T.C
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MODİFİYE ELEKTROTLAR İLE ÜRİK ASİT VARLIĞINDA ISOXSUPRINE İLACININ SAPTANMASI

Birgül DÜGER

KİMYA ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA
2016

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET……..…….. İ
ABSTRACT……..…….... İi
TEŞEKKÜR……...…….... İii
ŞEKİLLER DİZİNİ…….... İv
1. GİRİŞ……..... 1
1.1.Isoxsuprine ……..……. 1
1.1.1. kimyasal özelikleri. ……..... 1
1.2. Kimyasal Sensör Tasarımı…… 2
1.3. Elektrokimyasal Biyosensörler……. 2
1.4. Karbon Nanotüpler (CNT)…… 3
1.4.1. Nanotüplerin Sınıflandırılması……. 4
1.4.2. Nano Karbon Siyahı (CNB)…… 5
1.5. Dönüşümlü Voltammetri……..... 5
1.6. Voltammetride Hücre Kurulumu ve Elektrotlar……..... 6
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR…….. 7
3.MATERYAL ve YÖNTEM……..... 8
3.1. Materyal……..... 8
3.2. Yöntem……. 8
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA……. 9
4.1. Isoxsuprine Molekülünün Elektrokimyasal Davranışı……..... 9
4.2. Tarama hızının ISX molekülünün pik potansiyeli ve pik akımına etkisi…..…… 11
4.3. pH'nın ISX molekülünün pik potansiyeline etkisi……..…….. 13
4.4. Kalibrasyon…… 14
4.5. Urik Asit Varlığında Isoxsuprine Tayini ……. 16
4.6. Isoxsuprine ilacının idrar örneklerinde saptanması …… 17
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER……..... 18
5.1. Sonuçlar…… 18
5.2. Öneriler…… 18
KAYNAKLAR…….. 19
ÖZGEÇMİŞ……..... 21

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

MODİFİYE ELEKTROTLAR İLE ÜRİK ASİT VARLIĞINDA ISOXSUPRINE İLACININ SAPTANMASI

Birgül DÜGER

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet ASLANOĞLU
Yıl: 2016, Sayfa: 23

Bu çalışmada, isoxsuprine ilacının saptanması için camsı karbon elektrotları karbon nanotüp ve karbon nanoblack ile modifiye edilmiştir. Elde edilen modifiye elektrotlar isoxsuprine molekülünün yükseltgenmesine önemli oranda katalitik bir etki göstermiştir. Ayrıca, isoxsuprine molekülüne ait sinyalin akım miktarında da artış meydana gelmiştir. Önerilen elektrot ile ürik asit varlığında isoxsuprine molekülü seçimli olarak saptanmıştır. Dönüşümlü voltametri ile yapılan kalibrasyon çalışmasında, akım-konsantrasyon ilişkisinin $2x10^{-7}$ M ile $1.47x10^{-5}$ M aralığında doğrusal olduğu belirlenmiştir. Isoxsuprine için saptama sınırı $1x10^{-7}$ M olarak hesaplanmıştır.

ANAHTAR KELİMELER: Isoxsuprine, karbon nanotüp, nano karbon siyahı,modifiye elektrot, ürik asit, analiz

ABSTRACT

MSc Thesis

DETERMINATION OF ISOXSUPRINE IN THE PRESENCE OF URIC ACID USING MODIFIED ELECTRODES

Birgül DÜGER

Harran University
Graduate School of Natural andAppliedSciences
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet ASLANOGLU
Year: 2016, Page:**23**

In this study, glassy carbon electrodes were modified with carbon nanotubes and carbon nanoblack for the determination of isoxsuprine. The modified electrodes obtained exhibited high catalytic activity towards the oxidation of isoxsuprine. Also, a remarkable increase in peak current for isoxsuprine was observed. The proposed electrode was applied for the selective determination of isoxsuprine in the presence of uric acid. The peak current was linear with concentrations in the range from $2x10^{-7}$ M to $1.47x\ 10^{-5}$ M by cyclic voltammetry. The detection limit was $1x10^{-7}$ M for isoxsuprine.

KEY WORDS: Isoxsuprine, carbon nanotubes, nanocarbon black, modified electrodes, uric acid, analysis

TEŞEKKÜR

Tezimi hazırlama aşamalarında; teori kısmında ve deneysel kısımlarda bana oldukça fazla mesai ayıran ve büyük yardımları olan danışmanım Prof. Dr. Mehmet ASLANOĞLU'na çok teşekkür ederim. Ayrıca, tezimi yazmamda tecrübelerinden istifade ettiğim ve laboratuvar ortamında deneyler esnasında büyük yardımları olan sevgili arkadaşlarım Şehriban DÜZMEN ve Tuğçe TEKER'e çok teşekkür ederim.

Son olarak, maddi ve manevi desteğini her zaman gördüğüm aileme teşekkür ederim.

ŞEKİLLER DİZİNİ

SayfaNo

Şekil 1.1. Isoxsuprine'in kimyasal formülü…..…….. 1
Şekil 1.2. Bir biyosensörün gösterimi……. 3
Şekil 1.3. Tek katmanlı ve Çok katmanlı karbon nanotüpler……. 4
Şekil 1.4. Kabon nanotüp moleküler yapısı (CNT)……. 5
Şekil 1.5. CV'de yapılan bir voltammogram……..... 6
Şekil 4.1. Yalın GCE yüzeyinde $2x10^{-6}$ M ISX molekülünün pH 0.1 M PBS pH : 7 ortamında dönüşümlü voltamogramı 10
Şekil 4.2. 0.1 M PBS çözeltisinde $2x10^{-6}$ M ISX molekülünün CNT/CNB/GCE yüzeyinde dönüşümlü voltamogramı. Tarama hızı: 50 mV/s. 10
Şekil 4.3. CNB/CNT/GCE yüzeyinde ISX molekülünün farklı tarama hızlarındaki voltamogramları. Tarama hızı: 10-100 mV/s. Denge zamanı: 5 s…… 11
Şekil 4.4. Pik akımının tarama hızının karekökü ile değişimi. Tarama hızı: 50 mV/s. Denge zamanı: 5 s…… 12
Şekil 4.5. Pik akımının tarama hızı ile değişimi Tarama hızı: 50 mV/s. Denge zamanı:5 s…… 12
Şekil 4.6. 0.1 M PBS çözeltisinde $6x10^{-6}$ M ISX molekülünün CNB/CNT/GCE elektrotu yüzeyinde farklı pH değerlerindeki dönüşümlü voltamogramları. Tarama hızı: 50 mV/s. Denge zamanı: 5 s……..... 13
Şekil 4.7. Pik potansiyeline pH'nın etkisi……. 14
Şekil 4.8. Farklı konsantrayonlarda ISX için kare dalga voltamogramlar Tarama hızı: 50 mV/s. Denge zamanı: 5s ($2x10^{-7}$, $1x10^{-6}$, $2x10^{-6}$, $4x10^{-6}$, $7x10^{-6}$, $1x10^{-5}$, $1.5x10^{-5}$ M) 15
Şekil 4.9. Konsantrasyon-akım grafiği……..…….. 15
Şekil 4.10. CNT/CNB/GCE yüzeyinde sabiT $6x10^{-6}$ M ürik asit varlığında ISX molekülünün artan konsantrasyonlarına ait voltamogramları ($3x10^{-6}$, $5x10^{-6}$, $9x10^{-6}$ M)…… 17

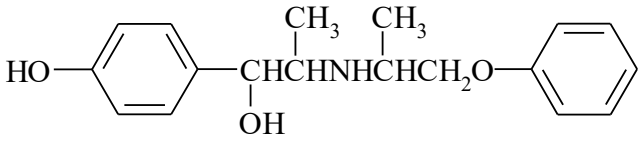
1. GİRİŞ

1.1. Isoxsuprine

Isoxsuprine (ISX), vazidilatör olarak adlandırılan bir ilaç sınıfına girer. Isoxsuprine aktif periferik ve serebral bir damar genişleticidir aynı zamanda rahmin düz kas gevşetici serebrovasküler'e neden olduğu zayıf kan dolaşımını tedavi etmek için kullanılır. Isoxsuprin insan vücudunda rahim kası üzerinde erken doğumu önlemek için de kullanılması uygun görülür. Isoxsuprine'in saptanmasında spektrofotometri (Lohmann ve ark., 2006), florimetrik, UV-spektrofotometrisi (Abirami ve ark.,2006), TLC ve HPLC (Khanmohammadive ark., 2012) gibi çeşitli analitik yöntemler kullanılmıştır. Kullanılan bu yöntemlerden bazılarında gerek analiz süresinin uzunluğu, gerek duyarlılık ve seçimlilik, gerekse de cihazların pahalı olmasından dolayı ilaçların rutin analizinde kullanılması zahmetlidir. Bu yüzden, elektrokimyasal yöntemler biyolojik ve çevre örneklerinde yüksek seçicilik, duyarlılık ve basitlik bakımından önemli başarı göstermiştir (Gupta ve ark., 2006).

Bu çalışma, karbon nanotüp ve karbon nanoblack parçacıklarıyla modifiye edilmiş ve hazırlanan elektrot ile isoxsuprine'in saptanmasında uygulanmıştır.

1.1.1. Kimyasal Özellikleri



Şekil 1.1.Isoxsuprine'in kimyasal formülü

Isoxsuprine, 1-(4-Hidroksifenil)-2-(1-Metil-2-Fenoksietilamino) propanol üreten bir vazidilatördür. Isoxsuprine hydrocloride beyaz renkli, kokusuz, tadı acı olan

kristalli bir tozdur. Periferik vasküler hastalıklarda erken doğumu durdurmak için kullanılır.

1.2. Kimyasal Sensör Tasarımı

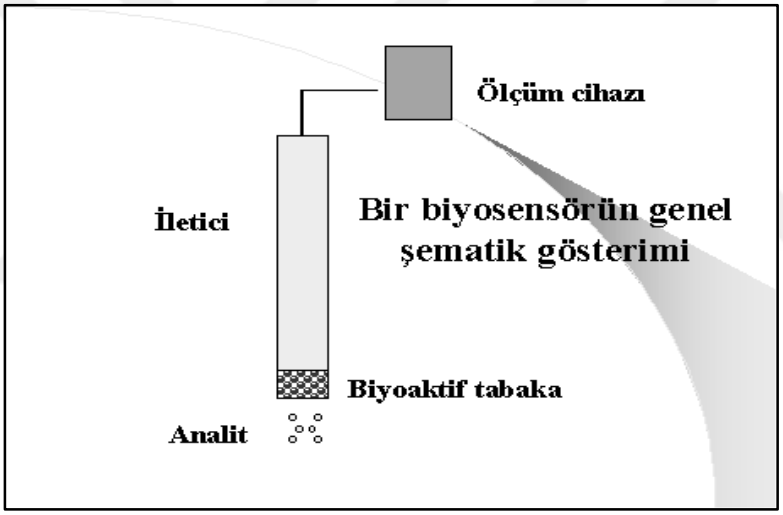
Bilimde sensör, diğer bir ifadeyle algılayıcı kontrol sisteminde algılanma görevi yapan bir sistemdir. Dahası sensörler: çeşitli fiziksel ve kimyasal büyüklükleri algılayıp bunlardan ölçülebilen bulgular üretebilen aygıtlar olup köprü vazifesi görerek fiziksel ortam ile elektronik cihazları bağlama görevi üstlenir. Sensörler bazı özelliklere sahip olmalıdır bunlar; geniş ölçüm aralığı, seçicilik, tekrarlanabilirlik, kararlılık, kalibrasyona gereksinim duymaması, basitlik, ucuzluk ve yüksek duyarlılıktır. Kimyada sensörler dört grupta incelenir. Bu sensörler; elektrokimyasal sensörler, gravimetrik sensörler, gaz sensörler ve biyosensörler olarak adlandırılır.

1.3. Elektrokimyasal Biyosensörler

Ortamda birden çok madde içerisindeki spesifik maddeleri algılama özelliğine sahip olan bir sistemdir. En gelişmiş olarak bilinen elektrokimyasal biyosensörler, ilk sensörlerdendir. Elektrokimyasal biyosensörler, biyolojik analiz yapmak için kullanılır. Bu biyosensörler; nükleik asit, enzimler, antikorlar, hücreler, mikroorganizmalar gibi canlılarda bulunan biyolojik türlere karşı oldukça hassastır. Biyosensörlerin maliyeti düşük olduğundan daha hızlı ve fazla üretilebilirler. En çok da tek kullanımlık olarak üretilen biyosensör türleri, kullanımda kolaylık sağladığından oldukça verimlidir. Biyosensörde aranan en önemli özellikler; tekrarlanabilir, doğruluk ve duyarlılıktır. Biyosensörler; biyokimyasal (biyoaktif bileşen) ve elektrokimyasal çevirici (dönüştürücü) olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır.

Biyosensörlerdeki biyokimyasal kısımlar kararlı ve spesifik olmalıdır. Biyokimyasal bileşenlerin görevi; analiz yapılacak maddeyle etkileşime geçip o

maddeyi tanımasıdır. Kararlı yapıda olan biyokimyasal bileşen çok sayıda analize imkân sağlayacağından biyosensörü ekonomik hale getirir. Biyosensörün elektrokimyasal çevirici (dönüştürücü) olan kısmında da elektrot kullanılır. Bu çevirici kısımda analit ve analit derişimiyle ilgili elektriksel sinyal verileri elde edilir. Sonuç olarak çevirici kısımda biyokimyasal kısmın algıladığı kimyasal veriler elektrik sinyaline dönüştürülür. Bu biyokimyasal kısımlar kimyasal modifiye edilen ve biyokimyasal maddelerle kaplanmış olan elektrot yüzeylerinde oluşurlar. Elektrot oldukça iletken olup yüzeyi tek molekülle kaplanabilir ya da polimerik ve iyonik türlerde tercih edilebilir. Bu elektrotlarda ince tabaka kullanılması uygundur. İnce tabaka ise tek tabaka veya mm cinsinden kullanılabilir. Voltametrik yöntemde kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrotlar yük transferinde kullanılabilir.



Şekil 1.2. Bir biyosensörün gösterimi

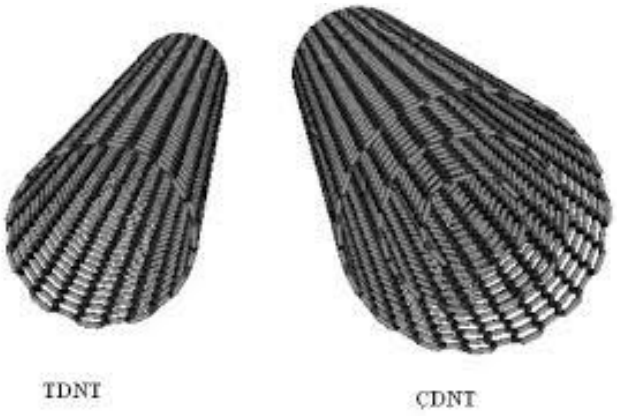
1.4. Karbon Nanotüpler (CNT)

Bilim ve teknolojide yaşanan hızlı gelişmeler, nano teknolojinin doğmasına sebep olmuştur. Nano parçacıklar, ince filmler ve nanotüpler olarak elde edilen malzemeler teknolojide oldukça fazla kulanım alanına sahip olmuştur. Karbon atomlarının birbirine bağlanmasıyla oluşan karbon nanotüpler karbon malzemelerin bir formudur. Karbon malzemeleri farklı şekillerde bulunabilir bunlar; grafit, elmas, fullerenler, karbon fiber ve karbon nanotüplerdir. Karbonun bu kadar farklı yapı

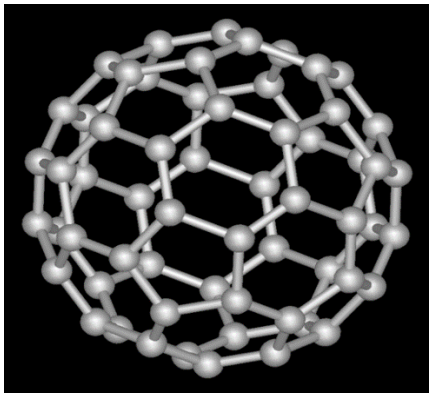
oluşturma nedeni karbon atomunun çok farklı şekillerde değerlik bağı oluşturabilmesidir. Karbon nanotüpler ölçülürken nanometre kullanılır. Bir nanotüpün uzunluğu 1 mikrometreden fazla olabilir. Nanotüpler yarı iletken bir aletten çok daha küçük bir çap büyüklüğüne sahiptir. Nanotüplerin küçük boyutta olması yapısının fazla olması benzersiz ısıl ve elektriksel gibi özelliklere sahip olması yarı iletken fiziğine oldukça katkı sağlar. Karbon nanotüpler ikiye ayrılır. Bunlar; tek duvarlı(katman) ve çok duvarlı(katman) olarak bilinir.

1.4.1. Nanotüplerin Sınıflandırılması

Tek duvarlı (katman) nanotüpler sadece karbon atomu içerir ve silindir şekline sahiptir. Bu nanotüpler grafitin yüzeyine benzetilebilir. Grafiti bir kağıt gibi düşünürsek bu kağıdı uzunlamasına kıvırdığımızda silindir şeklini alır. Bu da karbon nanotüp oluşturur. Karbon nanotüplerin uç kısımları açık ya da kapalı olabilir. Karbon nanotüpün hemen hemen uzunluğu 100 nm çapı ise 0.4 nm' dir. Tek bir grafitin yüzeyini kıvırdığımızda tek duvarlı (katman) karbon nanotüp (SWNT) elde edilir. Bu tek duvarlı (katman) karbon nanotüplerin çapı 1 nanometre ve iki ucu kapalı şekildedir. Birden çok grafitin iç içe geçirilmesiyle çok duvarlı (katman) karbon nanotüpler oluşturulabilir. Bu nanotüplerin her bir katmanı arasındaki mesafe yaklaşık olarak 0.34 nm'dir.



Şekil 1.3. Tek katmanlı ve çok katmanlı karbon nanotüpler



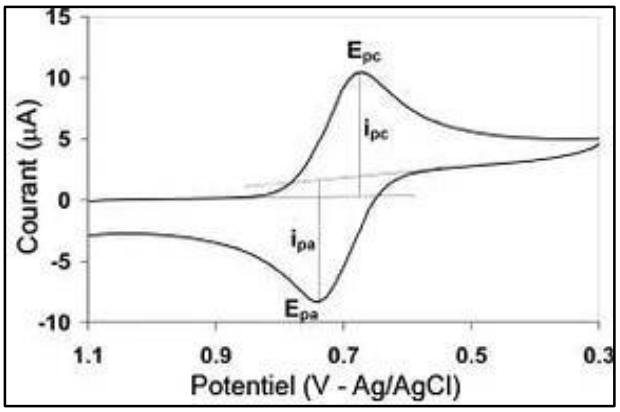
Şekil 1.4. Karbon nanotüp moleküler yapısı (CNT)

1.4.2. Nano Karbon Siyahı (CNB)

Karbon nano siyahı gaz ve sıvı haldeki hidrokarbonların eksik yanmasıyla elde edilen çok ince tanecikli elementer karbondur. Bu taneciklerin çapı 25 ila 400 milimikrondur. Karbon siyahının çoğu tabi gazların veya rafineri sıvı yağların tam yanmasıyla özel fırınlarda yan ürün olarak elde edilir.

1.5. Dönüşümlü Voltammetri

Voltammetri, indikatör (çalışma) elektrodundan okunan akımın uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak değerlendirilmesinin temel aldığı teniklere verilen isimdir.Bu teknikte sistemin polarize olması istenen bir durum söz konusudur.Bu nedenle küçük yüzey alanına sahip elektrotlar kullanılır.Dönüşümlü voltammetri (CV) tekniği, elektroanalitik teknik içerisinde en yaygın kullanılan yöntemdir. Bu teknik, kantitatif amaçla kullanımı az olup yükseltgenme/indirgenme reaksiyonlarının incelerken yaygın olarak kullanılabilir. Dönüşümlü voltammetride; potansiyel zamanla doğrusal şekilde değiştirilir. Potansiyelin zamanla değişmesi tarama hızı olarak adlandırılır. Bu ölçümde potansiyel uygulayarak ilk olarak bir yönde arkasından tersi yönünde tarama yapılarak akım değeri ölçülür. Çalışılan elektrot yüzeyinde akım, potansiyele karşı grafikte gösterilir. Hücre içerisinde bulunan çözelti ve indikatör (çalışma) elektroduna bir gerilim uygulanarak dönüşümlü voltammetride bir grafik elde edilmiş olur.



Şekil 1.5.CV'de yapılan bir voltammogram

1.6.Voltammetride Hücre Kurulumu ve Elektrotlar

Voltametrik yöntemler; çalışma, referans ve yardımcı elektrot diye adlandırılan üçlü elektrot sistemi olarak bilinen bir tekniktir. Analizi yapılan çözeltiye elektrot ilave edilerek iletkenliği artırılabilir. Çalışacağımız potansiyeli belirlemede; elektrot çözücü ve spesifik çalışma elektrotunda kullanılan malzeme önemlidir. Voltammetride elektrotlar, karıştırılamayan statik özellikte bir çözelti içerisinde bulundurulması gerekir.

İndikatör (çalışma) elektrotları altın camsı karbon ve platinden yapılmıştır. Çap olarak 1 mm ve 3 mm boyutunda elektrot üretimi yapılması uygundur. Bu çap ölçülerine sahip elektrotlar, yüksek tarama hızındaki deneylerde uygun değildir. Nedeni ise tarama hızının yüksek olması voltagramın şeklini bozmasıdır.

Karşıt ve yardımcı elektrotlar, analiz edilen çözelti ile asla reaksiyona girmeyecek olup herhangi bir iletken malzemeden yapılabilir. Referans elektrot oldukça kararlı bir yapıya sahip elekrottur. Bu referans elektrotun görevi çalışma elektrotunun potansiyelini kontrol etmektir. Deney boyunca referans elektrotun potansiyeli değişmez. En yaygın kullanılan referans elektrot gümüş/gümüş klorür (Ag/AgCl).

2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Isoxsuprine ilacı çeşitli analitik yöntemler kullanılarak hammadde dozaj formları ve biyolojik sıvılar üzerindeki etkisiyle ilgili farklı analitik metotlar hazırlanıp isoxsuprine belirlenmesi için rapor haline getirilmiştir. Analitik metotlar tıp alanında klavuzluk edecek bir yöntem oluşturması açısından uyuşturucu maddeler üzerinde geniş kapsamda bir araştırma 1997 yılında Belal ve arkadasları tarafından yayınlandı. Son dönemlerdeki analitik metodlar şunlardır; spektrofotometre, polarografi ve kromatografi (HPCL). Isoxsuprine ilacı analitik yöntemlere iyi bir rehberdir. Bu konuda kapsamlı bir inceleme bulunur. (Belal ve ark.. 1997)

Bu ilaçla ilgili yeni yayınlar: spektrofotometri , çok değişkenli kalibrasyon ve HPCL'dir. Isoxsuprine reaksiyon olarak nitro (HCl) ve fenoterol (HBr) asit geliştirmek için incelenmiştir. Belirlenmesi için basit bir yöntem olan palografik yöntem kullanılmıştır.(F.Belal- 2002)

Isoxsuprine hydrocloride analizi için, British Pharmacapola bir potansiyometrik titrasyon yöntemi önerir. Diğer bilinen yöntemler ise; çeşitli renk reaktifi, akış enjeksiyon spektrofotometrik, enjeksiyon kinetik potansiyometrik akış, voltametrik Polarografik, GLC , HPCL yöntemleridir. (2001- Nawal A.A. Alarfaj)

Yapılan bu araştırmalarda mevcut bulunan yazılı eserler analitik prosedürler yüzünden kısıtlanmış olduğu için bu eserler hala geliştirilememiştir. Özellikle de harekete duyarlılık ve ilacın kullanılması konusunda yeterince gelişme elde edilememiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda umut verici ve gelecek vaad eden sonuçlar elde edilmiştir.

3.MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Isoxsuprine Sigma firmasından alınmıştır. Sodyum dihidrojen fosfat, aseton, nitrik asit, potasyum hidrojen fosfat, etanol ve kloroform ise Merck firmasından alınmıştır. Isoxsuprine ve ürik asit çözeltileri pH değeri 7.0 olan 0.1 M fosfat tamponunda hazırlandı. Voltammetrik deneyler Epsilon (BAS elektroanalitik sistemler, ABD) voltammetrik cihazı kullanılarak yapıldı. Camsı karbon elektrotlar çalışma elektrotu, Pt tel yardımcı elektrot ve Ag/AgCl ise referans elektrot olarak kullanıldı.

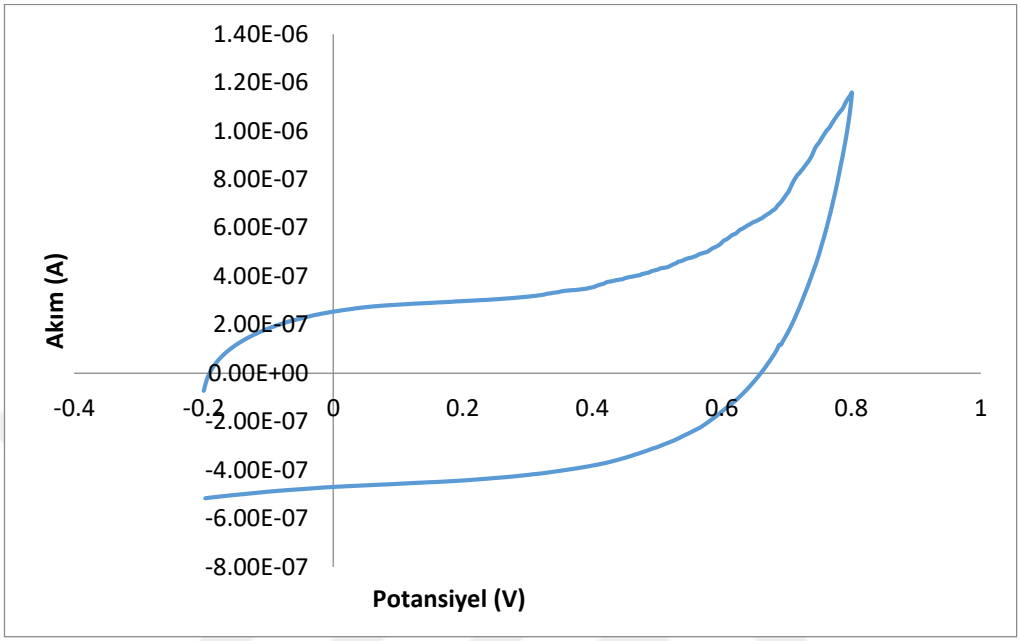
3.2. Yöntem

Kullanılacak olan elektrotlar, elektrokimyasal modifikasyondan önce, bir temizleme pedinde 0.1 ve 0.3 μm boyutunda olan alümina ile temizleme yapıldı. Saf sudan geçirildikten sonra 1:1 aseton ve HNO_3 çözeltisine daldırıldı. Diğer aşamada tekrardan 15 dakika suda bekletildi. Ultrasonik banyoda 1-3 saat arası bekletildikten sonra elektrot temizlendi ve pH'ı 7.0 olan PBS içinde -0.6 V ile +0.8 V arasında dönüşümlü voltametri uygulanıp 10 defa tarama yapılarak elektrot aktif hale getirildi. Klorofom içinde hazırlanan karbon nanotüp ve nano karbon siyahı süspansiyonundan 2μl alınarak elektrot yüzeyine damlatıldıktan sonra çözücü buharlaştırıldı. Elektrot ultra saf su ile yıkandı ve pH'ı 7.0 olan 0.1 M PBS' de 100 mV/sn' de – 0.6 V ile +0.8 V arasında dönüşümlü voltammetri ile elektrot aktif hale getirildi.

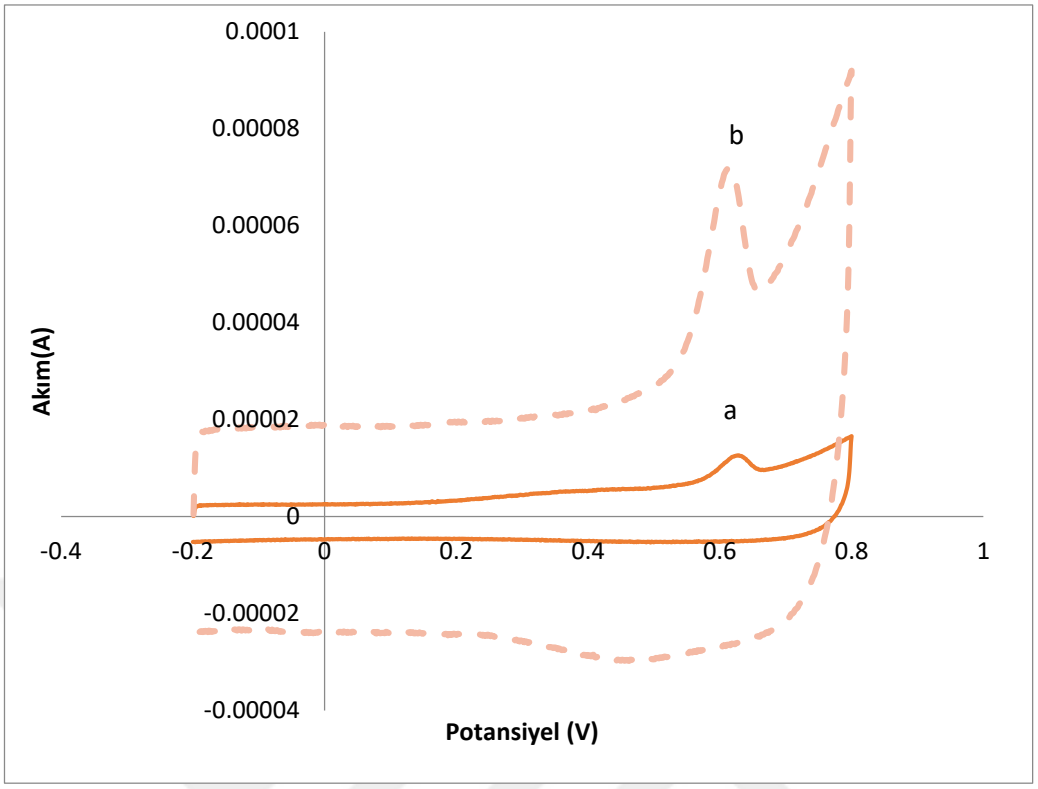
4.ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Isoxsuprine Molekülünün Elektrokimyasal Davranışı

Şekil 4.1'de pH değeri 7.0 olan 0.1 M PBS ortamında ISX molekülün yalın yani modifiye edilmemiş bir GCE yüzeyindeki voltametrik davranışı verilmiştir. Görüldüğü gibi, kayda değer bir pik elde edilememiştir. Bu durumda, ISX molekülünün voltametrik yöntemle saptanması mümkün değildir. Şekil 4.2.'de gösterildiği gibi pH değeri 7.0 olan 0.1 M PBS ortamında ISX molekülünün karbon nanotüple modifiye edilmiş elektrot yüzeyindeki davranışı incelendiğinde, ISX molekülünün 0.67 V civarında zayıf bir yükseltgenme piki vermiştir. Dönüş piki olmadığından dolayı reaksiyon tersinmezdir. Ayrıca, pH'ı 7.0 olan 0.1 M PBS'de, CNB/CNT ile modifiye edilen camsı karbon elektrotu (GCE) yüzeyinde ISX molekülüne ait dönüşümlü voltamogram Şekil 4.2.'de verilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi karbon nanotüp (CNT) ve nano karbon siyahı (CNB) nanoparçacıkları ile modifiye edilen GCE yüzeyinde ISX molekülü 0.613 V civarında bir adet keskin iyi tanımlanmış yükseltgenme piki vermiştir. Dönüş piki olmadığı için (ISX) molekül yükseltgenmesi tersinmez olarak gerçekleştirilmiştir. Açıkça görülüyor ki CNT ve CNB ile modifiye edilen elektrot yüzeyinde ISX molekülünün elektrokimyasal davranışında belirgin gelişmeler gözlenmiştir. Ayrıca önerilen elektrotun ISX molekülünün potansiyeline elektrokatalitik etki yaptığı belirlenmiştir. Bu arada pik akımının yalnızca karbon nanotüpe göre modifiye edilen elektroda göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu da, CNT ve CNB ile modifiye edilen elektrotun yüzey alanının sadece CNT ile modifiye edilen elektrota göre çok fazla arttığını göstermektedir.



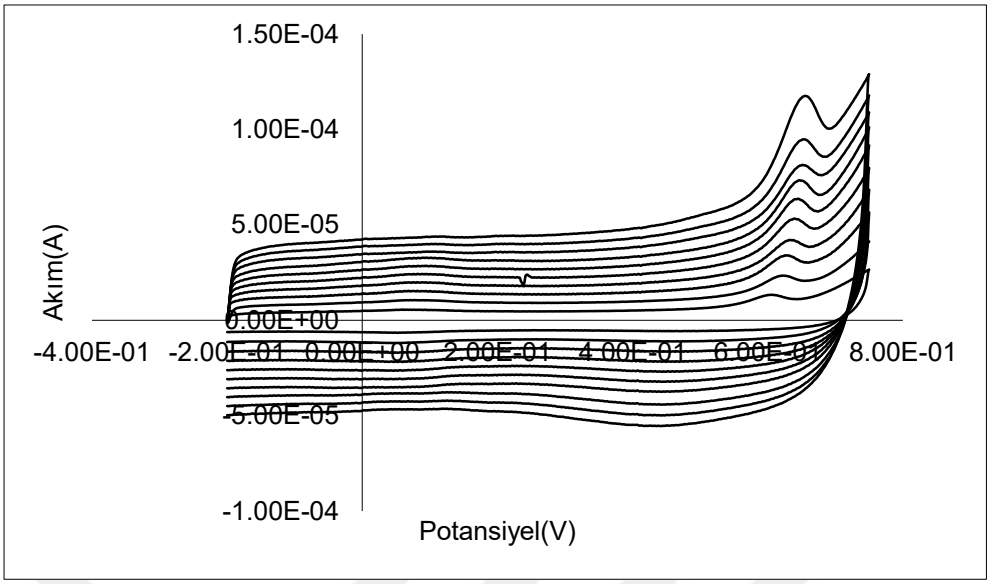
Şekil 4.1. Yalın GCE yüzeyinde $2x10^{-6}$ M ISX molekülü pH 0.1 M PBS pH:7 tamponunda herhangi bir pik vermedi.



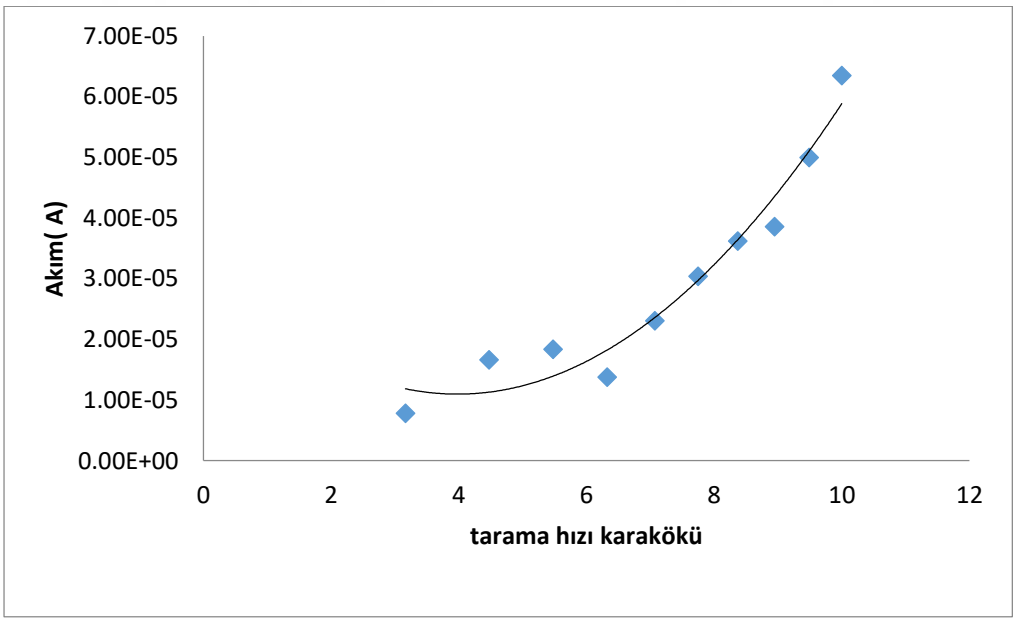
Şekil 4.2. 0.1 M PBS çözeltisinde $2x10^{-6}$ M ISX molekülünün CNT/GCE (a) ve CNT/CNB/GCE (b) yüzeylerindeki dönüşümlü voltamogramları. Tarama hızı: 50 mV/s.

4.2. Tarama Hızının ISX Molekülünün Pik Potansiyeli ve Pik Akımına Etkisi

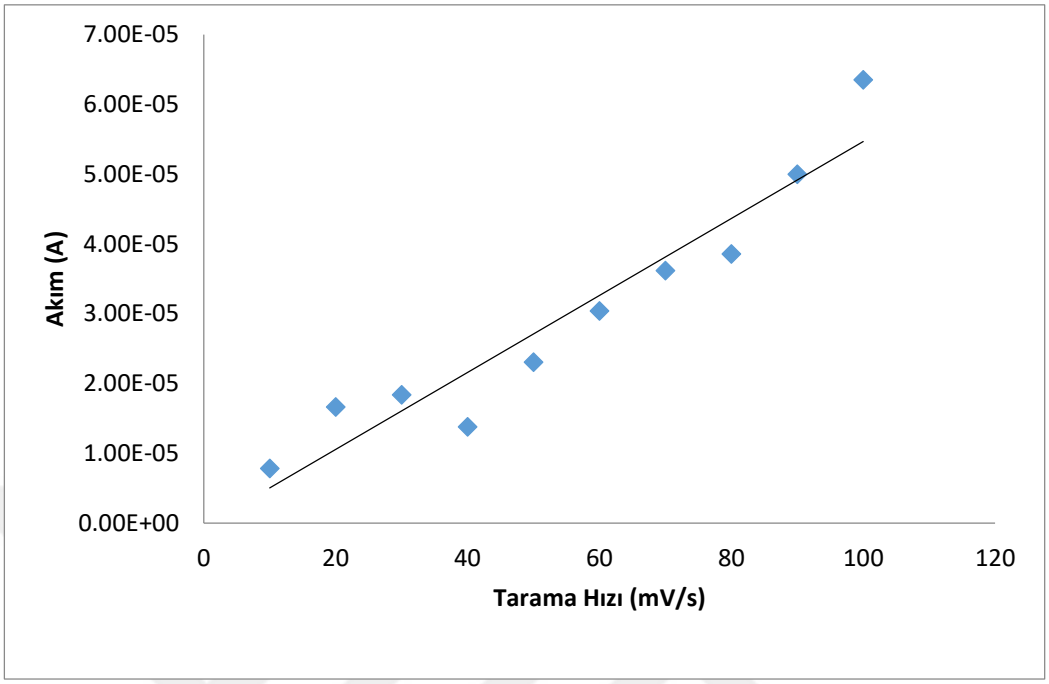
CNB/CNT/GCE yüzeyinde, tarama hızının ISX molekülün elektrokimyasal davranışına etkisi Şekil 4.3.'de verilmiştir. Pik akımının 10-100 mV/s arasındaki tarama hızının karekökü ile doğru orantılı olmadığı gösterilmiştir (Şekil 4.4). Bu yüzdende reaksiyonun difüzyon kontrolü olmadığı belirlenmiştir. Pik akımları tarama hızı ile doğrudan grafiğe geçirildiğin de ise grafiğin bir doğru verdiği görülmüştür (Şekil 4.5). Bu nedenle, CNB/CNT/GCE yüzeyinde ISX molekülünün elektrot reaksiyonun adsorbsiyon kontrollü olduğu anlaşılmıştır.



Şekil 4.3. CNT/CNB yüzeyinde $2x10^{-6}$ M ISX molekülünün farklı tarama hızlarındaki voltamogramları. Denge zamanı: 5 s.



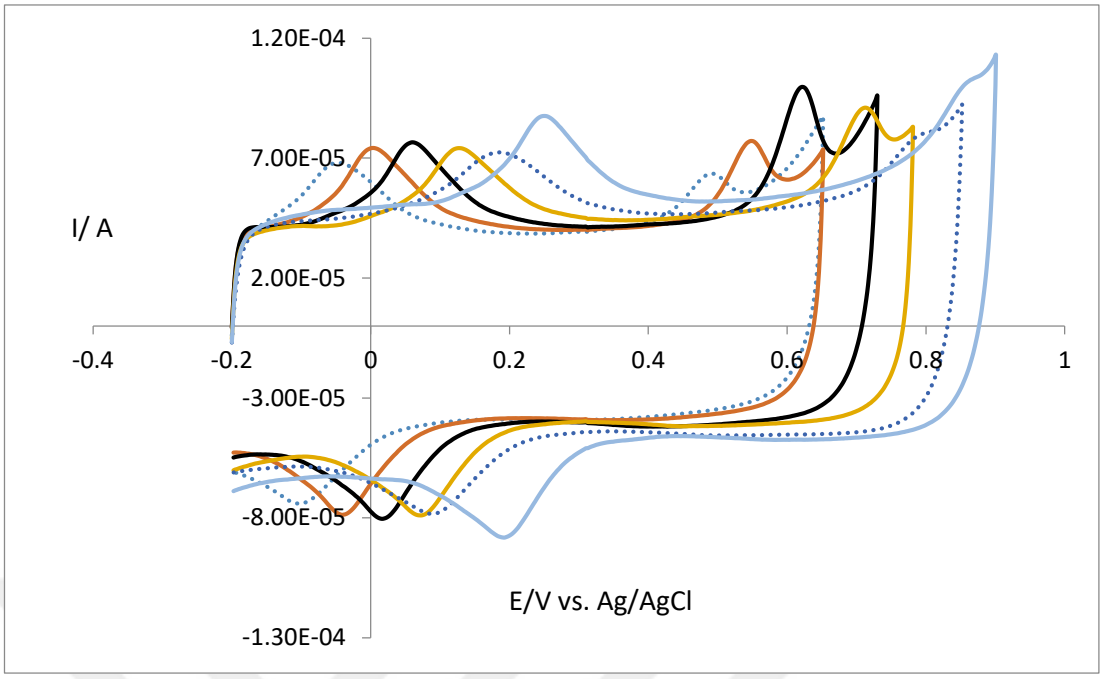
Şekil 4.4. Pik akımının tarama hızının karekökü ile değişimi. Denge zamanı: 5 s.



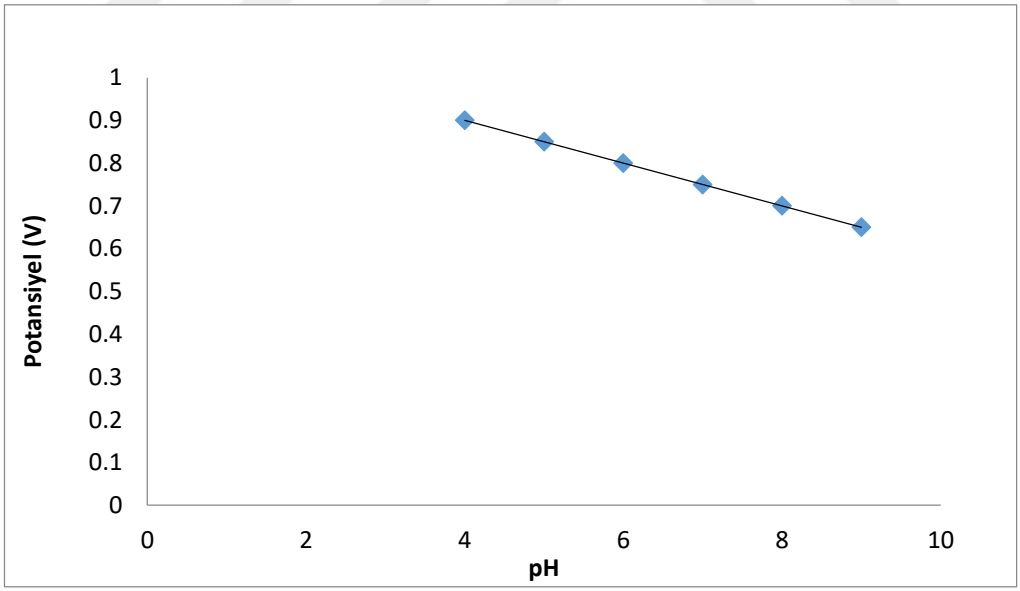
Şekil 4.5. Pik akımının tarama hızı ile değişimi. Denge zamanı: 5 s.

4.3. pH'nın ISX Molekülünün Pik Potansiyeline Etkisi

CNT/CNB ile modifiye edilen camsı karbon elektrotu yüzeyinde ISX molekülünün pik potansiyeline pH etkisi 0.1 M PBS tamponunda nasıl değiştiği gözlendi. Farklı pH değerlerindeki PBS'nin ISX molekülünün yükseltgenme pik potansiyeline etkisi Şekil 4.6.'te verilmiştir. PBS çözeltisinin pH'ı artıkça ISX molekülün pik potansiyelinin negatif yöne doğru kaydığı Şekil 4.5.'te verilen dönüşümlü voltamogramlarda ve Şekil 4.7'da pik potansiyelinin pH değerine karşı elde edilen grafiğinden görülmüştür. Bu durum, molekülün redoks çiftinin yükseltgenme ve indirgenme basamakları sırasında proton transferi içerdiğini göstermektedir.



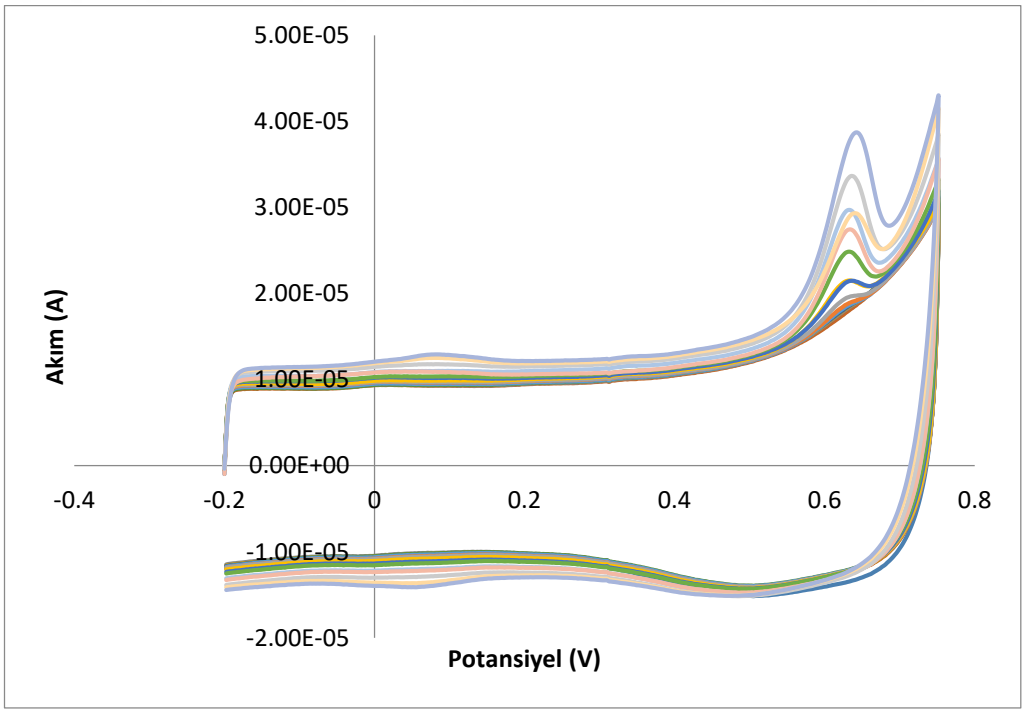
Şekil 4.6. 0.1 M PBS çözeltisinde $6x10^{-6}$ M ISX molekülünün CBN/CNT/GCE yüzeyinde farklı pH değerlerindeki dönüşümlü voltamogramları. Tarama hızı: 50 mV/s. Denge zamanı: 5 s.



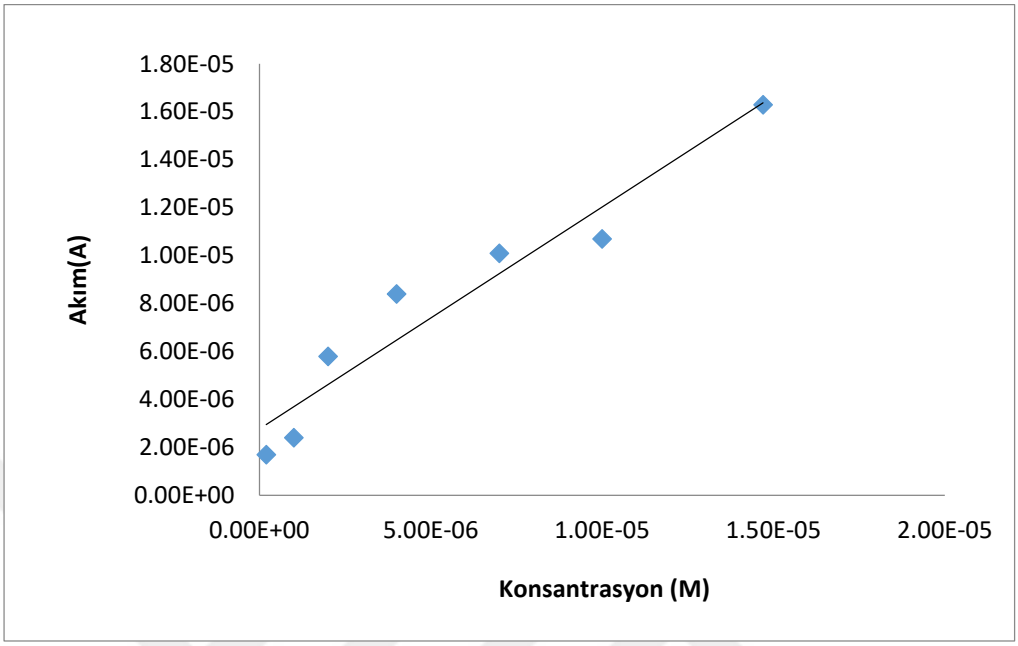
Şekil 4.7. Pik potansiyeline pH'nın etkisi

4.4. Kalibrasyon

Önerilen elektrot ile ISX molekülünün doğrusal çalışma aralığını ve saptama sınırını belirlemek amacıyla değişen konsantrasyonlarda ISX molekülünün voltamogramları elde edildi. CNB/CNT/GCE yüzeyindeki ISX molekülünün farklı konsantrasyonlardaki dönüşümlü voltamogramları Şekil 4.8'de verilmiştir. ISX molekülünün değişen konsantrasyonları akım değerlerine karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon doğrusu elde edildi (Şekil 4.9). Buna göre, ISX molekülünün akımı ile konsantrasyonu 2 $x10^{-7}$ M ile 1.47 $x10^{-5}$ M aralığında doğrusaldır. Buradan, saptama sınırı ise 1 $x10^{-7}$ M olarak hesaplanmıştır.



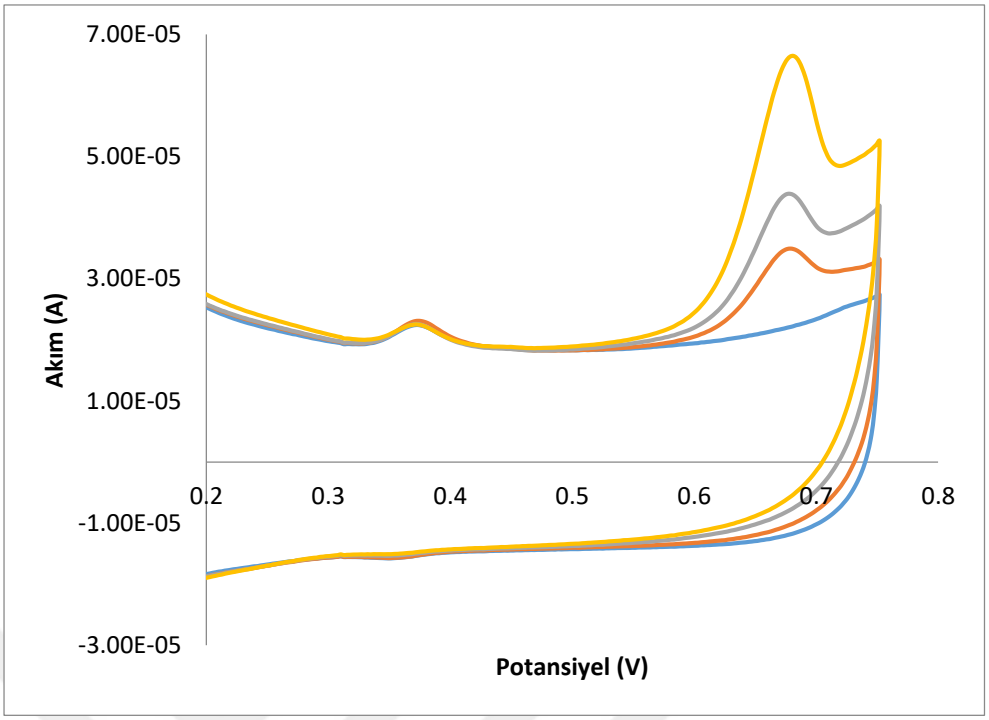
Şekil 4.8. Farklı konsantrayonlarda ISX için dönşümlü voltamogramlar. Tarama hızı: 50 mV/s. Denge zamanı: 5s. (2$x10^{-7}$, 1 $x10^{-6}$, 2 $x10^{-6}$,4$x10^{-6}$, 7 $x10^{-6}$, 1 $x10^{-5}$, 1.5 $x10^{-5}$ M)



Şekil 4.9. Konsantrasyon-akım grafiği.

4.5. Urik Asit Varlığında Isoxsuprine Tayini

CNB/CNT/GCE sistemi ürik asit varlığında, ISX molekülünün seçimli olarak saptanabilmesi için sabit ürik asit varlığında değişen derişimlerdeki ISX molekülüne ait voltamogramlar Şekil 4.10.'da verilmiştir. Ürik asit varlığında, ISX molekülünün etkilenmediği görülmüştür. Bu durumda önerilen elektrot sistemi farmasötik ve biyolojik örneklerde ISX molekülünün saptanmasında kolaylıkla uygulanabilir.



Şekil 4.10. CNB/CNT/GCE yüzeyinde $2x10^{-6}$ M ürik asit varlığında ISX molekülünün artan konsantrasyonlarına ait voltamogramları. ISX konsantrasyonları: ($3x10^{-6}$, $5x10^{-6}$, $9x10^{-6}$ M)

4.6. Isoxsuprine İlacının İdrar Örneklerinde Saptanması

İdrar örnekleri sağlıklı gönüllü kişilerden alındı. Belli bir kısım örnek, 25 °C'de 5 dakika santrifüj edildi. Daha sonra süzüldü ve pH'ı 7 olan 0.1 M PBS ile seyreltildi. Bilinen bir hacim alınarak pH'ı 7 olan 50 ml 0.1 M PBS içeren voltametrik hücreye konuldu. Daha sonra idrar örneği içindeki ISX miktarının belirlenmesi için dönüşümlü voltametri uygulandı. Tablo 4.1'de görüldüğü gibi geri kazanım ve RSD% değerleri ISX molekülünün idrar örneklerinde önerilen elektrot ile doğru ve kesin bir şekilde saptanabileceğini göstermektedir.

Örnek	Eklenen (µM)	Bulunan (µM)	Geri kazanım%	R.S.D%
1	2.0	1.96 ± 0.053	98.0	2.7
2	5.0	4.93 ± 0.14	98.6	3.0
3	7.0	6.95 ± 0.23	99.3	3.3

Ortalama ± standart sapma (n = 5)

Tablo 4.1. İdrar örneklerinde ISX molekülünün saptanması

5.SONUÇ ve ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Bu çalışma, karbon nanotüp ve karbon nanoblack ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrot kullanılarak ürik asit varlığında isoxsuprine molekülünün hızlı, güvenilir ve duyarlı bir şekilde saptanması için bir elektrot geliştirilmesi amacıyla yapılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen modifiyeli elektrot, ISX molekülünün yükseltgenmesine önemli oranda katalitik bir etki göstermiştir. Ayrıca, ISX molekülüne ait sinyalin akım miktarında artış meydana gelmiştir. Önerilen elektrot ile ürik asit varlığında ISX molekülü, seçimli olarak saptanmıştır. Dönüşümlü voltametri ile yapılan kalibrasyon çalışmasında, akım-konsantrasyon ilişkisinin $2x10^{7}$ M ile $1.47x10^{-5}$ M aralığında doğrusal olduğu belirlenmiştir. ISX için saptama sınırı 1 $x10^{-7}$ M olarak hesaplanmıştır.

5.2. Öneriler

Modifiye edilmiş elektronların daha küçük akımları okuyabilmesi için çeşitli alternatifler düşünülebilir. Bu tür modifiye elektronlarının, iletkenliklerinin artırılması yeni araştırma konusu olacaktır. Bu tür moleküllerin analizinin duyarlılığı uygun seviyede tutmak için elektrot yüzeyindeki filmin kalınlığı çok iyi bir şekilde elektrot yüzeyini kaplaması son derece önemlidir. Laboratuvar şartlarında yapılabilecek en uygun seçenek bu tür ilaçların etkinliğinin, artırılabilmesi için iletkenliği daha çok olan karbon nanotüp modifiye elektrot kullanılarak da yapılabilir.

KAYNAKLAR

F.BELAL.A.A.AL-Majed H.I.El-Subbagh, in: G.H. Brittain (Ed.), Anaytical Profile of Drug Substances and Excepients, vol. 26, Acedemic Press, New York, 1999, pp.359-393.

C. DEMİR, R.G. Brereton, Mmultivariate calibration on designedmixtures of four Pharmaceuticals, Analyst 123 (1998) 181-189

H.A. LAİTİNEN, W.E. Harris, Chemical Analysis, 2nd ed., Mc-Graw-Hill, New York, 1975.

R. CAULCUT, R. Boddy, Statistics for Analytical Chemists, Chapmanand Hill London, 1983.

S. SEVGİ, T. Guneri, Thermal degradation of isoxsuprine hydrochloridein solutions, Sci.Pharm. 60 (1992) 273-278

K.B. Yatsimirskii, Kinetic Methods of Analysis, Pergamon Press, Oxford, 1966.

J.C. MİLLER, J.N. Miller, Statistics for Analytical Chemistry, Wiley,NewYork 1988 (second ed.)

H.D. Revanasiddappa, B.G. Manju, Spectrophotometric determination of ritodrine And isoxsuprine hydochlorides using 4-aminoantipyrine, J.AOAC Int. 83 (2000) 1440-1445

R.T. SANE, V.G. Nayak, V.B. Malkar, Simple spectrophotometric method for the Determination of nylidrin (buphenine) hydrocloride, isoxsuprine Hydrocloride and salbutamol suphate in pharmaceutica preparations, Talanta 32 (1985) 31-33

J.N. MİLLER, J.C. Miller, Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry, 5th ed., Pearson Education Limited, England, 2000, 114.

M.H. LAMOREE, N.J. Reinhoud, U.R. Tjaden, W.M.A. Niessen, J. van-Der-Greef, Biol. Mass. Spectrom. 23 (1994) 339.

H. OELSCHLAGER, in: P.D. Breimer, P. Speiser (Eds.), Topics in Pharmaceutical Sciences, Elsevier, Amsterdam, 1981, p.357.

A. HASHEM, B. Lubczyk, Determination of isoxsuprine in equine plasma by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection, J. Chromatogr. B. 563 (1991) 216–223.

C.V. RAJESWARİ, D.V. Naidu, N.V.S. Naidu, P.R. Naidu, Talanta 35 (1988) 237–248.

M.N. REDDY, D.G. Sankar, K.V.P. Rao, Spectrophotometric determination of isoxsuprine and nyldrine using 1,10-phenanthroline, Indian Drugs 35 (1998) 163.

E. EMERSON, The condensation of aminoantipyrine. II.Anewcolor test for phenolic compounds, J. Org. Chem. 8 (1943) 417–428.

P.K. CHATTERJEE, C.L. Jain, P.D. Sethi, Colorimetric determination of isoxsuprine HCl through nitrosation and subsequent chelation, Indian Drugs 24 (1987) 210.

A. ESPİNOSA-MANSİLLA, M.I. Acedovalenzuela, F. Salinas, F. Canada, Kinetic determination of ansamicins in pharmaceutical formulations, Anal. Chim. Acta 376 (1998) 365.

F.VOLPE, J. Zintel, D. Spiegel, High-performance liquid chromatography of two peripheral vasodilators, nylidrin [buphenine] hydrochloride and isoxsuprine

hydrochloride in pharmaceutical dosage forms, J. Pharm. Sci. 68 (1979) 1264–1267.

G. BRAMBİLLA, M. Fiori, I. Curiel, L. Serpe, P. Gallo, _1-Acid glycoprotein affinity columns for the clean-up of adrenergic drugs, Analyst 123 (1998) 2693–2696.

N.W. BEYENE, J.F. Van Staden, Raluca-I. Stefan, determination of fenoterol hydrobromide by sequential injection analysis (SIA) with spectrophotmetric detection, Anal. Chim. Acta 521 (2004) 223–229.