızı parametrelerinin Clp'in pik akımı ve pik

potansiyeline ilişkin voltametrik yanıtlardan gelişmiş voltametrik davranışın pH 8,0'de olduğu tespit edilmiş ve optimum pH değeri olarak devam eden çalışmalarda kullanılmıştır. TA/MWCNTs/GCE yüzeyinde meydana gelen reaksiyonun mekanizması tarama hızı çalışılmasıyla aydınlatılmış ve bu reaksiyonun adsorpsiyon kontrollü olduğu saptanmıştır.

- ✓ Clp'in 50 ~ 375 nM derişimlerinde alınan voltamogramları ile doğrusal bir kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Geliştirilen elektrokimyasal sensör için LOD ve LOQ değerleri hesaplanmış ve LOD 0,55 nM , LOQ 1,67 nM olarak bulunmuştur.
- ✓ TA/MWCNTs/GCE yüzeyin tekrarlanabilirlik çalışmalarında, %RSD değeri 1,8, yeniden üretilebilirlik çalışmasında ise %RSD değeri 2,7 olarak hesaplanmıştır. Kararlılık çalışmalarında TA/MWCNTs/GCE yüzey farklı sürelerle PBS ortamında inkübe edilmiş ancak voltametrik davranışlarında ciddi bir düşüş görülmemiş ve modifiye yüzeyin uzun süreler boyunca kararlılığını koruduğu gözlenmiştir.
- ✓ Önerilen elektrokimyasal yöntemin seçiciliğinin değerlendirilebilmesi amacıyla gerçekleştirilen girişim etkisi çalışmalarında, olası girişim türlerinin Clp tayininde herhangi bir ciddi etki yaratmadığı görülmüştür.
- ✓ Yöntemin pratikte kullanımının güvenilirliğini doğrulamak amacıyla, TA/MWCNTs/GCE yüzeyin duyarlılığı insan kan serumu, idrar ve tabletler gibi gerçek numunelerde incelenmiş ve önerilen elektrokimyasal sensör için % 91,46 – % 104,21 aralığında oldukça iyi sayılabilecek geri kazanım değerleri ve % 0,46 – % 2,74 aralığında RSD değerleri elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda geliştirilen TA/MWCNTs/GCE sensör, gerçek numune örneklerinde klozapinin yüksek hassasiyet ve doğrulukla tayin edilmesinde başarıyla uygulanabilir olduğunu göstermiştir.

Yukarıda sıralanan deneysel sonuçlara dayanarak hızlı, pratik ve ekonomik olması sayesinde TA/MWCNTs/GCE sensörün klinik dozaj formlarında, insan kan serumu ve idrar örneklerinde Clp'i tespit etme ve nicellendirmede oldukça karlı ve önemli olduğu önerilir.

KAYNAKLAR

1. Buckley, P., Miller, A., Olsen, J., Garver, D., Miller, D. D., & Csernansky, J. (2001). When symptoms persist: clozapine augmentation strategies. *Schizophrenia Bulletin*, 27(4), 615-628.
2. Naheed, M., Green, B. (2001) Focus on clozapine. *Curr Med Res Opin*, 17 (3), 223-229.
3. Jann, M.W. (1991) Clozapine. *Pharmacotherapy*, 11 (3), 179-195.
4. Fleming, D., Raynsford, J., & Hosalli, P. (2020). Reducing long acting antipsychotic injection dosage frequency: A pilot study in a community mental health team. *Journal of Mental Health*, 1-5.
5. Sarpal, D. K., Robinson, D. G., Lencz, T., Argyelan, M., Ikuta, T., Karlsgodt, K., ... & Malhotra, A. K. (2015). Antipsychotic treatment and functional connectivity of the striatum in first-episode schizophrenia. *JAMA psychiatry*, 72(1), 5-13.
6. Carbon, M., Hsieh, C. H., Kane, J. M., & Correll, C. U. (2017). Tardive dyskinesia prevalence in the period of second-generation antipsychotic use: a meta-analysis.
7. Grieshaber, D.; MacKenzie, R.; Vörös, J.; Reimhult, E. Electrochemical Biosensors Sensor Principles and Architectures. *Sensors* 2008, 8, 1400–1458.
8. Atta, N. F., Galal, A., & Ahmed, Y. M. (2020). An innovative design of an efficient layered electrochemical sensor for determination of tyrosine and tryptophan in the presence of interfering compounds in biological fluids. *Journal of the Electrochemical Society*, 167(2), 027505.
9. Fekry, A. M., Shehata, M., Azab, S. M., & Walcarius, A. (2020). Voltammetric detection of caffeine in pharmacological and beverages samples based on simple nano-Co (II, III) oxide modified carbon paste electrode in aqueous and micellar media. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 302, 127172.
10. Pashazadeh-Panahi, P., & Hasanzadeh, M. (2020). Digoxin as a glycosylated steroid-like therapeutic drug: Recent advances in the clinical pharmacology and bioassays of pharmaceutical compounds. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 123, 109813.
11. Holzinger, M.; Le Goff, A.; Cosnier, S. Nanomaterials for biosensing applications: A review. *Front. Chem.* 2014, 2, 63.
12. Rani, S., Sharma, B., Malhotra, R., Kumar, S., Varma, R. S., & Dilbaghi, N. (2020). Sn-MOF@ CNT nanocomposite: An efficient electrochemical sensor for detection of hydrogen peroxide. *Environmental Research*, 191, 110005.
13. Nasraoui, S., Al-Hamry, A., Teixeira, P. R., Ameer, S., Paterno, L. G., Ali, M. B., & Kanoun, O. (2021). Electrochemical sensor for nitrite detection in water samples using

flexible laser-induced graphene electrodes functionalized by CNT decorated by Au nanoparticles. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 880, 114893.

14. Shetti, N. P., Malode, S. J., Nayak, D. S., Aminabhavi, T. M., & Reddy, K. R. (2019). Nanostructured silver doped TiO₂/CNTs hybrid as an efficient electrochemical sensor for detection of anti-inflammatory drug, cetirizine. *Microchemical Journal*, 150, 104124.

15. Ahammad, A. S., Akter, T., Al Mamun, A., Islam, T., Hasan, M. M., Mamun, M. A., ... & Saha, J. K. (2018). Cost-effective electrochemical sensor based on carbon nanotube modified-pencil electrode for the simultaneous determination of hydroquinone and catechol. *Journal of The Electrochemical Society*, 165(9), B390.

16. Lin, K. W., Lin, C. H., & Hsieh, Y. Z. (2008). Electrooxidation of catecholamines at carbon nanotube-modified indium tin oxide electrodes. *Analytica chimica acta*, 619(1), 49-53.

17. Tilmaciu, C.M.; Morris, M.C. Carbon nanotube biosensors. *Front. Chem.* 2015, 3, 59.

18. Zhao, Q.; Gan, Z.; Zhuang, Q. Electrochemical sensors based on carbon nanotubes. *Electroanalysis* 2002, 14, 1609–1613.

19. Davidson, E.C. (1925). Tannic acid in the treatment of burns. *Surgery, Gynecology & Obstetrics*, 41, 202–221.

20. Orłowski, P., Krzyżowska, M., Zdanowski, R., Winnicka, A., Nowakowska, J., Stankiewicz, W. and Grobelny, J. (2013). Assessment of in vitro cellular responses of monocytes and keratinocytes to tannic acid modified silver nanoparticles. *Toxicology in Vitro*, 27(6), 1798-1808.

21. Wu L, Chu C, Chung J, Chen C-H, Hsu L-S, Liu J-K, et al. (2004). Effects of tannic acid and its related compounds on food mutagens or hydrogen peroxide-induced DNA strands breaks in human lymphocytes. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 556:75-82.

22. Lopes GK, Schulman HM, Hermes-Lima M. (1999). Polyphenol tannic acid inhibits hydroxyl radical formation from Fenton reaction by complexing ferrous ions. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 1472:142-52.

23. Ahmed, G.H.G., Laíño, R. B., Calzón, J.A.G. and García, M.E.D. (2015). Fluorescent carbon nanodots for sensitive and selective detection of tannic acid in wines. *Talanta*, 132, 252-257.

24. Sadat, S. M. A., & Omari, A. (2020). Extraction of tannins from Punica granatum peel for pharmacological activities. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, 8(1), 144-147.

25. A Youness, R., Kamel, R., A Elkasabgy, N., Shao, P., & A Farag, M. (2021). Recent Advances in Tannic Acid (Gallotannin) Anticancer Activities and Drug Delivery Systems for Efficacy Improvement; A Comprehensive Review. *Molecules*, 26(5), 1486.

-
26. Ren, A., Zhang, W., Thomas, H. G., Barish, A., Berry, S., Kiel, J. S. and Naren, A. P. (2012). A tannic acid-based medical food, Cesinex®, exhibits broad-spectrum antidiarrheal properties: a mechanistic and clinical study. *Digestive Diseases and Sciences*, 57(1), 99-108.
27. Sreeram, K.J., Ramasami, T. (2003). Sustaining tanning process through conservation, recovery and better utilization of chromium. *Resources, Conservation and Recycling*, 38(3), 185-212.
28. Cannas, A.:Tannins: fascinating but sometimes dangerous molecules. Animal Science, Cornell University.
29. Goel, G. Puniya, A.K., Aguilar, Singh, K.: Interaction of gut microflora with tannins in feeds. *Naturwissenschaften*, 2005; (92): 497–503
30. Suherman, A. L., Kuss, S., Tanner, E. E., Young, N. P., & Compton, R. G. (2018). Electrochemical Hg²⁺ detection at tannic acid-gold nanoparticle modified electrodes by square wave voltammetry. *Analyst*, 143(9), 2035-2041.
31. Batista, F. A., Nascimento, S. Q., Sousa, A. B., Júnior, E. F., de Almeida Pereira, P. I., Fontenele, V. M., ... & Mendes, A. N. (2019). Synthesis, characterization and electrochemical properties of composites synthesized from silver-tannic acid hybrid nanoparticles and different clays. *Applied Clay Science*, 181, 105219.
32. Haque, A. M. J., Kumar, S., Del Río, J. S., & Cho, Y. K. (2020). Highly sensitive detection of hydrazine by a disposable, Poly (Tannic Acid)-Coated carbon electrode. *Biosensors and Bioelectronics*, 150, 111927.
33. Ma, H., Zheng, N., Chen, Y., & Jiang, L. (2021). Laccase-like catalytic activity of Cu-tannic acid nanohybrids and their application for epinephrine detection. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 613, 126105.
34. Bolton, Derek (7 Şubat 2008). *What is Mental Disorder?: An Essay in Philosophy, Science, and Values* (İngilizce). OUP Oxford. ISBN 978-0-19-856592-5.
Diagnostic and statistical manual of mental disorders : DSM-5. Internet Archive. Arlington, VA : American Psychiatric Association. 2013. ISBN 978-0-89042-554-1
35. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders : DSM-5*. Internet Archive. Arlington, VA : American Psychiatric Association. 2013. ISBN 978-0-89042-554-1.
36. www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mental-disorders
37. Shen, Y.C., Lee, M.Y., Lin, C.C.,Chen, C.H. (2007) Orally disintegrating olanzapine for the treatment of a manic patient with esophageal stricture plus chronic pharyngitis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 31 (2), 541-542.

-
38. Ertuğrul, A. (2007). Şizofreni Etiyolojisi. H. Soygür, K. Alptekin, E. C. Atbaşoğlu & H. Herken (Ed.). Şizofreni ve Diğer Psikotik Bozukluklar (s. 28-52). Ankara: Tuna Matbaası
39. Jablensky, A. (1993) The epidemiology of schizophrenia. *Curr Opin Psychiatr*, 6, 43-52.
40. Öztürk, O., Uluşahin, A. (2008). Ruh Sağlığı ve Bozuklukları, Cilt I. Ankara: Tuna Matbaacılık San ve Tic. A.Ş.
41. Arıhan, G. (1998) Şizofreni Epidemiyolojisi. *Şizofreni Dizisi*, 2, 64-74.
42. Torgalsboen, A.K. (1999) Full recovery from schizophrenia: the prognostic role of premorbid adjustment, symptoms at first admission, precipitating events and gender. *Psychiatry Res*, 88 (2), 143-152.
43. American Psychiatric Association,(APA). (2002). American Psychiatric Association practise guidelines for the treatment of psychiatric disorders compendium. Washington: D.C.
44. Öztürk, O., Uluşahin, A. (2008). Ruh Sağlığı ve Bozuklukları, Cilt II. Ankara: Tuna Matbaacılık San ve Tic. A.Ş.
45. Anıl-Yağcıoğlu, E. (2007) Antipsikotik ilaçların etki mekanizmaları: Şizofreni tedavisinde "atipiklik" bir üstünlük mü? *Türk Psikiyatri Dergisi*, 18 (4), 364-374.
46. Karakuş, G., Kocal, Y., & Damla, S. E. R. T. (2017). Şizofreni: Etyoloji, klinik özellikler ve tedavi. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 26(2), 251-267.
47. Öztürk, O., Uluşahin, A. (2008). Ruh Sağlığı ve Bozuklukları, Cilt II. Ankara: Tuna Matbaacılık San ve Tic. A.Ş.
48. Anıl-Yağcıoğlu, E., Özgüven, H.D., Alptekin, K. (2007). Şizofrenide Tedaviye Direnç. H. Soygür, K. Alptekin, E. C. Atbaşoğlu & H. Herken (Ed.). Şizofreni ve Diğer Psikotik Bozukluklar (s. 476-499). Ankara: Tuna Matbaası
49. Lieberman, J.A. (1996) Atypical antipsychotic drugs as a first-line treatment of schizophrenia:a rationale and hypothesis. *J Clin Psychiatry*, 57 (Suppl 11), 68-71.
50. Meltzer HY. Suicidality in schizophrenia: a review of the evidence for risk factors and treatment options. *Curr Psychiatry Rep* 2002;4:279-283.
51. Crilly, J. (2007). The history of clozapine and its emergence in the US market: a review and analysis. *History of psychiatry*, 18(1), 39-60.
52. M. Ackenheil, *Psychopharmacology* 99 (1989) S32–S37

-
53. Nucifora, F. C., Mihaljevic, M., Lee, B. J., & Sawa, A. (2017). Clozapine as a model for antipsychotic development. *Neurotherapeutics*, *14*(3), 750-761.
54. J.S. Markowitz, C.S. Brown, T.R. Moore, *Ann. Pharmacother.* 33(1999) 73–85
55. Keepers, G. A., Fochtmann, L. J., Anzia, J. M., Benjamin, S., Lyness, J. M., Mojtabai, R., & (Systematic Review). (2020). The American Psychiatric Association practice guideline for the treatment of patients with schizophrenia. *American Journal of Psychiatry*, *177*(9), 868-872.
56. Buchanan, R. W., Kreyenbuhl, J., Kelly, D. L., Noel, J. M., Boggs, D. L., Fischer, B. A., ... & Keller, W. (2010). The 2009 schizophrenia PORT psychopharmacological treatment recommendations and summary statements. *Schizophrenia bulletin*, *36*(1), 71-93.
57. Galletly, C., Castle, D., Dark, F., Humberstone, V., Jablensky, A., Killackey, E., ... & Tran, N. (2016). Royal Australian and New Zealand College of Psychiatrists clinical practice guidelines for the management of schizophrenia and related disorders. *Australian & New Zealand Journal of Psychiatry*, *50*(5), 410-472.
58. Hasan, A., Falkai, P., Wobrock, T., Lieberman, J., Glenthøj, B., Gattaz, W. F., ... & WFSBP Task Force on Treatment Guidelines for Schizophrenia. (2012). World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP) Guidelines for Biological Treatment of Schizophrenia, part 1: update 2012 on the acute treatment of schizophrenia and the management of treatment resistance. *The World Journal of Biological Psychiatry*, *13*(5), 318-378.
59. Kuipers, E., Kendall, T., Udechuku, A. Y., Slade, E., Birchwood, M., & Brabban, A. (2014). Psychosis and schizophrenia in adults-The NICE guideline on treatment and management. *National Collaborating Centre for Mental Health, commissioned by the National Institute for Health and Care Excellence*.
60. Siskind, D., McCartney, L., Goldschlager, R., & Kisely, S. (2016). Clozapine v. first- and second-generation antipsychotics in treatment-refractory schizophrenia: systematic review and meta-analysis. *The British Journal of Psychiatry*, *209*(5), 385-392.
61. Masuda, T., Misawa, F., Takase, M., Kane, J. M., & Correll, C. U. (2019). Association with hospitalization and all-cause discontinuation among patients with schizophrenia on clozapine vs other oral second-generation antipsychotics: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *JAMA psychiatry*, *76*(10), 1052-1062.
62. Kraus, J.E., Sheitman, B.B. (2005) Clozapine reduces violent behavior in heterogeneous diagnostic groups. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, *17* (1), 36- 44.
63. Meltzer, H.Y., Okaylı, G. (1995) Reduction of suicidality during clozapine treatment of neuroleptic-resistant schizophrenia: Impact on risk-benefit assessment. *Am J Psychiatry* *152*, 183-190.

-
64. Meltzer, H.Y., Alphas, L., Green, A.I. ve diğeri. (2003) Clozapine treatment for suicidality in schizophrenia. International Suicide Prevention Trial (InterSePT) *Arch Gen Psychiatry*, 60, 82-91.
65. Pollak, P., Tison, F., Rascol, O., Destee, A., Pere, J.J., Senard, J.M. ve diğeri. (2004) Clozapine in drug induced psychosis in Parkinson's Disease: a randomised, placebo controlled study with open follow up. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 75, 689-695.
66. Wallace, L.J. (2000). *Psychopharmacological Agents*. A. R. Gennaro (Ed.). Remington: The Science and Practice of Pharmacy (s. 1429-). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins
67. Guitton, C., Kinowski, J.M., Aznar, R., Bressolle, F. (1997) Determination of clozapine and its major metabolites in human plasma and red blood cells by high-performance liquid chromatography with ultraviolet absorbance detection. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 690 (1-2), 211-222.
68. Ceylan, M.E. (1993). *Araştırma ve Klinik Uygulamada Biyolojik Psikiyatri*, I. Şizofreni. İstanbul.
69. Singh, J., Philip, A.K., Pathak, K. (2008) Optimization studies on design and evaluation of orodispersible pediatric formulation of indomethacin. *AAPS PharmSciTech*, 9 (1), 60-66.
70. Anıl, E., Turgut, İ.T., Rezaki, M., Göğüş, A. (2002) Klopazın Tedavisini Güçlendirme: Bir Gözden Geçirme. *Türk Psikiyatri Dergisi*, 13 (1), 65-77.
71. Choc, M.G., Hsuan, F., Honigfeld, G., Robinson, W.T., Ereshevsky, L., Crismon, M.L. ve diğeri. (1990) Single- vs. multiple-dose pharmacokinetics of clozapine in psychiatric patients. *Pharm Res*, 7, 347-351.
72. Fitton, A., Heel, R.C. (1990) Clozapine: A review of its pharmacological properties and therapeutic use in schizophrenia. *Drugs*, 40, 722-747.
73. Dain, J.G., Nicoletti, J., Ballard, F. (1997) Biotransformation of clozapine in humans. *Drug Metab Dispos*, 25 (5), 603-609.
74. YILMAZGÜÇ, B. Y. (2008). *Telmisartan'ın elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi ve voltametrik yöntemle tayini* (Doctoral dissertation, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Ana Bilim Dalı).
75. Zuman, P., Brezina, M., "Polarographic Analysis in Pharmacy. Progress in Polarography" Vol. 2th Ed. P. Zuman, I.M. Kolthoff, New York, Interscience Publishers (1962).
76. Pihlar, B., Valenta, P., & Nürnberg, H. W. (1981). New high-performance analytical procedure for the voltammetric determination of nickel in routine analysis of waters,

biological materials and food. *Fresenius' Zeitschrift für Analytische Chemie*, 307(5), 337-346.

77. Skoog D, West D, Holler J. (1996). *Analitik Kimya*, Bilim Yayıncılık, Ankara, 497s.

78. Yenigül B, Ertaş F.N, Voltametik Analiz Yöntemleri I. Eser Analiz Yaz Okulu Kitabı Ed. Henden E, Gökçel İ, Ertaş F.N. Ege Üniversitesi, (2001), p.154.

79. Marken, F., Neudeck, A., & Bond, A. M. (2010). Cyclic voltammetry. In *Electroanalytical methods* (pp. 57-106). Springer, Berlin, Heidelberg.

80. Mabbott, G. A. (1983). An introduction to cyclic voltammetry. *Journal of Chemical education*, 60(9), 697.

81. Rusling, J. F., & Suib, S. L. (1994). Characterizing materials with cyclic voltammetry. *Advanced Materials*, 6(12), 922-930.

82. Aristov, N., & Habekost, A. (2015). Cyclic voltammetry-A versatile electrochemical method investigating electron transfer processes. *World J. Chem. Educ*, 3(5), 115-119.

83. Kissinger, P. T., & Heineman, W. R. (1983). Cyclic voltammetry. *Journal of Chemical Education*, 60(9), 702.

84. Kucur, E., Riegler, J., Urban, G. A., & Nann, T. (2003). Determination of quantum confinement in CdSe nanocrystals by cyclic voltammetry. *The Journal of chemical physics*, 119(4), 2333-2337.

85. Izutsu K (2002). *Electrochemistry In Nonaqueous Solutions*. Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim.

86. Wang, J. (2006). *Analytical electrochemistry*. Third edition, John Wiley, 250 p., New Jersey Yu GL, Wei EQ, Zhang SH, Xu HM, Chu LS, Zhang WP, Zhang Q, Chen Z, Mei RH, Zhao 67

87. YILMAZ, D. B. (2018). *Amlodipin ve hidroklorotiyazid etkin maddelerinin kare dalga ve diferansiyel puls voltametri yöntemi ile farmasötik preparatlarda aynı anda miktar tayini* (Doctoral dissertation).

88. İnam, r., Mercan, h., & Yılmaz, e. *diferansiyel puls polarografisi ile pimetrozin'in polarografik tayini*

89. USLU, B. T. D., & AYAZLI, E. Y. *Kare dalga voltametri ve uygulamaları* (Doctoral dissertation, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim Dalı).

90. PINAR, P. T., Tuluk, T., & Şentürk, Z. Determination of Pravastatin in Drug Formulation by Square-wave Voltammetry on a Glassy Carbon Electrode. *Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Fen ve Mühendislik Dergisi*, 22(64), 29-35.

-
91. Karaboğa, M. N. S. (2018). Bazı nörodejeneratif hastalıkların erken tanısına yönelik nöro-biyosensör sistemlerinin geliştirilmesi ve klinik uygulamalarının araştırılması.
92. Levent, A. (2017). Bor katkılı elmas elektrot ile naftalin'in voltametrik davranışı: Kare dalga anodik sıyırma voltametri ile miktar tayini. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 21(3), 948-955.
93. Kılıçel, f., Şentürk, z., & Yavuz, g. bizmut-film elektrot üzerinde sıyırma voltametri ile kurşun metalinin analizi ve van yöresindeki su örneklerinde uygulaması.
94. TURAN, Ş. Y., & DURMUŞ, Z. T. D. (2008). *Ornizadol'ün elektrokimyasal davranışı ve adsorptif sıyırma yöntemleriyle tayini* (Doctoral dissertation, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı).
95. Yüksel, M. (2003). Adsorptif sıyırma voltametri ile schiff bazı varlığında germanyum tayini. *Teknoloji*, 6.
96. Yüksel, E. (2019). *Aripiprazolün elektrokimyasal özellikleri ve anodik adsorptif sıyırma voltametri yöntemi ile farmasötik ve biyolojik sıvılarda tayini* (Master's thesis, Namık Kemal Üniversitesi).
97. Yang, G., Shen, Y., Wang, M., Chen, H., Liu, B. and Dong, S. "Copperhexacyanoferrate multilayer films on glassy carbon electrode modified with 4-aminobenzoic acid in aqueous solution", *Talanta*, 68:741-747 (2006).
98. Çelikkan H., "Polipirol ile Modifiye Edilmiş Karbon Elektrot Kullanılarak ASV Yöntemiyle Pb ve Cu Tayini", Yüksek Lisans Tezi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara (2001).
99. Zurawski, D. Rice, L. Hourani, M. and Wiewckowski, A., "The in-situ preparation of well-defined, single crystal electrodes", *J. Electroanal. Chem.*, 107, 211 (1987)
100. Allen J.B. Integrated Chemical Systems, Department of Chemistry and Biochemistry The University of Texas at Austin.
101. Kantarcıoğlu, M. (2017). *Dekstrin temelli polimerlerin sentezi, yüzey modifikasyonu ve biyomedikal uygulamaları* (Master's thesis, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
102. Wang J., "Analytical Electrochemistry": 2nd ed. Wiley & Sons Inc., 2000.
103. Cantopçu, M. (2014). Nanomalzemelerle modifiye edilmiş tek kullanımlık sensörlerle dopaminin elektrokimyasal tayini (Master's thesis, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
104. Erk, N. (2017). Proje Başlığı: Bazı farmasötik formülasyonlardaki ilaç etken maddelerin miktar tayinlerine yönelik yüksek kaliteye sahip yeni nesil grafen temelli elektrokimyasal nanosensörlerin geliştirilmesi.

-
105. UZAK, Y. (2019). Dopamine ve asetaminofenin eş zamanlı saptanması için bir voltametrik yöntemin geliştirilmesi/Development of a voltammetric method for the simultaneous determination of dopamine and acetaminophen (Doctoral dissertation).
106. KUTLUAY BAYTAK, A. Y. Ş. E. G. Ü. L. (2009). *Elektrokimyasal sensörlerin analitik uygulamaları/Analytical applications of electrochemical sensors* (Doctoral dissertation).
107. Ekinci, E. (1995). Elektrokimyasal sensör materyali olarak polimerlerin sentezi ve fizikokimyasal özelliklerinin incelenmesi.
108. Thevenot, D.R., Toth, K., Durst, R.A., Wilson, G.S. 2001. Electrochemical biosensors: Recommended definitions and classification. *Biosensors and Bioelectronics*, 16, 121-131.
109. Duan, W.H., Wang, Q., Liew, K.M. and He, X.Q., 2007. Molecular mechanics modeling of carbon nanotube fracture, *Carbon*, 45, 1769- 1776.
110. Demczyk, B.G., et al., 2002. Direct mechanical measurement of the tensile strength and elastic modulus of multiwalled carbon nanotubes *Materials Science and Engineering A*, 334, 173-178.
111. Georgakilas, V., Perman, J. A., Tucek, J., and Zboril, R. (2015). Broad family of carbon nano allotropes: classification, chemistry, and applications of fullerenes, carbon dots, nanotubes, graphene, nano diamonds, and combined superstructures. *Chem. Rev.* 115, 4744–4822. doi: 10.1021/cr500304f.
112. Yan, Y. Chan-Park, M.B. Zhang, Q. (2007). Advances in carbon-nanotube assembly. *Small*, 3, 24–42.
113. Novoselov, K.S. Geim, A.K.; Morozov, S.V. Jiang, D.; Zhang, Y. Dubonos, S.V. Grigorieva, I.V. Firsov, A.A. (2004). Electric field effect in atomically thin carbon films. *Science*, 306, 666–669.
114. Dresselhaus M. Dresselhaus G., Eklund, P. C. (1996). *Science of Fullerenes and Carbon Nanotubes*, Academic Press, Pages 60-79.
115. Mauter M.S, Elimelech M. (2008). Environmental applications of carbonbased nanomaterials, *Environ Sci Technol.*, Aug 15;42(16):5843-59
116. Yuca, N. (2010). *Karbon Nanotüplerin Çeşitli Yöntemlerle Saflaştırılması* (Doctoral dissertation, Enerji Enstitüsü).
117. Iijima, S. (1991). Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature*, 354, (6348), 56-58.
118. Bethune, D. S. vd. (1993). Cobalt-catalysed growth of carbon nanotubes with single-atomic-layer walls. *Nature*, 363, (6430), 605-607.

-
119. Spitalksy, Z., Tasis, D., Papagelis K., Galiotis C. (2010). Carbon nanotubepolymer composites: Chemistry, processing, mechanical and electrical properties, *Progress in Polymer Sciences*, 35, 357-401.
120. Guldi, D. M., Rahman, G. M. A., Zerbetto, F., Prato, M. (2005). Carbon nanotubes in electron donor-acceptor nanocomposites, *Acc. Chem. Res.*, 38:871-878.
121. Tasis, D., Tagmatarchis, N., Bianco, A., Prato, M. (2006). Chemistry of carbon nanotubes, *Chem. Rev.*, 106:1105–1136.
122. Cui, H., Li, Q., Meng, R., Zhao, H. and He, C. (1998). Flow injection analysis of tannic acid with inhibited chemiluminescent detection. *Analytica Chimica Acta*, 362(2), 151-155.
123. Raj, M. A., Revin, S. B., & John, S. A. (2013). Synthesis, characterization and modification of functionalized pyrimidine stabilized gold nanoparticles on ITO electrode for the determination of tannic acid. *Bioelectrochemistry*, 89, 1-10.
124. Sharma, K., Kumar, V., Kaur, J., Tanwar, B., Goyal, A., Sharma, R., ... & Kumar, A. (2019). Health effects, sources, utilization and safety of tannins: A critical review. *Toxin Reviews*, 1-13.
125. Yılmaz, Ü. T., Çalık, E., Uzun, D., Karipcin, F., & Yılmaz, H. (2016). Selective and sensitive determination of tannic acid using a 1-benzoyl-3-(pyrrolidine) thiourea film modified glassy carbon electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 776, 1-8.
126. Higazy, A., Hashem, M., ElShafei, A., Shaker, N., & Hady, M. A. (2010). Development of anti-microbial jute fabrics via in situ formation of cellulose–tannic acid–metal ion complex. *Carbohydrate Polymers*, 79(4), 890-897.
127. N. Sahiner, S. Sagbas, N. Aktas, C. Silan, Inherently antioxidant and antimicrobial tannic acid release from poly(tannic acid) nanoparticles with controllable degradability, *Colloid Surface. B* 142 (2016) 334–343.
128. F. Oulad, S. Zinadini, A.A. Zinatizadeh, A.A. Derakhshan, Fabrication and characterization of a novel tannic acid coated boehmite/PES high performance antifouling NF membrane and application for licorice dye removal, *Chem. Eng. J.* 397 (2020) 125105–125121
129. Beltagi, A. M., El-Desoky, H. S., & Ghoneim, M. M. (2007). Quantification of terbutaline in pharmaceutical formulation and human serum by adsorptive stripping voltammetry at a glassy carbon electrode. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 55(7), 1018-1023.
130. Wang, Y., Chen, H., Hu, X., & Yu, H. (2016). Highly stable and ultrasensitive chlorogenic acid sensor based on metal–organic frameworks/titanium dioxide nanocomposites. *Analyst*, 141(15), 4647-4653.

-
131. Baytak, A. K., & Aslanoglu, M. (2015). Voltammetric quantification of tryptophan using a MWCNT modified GCE decorated with electrochemically produced nanoparticles of nickel. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 220, 1161-1168.
132. SANATI, A. L., KARIMI-MALEH, H., BADIEI, A., BIPARVA, P. & ENSAFI, A. A. 2014. A voltammetric sensor based on NiO/CNTs ionic liquid carbon paste electrode for determination of morphine in the presence of diclofenac. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 35: 379-85.
133. Messaoud, N. B., Ghica, M. E., Dridi, C., Ali, M. B., & Brett, C. M. (2017). Electrochemical sensor based on multiwalled carbon nanotube and gold nanoparticle modified electrode for the sensitive detection of bisphenol A. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 253, 513-522.
134. Arvand, M., & Hassannezhad, M. (2014). Magnetic core-shell Fe₃O₄@SiO₂/MWCNT nanocomposite modified carbon paste electrode for amplified electrochemical sensing of uric acid. *Materials Science and Engineering: C*, 36, 160-167.
135. Baytak, A. K., Teker, T., Duzmen, S., & Aslanoglu, M. (2016). A sensitive determination of terbutaline in pharmaceuticals and urine samples using a composite electrode based on zirconium oxide nanoparticles. *Materials Science and Engineering: C*, 67, 125-131.
136. Ghorbani-Bidkorbeh, F., Shahrokhian, S., Mohammadi, A., & Dinarvand, R. (2010). Simultaneous voltammetric determination of tramadol and acetaminophen using carbon nanoparticles modified glassy carbon electrode. *Electrochimica Acta*, 55(8), 2752-2759.
137. Chitravathi, S., & Munichandraiah, N. (2016). Voltammetric determination of paracetamol, tramadol and caffeine using poly (Nile blue) modified glassy carbon electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 764, 93-103.
138. Liu, Z., Lu, B., Gao, Y., Yang, T., Yue, R., Xu, J., & Gao, L. (2016). Facile one-pot preparation of Pd-Au/PEDOT/graphene nanocomposites and their high electrochemical sensing performance for caffeic acid detection. *RSC advances*, 6(92), 89157-89166.
139. Madrakian, T., Alizadeh, S., Bahram, M., & Afkhami, A. (2017). A novel electrochemical sensor based on magneto LDH/Fe₃O₄ nanoparticles@ glassy carbon electrode for voltammetric determination of tramadol in real samples. *Ionics*, 23(4), 1005-1015.
140. Babaei, A., Taheri, A. R., & Afrasiabi, M. (2011). A multi-walled carbon nanotube-modified glassy carbon electrode as a new sensor for the sensitive simultaneous determination of paracetamol and tramadol in pharmaceutical preparations and biological fluids. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 22, 1549-1558.
141. Santos, A. M., Vicentini, F. C., Figueiredo-Filho, L. C., Deroco, P. B., & Fatibello-Filho, O. (2015). Flow injection simultaneous determination of acetaminophen and tramadol in pharmaceutical and biological samples using multiple pulse amperometric detection with a boron-doped diamond electrode. *Diamond and Related Materials*, 60, 1-8.

-
142. Tajyani, S., & Babaei, A. (2018). A new sensing platform based on magnetic Fe₃O₄@ NiO core/shell nanoparticles modified carbon paste electrode for simultaneous voltammetric determination of Quercetin and Tryptophan. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 808, 50-58.
143. Shahrokhian, S., & Fotouhi, L. (2007). Carbon paste electrode incorporating multi-walled carbon nanotube/cobalt salophen for sensitive voltammetric determination of tryptophan. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 123(2), 942-949.
144. Moreira Ferreira, L., Dutra de Souza, F., Nome Aguilera, F. J., & Cruz Vieira, I. (2017). Electrochemical sensor based on rhodium nanoparticles stabilized in zwitterionic surfactant for p-coumaric acid analysis. *Canadian Journal of Chemistry*, 95(2), 113-119.
145. Gopal, P., & Reddy, T. M. (2018). Fabrication of carbon-based nanomaterial composite electrochemical sensor for the monitoring of terbutaline in pharmaceutical formulations. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 538, 600-609.
146. Garrido, E. M. P. J., Garrido, J. M. P. J., Borges, F., & Delerue-Matos, C. (2003). Development of electrochemical methods for determination of tramadol—analytical application to pharmaceutical dosage forms. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 32(4-5), 975-981.
147. Dehdashtian, S., Shamsipur, M., & Gholivand, M. B. (2016). Fabrication of a novel electrochemical sensor based on an electrosynthesized indolyldihydroxyquinone as a bio-based modifier for sensitive and selective direct electrochemical determination of tryptophan. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 780, 119-125.
148. Liu, X., Shuai, H. L., Liu, Y. J., & Huang, K. J. (2016). An electrochemical biosensor for DNA detection based on tungsten disulfide/multi-walled carbon nanotube composites and hybridization chain reaction amplification. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 235, 603-613.
149. Mercolini, L., Bugamelli, F., Kenndler, E., Boncompagni, G., Franchini, L., & Raggi, M. A. (2007). Simultaneous determination of the antipsychotic drugs levomepromazine and clozapine and their main metabolites in human plasma by a HPLC-UV method with solid-phase extraction. *Journal of chromatography B*, 846(1-2), 273-280.
150. Vardakou, I., Dona, A., Pistos, C., Alevissopoulos, G., Athanaselis, S., Maravelias, C., & Spiliopoulou, C. (2010). Validated GC/MS method for the simultaneous determination of clozapine and norclozapine in human plasma. Application in psychiatric patients under clozapine treatment. *Journal of Chromatography B*, 878(25), 2327-2332.
151. Raggi, M. A., Bugamelli, F., Mandrioli, R., Sabbioni, C., Volterra, V., & Fanali, S. (2001). Rapid capillary electrophoretic method for the determination of clozapine and desmethylclozapine in human plasma. *Journal of Chromatography A*, 916(1-2), 289-296.

-
152. Zheng, M. M., Wang, S. T., Hu, W. K., & Feng, Y. Q. (2010). In-tube solid-phase microextraction based on hybrid silica monolith coupled to liquid chromatography–mass spectrometry for automated analysis of ten antidepressants in human urine and plasma. *Journal of Chromatography A*, 1217(48), 7493-7501.
153. Saracino, M. A., Lazzara, G., Prugnoli, B., & Raggi, M. A. (2011). Rapid assays of clozapine and its metabolites in dried blood spots by liquid chromatography and microextraction by packed sorbent procedure. *Journal of Chromatography A*, 1218(16), 2153-2159.
154. Uřinová, R., Brozmannová, H., Šišťík, P., Šilhán, P., Kacířová, I., Lemr, K., & Grundmann, M. (2012). Liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for determination of five antidepressants and four atypical antipsychotics and their main metabolites in human serum. *Journal of Chromatography B*, 907, 101-107.
155. Sampedro, M. C., Unceta, N., Gómez-Caballero, A., Callado, L. F., Morentin, B., Goicolea, M. A., ... & Barrio, R. J. (2012). Screening and quantification of antipsychotic drugs in human brain tissue by liquid chromatography–tandem mass spectrometry: Application to postmortem diagnostics of forensic interest. *Forensic science international*, 219(1-3), 172-178.
156. Petruczynik, A., Wróblewski, K., Szultka-Młyńska, M., Buszewski, B., Karakuła-Juchnowicz, H., Gajewski, J., ... & Waksmundzka-Hajnos, M. (2016). Determination of some psychotropic drugs in serum and saliva samples by HPLC-DAD and HPLC MS. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 127, 68-80.
157. Asghari, A., Fahimi, E., Bazregar, M., Rajabi, M., & Boutorabi, L. (2017). Rapid determination of some psychotropic drugs in complex matrices by tandem dispersive liquid–liquid microextraction followed by high performance liquid chromatography. *Journal of chromatography B*, 1052, 51-59.
158. Zhu, Q., Yu, X., Wu, Z., Lu, F., & Yuan, Y. (2018). Antipsychotic drug poisoning monitoring of clozapine in urine by using coffee ring effect based surface-enhanced Raman spectroscopy. *Analytica chimica acta*, 1014, 64-70.
159. Koller, D., Zubiaur, P., Saiz-Rodríguez, M., Abad-Santos, F., & Wojnicz, A. (2019). Simultaneous determination of six antipsychotics, two of their metabolites and caffeine in human plasma by LC-MS/MS using a phospholipid-removal microelution-solid phase extraction method for sample preparation. *Talanta*, 198, 159-168.
160. Riman, D., Rozsypal, J., Halouzka, V., Hrbac, J., & Jirovsky, D. (2020). The use of micro carbon pencil lead electrode for sensitive HPLC-ED analysis of selected antipsychotic drugs. *Microchemical Journal*, 154, 104606.
161. Ma, W., Gao, X., Guo, H., & Chen, W. (2021). Determination of 13 antidepressants in blood by UPLC-MS/MS with supported liquid extraction pretreatment. *Journal of Chromatography B*, 1171, 122608.

-
162. Bagheri, H., Afkhami, A., Panahi, Y., Khoshshafar, H., & Shirzadmehr, A. (2014). Facile stripping voltammetric determination of haloperidol using a high performance magnetite/carbon nanotube paste electrode in pharmaceutical and biological samples. *Materials Science and Engineering: C*, 37, 264-270.
163. Farhadi, K., & Karimpour, A. (2007). Electrochemical behavior and determination of clozapine on a glassy carbon electrode modified by electrochemical oxidation. *Analytical sciences*, 23(4), 479-483.
164. Mashhadizadeh, M. H., & Afshar, E. (2013). Electrochemical investigation of clozapine at TiO₂ nanoparticles modified carbon paste electrode and simultaneous adsorptive voltammetric determination of two antipsychotic drugs. *Electrochimica acta*, 87, 816-823.
165. Fat, M. R., & Almasifar, D. (2017). Electrochemical Sensor for Square Wave Voltammetric Determination of Clozapine by Glassy Carbon Electrode Modified by WO₃ Nanoparticles. *IEEE Sensors Journal*, 17(18), 6069-6076.
166. Reymond, F., Lager, G., Carrupt, P.A. ve Girault, H.H., "Facilitated ion transfer reactions across oil/water interfaces. Part II. Use of the convoluted current for the calculation of the association constants and z lfor an amperometric determination of the stoichiometry of ML_j complexes" *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 451: 59-76, 1998a.
167. Reymond, F., Carrupt, P.A. ve Girault, H.H., "Facilitated ion transfer reactions across oilwater interfaces. Part I. Algebraic development and calculation of cyclic voltammetry experiments for successive complex formation", *Journal of Electroanalytical Chemistry* 449; 49, 1998b.
168. Yadav, S., Devi, R., Kumar, A., & Pundir, C. S. (2011). Tri-enzyme functionalized ZnO-NPs/CHIT/c-MWCNT/PANI composite film for amperometric determination of creatinine. *Biosensors and Bioelectronics*, 28(1), 64-70.
169. Yue, Y. N., Meng, W. J., Liu, L., Hu, Q. L., Wang, H., & Lu, J. X. (2018). Amino acid-functionalized multi-walled carbon nanotubes: A metal-free chiral catalyst for the asymmetric electroreduction of aromatic ketones. *Electrochimica Acta*, 260, 606-613.
170. Niu, X., Yang, X., Mo, Z., Guo, R., Liu, N., Zhao, P., ... & Ouyang, M. (2019). Voltammetric enantiomeric differentiation of tryptophan by using multiwalled carbon nanotubes functionalized with ferrocene and β -cyclodextrin. *Electrochimica Acta*, 297, 650-659.
171. Koçođlu, İ. O. Enzim temelli biyosensörlerin cevabına çeşitli metal oksit nanopartiküllerin etkisinin karşılaştırılması.
172. Bulut, E. (2007). Gümüş nanopartiküllerin polifenollerle sentezi ve karakterizasyonu (Master's thesis, Sakarya Üniversitesi).
173. Oztekin, Y., Ramanaviciene, A., Ryskevici, N., Yazicigil, Z., Üstündađ, Z., Solak, A. O., & Ramanavicius, A. (2011). 1, 10-Phenanthroline modified glassy carbon

electrode for voltammetric determination of cadmium (II) ions. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 157(1), 146-153.

174. Ahmad, K., Kumar, P., & Mobin, S. M. (2020). A highly sensitive and selective hydroquinone sensor based on a newly designed N-rGO/SrZrO₃ composite. *Nanoscale Advances*, 2(1), 502-511.

175. M.R. Fathi, D. Almasifar, Electrochemical Sensor for Square Wave Voltammetric Determination of Clozapine by Glassy Carbon Electrode Modified by WO₃ Nanoparticles, *IEEE Sens. J.* 17 (2017) 6069–6076, JSEN.2017.2735304.

176. T. Shutava, M. Prouty, D. Kommireddy, Y. Lvov, pH responsive decomposable layer-by-layer nanofilms and capsules on the basis of tannic acid, *Macromolecules*. 38 (7) (2005) 2850–2858, <https://doi.org/>

177. Y.J. Yang, In-situ growth of Fe(III)/tannic acid/polyvinyl pyrrolidone composite on carbon nanotubes for enhanced electroreduction of oxygen, *Fullerenes Nanotub. Carbon Nanostructures*. 29 (4) (2021) 258–266, 10.1080/1536383X.2020.1835871.

178. Liu, Z. C., & Uetrecht, J. P. (1995). Clozapine is oxidized by activated human neutrophils to a reactive nitrenium ion that irreversibly binds to the cells. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 275(3), 1476-1483.

179. Shahrokhian, S., Rastgar, S., Amini, M. K., & Adeli, M. (2012). Fabrication of a modified electrode based on Fe₃O₄NPs/MWCNT nanocomposite: application to simultaneous determination of guanine and adenine in DNA. *Bioelectrochemistry*, 86, 78-86.

180. M. Burç, S. Köytepe, S.T. Duran, N. Ayhan, B. Aksoy, T. Seçkin, Development of voltammetric sensor based on polyimide-MWCNT composite membrane for rapid and highly sensitive detection of paracetamol, *Meas. J. Int. Meas. Confed.* 151 (2020),

181. H. Incebay, L. Aktepe, Z. Leblebici, An electrochemical sensor based on green tea extract for detection of Cd(II) ions by differential pulse anodic stripping voltammetry, *Surfaces and Interfaces*. 21 (2020), [j.surfin.2020.100726](https://doi.org/10.1016/j.surfin.2020.100726) 100726.

182. G. Manasa, A.K. Bhakta, Z. Mekhalif, R.J. Mascarenhas, Voltammetric Study and Rapid Quantification of Resorcinol in Hair Dye and Biological Samples Using Ultrasensitive Maghemite/MWCNT Modified Carbon Paste Electrode, *Electroanalysis*. 31 (7) (2019) 1363–1372,

183. N. Setoudeh, S. Jahani, M. Kazemipour, M.M. Foroughi, H. Hassani Nadiki, Zeolitic imidazolate frameworks and cobalt-tannic acid nanocomposite modified carbon paste electrode for simultaneous determination of dopamine, uric acid, acetaminophen and tryptophan: Investigation of kinetic parameters of surface electrode and its analytical performance, *J. Electroanal. Chem.* 863 (2020) 114045,

-
184. M.H. Mashhadizadeh, E. Afshar, Electrochemical investigation of clozapine at TiO₂ nanoparticles modified carbon paste electrode and simultaneous adsorptive voltammetric determination of two antipsychotic drugs, *Electrochim. Acta.* 87 (2013) 816–823,
185. K. FARHADI, A. KARIMPOUR, Electrochemical behavior and determination of clozapine on a glassy carbon electrode modified by electrochemical oxidation, *Anal. Sci.* 23 (4) (2007) 479–483,
186. M. Pirmohamed, K. Park, Mechanism of clozapine-induced agranulocytosis, Current status of research and implications for drug development, *CNS Drugs.* 7 (2) (1997) 139–158,
187. Ghanbari, M. H., Shahdost-Fard, F., Rostami, M., Khoshroo, A., Sobhani-Nasab, A., Gholipour, N., ... & Ahmadi, F. (2019). Electrochemical determination of the antipsychotic medication clozapine by a carbon paste electrode modified with a nanostructure prepared from titania nanoparticles and copper oxide. *Microchimica Acta*, 186(11), 1-10.
188. Liu, Z. C., & Uetrecht, J. P. (1995). Clozapine is oxidized by activated human neutrophils to a reactive nitrenium ion that irreversibly binds to the cells. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 275(3), 1476-1483.
189. Zorluoğlu, S. L., Taşdemir, İ. H., Ece, A., & Kiliç, E. (2013). A cooperative computational and experimental investigation on electrochemical behavior of metoprolol and its voltammetric determination. *Canadian Journal of Chemistry*, 91(10), 951-959.
190. Malode, S. J., Abbar, J. C., Shetti, N. P., & Nandibewoor, S. T. (2012). Voltammetric oxidation and determination of loop diuretic furosemide at a multi-walled carbon nanotubes paste electrode. *Electrochimica acta*, 60, 95-101.
191. Pletcher, D., Greff, R., Peat, R., Peter, L. M., & Robinson, J. (2001). *Instrumental methods in electrochemistry*. Elsevier.
192. Xu, L., He, N., Du, J., Deng, Y., Li, Z., & Wang, T. (2009). A detailed investigation for determination of tannic acid by anodic stripping voltammetry using porous electrochemical sensor. *Analytica chimica acta*, 634(1), 49-53.
193. N.P. Shetti, D.S. Nayak, S.J. Malode, R.M. Kulkarni, An electrochemical sensor for clozapine at ruthenium doped TiO₂ nanoparticles modified electrode, *Sensors Actuators, B Chem.* 247 (2017) 858–867
194. A. Rouhollahi, M. Kouchaki, S. Seidi, Electrically stimulated liquid phase microextraction combined with differential pulse voltammetry: A new and efficient design for in situ determination of clozapine from complicated matrices, *RSC Adv.* 6 (2016) 12943–1295
195. N.P. Shetti, D.S. Nayak, S.J. Malode, R.M. Kulkarni, Fabrication of MWCNTs and Ru Doped TiO₂ Nanoparticles Composite Carbon Sensor for Biomedical Application, *ECS J. Solid State Sci. Technol.* 7 (7) (2018) Q3070–Q3078

196. M.H. Ghanbari, F. Shahdost-Fard, M. Rostami, A. Khoshroo, A. Sobhani-Nasab, N. Gholipour, H. Salehzadeh, M.R. Ganjali, M. Rahimi-Nasrabadi, F. Ahmadi, Electrochemical determination of the antipsychotic medication clozapine by a carbon paste electrode modified with a nanostructure prepared from titania nanoparticles and copper oxide, *Microchim. Acta.* 186 (2019) 1–10

197. J.G. Manjunatha, B. K. Swamy, G. P. Mamatha, O. Gilbert, M. T. Srinivas, B. S. Sherigara, Electrochemical studies of clozapine drug using carbon nanotube-SDS modified carbon paste electrode: A cyclic voltammetry study. *Der Pharma Chem.* (2011). 3(2), 236-49

