

# Anti-Kanser İlaç Vinblastin'in Kalem Grafit Elektrot Yüzeyinde Elektrokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi Ve Miktar Tayini

Günay ÖNAL

Batman Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Batman

e-posta: gunayturmus@hotmail.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7595-9417>

Geliş Tarihi: 09.10.2022

Kabul Tarihi: 19.04.2023

## Öz

### Anahtar kelimeler

Vinblastin;  
Kalem Grafit Elektrot;  
Voltametri;  
Flakon, idrar

Kanser kemoterapisinde kullanılan vinblastin (VNB) antineoplastik bir ilaçtır. Sunulan bu çalışmada, VNB'nin elektrokimyasal özellikleri tek kullanımlık kalem grafit (PG) elektrot ile geniş bir pH aralığında ve farklı destek elektrolitler "Britton-Robinson (0.04 M BR, pH 2.0-12.0), fosfat (0.04 M PBS, pH 2.0, 3.0, 4.0, 7.4) ve asetat (0.04 M ABS, pH 4.8) içinde döngüsel voltametri "CV" ve Kare Dalga Voltametri "SWV" teknikleriyle incelenmiştir. VNB, +0.993 V gerilim ve 3.844 µA akım değerinde BR (pH 2.0) içinde CV ile tersinmez bir yükseltgenme piki vermiştir. SWV tekniği ile anodik akım sinyali, BR (pH 2.0) içerisinde 11 nM ile 495 nM arasında derişim ile doğrusal bir korelasyon gösterdi " $I_p (\mu A) = 0.0087 C (nM) - 0.3448 (r = 0.993, n = 12)$ ". 11 nM derişim seviyesinde, 2.4 nM gözlenebilir sınıırı (LOD) ve % 2.93 görelî standart sapma hesaplandı. Önerilen yöntemin analitik uygulaması ilaç ve idrar örneklerinde pratik edilmiş ve geri kazanımlarla gösterilmiştir.

## Investigation and Quantification of Electrochemical Properties of the Anti-Cancer Drug Vinblastine on the Pencil Graphite Electrode Surface

### Abstract

### Keywords

Vinblastine;  
Pencil Graphite  
Electrode;  
Voltammetry;  
Vial, urine

Vinblastine (VNB) is an antineoplastic drug used in cancer chemotherapy. In this presented study, the electrochemical properties of VNB were investigated in a wide pH range with disposable pencil graphite (PG) electrode and different supporting electrolytes "Britton-Robinson (0.04 M BR, pH 2.0-12.0), phosphate (0.04 M PBS, pH) 2.0, 3.0, 4.0, 7.4) and acetate (0.04 M ABS, pH 4.8) were studied by cyclic voltammetry "CV" and Square Wave Voltammetry "SWV" techniques. VNB gave an irreversible oxidation peak with CV in BR (pH 2.0) at +0.993 V potential and 3.844 µA current. With the SWV technique, the anodic current signal showed a linear correlation with the concentration between 11 nM and 495 nM in BR (pH 2.0) " $I_p (\mu A) = 0.0087 C (nM) - 0.3448 (r = 0.993, n = 12)$ ". At a concentration level of 11 nM, a limit of detection (LOD) of 2.4 nM and a relative standard deviation of 2.93% were calculated. The analytical application of the proposed method has been practiced in drug and urine samples and demonstrated with recoveries.

© Afyon Kocatepe Üniversitesi

### 1. Giriş

Vinblastin, kanser kemoterapisinde kullanılan bir vinka alkaloididir. Vinka-alkaloidler, mitoz sırasında beta-tubuline bağlanarak mikrotübül fonksiyonunu bozarak hücre ölümüne neden olurlar ve ayrıca anjiyogenezini inhibe edebilirler (Kavallaris *et al.* 2008, Pasquier and Kavallaris, 2008, Gan and Kavallaris, 2008). Klinik pratikte vinka-alkaloidleri 1960'lı yıllardan beri kullanılmaktadır ve

farmakokinetik özelliklerine olan ilgi her geçen gün artmaktadır. Genel olarak vinka-alkaloidler, Hodgkin hastalığı, Kaposi sarkomu, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, meme kanseri, mesane kanseri, lenfomalar ve lösemi dahil olmak üzere çok çeşitli kemoterapide kullanılırlar (Owellen *et al.* 1977).

Teknolojideki gelişmelerin giderek analitik yöntemlerin gelişimine katkı sağladığı bilinmektedir. Biyolojik matrikslerde VNB'nin tayini için kullanılan

farklı analitik yöntemlerden bazıları şunlardır: akış enjeksiyonlu elektrosprey iyonlaşma kütle spektrometresi (Favretto *et al.* 2001), yüksek performanslı sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi (Stokvis *et al.* 2005), kapiler elektroforez-kütle spektrometresi (Chen *et al.* 2011), sıvı kromatografisi-yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (Kosjek *et al.* 2013), elektrosprey iyonlaştırma tandem kütle spektrometresi ile birleştirilmiş sıvı kromatografisi (Gao *et al.* 2014), sıvı kromatografisi-atmosferik basınç kimyasal iyonlaşma-kütle spektrometresi (Achanta *et al.* 2013), yüksek performanslı sıvı kromatografisi-elektrosprey iyonizasyon-tandem kütle spektrometresi (Lin *et al.* 2014).

Yukarıda verilen bu yöntemler bilim insanları tarafından kabul edilmekle birlikte; toksik çözeltilerin kullanımı, zaman alan öğütme ve numune ön işlemi, maliyet ve deneyimli analistlere sahip olma dezavantajlarıdır.

Günümüzde voltametrik yöntemler diğer analitik yöntemlere alternatif olarak tercih edilmektedir. Voltametri; düşük maliyet, kısa analiz süresi, küçük analitik hacim, yüksek duyarlılık, seçicilik, elektro-aktif bileşiklerin analizi, örneklerin kolay hazırlanabilirliği faydalarındandır (Brainina, 2001; Farghaly *et al.* 2014).

Voltametrik yöntemde elektrot seçimi; yöntemin doğruluğunu, kesinliğini, seçiciliğini ve duyarlılığını etkiler. Çalışma elektrodu seçiminde; analitin redoks davranışı, analizin yapıldığı gerilim çalışma aralığı ve bu aralıktaki artık akım, çalışma elektrotun elektriksel iletkenliği, elektrot yüzeyinin tekrarlanabilirliği, mekanik özellikleri, ekonomik olması, uygulanabilirliği gibi kriterler ve toksisite dikkate alınmalıdır (Özkan *et al.* 2015).

Bu çalışmada karbon bazlı katı elektrotlardan biri olan tek kullanımlık grafit kalem uçlu çalışma elektrodu kullanılmıştır. Elektrokimyasal analizde karbon bazlı katı elektrotlar: geniş çalışma gerilim aralığı, düşük artık akım, yüksek duyarlılık, kimyasal inertlik ve zengin yüzey kimyası nedeniyle tercih edilmektedir. Bununla birlikte, bu elektrotlarla çalışırken, bazı moleküllerin anodik oksidasyon ürünleri elektrot çalışma yüzeyinde istenmeyen bir

ince film tabakası oluşturduğundan analitik sinyal azalır, bu nedenle tekrarlanabilir sonuçlar elde edilemez. Kalem uçlu grafit elektrotlar, ekonomik ve pratik kullanımının yanı sıra tek kullanımlık olmaları nedeniyle diğer karbon bazlı elektrotlara alternatif olarak çalışmalarda yerini almıştır (Bond *et al.* 1997, Özcan *et al.* 2018, Arvas *et al.* 2018).

PG çalışma elektrodu; yüksek elektrokimyasal reaktivite, mekanik dayanıklılık, hazırlık kolaylığı, düşük maliyetli ve teknolojik özelliklere sahiptir. Aynı zamanda elektrotun herhangi bir toksik kimyasal ve reaktife maruz kalmaması da önemlidir (Wang ve Kawde, 2001, Wang *et al.* 2000, Bond *et al.* 1997).

Bilim insanlarının yıllar içinde PG elektrotu farklı alanlarda kullandıkları görülmüştür (Altunkaynak *et al.* 2021, Altunkaynak *et al.* 2020, Levent and Onal 2018, Levent *et al.* 2009, Ly *et al.* 2004, Wang *et al.* 2000).

Literatürler incelendiğinde, VNB 'nin farklı voltametrik teknikler ve farklı çalışma elektrotları ile ilgili bilimsel çalışmaları sayıca sınırlıdır (Çizelge 1).

Çalışmamızda VNB analizinde SWV tekniği ve toksik olmayan tek kullanımlık ekonomik PG elektrot kullanılmıştır.

**Çizelge 1.** Farklı elektrokimyasal teknikler ile yapılmış VNB ile ilgili çalışmalar

Teknik	Elektrot	LOD	Referans
DPV	CPE	0.04 mM	Rusling et al. 1984
DPP	.	-	Temizer, 1986
CV, DPV	GCE	-	Brett et al. 1994
DPV	CPE	0.04 mM	Haque ve Saba 2009
EIS	AuNPs/GCE	0.084 nM	Haghshenas et al. 2017

DPV: Diferansiyel puls voltametri, DPP : Diferansiyel puls polarografi, CV : Dönüşümlü voltametri , NPV : Normal puls voltametri, EIS : Elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS), CPE: Karbon pasta elektrot , GCE : Camsı karbon elektrot, Pt : Platin , AuNPs/GCE : Altın nano partikül / camsı karbon elektrot, LOD : Tespit limiti.

## 2. Malzemeler ve yöntemler

## 2.1 Analizör ve elektrotlar

Bir potansiyostat/galvanostat (Autolab PGSTAT128N EcoChemie, The Netherlands) üzerinde CV ve SWV çalışmaları yapıldı. Ticari yazılım Nova 1.11 sürüm kullanıldı. Elektrokimyasal ölçümler için, "Ag/AgCl (MF 2052, BAS 3 M KCl)" referans elektrot, "platin tel (MF 1032, BAS)" yardımcı elektrot ve "PG " çalışma elektrotu kullanıldı. BASİ C-3 hücre standı olarak üç elektrotlu bir giriş sistemi ve 10 mililitrelik bir deney hücresi (pyrex®, MR 1208, BAS) kullanıldı. Çözeltilerin pH ayarlamaları cam elektrotlu "thermo scientific orion 3 star" pH metre ile yapıldı.

### 2.1.1 Kalem ucu grafit çalışma elektrotunun hazırlık aşaması

PG çalışma elektrotuna uygun grafit kalem (Rotring) ve grafit kalem ucu (Model Tombo 0.5/2B, Japan) kırtasiyeden satın alındı. Her ölçüm için yeni bir kalem ucu kullanıldı. Elektrot, Wang ve arkadaşlarının önerdiği tekniğe uygun olarak tasarlandı. Rotring kalemin dış metal kulpu ve uç kısmındaki metal kısım bakır tel ile sarılarak elektriksel iletkenliği sağlandı. 60 mm uzunluğunda ve 0.5 mm çapında olan grafit kalem ucu, 15 mm boyutu dışarıda kalacak şekilde işaretlendi ve grafit kalem içerisine yerleştirildi. Kalem ucunun 12 mm 'lik kısmı, 10 ml 'lik voltametik deney hücresindeki analiz çözeltisine daldırıldı. PG elektroduna tekrarlanabilir ve duyarlı sinyaller elde etmek için aktivasyon işlemi gerçekleştirildi. Deneylerden önce seçilen destek elektrolitinde PG elektrot yüzeyine (elektrot ön-işlemi) +1.5 V gerilim 60 s sürede uygulandı (Wang *et al.* 2000).

## 2.2 Kimyasallar

VNB standardı [vinblastin sülfat tuzu, (V1377), C<sub>46</sub>H<sub>58</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>] Sigma-Aldrich'den, VNB flakonu (1 mg / 1 mL, VINKO) eczaneden satın alındı. Kullanılan diğer kimyasallar ve çözücüler analitik reaktif sınıfındaydı ve saflaştırılmadan doğrudan kullanıldı. Dimetilsülfoksit çözücüsü ile 1.1x10<sup>-3</sup> M VNB stok çözeltisi hazırlandı. Çeşitli derişimlerde standart çözeltilerin hazırlanmasında stok çözeltiler kullanıldı. Elektrokimyasal ölçümler için destek elektrolit olarak; ABS (pH 4.8), PBS (pH 3.0, 4.0, 7.4) ve BR (pH 2.0-12.0) tampon çözeltileri kullanıldı. Tampon

çözeltilerin istenilen pH değerine ayarlanması 5.0 M NaOH ve 5.0 M HCl ile yapıldı. Deneysel çalışmalar oda sıcaklığında ultra saf su kullanılarak gerçekleştirildi. Hazırlanan çözeltiler +4 °C 'de buzdolabında saklandı.

## 2.3 Analiz prosedürü

VNB 'nin elektrokimyasal davranışının araştırılması için PG elektrot kullanılarak yapılan ön çalışmalarda CV tekniği uygulandı. Analizlerden önce, PG elektrodu, temiz ve tekrarlanabilir bir elektrot yüzeyi elde etmek için, destek elektrolitinde +1.50 V gerilim ve 60 s sürede işleme tabi tutuldu. Elektroanalitik yöntem geliştirme aşamasında, çalışılacak voltametik yöntemin optimizasyonu için; BR, PBS ve ABS destek elektrolitleri ve pH, elektrot temizleme yönteminde yer alan biriktirme gerilimi ve süresi, SWV yöntemi parametrelerinin elektrot üzerindeki etkisi, kalibrasyon eğrisi oluşturma, tekrarlanabilirlik çalışmaları ve analitik uygulama yapılmıştır. Tüm ölçümler 10-mL 'lik voltametik deney hücresinde laboratuvar sıcaklığında (25 ± 5°C) 3 kez tekrarlanmak şartıyla gerçekleştirildi.

## 2.4 Örnek hazırlama

### 2.4.1 Farmasötik örneklerin hazırlanması

Yöntemin ticari ilaç formuna uygulamasında eczaneden satın alınan VINKO flakonu (1 mg / 1 mL) kullanıldı. Her flakon 1 mL 'de 1 mg VNB 'ye eşdeğer 1.14342 mg vinblastin sülfat içerir. Optimum koşullar için seçilen destek elektroliti içeren (BR, pH 2.0) voltametik hücreye flakon içeriğinden µL düzeyinde ilaveler yapıldı. Numune solüsyonu doğrudan analiz edildi ve kalibrasyon yöntemi ile miktarı belirlendi.

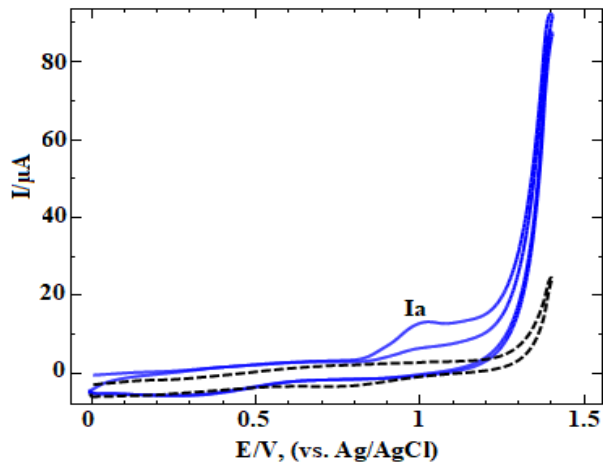
### 2.4.2 İdrar örneği hazırlama

İdrar örnekleri, sigara ve ilaç kullanmayan gönüllü e r k e k donörlerden aç karnına ve deneylerden hemen önce alındı. 5 mL idrar örneği, 10 mL'lik örnek tüpünde eşit hacimde asetonitril ile karıştırılarak vorteks karıştırıcıda 1 dakika işlemde geçirildi ve ardından 5000 rpm'de 5 dakika santrifüjlendi. Üst tabakadan alınan örneğin 50 µL'si deney hücresinde destek elektrolit ile karıştırıldı. Daha sonra küçük hacimlerde VNB standart çözeltisinden eklendi ve hemen analiz edildi.

### 3. Bulgular

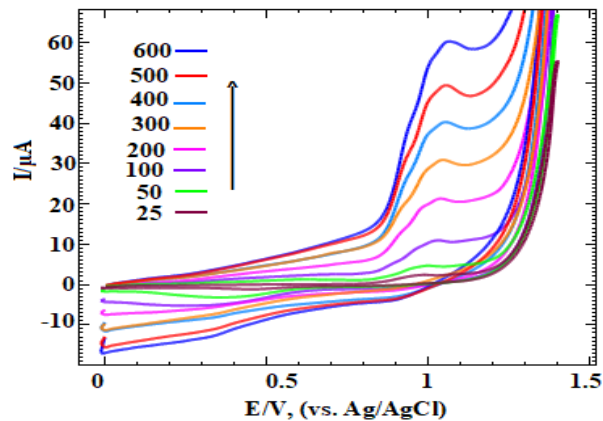
#### 3.1 PG elektrot üzerinde Vinblastin'in voltametrik davranışı

PG elektrot yüzeyindeki elektrokimyasal davranışın incelenmesinde, VNB ( $5.5 \times 10^{-5}$  M) 'nin iki döngülü voltamogramları  $100 \text{ mVs}^{-1}$  tarama hızı ve (0.0 V)-(+1.5 V) gerilim çalışma aralığında destek elektrolitinde (BR, pH 2.0) kaydedildi (Şekil 1). Destek elektroliti ve VNB ( $5.5 \times 10^{-5}$  M) içeren çözeltinin eğrileri karşılaştırıldığında, VNB yaklaşık +0.993 V (3.844  $\mu\text{A}$ ) değerinde tersinmez bir anodik yükseltgenme piki ( $I_a$ ) verdi (Şekil 1).



Şekil 1.  $5.5 \times 10^{-5}$  M Vinblastin 'in BR (pH 2.0) içinde iki döngülü voltamogramı. Tarama hızı ( $100 \text{ mVs}^{-1}$ ). Destek elektroliti: Kesikli çizgili.

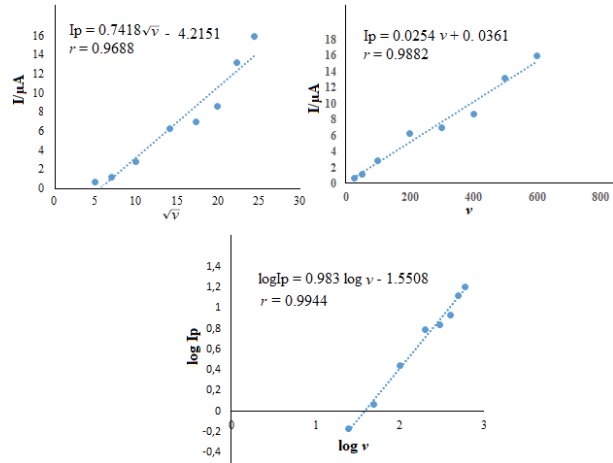
$5.5 \times 10^{-5}$  M VNB'nin anodik yükseltgenmesi üzerindeki tarama hızının pik gerilimlerinin ve akımlarının etkisini incelemek için; VNB'nin CV 'leri  $25-600 \text{ mVs}^{-1}$  gerilim tarama hızı aralığında destek elektrolitte (BR, pH 2.0) kaydedildi. VNB bulguları incelendiğinde; gerilimin  $25-600 \text{ mVs}^{-1}$  aralığında pozitif gerilimlere doğru kaydığı gözlemlendi (Şekil 2).



Şekil 2.  $25-600 \text{ mVs}^{-1}$  tarama hızlarında BR (pH 2.0)'de

elde edilen  $5.5 \times 10^{-5}$  M Vinblastin 'in döngülü voltamogramları.

Şekil 2 'de verilen ilgili voltamogramlardan a ki bulgular yardımıyla belirlenen gerilim tarama hızı ile pik akımı ( $v$ ) / ( $I_p$ ) arasındaki ilişkiden elde edilen  $I_p / \sqrt{v}$ ;  $I_p / v$ ; ve  $\log I_p / \log v$  grafikleri Şekil 3 'te gösterilmektedir.



Şekil 3.  $5.5 \times 10^{-5}$  M Vinblastin 'in BR (pH 2.0) içinde pik akımı -  $25-600 \text{ mVs}^{-1}$  gerilim tarama hız grafikleri. Elektrot, PG

Gerilim tarama hızı ile pik akımı arasında  $25-600 \text{ mVs}^{-1}$  aralığındaki doğrusallık denklemleri aşağıdaki gibi elde edilmiştir:

$$I_p (\mu\text{A}) = 0.7418 \sqrt{v} (\text{mV s}^{-1}) - 4.2151, r = 0.9688 \quad (1)$$

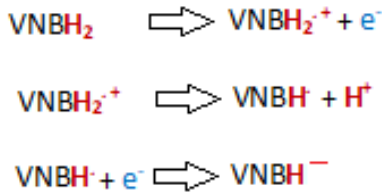
$$I_p (\mu\text{A}) = 0.0254 v (\text{mV s}^{-1}) + 0.0361, r = 0.9882 \quad (2)$$

$$\log I_p (\mu\text{A}) = 0.983 \log v - 1.5508, r = 0.9944 \quad (3)$$

VNB ( $5.5 \times 10^{-5}$  M)'nin  $25-600 \text{ mV s}^{-1}$  gerilim tarama hızları aralığında yükseltgenme pik gerilimi ve pik akım şiddeti üzerindeki etkisini incelemek için destek elektrolit (BR, pH 2.0) içinde döngülü voltamogramları kaydedildi (Şekil 2). Yükseltgenme pik akımı şiddeti ile gerilim tarama hızı arasında doğrusal bir ilişki olduğu görüldü ( $I_p (\mu\text{A}) = 0.0254 v (\text{mV s}^{-1}) + 0.0361, r = 0.9882$ ). Tarama hızının logaritması ( $\log v$ ) ile yükseltgenme pik akımının logaritması ( $\log I_p$ ) arasındaki ilişkiden " $\log I_p (\mu\text{A}) = 0.983 \log v - 1.5508, r = 0.9944$ " elde edilen eğim 0.5 ile 1 arasındadır, bu da VNB 'nin elektrokimyasal yükseltgenme tepkimesinin adsorpsiyon kontrollü olduğunu gösterir. İlgili grafik Şekil 3 'de gösterilmektedir.

Tersinmez bir elektrot işlemi için  $E_p$  ile  $\log v$  arasındaki ilişki şu şekildedir:  $E_p = E^0 + (2.303RT /$

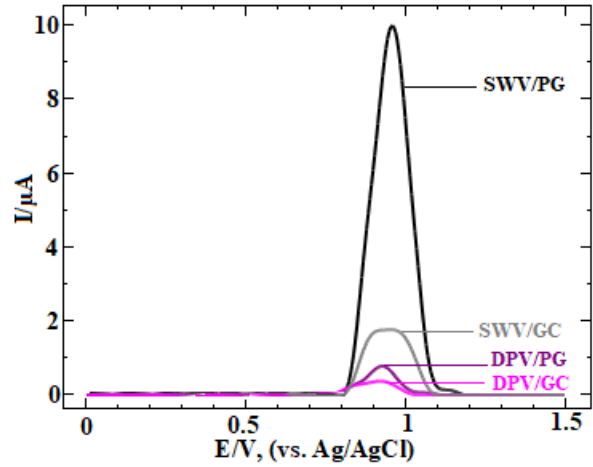
$\alpha nF) \log (RTk^0 / \alpha nF) + (2.303RT / \alpha nF) \log v$  (Laviron, 1979). ilişkide bulunan " $\alpha$ " yük aktarım katsayısı ve " $n$ " redoks tepkimesinde transfer edilen elektron sayısıdır.  $R = 8.314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ ,  $T = 298 \text{ K}$  ve  $F = 96480 \text{ C mol}^{-1}$  bilinen sabitlerdir.  $E_p / \log v$  ilişkisinden elde edilen bağıntıdan " $E_p (V) = 0.0595 \log v (mVs^{-1}) + 0.8851 (r = 0.9860)$ " eğim değeri 0.0595 bulunmuştur. " $\alpha.n$ " değeri denklemden 0.991 olarak hesaplanmıştır. Tersinmez elektrot olayında  $\alpha = 0.5$  olarak kabul edilebileceğinden  $n = 1.98 (\approx 2)$  değeri elde edildi. Bu değere göre, PG elektrot yüzeyinde tersinmez olarak yürüyen VNB bileşiğinin yükseltgenme işlemi sırasında mol başına 2 elektron aktarıldığını gösterir. Bulduğumuz bu sonucun Haque ve Saba'nın 2009 yılında yaptığı çalışmayla uyumlu olduğu görülmüştür. Elde edilen verilere dayanarak, VNB 'nin olası yükseltgenme mekanizması Şekil 4' te gösterilmiştir.



Şekil 4. Vinblastin için önerilen oksidasyon mekanizmasının şeması (Haque ve Saba 2009).

### 3.2 Teknik ve çalışma elektrodu seçimi

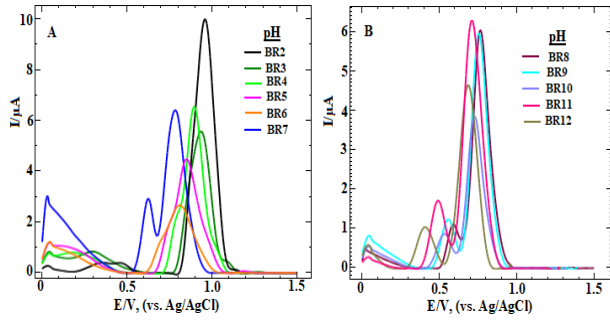
$1.1 \times 10^{-5} \text{ M}$  VNB 'nin PG ve GC elektrotlar üzerinde voltamogramları, SWV ve DPV teknikleri kullanılarak BR (pH 2.0) içinde kaydedilmiştir. Elde edilen voltamogramlar değerlendirildiğinde SWV tekniği ve PG elektrot ile elde edilen pikin VNB 'nin anodik yükseltgenmesinde daha duyarlı olduğu görülmüştür (Şekil 5).



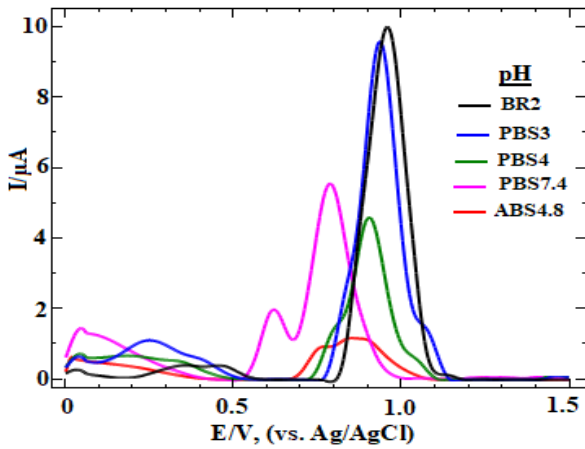
Şekil 5.  $1.1 \times 10^{-5} \text{ M}$  Vinblastin 'in BR (pH 2.0) içinde PG ve GC elektrotları kullanılarak elde edilen SWV ve DPV eğrileri. Biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 50 Hz; adım gerilimi, 14 mV; amplitüd, 40 mV.

### 3.3 pH'nin Etkisi

VNB ( $1.1 \times 10^{-5} \text{ M}$ )'nin PG elektrot yüzeyindeki voltametrik davranışı farklı destek elektrolitlerinde ve farklı pH değerlerinde SW-AdSV tekniği kullanılarak incelenmiştir. ABS (pH 4.8), PBS (pH 3.0, 4.0, 7.4) ve BR (pH 2.0 - 12.0) destek elektrolitlerinde hazırlanan VNB 'nin (+0.0 V) - (+1.5 V) gerilim aralığında (açık devrede 60 s biriktirilmiş) elde edilen SW voltamogramlarına pH'nin etkisi Şekil 6 A-B ve Şekil 7'de gösterilmiştir. Şekil 6 A-B 'de görüldüğü gibi BR destek elektrolitlerinde pH değeri arttıkça VNB 'nin yükseltgenme pik noktaları daha negatif gerilim bölgesine doğru kaymıştır. Nötral ve bazik pH değerlerinde pik akım şiddeti azalmıştır. Ayrıca, nötral ve bazik pH 'larda BR (pH 7.0 - 12.0) ortamında VNB bileşiğinde iki yükseltgenme basamağı ve BR (pH 2.0 - 6.0) ortamında ise bir yükseltgenme basamağı gözlemlendi. Şekil 7 incelendiğinde, PBS ortamında asidik pH (3.0, 4.0) ve bazik pH (7.4) değerlerinde VNB 'nin yükseltgenme pikinin negatif gerilim bölgesine doğru kaydığı ve pik akım şiddetinin azaldığı gözlemlendi. Aynı zamanda VNB bazik pH (7.4) değerinde iki yükseltgenme basamağı vermiştir. ABS pH (4.8) ortamında ise diğer destek elektrolitlere göre daha düşük pik akım ve gerilim değerinde bir voltamogram elde edilmiştir. Şekil 6A-B ve şekil 7 'den elde edilen veriler değerlendirildiğinde; ortamda gözlenen yüksek pik ve bu pik akım nedeniyle çalışma ortamı olarak BR (pH 2.0) seçilmiştir.

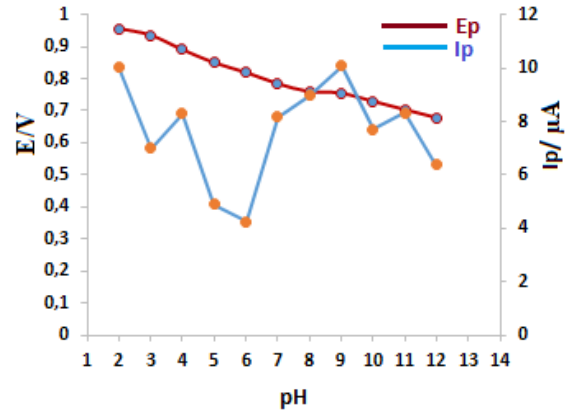


**Şekil 6.**  $1.1 \times 10^{-5}$  M Vinblastin 'in BR içindeki voltamogramları (A) pH 2.0 - 7.0. (B) pH 8.0 - 12.0. Yöntem, SW-AdSV; Elektrot, PG; Biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 50 Hz; adım gerilimi, 14 mV; amplitüd, 40 mV.



**Şekil 7.**  $1.1 \times 10^{-5}$  M Vinblastin 'in farklı tampon ortamlarındaki voltamogramları: BR (pH 2.0), PBS (pH 3.0, pH 4.0, pH 7.4 ) ve ABS (pH 4.8). Yöntem, SW-AdSV; Elektrot, PG; Biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 50 Hz; adım gerilimi, 14 mV; amplitüd, 40 mV.

SW-AdSV tekniği kullanılarak VNB ( $1.1 \times 10^{-5}$  M) 'nin pik gerilimi ( $E_p$ ) ve pik akımı ( $I_p$ ) ile pH arasındaki ilişkisi incelenmiştir. BR (pH 2-12) ortamlarında pH- $E_p$  ve pH- $I_p$  grafikleri Şekil 8 'de gösterilmektedir. pH ve pik gerilimi arasındaki ilişki incelendiğinde; pik geriliminin pH arttıkça negatif değerlere kaydığı görülmektedir. Pik geriliminin negatife kayması, yükseltgenmenin kolaylaştırıldığını gösterir. pH ile pik akımı ( $I_p$ ) arasındaki ilişki incelendiğinde maksimum pik akımı pH 2.0 'da elde edilmiştir.



**Şekil 8.**  $1.1 \times 10^{-5}$  M Vinblastin 'in BR içinde farklı pH değerlerinde (pH 2.0 - 12.0) pik gerilimi ( $E_p$ ) ve pik akımı ( $I_p$ ) üzerine pH etkisi. Yöntem, SW-AdSV; Elektrot, PG; Biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 50 Hz; adım gerilimi, 14 mV; amplitüd, 40 mV.

VNB 'nin pH- $E_p$  ilişkisi incelendiğinde  $E_p$  (mV) =  $-0.0277 \text{ pH} + 0.9998$ ,  $r = 0.989$  denkleminde pH (2.0 – 12.0) aralığında tek eğimli bir bölge görülmektedir. Denklemden elde edilen  $-27.7$  mV eğim değerinin yaklaşık olarak  $59$  mV Nerst denleminin değerinin yarısına eşit olması, elektrot mekanizmasındaki elektron sayısının proton sayısının iki katına eşit olduğunu gösterir. Şekil 4 'de görüldüğü gibi keskin pik ve yüksek pik akımı sonucu çalışma ortamı olarak BR pH 2.0 seçilmiştir.

### 3.4 Biriktirme koşullarının etkisi

BR (pH 2.0) destek elektrolitinde biriktirme süresi ve gerilim ( $t_{acc}$ ;  $E_{acc}$ ) koşullarının, PG elektrot yüzeyinde VNB ( $5.5 \times 10^{-6}$  M) 'nin adsorptif özellikleri üzerindeki etkileri araştırıldı (şekiller verilmedi). Analitik sinyal üzerinde  $t_{acc}$  etkisi,  $E_{acc}$  değeri 0.0 V 'da sabit tutularak 30 s -210 s aralığında incelenmiştir. VNB 'nin yükseltgenme pik sinyali 30 s ve 60 s 'de düzenli olarak artarken, 60 s 'den sonra 90 s ve 120 s 'de düzenli azalma gözlenirken 150 s 'de tekrar artıp 180 s ve 210 s 'de azalmıştır. Bu sonuç, elektrot yüzeyinin analite doymuş olduğunu gösterir. Optimum biriktirme süresi 60 s olarak belirlenmiştir. Analiz, (0.0 V) – (+0.8 V) aralığında ve 60 s biriktirme süresinde sıyırma pik akım / gerilim ilişkisi seçilerek gerçekleştirildi. 0.0 V - 0.7 V aralığında yükseltgenme pik sinyalinde düzenli bir azalma gözlemlendi. 0.8 V değerinde ise sapma şeklinde artış gözlemlendi. Biriktirme gerilimi 0.0 V olarak çalışma için belirlenmiştir. Pik geriliminin artmasıyla



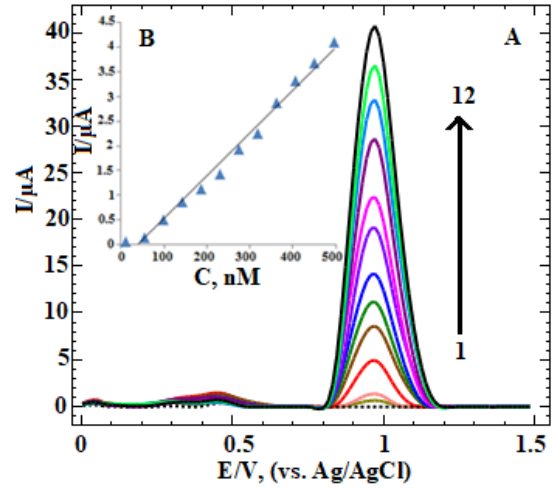
pik akımının azaldığı da gözlemlendi. Sonuç olarak, biriktirme süresi / biriktirme gerilimi (60 s / 0.0 V) seçilerek analitik çalışmalar yapılmıştır.

### 3.5 SWV Değişkenlerin Etkisi

VNB ( $5.5 \times 10^{-6}$  M)'nin cihaz değişkenlerini belirlemek için BR (pH 2.0) destek elektrolitinde 0.0 V 'da 60 s süreyle biriktirme uygulandı ve SW değişkenlerinden sırasıyla gerilim adımı (1-24 mV), kare- dalga amplitüd ( $\Delta E_s = \Delta E_{sw} = 10-70$  mV] ve kare-dalga frekansının ( $f = 10-70$  Hz) sıyırma etkisi üzerindeki etkisi araştırıldı. SWV tekniğinin hızı; adım gerilimi, puls amplitüdü ve frekans değerleri ile ilişkilidir. İki değişken sabit tutularak diğer değişken değerlerinin voltamogramları elde edildi. (Şekiller verilmedi). Gerilim tarama hızındaki artışa bağlı olarak,  $f = 50$  Hz ve  $\Delta E_s = 14$  mV değerine kadar olan artış, pik akımı değerlerinde artışa neden olmuştur. Bu değerlerden sonra akım değerlerinin düşmesi ile  $f = 60-70$  Hz ve  $\Delta E_s = 18-24$  mV değerlerinde zemin çizgisi bozulması ve pik genişlemesi gözlenmiştir. Puls amplitüd değeri analitik sinyal ile ilişkili olduğundan, pik yükseklikleri  $\Delta E_{sw} = 40$  mV 'a kadar artmış, 50-60 mV'da azalmış ve 70 mV değerinde azalma ile birlikte sapma gözlenmiştir. En iyi SWV değişkenleri olarak;  $f = 50$  Hz,  $\Delta E_s = 14$  mV ve  $\Delta E_{sw} = 40$  mV elde edilmiştir. Çalışmanın bundan sonraki bölümünde bu değerler kullanılmıştır.

### 3.6 Analitik Uygulama

Optimum çalışma koşullarında VNB derişiminin pik akım üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla, VNB standart çözeltilerinin PG elektrot üzerinde BR (pH 2.0) ortamında 11 nM – 495 nM derişim aralığında voltamogramları ve bunların kalibrasyon eğri grafiği oluşturulmuştur (Şekil 9A-B).



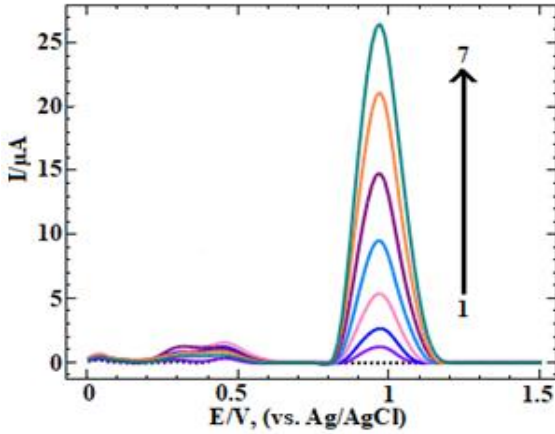
**Şekil 9. (A)** Vinblastin 'in (11 nM - 495 nM) BR (pH 2.0) içinde elde edilen voltamogramları (1) 11; (2) 55; (3) 99; (4) 143; (5) 187; (6) 231; (7) 275; (8) 319; (9) 363; (10) 407; (11) 451; (12) 495 nM. Kesikli çizgili, destek elektrolit ve **(B)** Pik akımı - derişim kalibrasyon eğrisi. Yöntem, SW-AdSV; gerilim tarama hızı, 100 mV s<sup>-1</sup>; Elektrot, PG; Biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 50 Hz; adım gerilimi, 14 mV; amplitüd, 40 mV.

+0.97 V gerilimde VNB derişimi arttıkça (11 nM – 495 nM aralığında) pik akımlarının arttığı gözlemlendi. Pik akım kalibrasyon grafiğinden elde edilen denklemden " $I_p (\mu A) = 0.0087 C (nM) - 0.3448$ ,  $r = 0.993$  ( $n=12$ )" kalibrasyon eğrisinin doğrusallık korelasyon katsayısı  $r = 0.993$  olarak bulundu. Metodun analitik duyarlılığı, LOD = 3 s/m (gözlemlenebilirlik sınırı) ve LOQ = 10 s/m (tayin alt sınırı) denklemlerinden hesaplandı. Denklemdaki "s", destek elektrolitinin zemin çizgisinde okunabilen en küçük yedi sinyal gürültüsünün standart sapmasıdır ve "m" kalibrasyon eğrisinin eğimidir. Hesaplamalar sonucunda LOD = 2.4 nM olarak bulundu. Geliştirilen yöntemin tekrarlanabilirlik düzeyini belirlemek için 200 nM derişiminde çözeltiler hazırlanmış ve günde 9 kez sıyırma voltamogramları alınmıştır. Bu voltamogramların yükseltgenme pik akım ve gerilim değerleri kaydedilmiş ve bulunan değerler gün içi kesinlik olarak değerlendirilmiştir. Bu verilere göre yükseltgenme pik akım ve gerilim % BSS değerleri sırasıyla % 1.25 ve % 0.45 olarak bulunmuştur.

### 3.7 Gerçek örnek analizi

#### 3.7.1 Farmasötik çözeltiler

Ticari ilaç formuna uygulama sürecinde kullanılan VNB enjekte edilebilir solüsyon (VİNKO, 1 mg / 1 mL) eczaneden temin edildi. Hazırlanan flakon çözeltilerinin (Bölüm 2.4) voltamogramları, standart maddeler için hazırlanan koşullar altında alınmıştır (Şekil 10).



**Şekil 10.** VNB içeren VİNKO flakonun (0.5 nM - 495 nM) BR (pH 2.0) içinde elde edilen voltamogramları (1) 5; (2) 11; (3) 22; (4) 33; (5) 44; (6) 55; (7) 66 nM. Kesikli çizgili, destek elektrolit. Elektrot, PG; Biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 50 Hz; adım gerilimi, 14 mV; amplitüd, 40 mV.

Standart VNB 'nin voltamogramları (Şekil 9) flakon analizinin voltamogramları (Şekil 10) ile karşılaştırıldı, voltamogramların uyumlu olduğu görüldü. İlgili kalibrasyon denklemindeki yükseltgenme pik akım değerleri değiştirilerek flakonlardaki VNB miktarı hesaplandı ve elde edilen değer gerçek değerle karşılaştırıldı. Önerilen yöntemin kesinliğini ve doğruluğunu kontrol etmek için geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Aynı flakon çözeltisine standart VNB çözeltisi art arda eklenerek voltamogramlar tekrar alındı. Pik akımları hem orjinal flakon çözeltisinde hem de ardışık ilavelerden sonra ölçülmüştür. Flakon çözelti örneğine ilave edilen saf maddenin ne kadarının belirlenebileceği hesaplandı. Çizelge 2 'de voltametik yöntemle yapılan analiz sonuçları değerlendirildiğinde; bağıl standart sapma (BSS) % 2.93 ve ortalama geri kazanım % 99.6 'dır.

**Çizelge 2.** Vinblastin içeren VİNKO flakonlarında elde edilen analiz verileri

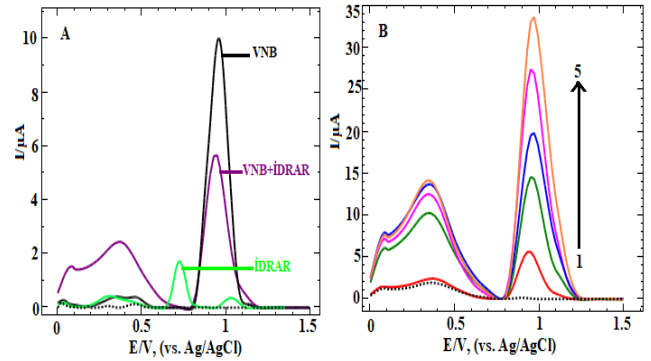
Numune	Eklenen* (nM)	Bulunan* (nM)	Geri Kazanım (%)**±% BSS
1	11	10.45	95 ±2.85
2	22	21.34	97 ±2.79
3	33	34.32	104±3.01
4	44	46.64	106±2.94
5	55	52.80	96±3.08

\*1mg / 1ml flakon

\*\*Sonuçlar 3 analizin ortalamasıdır.

#### 3.7.2 İdrar örnekleri

VNB tayini için PG elektrodu kullanılarak geliştirilen voltametik yöntem, idrar gibi karmaşık matris ortamlarında incelenmiştir. İdrar örneklerinde ürik asit voltamogramları 0.6 V - 1.0 V aralığında gözlemlendi. VNB BR (pH 2.0) ortamında 0.956 gerilim değerinde pik verdiği için PG elektrot ile geliştirilen SW-AdSV yönteminin idrar örneklerine uygulanacağı görülmüştür (Şekil 11A).



**Şekil 11.** (A) Vinblastin 'in ( $1.1 \times 10^{-5}$  M) BR (pH 2.0) içinde idrar ortamında elde edilen voltamogramları. (B) Standart katma yöntemi ile elde edilen idrar örneğinin voltamogramları (1) 11; (2) 22; (3) 33; (4) 44; (5) 55 nM. Kesikli çizgili, destek elektrolit, Yöntem, SW-AdSV. Elektrot, PG; Biriktirme süresi 60 s; biriktirme gerilimi, 0.0 V. SW değişkenleri: frekans, 50 Hz; adım gerilimi, 14 mV; amplitüd, 40 mV.

Sağlıklı bir erkek gönüllüden idrar örnekleri alındı. İdrar örneğine  $50 \mu\text{g mL}^{-1}$  nihai derişimi ile uygun miktarda stok VNB çözeltisi eklendi ve aynı idrar örneğiyle 10 mL 'ye tamamlanacak şekilde 4.95 mL asetonitril eklendi. Numune tüpleri 5000 devirde 10 dakika santrifüjlendi. Aynı prosedür, analit içermeyen idrar örneği (kör) ile tekrarlandı. 50  $\mu\text{L}$  idrar örneği BR (pH 2.0) destek elektrolitine eklendikten sonra, VNB çözeltisinden: 11; 22; 33; 44;



55 nM eklemelerle standart ekleme yöntemi yapıldı (Şekil 11B). VNB 'nin standart ilavelerinden sonra pik akımındaki artış nedeniyle, yaklaşık +0.95 V 'da okunan yükseltgenme pik noktasının VNB yükseltgenmesinden kaynaklandığı sonucuna varılabilir. Şekil 11A 'da verilen grafikte yaklaşık +0.75 V 'ta görülen sinyalin idrar örneklerindeki ürik asitten yaklaşık +0.95 V 'ta görülen sinyalin ise VNB sinyali olduğu anlaşılmaktadır. Derişim - pik akım değerleri grafiğinden (şekil 11 B) elde edilen doğrusal ilişkiyi kullanarak [ $I_p (\mu A) = 5.4658 C (\mu g mL^{-1}) + 2.1398$   $r = 0.8841$ ] % geri kazanım ve % BSS analiz verileri Çizelge 3 'de gösterilmektedir.

**Çizelge 3.** Vinblastin içeren idrar örneklerinde elde edilen analiz verileri

Numune	Eklenen* (nM)	Bulunan* (nM)	Geri Kazanım (%) $\pm$ % BSS
1	11	11.86	107.84 $\pm$ 3,85
2	22	22.93	104.26 $\pm$ 2,42
3	33	33.61	101.85 $\pm$ 1,85
4	44	43.40	98.65 $\pm$ 1,26
5	55	55.91	101.66 $\pm$ 1,57

\*Sonuçlar 3 analizinin ortalamasıdır

### 3.8. Seçicilik çalışması

Geliştirilen voltametrik yöntemin seçicilik çalışması VNB ( $1.1 \times 10^{-5}$  M) çözeltisinde girişim yapabilecek maddeler üzerinde analiz edilmiştir. Bu amaçla; adrenalin, noradrenalin, testesteron, progesteron, dopamin, askorbik asit, ürik asit gibi biyomoleküller ve  $Na^{+1}$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $Ca^{+2}$ ,  $Fe^{+2}$ ,  $Ni^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$ ,  $Se^{+2}$ ,  $Pb^{+2}$  gibi bazı iyonlar optimum koşullarda VNB içeren çözeltiye 10 kat ilave edilerek incelenmiştir. Tolerans sınırı, girişim türlerinin maksimum konsantrasyonu olarak alındı ve  $\pm$  % 5 'lik bir % RSD ile değerlendirildi (çizelge 4). Yukarıda verilen biyomolekül ve iyonların ürik asit dışında diğerleriyle girişim yaptığı için bu koşullar altında aynı anda analiz edilemediği görülmüştür.

**Çizelge 4.** VNB ( $1.1 \times 10^{-5}$  M) 'nin PG elektrot ile elde edilen girişim verileri

Madde	Tolerans seviyesi oranı (yabancı madde, VNB)	$\pm$ % hata
$Na^{+}$	10:1	6.19
$Mg^{2+}$	10:1	5.06
$Ca^{2+}$	10:1	16.01
$Fe^{2+}$	10:1	9.29
$Se^{4+}$	10:1	4.53
$Ni^{2+}$	10:1	15.29
$Zn^{2+}$	10:1	10.54
$Pb^{2+}$	10:1	2.84
Adrenalin	10:1	7.98
Noradrenalin	10:1	4.35
Testesteron	10:1	7.35
Progesteron	10:1	5.08
Dopamin	10:1	5.04
Askorbik asit	10:1	9.52
Ürik asit	10:1	14.9

## 4. Sonuçlar

Bu çalışmada, VNB 'nin elektrokimyasal özellikleri ilk kez PG elektrot ile incelendi ve miktar tayini için SW-AdSV yöntemi geliştirildi. Geliştirilen teknikte; uygulanabilirlik, duyarlılık, doğruluk, seçicilik ve tekrarlanabilirlik bulgularla gösterildi. VNB tayinine yönelik kaynakçada yer alan diğer elektrokimyasal yöntemlerle karşılaştırıldığında (Çizelge 1) PG çalışma elektrotunun daha duyarlı olduğu görüldü (LOD = 2.4 nM ). Sadece modifiye elektrot ( $AuNPs/GCE$ ) kullanılarak yapılan çalışmanın (Haghshenas *et al.* 2017) LOD değeri (Çizelge 1) daha düşük olmasına rağmen, ilgili çalışmada çalışma elektrotuna modifikasyon işlemi uygulanmıştır. Geliştirilen bu voltametrik teknikte kullanılan PG elektrotun düşük maliyetli ve modifikasyon işlemi yapılmamış olması ayrıca toksik olmaması çalışmanın özgünlüğünü ortaya koymaktadır. Geliştirilmiş elektroanalitik teknik; herhangi bir önderiştirme işlemi gerektirmeden hızlı olması, duyarlılık açısından yüksek güvenilirlik, az miktarda numune ile çalışabilmesi ve zaman alıcı ayırma işlemlerine ihtiyaç duymadan analiz yapılabilmesinin yanı sıra literatürdeki diğer kromatografik ve spektroskopik yöntemlere alternatif olabilir.

## 5. Kaynaklar

- Achanta, S, Ngo, M, Veitenheimer, A, Maxwell, LK, Wagner, JR, 2013. Simultaneous quantification of vinblastine and desacetylvinblastine concentrations in canine plasma and urine samples using LC–APCI–MS/MS. *Journal of Chromatography B*, **913**, 147-154.
- Altunkaynak, Y., Yavuz, Ö., Levent, A, 2020. New voltammetric strategy for determination and electrochemical behaviors of metformin by pencil graphite electrode in the NaOH. *journal indian chemical society*, **97**, 1-13.
- Altunkaynak, Y, Yavuz, Ö, Levent, A, 2021. Firstly electrochemical examination of vildagliptin at disposable graphite sensor: Sensitive determination in drugs and human urine by square-wave voltammetry. *Microchemical Journal*, **170**, 106653.
- Arvas, M.B, Gürsu, H, Gençten, M, Sahin, Y, 2018. Electrochemical formation of molybdenum phosphate on a pencil graphite electrode and its potential application for the detection of phosphate ions. *Analytical Methods*, **10**, 4282-4291.
- Bond, A.M, Mahon, P.J, Schiewe, J, Vicente-Beckett, V, 1997. An inexpensive and renewable pencil electrode for use in field-based stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, **345**, 67-74.
- Brainina, K.Z, 2001. Electroanalysis: From laboratory to field versions. *Journal of Analytical Chemistry*, **56**, 303-312.
- Brett, A.M.O, Grazina, M.M.M, Macedo, T.R.A, Raimundo, D, 1994. Anodic behavior of some vinca alkaloids with cytostatic activity: effect of pH. *Electroanalysis*, **6**, 57-61.
- Chen, Q, Li, N, Zhang, W, Chen, J, Chen Z, 2011. Simultaneous determination of vinblastine and its monomeric precursors vindoline and catharanthine in *Catharanthus roseus* by capillary electrophoresis–mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, **34**, 2885–92
- Farghaly, O.A, Abdel Hameed, R.S, Abu-Nawwas, A.H, 2014. Analytical Application Using Modern Electrochemical Techniques, *Internal Journal of Electrochemical Science*, **9**, 3287-3318
- Favretto, D, Piovan, A, Filippini, R, Caniato, R, 2001. Monitoring the production yields of vincristine and vinblastine in *Catharanthus roseus* from somatic embryogenesis. Semiquantitative determination by flow-injection electrospray ionization mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **15**, 364–369
- Gan, P.P, Kavallaris, M, 2008. Tubulin-targeted drug action: Functional significance of class II and class IV  $\beta$  tubulin in Vinca alkaloid sensitivity. *Cancer Research*, **68**, 9817–9824
- Gao, S, Zhou, J, Zhang, F, Miao, H, Yun, Y, Feng, J, Tao, X, Chen, W, 2014. Rapid and sensitive liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry method for the analysis of paclitaxel, docetaxel, vinblastine, and vinorelbine in human plasma. *Therapeutic drug monitoring*, **36**, 394–400.
- Haghshenas, E, Madrakian, T, Afkhami, A, Nabiabad, H.S, 2017. A label-free electrochemical biosensor based on tubulin immobilized on gold nanoparticle/glassy carbon electrode for the determination of vinblastine. *Analytical bioanalytical chemistry*, **409**, 5269–5278.
- Haque, IU, Saba, H, 2009. Voltammetry of an Anti-Cancer Drug. *Electrochemical Society Transactions*, **16**, 3-23.
- Kavallaris, M, Annereau, JP, Barret, JM, 2008. Potential mechanisms of resistance to microtubule inhibitors. *Seminars in Oncology*, **35**, 22-27.
- Kosjek, T, Dolinšek, T, Gramec, D, Heath, E, Strojjan, P, Serša, G, Čemažar, M, 2013. Determination of vinblastine in tumour tissue with liquid chromatography–high resolution mass spectrometry. *Talanta*, **116**, 887-893.
- Laviron, E, 1979. The use of linear potential sweep voltammetry and of ac voltammetry for the study of the surface electrochemical reaction of strongly adsorbed systems and of redox modified electrodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, **100**, 263-270.
- Levent, A, Yardim, Y, Senturk, Z, 2009. Voltammetric behavior of nicotine at pencil graphite electrode and its enhancement determination in the presence of anionic surfactant. *Electrochimica Acta*, **55**, 190-195.

- 
- Levent, A, Onal, G, 2018. Application of a pencil graphite electrode for voltammetric simultaneous determination of ascorbic acid, norepinephrine, and uric acid in real samples. *Turkish Journal of Chemistry*, **42**, 460 – 471.
- Lin, Z, Qing-Hui, G.A.I, Yuan-Gang, Z.U, Lei, Y.A.N.G, Yu-Liang, M.A, Yang, L.I.U, 2014. Simultaneous quantitative determination of five alkaloids in *Catharanthus roseus* by HPLC-ESI-MS/MS. *Chinese journal of natural medicines*, **12**, 786–793.
- Ly, SY, Jung, YS, Kim, M.H, Han, I.K, Jung, W.W, Kim, H.S, 2004. Determination of caffeine using a simple graphite pencil electrode with square-wave anodic stripping voltammetry. *Microchimica Acta*, **146**, 207-213
- Özcan, A, Gürbüz, M, Özcan, A.A, 2018. Preparation of a disposable and low-cost electrochemical sensor for prothiam detection based on over-oxidized poly(thiophene) modified pencil graphite electrode. *Talanta*, **187**, 125-132.
- Özkan, SA, Kauffmann, JM, Zuman, P, 2015. *Electroanalysis in biomedical and pharmaceutical Sciences: voltammetry, amperometry, biosensors, Applications*. Springer.
- Owells, R.J, Donigian, D.W, Hartke, C.A, Hains, F.O, 1977. Correlation of biologic data with physico-chemical properties among the Vinca alkaloids and their congeners. *Biochemical pharmacology*, **26**, 1213-1219.
- Pasquier, E, Kavallaris, M, 2008. Microtubules: a dynamic target in cancer therapy. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology Life*, **60**, 165–170
- Rusling, JF, Scheer, BJ, Haque, IU, 1984. Voltammetric oxidation of vinblastine and related compounds. *Analytica Chimica Acta*, **158**, 23-32.
- Stokvis, E, Rosing, H, Beijnen, J.H. 2005. Liquid chromatography-mass spectrometry for the quantitative bioanalysis of anticancer drugs. *Mass spectrometry reviews*, **24**, 887–917.
- Temizer, A, 1986. Electroanalytical determination of vinca alkaloids used in cancer chemotherapy. *Talanta*, **33**, 791-794.
- Wang, J, Kawde, A.N, Sahlin, E, 2000. Renewable pencil electrodes for highly sensitive stripping potentiometric measurements of DNA and RNA. *Analyst*, **125**, 5-7.
- Wang, J, Kawde, A.N, 2001. Pencil-based renewable biosensor for label-free electrochemical detection of DNA hybridization. *Analytica Chimica Acta*, **431**, 219-224.