T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI LOKAL ANESTEZİK İLAÇLARIN METAL KOMPLEKSLERİNİN FOTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

MESUT MÜSLÜMOĞLU

YÜKSEK LİSANS

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALINI

Ocak -2015
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Mesut MÜSLÜMOĞLU

Tarih
05.01.2015

ÖZET

YÜKSEK LİSANS

BAZI LOKAL ANESTEZİK İLAÇLARIN METAL KOMPLEKSLERİNİN FOTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Mesut MÜSLÜMOĞLU

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Analitik Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doc. Dr. S.Beniz GÜNDÜZ

2014, 80 Sayfa

Jüri

Başkan: Prof.Dr. Erol PEHLİVAN
Üye: Doç.Dr. S.Beniz Gündüz
Üye: Doç.Dr. Semahat Küçükkolbaşı

Ester grubu lokal anesteziklerin metal bağlama özellikleri spektroflorimetrik metot kullanarak incelenmiştir. Fe(III) iyonunun tetrakain (TCN) floresansını söndürmesi çalışılmıştır. En uygun deney koşulları tayin edilmiştir. Uyarma ve emisyon dalga boyları pH 5.5 ve su ortamında Fe (III)-TCN kompleksi için sırasıyla λ_{ex}= 306nm ve λ_{em}= 373nm dir. Kalibrasyon grafikleri Stern-Volmer eşitliğinden elde edilen F_0/F-$[Fe^{+3}]$ grafiklerinden elde edilmiştir ve en uygun koşullar altında, doğrusallık Fe(III)-TCN kompleksi için 0.22-2.23 $\mu g.ml^{-1}$ aralığında aralığındadır. Fe(III)-TCN kompleksleri için gözlenebilme sınırları (LOD) sırasıyla 8.29 $ng.mL^{-1}$ ve 27.6 $ng.mL^{-1}$'dir. Her iki kompleksin stokiyometrisi, sürekli değişkenler yöntemi (JOB yöntemi) kullanılarak tayin edilmiştir ve Fe(III):TCN mol oranı 1:1 olarak hesaplanmıştır. Piyasadan alınan tetrakain (pantokain) ile Fe(III) arasındaki etkileşim, bu floresans söndürme yöntemi uygulanarak incelenmiştir ve tatmin edici sonuçlar elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler:Fe(III) kompleksi, floresans söndürme, ilaç analizi, tetrakain

ABSTRACT

MS THESIS

INVESTİGATİON OF THE PHOTOCHEMİCAL PROPERTİES OF METAL COMPLEXES OF LOCAL ANAESTHETİC DRUGS

Mesut MÜSLÜMOĞLU

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN CHEMISTRY
Advisor: Assoc.Prof.Dr. Beniz GÜNDÜZ

2014, 80 Pages

Jury

Prof.Dr. Erol PEHLİVAN
Assoc.Prof.Dr. S.Beniz Gündüz
Assoc.Prof.Dr. Semahat Küçükkolbaşı

The metal bonding properties of tetracaine (TCN) were investigated by using spectrofluorimetric method. Fluorescence quenching of TCN by Fe(III) was studied and optimal experimental conditions were determined. The excitation and emission wavelengths were λ_{ex}= 306 nm and λ_{em}= 373 nm for the Fe(III)-TCN complex in water medium. The calibration curve was obtained from Stern-Volmer equation plotting to F_0/F-[Fe^{3+}] graphs and the linearity was found within the range of 0.22-2.23 $\mu g.ml^{-1}$ for the Fe(III)-TCN complex under optimal conditions. The detection limit (LOD) and the quantitation limits (LOQ) of the proposed method for this complex were 8.29 $ng.ml^{-1}$ and 27.60 $ng.ml^{-1}$ respectively. The stochiometry of this complex was also determined by using the continuous variation method and the molar ratio of Fe(III)-TCN was calculated as 1:1. The interaction between the tetracaine in ear drop form and standard Fe(III) was investigated by applying this quenching method and was obtained satisfactory results.

Keywords: Fe(III) complex, fluorescence quenching, pharmaceutical analysis, tetracaine.

ÖNSÖZ

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyelerinden Doç. Dr. S. Beniz GÜNDÜZ danışmanlığında tamamlanarak Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü' ne Yüksek Lisans Tezi olarak sunulmuştur.

Yüksek lisans eğitimimin ve çalışmamın her aşamasında beni destekleyen, hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerini büyük bir hoşgörüyle bana aktaran kendisiyle çalışmaktan mutluluk duyduğum dünyanın en iyi ve kibar insanlarından değerli hocam Doç. Dr. Beniz GÜNDÜZ'e, örnek insan, ideal öğretmen, kimyacı böyle olur dedirten değerli hocam Prof. Dr. Hüseyin KARA ya, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan sürekli beni destekleyen sevgili hocam Doç. Dr. Semahat KÜÇÜKKOLBAŞI' na, sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tez çalışmalarım boyunca bana laboratuar imkanı sağlayan, hoşgörüyle desteklerini hiç esirgemeyen Kimya Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Halil İsmet UÇAN'a, Analitik Kimya Ana Bilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Emine ÖZCAN'a ve Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü' nde görev yapan bütün değerli hocalarıma çok teşekkür ederim. Laboratuar çalışmalarım boyunca bilgi ve deneyiminlerini benden esirgemeyen Havva Nur Tatlı, Zehra Erdoğan,Sevil ÇAN ve çalışma arkaşım sevgili kardeşim Ahmet DÖNERTAŞ'a teşekkür etmeyi borç bilirim.

Beni bu yaşta akademik kariyer yapmak için cesaretlendiren, evlendiğimde yeniden doğmamı sağlayan biricik eşime teşekkür ederim.

Mesut MÜSLÜMOĞLU

KONYA-2015

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iv**

ABSTRACT ..... **v**

ÖNSÖZ ..... **vi**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **ix**

ŞEKİLLER ..... **x**

ÇİZELGELER ..... **xi**

1. GİRİŞ **1**

2.TEORİK KISIM **3**

2.1. Moleküler Floresans ve Fosforesans 3
2.1.1. Floresans ve fosforesans spektroskopisi yöntemleri 4
2.1.2. Lüminesans spektrofotometreleri 6
2.1.3. Spektroflorometrelerin ayarlanması 9
2.1.4. Fotolüminesans kuantum verimi ve floresansı etkileyen faktörler 9
2.1.5. Floresans analizin avantaj ve dezavantajları 14
2.1.6. Fosforesans 15
2.1.7. Fosforesans ölçme 15
2.1.8. Florimetri ve uygulama alanları 15
2.1.9. Florimetrik uygulamalarda karışımların tayinleri 19
2.1.10. Florimetrinin tıptaki uygulaması ..... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**
2.2.LOKAL ANESTEZİKLER 23
2.2.1.Etki Mekanizması 26
2.2.3.Yan Etkiler 27
2.2.4. Lokal Anestezik Maddeler 28
2.2.5.TETRAKAİN 30
2.2.6.TETRAKAİN HİDROKLORÜR 30
2.2.7. PROKAİN 31
2.2.8. PROKAİN HİDROKLORÜR 31
2.3.Demir Minerali 32
2.3.1.Tanımı ve besinsel kaynakları 32
2.3.3. Demirin Vücuttaki Dağılımı 32
2.3.4. Demir Emilimi 34
2.3.5. Demir Eksikliğinin Nedenleri 34
2.3.6. Demirin Toksik Etkisi 36

3. KAYNAK ARAŞTIRMASI **37**

4. MATERYAL VE YÖNTEM **44**

4.1. Kullanılan Cihazlar 45
4.1.1. Spektroflorimetre 45
4.1.2. Spektrofotometre 46
4.1.3. pH 46
4.1.4. Saf su cihazı, su banyosu ve ısıtıcı: 46
4.2. Kimyasal Maddeler 46
4.2.1. LOKAL ANESTEZİKLER 46
4.2.2. Çözücüler 47
4.2.3. Amonyum asetat çözeltisi 47
4.2.4. Hidroklorik asit ve sodyum hidroksit çözeltisi 47
4.2.5. Stok Demir Çözeltisi 47
4.2.6. Bozucu iyonların çözeltileri 47
4.2.7. Tetrakain çözeltileri 48
4.3. Deneysel İşlem 48
4.4. En uygun Deney Koşullarının Belirlenmesi 49
4.4.1. Uyarma ve emisyon dalga boylarının belirlenmesi 49
4.4.2. TCN nin uygun derişimlerinin belirlenmesi 49
4.4.3. Uygun pH'nın belirlenmesi 50
4.4.4.Kompleks oluşumuna sıcaklığın etkisinin belirlenmesi 50
4.4.5. Kompleks oluşum sürenin etkisi 50
4.4.6. Kalibrasyon grafiklerinin çizilmesi 50
4.4.7. Kompleks stokiyometrisinin belirlenmesi 51
4.4.8. Demir tayinine yabancı iyonların etkisi 51

5. DENEY SONUÇLARI VE TARTIŞMA 52

5.1. Uygun Uyarma ve Emisyon Dalga Boylarının Belirlenmesi 52
5.2. TCN nin Uygun Derişimlerinin Belirlenmesi 52
5.3. Uygun pH'ın Belirlenmesi 53
5.4 . Kompleks Oluşumuna Sıcaklığın Etkisinin Belirlenmesi 54
5.5. Kompleks Oluşum Süresinin İncelenmesi 55
5.6. Kompleks Stokiyometrisinin Belirlenmesi 56
5.7. TCN floresansının Fe(III) kompleksleriyle sönme mekanizması 57
5.8. Bozucu Etki Yapan Türlerin Belirlenmesi 60
5.9. Demirin Florimetrik Tayini İçin Belirlenen En Uygun Koşullar 60
5.10. YöntemValidasyonu 61
5.10.1. Doğrusallık 61
5.10.2. Gözlenebilme sınırı (LOD) ve alt tayin sınırı (LOQ) 61
5.10.3. Doğruluk ve kesinlik 62
5.10.4. Geri kazanım 62
5.11. Geliştirilen Florimetrik Söndürme Yönteminin Eczaneden Alınan İlaca Uygulanması 63

6. SONUÇ VE ÖNERİLER 64

KAYNAKLAR 66

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C : Santigrat derece

DNA: Deoksiribonükleik asit

ELGA: Ester grubu lokal anestezik

Fe: Demir

F.I: Floresans şiddeti

g: Gram

h: Planck sabiti

Hb: Hemoglobin

I: Soğurulup geçen fotonun şiddeti

I_0: Gelen fotonun şiddeti

kg: Kilogram

l: Litre

LEV: Levofloksasin

M : Molarite

mg: Miligram

nm: Nanometre

s: Saniye

µg: Mikrogram

TCN:Tetrakain

ν: Frekans

λ: Dalgaboyu

ŞEKİLLER

Şekil 2.1.Bir moleküldeki ışımalı ve ışımasız geçişler 6
Şekil 2.2 Fotolüminesans ölçümleri için kullanılan cihaz 7
Şekil 2.3. Fotolüminesans ölçümleri için kullanılan cihaz 7
Şekil 2.4..Antrasenin uyarma, lüminesans ve senkron lüminesans spektrumları 9
Şekil 5.1 Dört farklı demir derişiminde TCN -Fe kompleksinin emisyon spektrumları (pH=5.5, λ_{uy}= 306 nm, λ_{em}=373 nm, [TCN]=10^{-4} M, [Fe^{3+}]= 0, 0.22, 0.45, 0.89, 1.34, 2.23 and 4.48 μg.ml^{-1}) 52
Şekil 5.2. TCN -Fe(III) kompleksinin floresans şiddetine pH'nın etkisi. Deney koşulları: [TCN] = 10^{-4} M, [Fe^{3+}] = 10^{-4} M, 25˚C, su ortamı, λ_{uy} = 306 nm, λ_{em} = 373nm. 54
Şekil 5.3. TCN -Fe(III) kompleksinin floresans şiddetine sıcaklığın etkisi. Deney koşulları: [TCN] = 10^{-4} M, [Fe^{3+}] = 10^{-4} M, pH = 5.5, su ortamı, λ_{uy} = 306 nm, λ_{em} = 373 nm. 55
Şekil 5.4. TCN -Fe(III) kompleksinin floresans şiddetine kompleks oluşum süresinin etkisi. Deney koşulları: [TCN] = 10^{-4} M, [Fe^{3+}] = 10^{-4} M, pH = 5.5, su ortamı, λ_{uy} = 306 nm, λ_{em} = 373nm. 56
Şekil 5.5. TCN ve Fe(III)'ün aynı derişimlerdeki TCN-Fe(III) kompleksinin stokiyometrisinin job yöntemiyle belirlenmesi (pH=5.5, λ_{abs} = 295 nm, [Fe^{3+}] = 10^{-4} M, [TCN]=1×10^{-4} M) 57
Şekil 5.6. TCN – Fe kompleksi nin, 0.22-2.23 μg.ml^{-1} demir derişimi aralığında Stern-Volmer kalibrasyon grafiği (pH=5.5, λ_{uy}=306 nm ve λ_{em}=373 nm, [TCN]=1×10^{-4} M). 59
Şekil 5.7 TCN – Fe kompleksinin, 0.22-4.48 μg/mL demir derişimi aralığında floresans spektrumları (pH=5.5, λuy=306 nm ve λem=373 nm, [TCN]=1×10^{-4}M) 59

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1. Benzenin floresans özelliğine sübstitüsyonların etkisi (etanol içinde) 11
Çizelge2.2 Emisyon dalga boyu ve ışın şiddetine birkaç sübstitüentlerin etkilerinin listesi 12
Çizelge2.3 Florimetrinin bazı uygulama alanları 17
Çizelge 5.1 Demirin TCN ile florimetrik tayininde çeşitli iyonların etkisi ([TCN]=1×10^{-4} M, [Fe^{+3}]= 10^{-4} M, pH=5.5) 60
Çizelge 5.2 TCN demirin tayini için belirlenen en uygun koşullar 61
Çizelge 5.3 Geliştirilen floresans söndürme yönteminin istatistik parametreleri 62
Çizelge 5.4 Florimetrik söndürme yöntemiyle TCN ve Fe(III) iyonu arasındaki etkileşimlerin tayini için geri kazanım çalışmaları. 63
Çizelge 5.5 Fe(III) iyonunun florimetrik söndürme yönteminin Otimisin kulak damlasına (220 mg tetrakain HCl(pantokain)/10 ml ilaç içinde) uygulanması 63

1. GİRİŞ

Lokal anestezikler, sinir lifleri ile uygun konsantrasyonlarda temasa geldiklerinde bu liflerdeki impuls iletimini geri dönüşümlü olarak bloke eden ilaçlardır. Sadece sinir liflerinde (akson veya dendritlerde) değil, nöron somasında ve genel olarak bütün uyarılabilir hücrelerde (çizgili kas, myokard, düz kas v.b.), onların depolarize edilebilme özelliğini ve depolarizasyon dalgasının yayılmasını geri dönüşümlü bir şekilde kısmen veya tamamen bozabilirler. Lokal anestezikler sinir membranını stabilize ederek depolarizasyonuna engel olurlar. Elektrik uyarılma eşiği yükselir, aksiyon potansiyeli oluşumu yavaşlar, bunun sonucunda iletim yavaşlar ve nihayet tamamen durur. Ancak lokal anestezikler sinir hücresi veya lifinin istirahat ve eşik potansiyelini etkilemezler.

Lokal anestezikler genellikle benzen halkasından oluşan bir lipofilik grupla, bu gruba ester ya da amid bağı içeren bir ara zincirle bağlanmış olan genellikle de bir tersiyer amin olan hidrofilik bir grubun bağlanmasından oluşurlar. Ara zincirin tipine göre de lokal anestezikler ester ve amid tipte olmak üzere ikiye ayrılırlar. İki grup arasındaki temel farklılıklar kimyasal stabilite, metabolizma ve alerjik potansiyellerindedir. Bütün lokal anestezikler asitle birleştiğinde suda tuz oluşturabilen zayıf bazlardır. Solüsyon halinde iken (+) yüklü katyon ve serbest baz şeklinde dissosiye olurlar. Serbest baz (noniyonize) formu lipofilik olup solüsyonun penetrasyonunu sağlar. Katyonik yani iyonize formu ise hidrofilik kısmı olup farmakolojik olarak aktif kısımdır ve sodyum kanalındaki reseptörlere bağlanırlar.

Demir, oksijenin vücut içinde dolaşımı için vazgeçilmez bir mineraldir. Yetişkinlerdeki demir miktarı yaklaşık 3–5 gr arasında değişir. Demir, çok az bir kısmı kan plazmasında, büyük bir kısmı ise (%70) “hem” molekülü şeklinde, hemoglobin olarak (yaklaşık 54 mg kadar) bulunan insan ve pek çok canlı türü için esansiyel bir elementtir. Kanın en önemli işlevsel bölümünü oluşturur. Organizmada esas olarak enerji metabolizmasında yeri olan, dokulara oksijen taşınması, elektron transferi, DNA sentezi ve pek çok yaşamsal önemi olan enzimin yapı ve işlevinde görev alan temel bir elementtir. Kolaylıkla ferröz (iki değerlikli demir) ve ferrik (üç değerlikli demir) şeklinde değişebilen redoks kimyası ile insan varlığı demire bağımlıdır ve demir metabolizmasındaki değişiklikler insan sağlığını önemli şekilde etkilemektedir (Unal, Yetgin, 2003 ; Kayaalp ,1998).

İnsan vucudu için oldukça önemli olan bu mineral ile pek çok cerrahi müdahale için sıklıkla kullanılan lokal anesteziklerin kompleks oluşturma ve lokal anesteziklerin (lidokain, prokain, tetrakain, bupivakain, dibukain, prilokain ve mepivakain gibi) etkinliklerinin azalmasına sebep olma olasılığının incelenmesi büyük önem taşımaktadır.

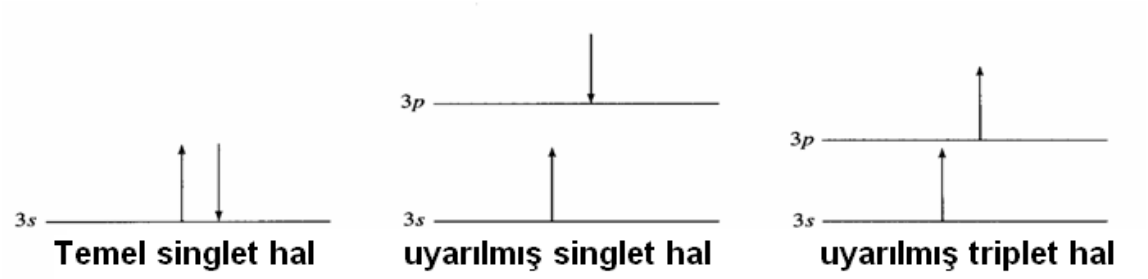
Florimetri yöntemi, derişimleri 10^{-9}-10^{-6} M olan maddeleri çok büyük bir kesinlik, doğruluk ve seçicilikle tayin etmesi özelliğinden dolayı, ultraviyole spektroskopisi ve atomik absorbsiyon spektroskopisi gibi diğer bazı enstrümental yöntemlere göre bazı üstün özelliklere sahip olduğu görülmektedir. Floresans spektroskopisi, gelişmiş floresans cihazına dayalı teknikler sayesinde doğru, hassas, hızlı, güvenilir sonuçlara ve yorumlara ulasılmasını sağlayan optik bir yöntemdir.

Bu çalışmada pek çok metabolik reaksiyonda önemli rol oynayan ve vücutta en çok bulunan makro element demir ve mangan, çok daha az miktarlarda bulunan mikro elementler çinko, bakır ve kobalt gibi temel minerallerle lokal anestezik ilaç etken maddelerinin kompleks oluşturabilme özelliklerinin spektroflorimetrik ve spektrofotometrik yöntemlerle incelenmesi amaçlanmıştır.

2.TEORİK KISIM

2.1. Moleküler Floresans ve Fosforesans

Bir atom veya molekülün en kararlı elektron konfigürasyonu elektronların en düşük enerjili orbitallere Hund kuralına göre yerleşimi ile ortaya çıkar ve bu durum atomun veya molekülün temel enerji düzeyini veya temel halini oluşturur. Elektronların daha üst enerji düzeylerine yerleşmesi ile atom veya molekül uyarılmış hale gelir.



Floresans ve fosforesansın her ikisi de, ışın enerjisini absorblayarak uyarılmış hale gelen bir molekül, iyon veya atom tarafından, absorplanan bu ışın enerjisinin ışın yayılması şeklinde geri verilmesi anlamına gelen *fotolüminesans*'ın çeşitleridir. Uyarılmış bir atom veya molekül kararsızdır; fazla enerjisini atarak temel hale dönmek ister. Atom veya molekül temel enerji düzeyine dönerken fazla enerjisinin tümünü veya bir kısmını ışık şeklinde atabilir ve böylece sistemden bir ışık yayılması (ışık emisyonu) gözlenir. Bu ışık yayılması olayına genel olarak lüminesans denir (Gündüz, 2002).

Uyarılmış bir singlet sistemden temel haldeki singlet bir sisteme geçiş sırasında yayılan ışığa *floresans* denir. Uyarılmış bir triplet sistemden temel haldeki singlet bir sisteme geçiş sırasında yayılan ışığa *fosforesans* denir. Uyarılma (eksitasyon) ortadan kalkınca floresans olayı 10^{-10}-10^{-6}s sürer; fosforesans ise 10^{-6}-10^{2}s sürer.

- Uyarılma enerjisi bir kimyasal tepkimeden sağlanıyorsa, bunun sonucu gözlenen lüminesans olayına *kemilüminesans* adı verilir.

- Uyarılma enerjisi elektrot tepkimesinden sağlanıyorsa, bunun sonucu gözlenen lüminesans olayına *elektrolüminesans* veya *elektrokemilüminesans* adı verilir.
- Biyolojik sistemlerde gözlenen lüminesansa *biyolüminesans* denir.
- Uyarılma olayı atom veya molekülün fotonları absorplaması sonucu gerçekleşiyorsa gözlenen ışık emisyonuna *fotolüminesans* denir.

Maddenin floresans özelliği üzerine kurulmuş olan tayin metoduna *florimetri* veya *floresans spektroskopisi* denir. Bazı yönleriyle absorpsiyon spektroskopisine benzemekle beraber ondan daha üstün özelliktedir. Florimetrik metotların selektiflikleri de yüksektir.

2.1.1. Floresans ve fosforesans spektroskopisi yöntemleri

1.Fotolüminesans emisyonu: Uyarılmış bir singlet sistemden temel haldeki singlet bir sisteme geçiş sırasında yayılan ışığa floresans ($h\nu_2$) denir.

$$^1S_0 + h\nu_1 \longrightarrow {}^1S^*_{II} \text{ (uyarılma)}$$

$$^1S^*_1 \longrightarrow {}^1S_0 + h\nu_2 \text{ (floresans)}$$

Uyarılmış bir triplet sistemden temel haldeki singlet bir sisteme geçiş sırasında yayılan ışığa ise fosforesans ($h\nu_3$) adı verilir.

$$^1S_0 + h\nu_1 \longrightarrow {}^1S^*_{II} \text{ (uyarılma)}$$

$$^1S^*_1 \longrightarrow {}^3T^* \text{ (sistemler arası geçiş)}$$

$$^3T^* \longrightarrow {}^1S_0 + h\nu_3 \text{ (fosforesans)}$$

2. *İç dönüşüm*: Işın absorpsiyonu sonucu oluşan uyarılmış bir molekül fazla enerjisini tamamen veya kısmen ışımasız yoldan da atabilir. Bir molekülün elektronik enerji düzeyleri, titreşim enerji düzeylerinin üst üste çakışmasına olanak sağlayacak kadar yakın ise, şekilde gösterilen ve fazla enerjinin ısı şeklinde atıldığı iç dönüşüm olayı gerçekleşir.

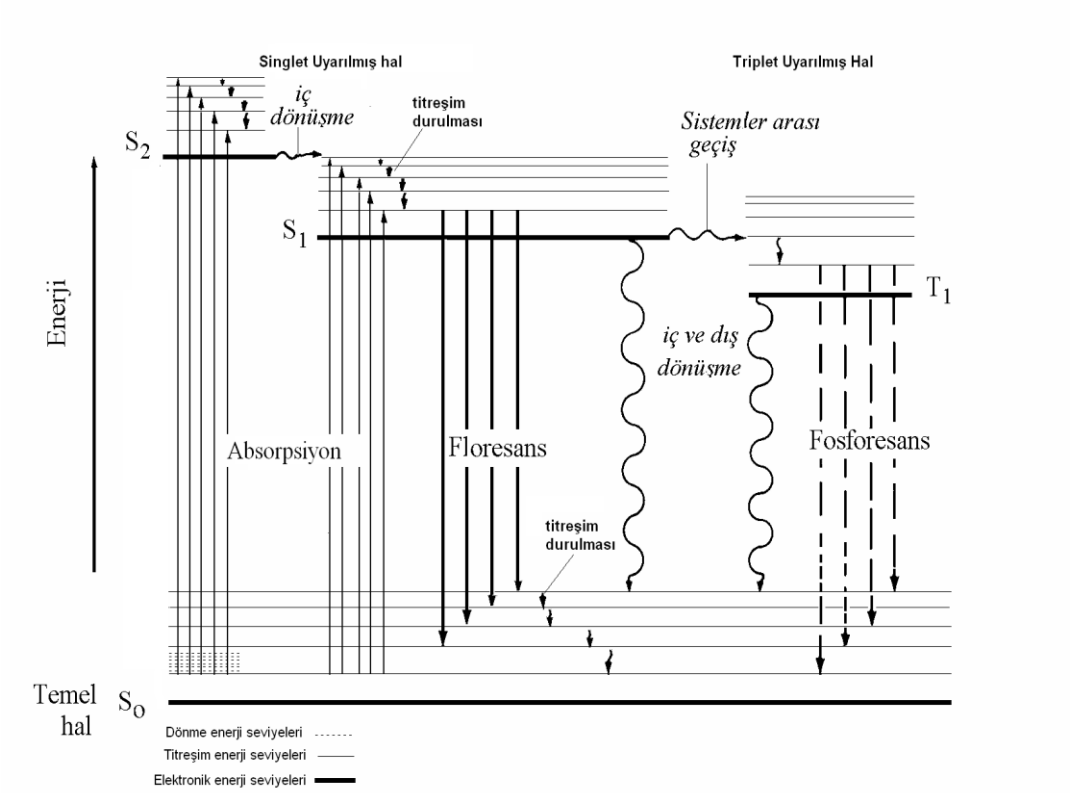
$$^1S^*_{II} \longrightarrow {}^1S^*_1 + \text{ısı}$$

3. *Sistemler arası geçiş*: Uyarılmış singlet türü bir molekülden yine ışımasız yoldan daha düşük enerjili triplet türü uyarılmış bir molekül oluşabilir. Olasılığı oldukça az olan ve bu nedenle yavaş bir biçimde gerçekleşen bu olayda üst orbitaldeki elektronun spini terse çevrilir. Bu olaya sistemlerarası geçiş adı verilir.

$$^1S^* \longrightarrow {}^3T^*$$

4. *Çarpışmalı söndürme*: Absorpsiyon yapan madde çözelti halindeyse, uyarılmış madde çarpışmalar sonucu enerjisini titreşim enerjisi halinde çözücünün moleküllerine aktarabilir. Böylece çözücü moleküllerin kinetik enerjileri artar ve ortam az da olsa ısınır. Işın absorpsiyonu için 10^{-15} s gibi çok kısa bir süre gerekir ve uyarılmış singlet halde bulunan bir molekülün ömrü 10^{-10}–10^{-6} s, uyarılmış triplet halde bulunan bir molekülün ömrü ise 10^{-6}–10^{2} s'dir. İç dönüşüm ve sistemlerarası geçiş olaylarının süreleri ise sırasıyla yaklaşık 10^{-12} s ve 10^{-8} s'dir. Floresans olayı sistemi uyaran ışıma ortadan kalkınca 10^{-10}–10^{-6} s kadar daha sürerken, böyle bir durumda fosforesans 10^{6}–10^{2} s kadar daha devam eder. Temel hale dönme süresi maddenin molar absorplama katsayısının artmasıyla azalır.

Oda sıcaklığında S_1 düzeyine uyarılmış bir türün, fazla enerjisini kaybederek S_1 düzeyinden S_0 düzeyine dört farklı şekilde dönmesi söz konusudur (Gündüz, 1995). Şekilde bunlar kısaca açıklanmıştır.



Şekil 2.1.Bir moleküldeki ışımalı ve ışımasız geçişler

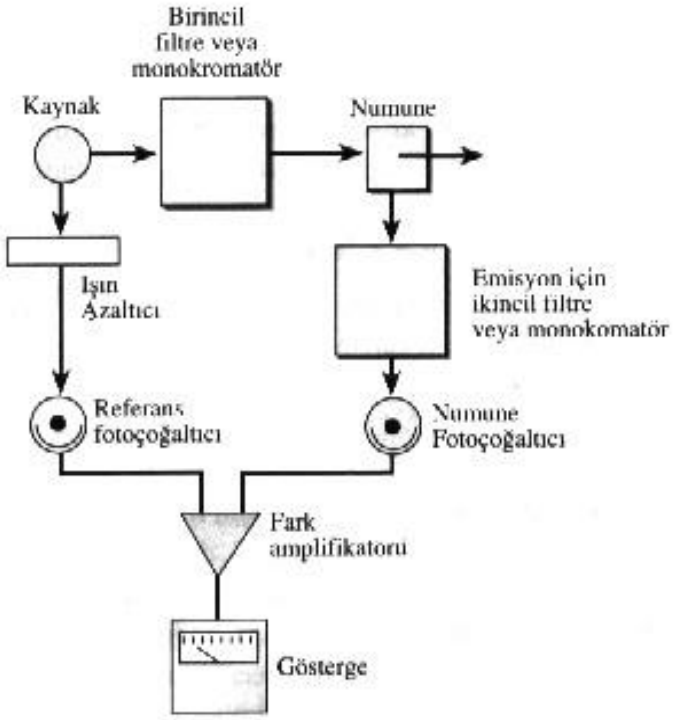
2.1.2. Lüminesans spektrofotometreleri

Fotolüminesans ölçümlerinde kullanılan alet Şekil 2.2 de şematik olarak görülmektedir (Skoog, 1996).

Ultraviyole (UV) ve görünür bölgede ışın yayan bir ışık kaynağından gelen ışın bir monokromatörden (uyarma monokromatörü) geçtikten sonra örneğe gönderilir. Örnekten kaynaklanan lüminesans genellikle uyaran ışığa göre 90°'lik bir açıdan toplanarak dedektöre ulaşır. Böylece numuneyi uyaran ışının dedektöre ulaşması önlenir. Lüminesans spektrumunun elde edilmesi için ikinci bir monokromatörün (emisyon monokromatörü) örnek ile dedektör arasına yerleştirilmesi gerekir. Daha basit aletlerle monokromatörler yerine uygun filtreler kullanılır. Filtreli aletlere, kullanıldığı amaca göre *florimetre veya fosforimetre*, monokromatörlü aletlere ise *spektroflorimetre veya spektrofosforimetre* adı verilir. Lüminesans ölçümü yapan aletlerin tek kanallısı olduğu gibi, çift kanallı türleri de vardır.



Şekil 2. 2. Fotolüminesans ölçümleri için kullanılan cihaz



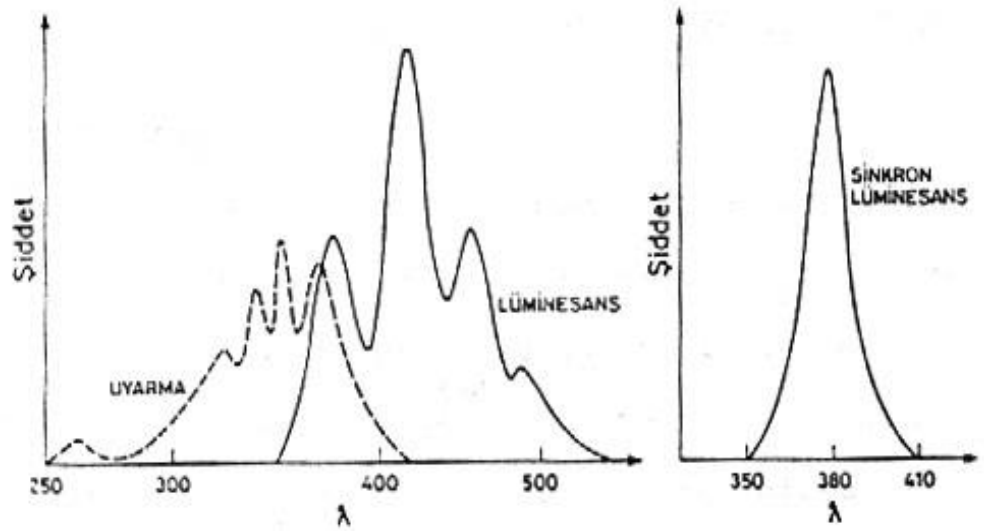
Şekil 2. 3. Fotolüminesans ölçümleri için kullanılan cihaz

Civa ark lambası hat şeklinde ışık yaydığından çok filtreli aletlerde kullanılır. Ölçümlerin UV bölgesi yerine görünür bölgede yapıldığı durumlarda, tungsten lambası

veya çeşitli lazerler de ışık kaynağı olarak kullanılabilir. Fotolüminesans ölçümlerinde kullanılan örnek kapları absorpsiyon ölçümleri için kullanılanların aynısıdır. 320 nm'den daha kısa dalgaboylu emisyon ölçümlerinde pireks kaplar yerine kuartz veya silika kaplar kullanılmalıdır. Fosforesans ölçümleri genellikle sıvı azot sıcaklığında (77K) yapıldığından örnek kabı azot içeren bir Dewar kabına yerleştirilir. Kullanılan Dewar kabının uyaran ve yayılan ışını geçiren pencereleri olması gerekir. Fotolüminesans ölçümlerinde kullanılan dedektör, fotoçoğaltıcı tür dedektördür.

Lüminesansın ölçüldüğü dalgaboyu sabit tutulup, uyarma monokromatöründeki dalgaboyu ayarı değiştirildiğinde, bu lüminesansa yol açan uyarıcı ışının spektrumu elde edilir. Bu spektruma, uyarma spektrumu adı verilir. Uyarma spektrumu, spektroflorimetre ile elde edilmesine yani yayılan ışının ölçümüne dayanmasına rağmen, molekülün absorpsiyon spektrumu ile aynı dalgaboyu aralığında elde edilir ve bir bakıma molekülün düzeltilmemiş absorpsiyon spektrumu gibidir

Uyarma dalgaboyu sabit tutulup emisyon monokromatöründeki dalgaboyu ayarı değiştirilirse, örnek için lüminesans spektrumu elde edilir. Lüminesans spektrumu, uyarma spektrumundan daha uzun dalgaboyu bölgesindedir. Hem uyarma hem de emisyon monokromatöründeki dalgaboyu ayarları aralarında belli bir dalga boyu farkı, $\Delta\lambda$, uygulanarak ve aynı hızda birlikte değiştirilerek lüminesans ölçümü yapılabilir. Bu tür spektrum elde etme yöntemine *senkron spektroflorimetri* yöntemi denir ve bu yöntem özellikle birden fazla floresant madde içeren karışımların kantitatif analizinde kullanılır. Uyarma, lüminesans ve senkron lüminesans spektrumlara ait örnekler Şekil2.4. 'de görülmektedir.



Şekil 2. 4. Antrasenin uyarma, lüminesans ve senkron lüminesans spektrumları

Fotolüminesans ölçümlerinden önce, uyarma ve emisyon spektrumu ve lüminesans kuantum verimi bilinen bir madde ile (örneğin kinin sülfat çözeltisi) ölçüm yapılarak, aletin kalibre edilmesi gerekir.

2.1.3. Spektroflorometrelerin ayarlanması

Bir spektrofotometre kullanmadan önce standart maddelerle ayarlanmalıdır. Bu amaçla çok çeşitli maddeler kullanılabilir. Bunlara florofor maddeler de denir. Florofor maddelerden en çok kullanılan kinin sülfattır. Kinin sülfat çözeltisi (1.10^{-5} M) dalga boyu 350 nm olan bir ışınla uyarıldığı zaman dalga boyu 450 nm olan şiddetli bir ışın demeti verir. Salisilik asit de bu amaçla kullanılabilir. Salisilik asit çözeltisi 308 nm dalga boyunda bir ışınla uyarılırsa, o da 450 nm dalga boyunda, bir floresan ışın demeti verir. Bu amaçla çok kullanılan bir başka ayar maddesi de asetil salisilik asittir (ASA). Bu madde 278 nm dalga boyunda bir ışınla uyarıldığında 335 nm dalga boyunda şiddetli bir floresans ışını verir (Gündüz, 1995).

2.1.4. Fotolüminesans kuantum verimi ve floresansı etkileyen faktörler

Yayılan foton sayısının, absorblanan foton sayısına oranı o molekülün *fotolüminesans kuantum verimi*, ϕ, olarak tanımlanır. Uyarılmış singlet molekülün enerjisi ile temel haldeki molekülün enerjisi birbirinden ne kadar farklı ise, iç dönüşüm olayının olasılığı o kadar azalır ve dolayısıyla floresans verimi artar. Benzer biçimde bir

molekülün uyarılmış triplet hallerinin enerjileri ne kadar farklı ise sistemlerarası geçiş olasılığı o kadar azalır ve floresans verimi artar. Uyarılmış singlet ve uyarılmış triplet hallerinin enerjileri birbirlerine yaklaşırsa, sistemlerarası geçiş olasılığı o kadar azalır ve fosforesans verimi artar. Hem maddenin çevresi, hem de yapısı floresans özelliğini (floresans verimi, emisyon dalga boyu ve ışın şiddetini) büyük ölçüde etkiler. Bunlardan başlıcaları aşağıda açıklanmıştır (Skoog, 1998 ve Gündüz, 2002).

1. Maddenin yapısının etkisi

2. Yapısal rijiditenin etkisi

3. Sıcaklık ve çözelti etkisi

4. pH etkisi

5. Çözünmüş oksijen etkisi

6. Gelen ışının dalga boyunun ve şiddetinin etkisi

7. Konsantrasyon etkisi

1. Maddenin yapısının etkisi: Moleküllerde düzlemsellik, dönmenin engellenmiş olması, konjugasyon ve halka sayısının artması genellikle floresans verimini arttırır. Halkalı bir organik molekülde halkanın elektron yoğunluğunu arttıran sübstitüentler de molekülün floresans veriminin artmasını sağlar.

En şiddetli floresans ışınlarını yapısında düşük enerjili $\pi \longrightarrow \pi^*$ geçişine imkan veren aromatik halka ihtiva eden bileşikler verir. Ayrıca yapısında çok sayıda konjuge çifte bağ ihtiva eden alifatik ve alisiklik aromatik halkalar da floresan özellik gösterirler. Ancak, bunların sayısı aromatik bileşiklerin sayısına göre çok azdır. Birçok sübstitüe olmamış aromatik bileşik floresan özellik gösterir. Bunların kuantum verimleri halka sayısıyla ve bu halkaların kondanse olma dereceleriyle orantılı olarak artar. Ancak, aromatik olmalarına rağmen, floresans özelliği göstermeyen bileşikler de vardır. Bunlara piridin, furan, pirol gibi maddeler örnek verilebilir.

Bunun nedeni; böyle bileşiklerde en düşük enerjili geçişin $n \longrightarrow \pi^*$ olmasıdır. Bu tip bir geçiş sonucu uyarılan maddeler kolaylıkla triplet hale geçerler ve sadece fosforesans özellik gösterirler. Buna karşılık bunlara bir benzen halkası kondense olursa, molar absorptiviteleri artar. Bilindiği üzere molar absorptivitesi artan bir

maddenin uyarılmış ömrü çok kısalır. Ömrü böyle kısa olan maddeler de şiddetli floresans ışını yayarlar. Buna göre yukarıda verilen halkalardan meydana gelen kinolini indol gibi maddeler oldukça şiddetli floresans özelliği gösterirler (Gündüz, 1995).

Floresans verimine sübstitüentlerin etkisi, benzen halkası ve benzen halkasına bağlanan bazı sübstitüentler üzerinde incelenecek olursa, benzen halkasının sübstitüsyona uğradığı zaman hem absorpsiyon, hem de floresans bandında bir değişmenin olduğu ve floresans şiddetinin de çoğu kez değiştiği görülür. Buna bazı örnekler aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Çizelge 2. 1. Benzenin floresans özelliğine sübstitüsyonların etkisi (etanol içinde)

Madde	Floresans dalga	Bağıl floresans
Benzen	270-310	10
Toluen	270-320	17
Propilbenzen	270-320	17
Florobenzen	270-320	10
Klorobenzen	275-345	7
Bromobenzen	290-380	5
İyodobenzen	----------	0
Fenol	285-365	18
Fenolat	310-400	10
Anisol	285-345	20
Anilin	310-405	20
Anilinyum iyonu	----------	0
Benzoik asit	310-390	3
Benzonitril	280-360	20
Nitrobenzen	----------	0

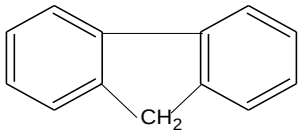
Lüminesant bir bileşikteki, bileşiğin pi (π) elektronlarını delokalize edebilen sübstitüentler genellikle, uyarılmış singlet hal ve temel hal arasında oluşan muhtemel bir ışın geçişini arttırır. Bu sonuç floresansı da arttırır. Genellikle orto- ve para-pozisyondaki sübstitüentler halkaya elektron verirler ve muhtemelen oluşacak floresansı arttırırlar. Meta-pozisyondaki sübstitüentler halkadan elektron çekerler ve muhtemel floresansı azaltırlar. Aromatik bileşiklerin floresansına bilinen bazı sübstitüentlerin etkileri aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Çizelge 2.2. Emisyon dalga boyu ve ışın şiddetine birkaç sübstitüentlerin etkilerinin listesi

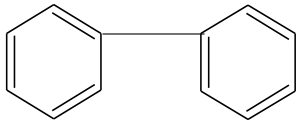
Sübstitüent	**Dalga boyuna**	**Işın şiddetine**
Alkil	Etkilemez	Önemsiz ölçüde
COOH, CHO, COOR,	Artar	Azalır
OH, OMe, OEt	Artar	Artar
CN	Etkilemez	Artar
NH_2,NHR,NR_2	Artar	Artar
NO_2, NO	Büyük ölçüde	Büyük ölçüde
SH	Artar	Azalır
SO_3H	Etkilemez	Etkilemez
F, Cl, Br, I	Artar	Azalır

Molekülün bünyesinde veya molekülün çözündüğü çözücüde bulunan ağır bir atom (I veya Br gibi) molekülün floresans verimini azaltır, triplet oluşumu verimini arttırır ve bu nedenle genellikle fosforesans verimi artar.

***2. Yapısal rijiditenin etkisi*:** Bir molekülün yapısının rijid (sabit, hareketsiz) olması onun floresans özelliğini arttırır. Örneğin, florenin floresansı bifenilden beş defa daha şiddetlidir.



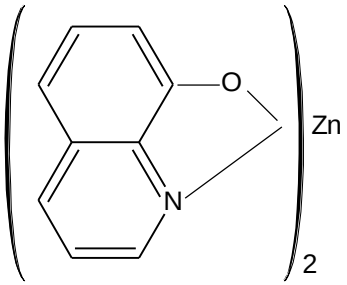
Floren



Bifenil

Floresans özelliği gösteren boya, bir yüzeyde adsorbe edilince emisyon şiddeti daha da artar. Bunun nedeni boyanın tutulduğu yüzeyde rijiditesinin artmasıdır.

Şelat kompleksi veren bir ayıraç bir katyonla kompleks verdiği zaman, rijiditesi ve dolayısıyla floresans emisyonu artar. Örneğin çinko katyonunun 8-hidroksikinolinle verdiği kompleksin floresansı şiddetlidir.



Rijid olmayan moleküllerde iç dönüşme daha kolay olduğundan, ışımasız enerji kaybı olasılığı çok daha fazladır. Bu hal, bilindiği gibi, floresans şiddetini azaltır. Bundan başka rijid olmayan bir molekülün bir tarafı, öteki tarafına göre daha zayıf enerjiyle uyarılmış olabilir. Bu da floresans emisyonunu azaltan bir etkendir.

***3. Sıcaklık ve çözücü etkisi*:** Uyarılmış molekül, temel haline oranla daha polar ise, çözücünün polaritesinin artması ile uyarılmış enerji düzeyi daha kararlı hale geleceği için, uyarılmış ve temel enerji düzeyleri arasındaki enerji farkı azalır ve floresans dalga boyu artar. Bu durum, uyarılma ve emisyon olaylarının π ve π^* orbitalleri arasında gerçekleştiğinde ortaya çıkar. $n \rightarrow \pi^*$ türü bir uyarılma için ise, çözücünün polaritesinin artması ile n orbitalinin daha kararlı hale gelmesi, yani enerji-sinin azalması söz konusudur. Böylece, bu tür moleküllerde çözücü polaritesi arttıkça uyarılmış ve temel enerji düzeyleri arasındaki enerji farkı artar ve floresans dalga boyu azalır.

Sıcaklığın artması ile uyarılmış moleküllerin çarpışma olasılığı da artacağından iç dönüşüm olayının verimi artar ve floresans verimi azalır. Fosforesans verimi, sıcaklık azalması ile önemli ölçüde artar.

4. pH etkisi: Proton aktarımı reaksiyonları çok hızlı reaksiyonlar olduğundan proton aktarımının temel durumdaki moleküllerde olduğu gibi, uyarılmış moleküllerde de gerçekleşme olasılığı çok yüksektir. Ortamın pH'sındaki değişmeler, hem temel hem de uyarılmış molekülleri etkileyeceği için pH, bir molekülün floresans verimini etkileyen bir faktör olabilir. Asit veya baz grubu içeren maddelerin iyonlaşmış ve iyonlaşmamış hallerinin floresans ışımalarının dalga boyları ve şiddetleri birbirlerinden farklıdır.

***5. Çözünmüş oksijen etkisi*:** Çözücü ile hidrojen bağı yapabilen moleküllerde çözünmüş oksijen ile molekülün yaydığı ışını absorplayabilecek bir başka madde, lüminesans verimini önemli ölçüde azaltır. Özellikle fosforesans çalışmalarında çözünmüş oksijenin ortamdan uzaklaştırılması gerekir. Çözünmüş oksijen genellikle floresans ışımasının şiddetini azaltır. Moleküler oksijen paramanyetik olduğundan, singlet halin triplet hale dönüşmesini kolaylaştırıp floresansı azaltır. Öteki paramanyetik maddeler de benzer şekilde davranırlar.

***6. Gelen ışının dalga boyunun ve şiddetinin etkisi*:** Lüminesans verimi, sadece iç dönüşüm, sistemler arası geçiş ve enerji aktarımı gibi fiziksel olaylarla değil, uyarılmış düzeylerde ortaya çıkabilecek bağ kopması (fotoayrışma) ve ürün oluşması (fotokimyasal reaksiyon) gibi olaylar yüzünden de azalabilir. Ayrıca gelen ışının şiddetinin (yoğunluğunun) artması floresansı arttırır.

***7. Konsantrasyon etkisi*:** Floresans ışımasının şiddeti, maddenin derişimiyle orantılıdır. Floresans, derişim arttıkça artar, ancak belli bir noktada derişim çok fazla arttırıldığında artık derişimle orantılı olarak artmaz ve hemen hemen sabit kalır.

Kemilüminesans olayında molekülün yaydığı ışıma, molekülün floresans, fosforesans veya ekzimer emisyonu spektrumunun aynısıdır. Yani, kemilüminesansda ışımanın başladığı hal, uyarılmış singlet veya triplet halidir (Gündüz, 1995).

2.1.5. Floresans analizin avantaj ve dezavantajları

Floresans analizin başlıca iki avantajı, spektrofotometrik analizden çok daha düşük derişimlerde ölçüm yapılabilmesi ve potansiyel olarak çok daha seçici olmasıdır. Çünkü uyarma ve emisyon dalga boylarının her ikisi de değiştirilebilir. Ayrıca ve en önemli avantajı florimetrik analizin, numunenin molar absorptivitesi, kuantum verimi ve kaynağın şiddetine bağlı olarak 10^{-8}-10^{-9} M'a kadar duyarlı olmasıdır. Molar absorptivite veya kuantum verimi küçük olduğunda, kaynak veya monokromotor, istenildiği gibi ayarlanabilir. Bu ayarlama normalde absorpsiyon spektrofotometresinde yapılamamaktadır (Gündüz, 1995).

Diğer bir avantajı aynı zamanda dezavantajı da, sadece bazı aromatik moleküllerin floresant olmasıdır. Bu floresant olmayan aromatik moleküller kadar bütün asiklik ve alisiklik molekülleri florimetriden dışlar, dolayısıyla bir floresant aromatik molekül ve birkaç asiklik veya alisiklik molekül içeren bir karışım analiz edildiği zaman elbette bir avantajdır.

Floresans analizde diğer dezavantajlar, istenmeyen uyarılmış düzey etkileşmeleriyle meydana gelmektedir. Bu olay, kuençing yani söndürme şeklinde ortaya çıkar. Birçok floresant olmayan molekülden dolayı, hatta eser miktarlarda, S_1 düzeyindeki floresant bir molekülü söndürebilir, bu nedenle de bir ayırma işlemi yapmaksızın kompleks karışımının doğrudan analizi nadiren yapılabilir. İkinci olarak, ultraviyole ışınla uyarıldığı zaman, organik bileşiklerin çoğunda fotokimyasal reaksiyonlar olur.

Özellikle şiddetli kaynaklarla kantitatif analitik ölçümler yaparken fotoparçalanma-dan kaçınılmalıdır.

Son olarak, floresans analizde diğer bir genel dezavantaj, çok yüksek kesinlik veya doğruluk göstermemesidir, tipik bir doğruluk seviyesi ± % 2-10'dur. Pek çok numune için, günümüzde yüksek duyarlılık, seçicilik ve doğruluğa sahip florimetrik analiz yöntemleri geliştirilmektedir.

2.1.6. Fosforesans

Uyarılmış bir molekülün temel haline dönmesi fosforesan ışınları yaymak suretiyle de gerçekleşebilir. Bir molekülde singlet-triplet geçişinin ihtimali, triplet-singlet geçişinin ihtimalinden çok daha fazla olduğundan, fosforesans ışınları meydana gelir. Ancak bunlar şiddet bakımından floresan ışınlarından daha zayıftır. Uyarılmış bir fosforesan halin ömrü 10^{-4} saniyeden dakikalara hatta saatlere kadar uzayabilir. Bunun sonucu olarak, uyarıcı ışın kaynağı ortadana kaldırıldıktan sonra bile molekül bir süre daha ışın yaymaya devam eder (Gündüz,1995).

2.1.7. Fosforesans ölçme

Fosforesans ölçmede kullanılan cihazlar floresans ölçmede kullanılan cihazlara benzer. Onlardan sadece iki bakımdan farklıdır. Bunlar;

1. Numuneyi kesikli olarak uyaran bir mekanik sistem ve numune kabı,

2. Aydınlatmadan belirli bir süre sonra fosforesans ışınlarının şiddetini ölçen bir cihazdır.

Bu iki parça spektroflorometreye monte edilirse, spektroflorometre cihazı, fosforesans ölçmelerinde de kullanılır (Gündüz, 1995).

2.1.8. Florimetri ve uygulama alanları

Florimetri, çok düşük derişimlerdeki numunelerin tayinine olanak sağladığı için besin endüstrisinde, farmakolojide, klinik numunelerde, biyokimyasal bileşiklerin analizinde, hava ve çevre kirliliği tayinlerinde, tarım kimyasında ve pek çok organik ve

inorganik bileşiğin analizinde tercih edilen bir enstrümental yöntemdir. Bütün bu uygulama alanları ve florimetrik olarak tayin edilen bazı maddeler Çizelge 2.3' de verilmiştir.

Ayrıca florimetrinin analitik uygulanmasında rutin olarak aşağıdaki üç gruptan biri tercih edilir.

a. *Analit molekülün kendi doğal floresanının ölçüldüğü direkt metotlar:* Nadir toprak elementlerinin analizleri ve floresans özelliğe sahip uranil (IV) iyonunun (UO_2^{+2}) tayini, floresein, rodamin-B, kuvartz ve bir kalsiyum florür minerali olan fluorspar'ın tayini örnek olarak verilebilir.

b. *Floresent olmayan bir analitin, floresent bir türeve dönüştürüldüğü veya floresent olan bir kompleks oluşturmak üzere şelatlaştırıcı bir madde (ajan) ile analitin reaksiyonuna dayanan türevlendirme metotları:* Bazı organik bileşiklerin geçiş metal katyonlarıyla verdikleri kompleks bileşiklerin tayini, benzokinonun siyanürle reaksiyonuyla floresent 2,3-disiyano-dihidroksikinon halinde tayini örnek olarak verilebilir.

c. *Analitin quenching (engelleme, söndürme) etkisinin, bazı floresans türlerin analitik sinyalinin şiddetinin azalmasına sebep olduğu quenching metotları:* Bu metodun prensibi, floresent türlere ait floresans emisyonunun analit tarafından söndürülmesidir. Bunun sonucunda da analit konsantrasyonu artarken floresans şiddeti düşer. Floresans, floresent türlerin analit ile kimyasal bir reaksiyon vererek bozulmasından dolayı azalır. Bu metot, farklı quenching etkisine sahip birden fazla benzer özellikteki maddenin seçimli olarak tayin edilmesinde kullanılan bir metottur. Örneğin, halojenürlerin seçimli tayinleri (Cl^-, Br^-, I^-) kinin üzerine farklı engelleme etkisinde bulunma özelliklerinden yararlanarak yapılabilir. Quenching verimi halojenin kütlesiyle orantılı olarak artar.

Metodun dezavantajı; tamamen spesifik olmaması ve ölçülen floresans şiddetinin artan konsantrasyona karşılık azalmamasıdır. Be nedenle kalibrasyon eğrisi doğrusal değildir (Gündüz,1995).

Çizelge 2. 3. Florimetrinin bazı uygulama alanları

KULLANIM ALANI	ANALİT TÜRÜ	ÖRNEKLER
İnorganik bileşiklerin analizi	Anyonlar	Siyanür, florür, sülfat, iyodür, bromür, klorür, nitrat, fosfat
	Katyonlar	Alüminyum, arsenik, berilyum, bor, kadmiyum, seryum, kalsiyum, galyum, demir, lityum, mağnezyum, nadir toprak elementleri, selenyum, kalay, tungten, silisyum, çinko, zirkonyum
Organik bileşiklerin analizi	Aromatik Hidrokarbonlar	Benzen, toulen, *o*–, *m*–, *p*–ksilenler, mesitilen, fenol, krezol, *o*–, *m*–, *p*–hidrobenzoik asitler, anilin, *o*–, *m*–, *p*–anisidinler, bifenil, bibenzil, difenilamin, bibenziletilen, difenilmetan, floren, naftalen, antrasen, fenantren ve benzeri halkalı bileşikler
	Heterosiklik bileşikler	Piridin, pirol, diazin, piron, kinolin, akridin, karbazol, alloksazin, lumazin, kumarin ve benzerleri
	Organik boyalar	Fluoran, floresein, eosin, eritrosin, rodamin–B, akridin, reomin–A, magdala kırmızısı, safranin, tionin, metilen mavisi
	Asit, alkol, aldehit ve ketonlar	Etandikarbosilik asit, antranilik asit, umbelliferon-4-karbosilik asit, 1,3-dihidroksibenzen (rezorsinol), 1,2-diformilbenzen (ftalaldehit), 3,5-diasetil-1, 4-dihidroksi-2, 6-lutidin, 2-difenilasetil-1, 3-indandion-1-monohidrazon
Tarım kimyası	İnorganik tarımsal bileşikler	Selenyum, mağnezyum, bor florürler, alüminyum ve kalay bileşikleri
	Organik tarımsal bileşikler	İnsektisit ve pestisitler
	Tabii ürünler	Klorofiller, pigmentler
	Vitaminler	A_1, B_1, B_2, B_6, C, D ve E
	Proteinler	Süt proteinleri (kazein, laktik asit)
Sağlık hizmet sektörü ve çevre kimyası	Çevre kirliliği yapan bileşikler	İnsektisit kirlilik ürünleri, su ve hava kirlilik ürünleri (azot bileşikleri, sülfür bileşikleri, ozon ve bazı kanserojen aromatik hidrokarbonlar
	Zehirli metal Bileşikleri	Berilyum, bor, kurşun, uranyum, kadmiyum ve bileşikleri

Besin kimyası	Karbonhidratlar	Glukoz, fruktoz, maltoz, laktoz, sellobiyozun rezorsinol ve ksantenon ile türevleri
Farmakoloji	İlaçlar	Barbitüratlar, salisilatlar, aspirinden salisilik asit, indol, prokain penisilin, alkaloidler, LSD (lizerjik asit dietilamid), tetrasiklinler, N-asetil sistein
Bakteriyoloji	Bakteri	Çeşitli bakteri teşhis ve sayımları
İmmünoloji	Kan numuneleri	Floresant antikor ve antijenler
Klinik patoloji	Elektrolit	Ca^{2+}, Mg^{2+}, inorganik sülfat ve fosfatlar
	Steroidler	Kortikosteroidler, östrojen, projesteron, androjen, testosteron, adrenalin
	Lipidler	Lipoproteinler, fosfolipitler, kolesterol, trigliseritler
	Plazma proteinleri, aminoasitler ve metabolitler	Serum albümini, adenin, sistein, guanidin, triptofan, serotonin, fenilalanin, tirozin, katekolaminler, tiramin, 3-OH tiramin, histidin, histamin, kreatinin, arjinin, homovanilik asit, kinurenik asit, folik asit (nikotinamid), kan glikozu, porfirinler, karbosilik asitler ve ketonlar, kandaki üre azotu, NH_3, hippurik asit, hemoglobin demiri, kolesterol, kortizon
	Enzimler	Dehidrojenazlar, transaminaz, fosfataz, lipaz, kreatinkinaz, LDH-izoenzimler, peroksidazlar
	Alkaloidler	Kodein, morfin, papaverin, nikotin

2.1.9. Florimetrik uygulamalarda karışımların tayinleri

Analit içerisinde birden çok lüminesent bileşik mevcutsa, analizler çok daha zor olur. Bir karışımdaki birden çok bileşiğin aynı anda tayinine olanak sağlayan çeşitli metotlar bulunmaktadır. Karışım, eğer mümkünse bileşenlerine ayrılmalı ve her bir bileşen ayrı ayrı tayin edilmelidir. Bu işlem biraz yorucudur ve analizle ilgili ekstra basamaklar nedeniyle hataların artmasına sebep olabilir. Genellikle ön ayırmasız analiz yapma daha iyidir.

Karışımlar, bileşenlerin aksitasyon (uyarılma) ve emisyon spektrumundaki farklılıkların sağladığı avantajlardan dolayı spektrofotometreler kullanılarak çok kolay bir şekilde tayin edilebilirler. Eğer bilşenlerden biri eksitasyon spektrumunda diğer bileşenin hiç ışık absorplamadığı bir dalga boyuna sahipse, bu bileşen bu dalga boyuna kadar ışık kaynağı ve hücre arasındaki monokromatör ayarlanarak tayin edilebilir. Yalnızca bir bileşen uyarıldığı için, sadece bu bileşen ışık yayabilir ve bu tayin, diğer bileşenlerin bozucu etkilerinden bağımsızdır. Bu metodun kullanımı, temel halde bulunan çözeltideki diğer analit olmayan moleküller ve uyarılmış haldeki analit arasında enerji transferinin olmadığını kabul eder.

Benzer şekilde, bilşenin emisyon spektrumunda yalnızca bir bileşenin ışık yaydığı bir dalga boyu bulunuyorsa, hücre ile dedektör arasındaki monokromatör bu değere göre düzeltilebilir. Yine tayin, diğer bileşenlerin bozucu etkisinden bağımsız olabilir, çünkü diğer bileşenlerin hiçbiri seçilen dalga boyunda ışık yaymaz.

Maalesef pek çok maddenin eksitasyon spektrumu ve emisyon spektrumunun her ikisi de geniştir ve bundan dolayı karışımdaki diğer bileşenlerin spektrumuyla girişim (overlap) yapması muhtemeldir. Bu durumda, farklı dalga boylarında absorpsiyon yapan maddelerin aynı anda tayin edilmesinde UV ve görünür bölge spektrumlarındakine benzer problemler meydana gelir. Karışımın her bir bileşeni için belirli bir eksitasyon ve emisyon dalgaboyu seçilir. Herbir bileşen için, belirli bir dalga boyunda konsantrasyonun (C) değişmesiyle cihazın lüminesent cevabındaki değişim (K) deneysel olarak saf bileşenlerin standart çözeltilerinden tayin edilir ve eş zamanlı bir seri eşitlik belirli bir dalga boyunda kurulur.

Eşitlikler aşağıdaki şekilde verilir;

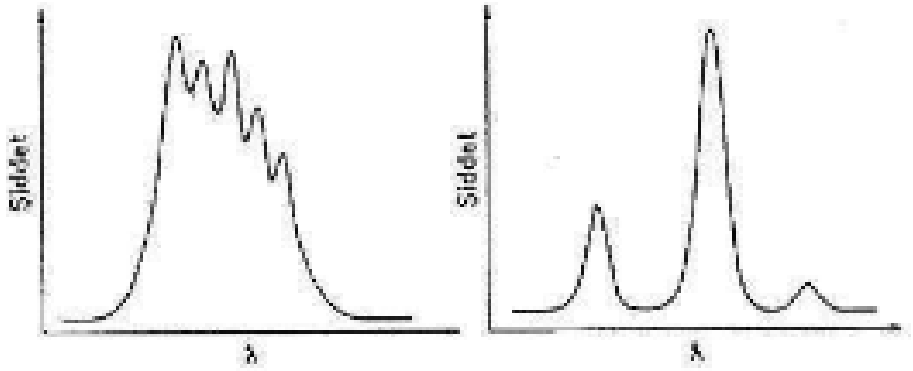
I (karışım, dalgaboyu 1) = K (Bileşen 1, dalgaboyu 1) C_1

+K (Bileşen 2, dalgaboyu 1) C_2 + ……..

+K (Bileşen N, dalgaboyu 1) C_N (2.1)

Karışımın lüminesansı belirlenen her dalgaboyunda ölçülür, alınan lüminesent cevabı ve karışımın lüminesansı eş zamanlı herbir eşitlik içerisinde yerine konur ve eşitlikler bileşenlerin her birinin konsantrasyonu için çözülür.

Karışımındaki bileşenlerin florimetrik analizi için uygulanacak bir başka yöntem ise senkron florimetridir. Şekilde bir hidrokarbon karışımını içeren çözeltinin normal floresans spektrumu ile senkron florimetri yöntemiyle elde edilen spektrum görülmektedir.



Şekil 2. 5. Bir hidrokarbon karışımının normal ve senkron floresans spektrumu

Şekil 2.5'den görüldüğü gibi, normal floresans spektrumu, sabit bir uyarma dalga boyu ayarlanarak ölçülmüş olup, elde edilen spektrumda iki bileşenin spektrum bantları birbiri içine girmiştir. Uyarma ve emisyon dalga boylarının her ikisinin birden aralarında belli bir dalga boyu farkı ile taranması sonucu elde edilen senkron sinyal ise her bir bileşenin floresans spektrumunun belli dar bir kısmını içermektedir. Böylece bileşenlere ait sinyaller birbiri ile örtüşmeden elde edilir ve bileşenlerin nicel analizleri daha kolay yapılabilir.

Alternatif olarak, karışımın emisyon spektrumu kaydedilebilir ve bir bilgisayar her bir komponent için spektrumun kısımlara ayrılmasında kullanılır. Ayrılan spektrum bileşenlerin konsantrasyonunu hesaplamak için kullanılır. Fosforesent çalışmalar için

kullanılan bazı cihazlar, bir titreşim kaynağının kullanımında ve her bir döngüde kaynağın kapatılmasından sonra farklı zamanlarda lüminesans ölçümünde hassaslardır. Titreşim lazerleri de bu çalışmalarda kaynak olarak kullanılabilir. Farklı bileşenler farklı emisyon ömrüne sahiplerse, analizler, ölçüm zamanının bir fonksiyonu olarak lüminesent şiddetinin logaritmasının bir grafiği hazırlanarak yapılabilir. Bileşenlerin ömürleri önemli ölçüde farklıysa, grafik her bir bileşen için doğrusal bir kısma sahiptir. Sıfır noktasına ekstrapolasyondan sonra her bir lineer kısma karşılık gelen ışık şiddeti, karşılık gelen konsantrasyonla orantılıdır. Çalışma eğrisi metodu, standart çözeltilerle hazırlanan benzer grafikler çizildikten sonra kullanılır. Karışımdaki maddeleri tayin etmek için birkaç metot daha kullanılabilir, fakat genellikle bu metotlar pek çok laboratuarda mevcut olmayan cihazlara gereksinim gösterir (Gündüz, 1995).

2.2.2.1. Florimetrik analizler

İnorganik maddeler arasında doğrudan doğruya floresans özelliği veren maddeler veren pek azdır. katyonlar uygun şeletlaştırıcı maddelerle floresant kompleksler verebilir. Bu şekilde floresant kompleksler veren katyonlar renksiz katyonlardır ve bunların kompleksleri genellikle renksizdirler. Renkli kompleksler bilindiği gibi absorpsiyon yaparlar. Renksiz kompleksleri tayin etme olanağı vermesi nedeniyle floremetreye spektroflorimetrenin tamamlayıcısı da denebilir.

Besin endüstrisinde, farmakolojide ve klinik numunelerinde önemli olan pek çok organik madde floresant özelliği gösterdiklerinden, florimetri bu alanda çok büyük bir uygulama alanı bulmuştur.

2.2.2.2. İnorganik maddelerin florimetrik tayinleri

İnorganik florimetrik yöntemler iki tiptir. doğrudan yöntemler floresans yapan bir şelet oluşmunu ve onun emisyonunun ölçülmesini içerir. ikinci grup yöntemler tayin edilecek maddenin söndürme etkisiyle oluşan floresanstaki uzanmaya dayanır. son teknik anyon analizleri için yaygın olarak kullanılmaktadır.

2.2.2.3. Floresans yapan şelatlar oluşturan katyonlar

Floresans yapan şelatlar oluşturan geçiş metali iyonlarının sayısını başlıca iki faktör sınırlar. Birincisi bu iyonların çoğu paramanyetiktir; bu özellik, sistemler arası geçişle triplet hale geçiş hızını artırır. Böylece floresans ile sönüm muhtemel değildir ve fosforesans gözlenebilir. ikinci bir faktör geçiş metali komplekslerinin, iç dönüşümle sınırı artıran birbirine yakın çok sayıda enerji seviyeleri ile karaktarize edilmeleridir.Geçiş elementi olmayan metal iyonları, diğer sönüm işlemlerine daha az hassastır; bu yüzden florometrenin başlıca inorganik uygulamalarında yer alırlar.

2.2.2.4. Organik türlerin florimetrik yöntemleri

Organik bileşiklerin bir bölümü kendiliğinden doğal olarak lüminesenttir. Bunlara en iyi örnek polisiklik aromatik hidrokarbonlardır (benzen, naftalen, fenantren, antrasen, pentosen, perilen v.b.çoklu halkalı bileşikler). Lüminesent olmayan organik ve b iyokimyasal bileşikler, floresans veya fosforesans özelliğe sahip bir türevi kantitatif olarak hazırlanabiliyorsa florimetrik veya fosforimetrik olarak tayin edilebilir. bazı durumlarda bir metal iyonu, floresent bir kompleks oluşturmak üzere, organik bileşiğe ilave edilerek reaksiyon verir. Bu tip metal komplekslerine (şelat bileşikleri) örnek olarak alüminyum-III ve magnezyum-II iyonlarının hidrosikinolinle verdikleri kompleksler verilebilir.

Diğer durumlarda ise organik bileşiğin konjugasyonu büyütmek için kondenzasyon reaksiyonu gibi bir türevlendirme reaksiyonu kullanılır ve bu da lüminesansa sebep olur. Analit ve reaktif genellikle bazı tür kondenzasyon reaksiyonuyla, iki molekülden su veya HCl gibi küçük moleküllerin ayrılması suretiyle birbirine bağlanır.

Spektrofotometrede absorbansı ölçülecek çözelti içine giren ışık; çözeltiden doğrudan geçebildiği gibi, kullanılan ışığın dalga boyuna ve madde konsantrasyonuna bağlı olarak kısmen ya da tamamen absorbe edilebilir. Işığın çözelti tarafından absorbsiyonu ile birlikte ortamdaki moleküllere enerji transfer edilir. Foton (kuantum) enerjisinin moleküldeki π elektronları tarafından absorbsiyonu ile birlikte, molekülde titreşim, dönme veya floresans gibi enerji değişimleri meydana gelir.Normal durumdaki,diğer bir deyisle temel enerji düzeyindeki moleküllerde elektronlar zıt

spinlidir.Singlet durum adı da verilen zıt spinli durumda elektronlar en düşük vibrasyon (titreşim) düzeylerinden birinde bulunur. Foton enerjisinin moleküldeki π elektronları tarafından absorpsiyonu ile birlikte π elektronu daha yüksek bir vibrasyonal enerji seviyelerinden birine uyarılma (eksitasyon) sonucunda sıçrar. Uyarılmış bu yüksek enerjili elektron fazla enerjisini diger moleküller ile çarpısarak ya da kendi titreşim ve dönme hareketleri ile dışarı vererek düşük titreşim düzeyli temel enerji düzeyine döner. Temel enerji düzeyindeki elektronu uyarabilmek için gerekli enerji, bu enerji düzeyindeki elektronun enerjisinden daha yüksektir. Uyarılmış durumdaki elektron 10^{-9} veya 10^{-5} saniye içinde emisyon adı verilen bir olayla foton enerjisi salıvererek temel enerji düzeyinde bulunan düşük titreşimli enerji düzeylerden birine döner.Bu emisyona floresans adı verilmektedir. Floresans olayı ile dışarı verilen foton enerjisi uyarılma için gerekli olana göre daha düşüktür ve dolayısıyla daha uzun dalga boyunda bir ısın ortama salınır. Çift bağ ya da konjuge çift bağ içeren moleküller ortama floresans verme özelliğindedir. Uyarılma ve emisyonun maksimum dalga boyları arasındaki farka Stokes kayması adı verilir. Her molekül için spesifik bir uyarılma ve emisyon dalga boyu vardır.

Belirli konsantrasyondaki standartlar ve rölatif floresansları arasında standart bir eğri çizilerek, örneğin vermiş olduğu floresanstan konsantrasyonu hesaplanabilir. Floresans özelliği gösteren bilesiğin artan konsantrasyondaki standartları ile floresans şiddeti arasında doğru bir orantı vardır. Doğrusallık korunduğu sürece tek bir standart kullanılarak örneğin floresansından konsantrasyonu aşağıda verilen eşitlikle hesaplanabilir.

Örneğin floresansı / iç standardın floresansı = Örnegin konsantrasyonu / iç standardın konsantrasyonu. Floresans şiddeti konsantrasyon dışında pH, sıcaklık, viskozite ve diğer bileşiklerin interferanslarından etkilenir**.**

2.2. Lokal Anestezikler

Lokal anestezikler; uygun konsantrasyonda verildiklerinde uygulama yerinden başlayarak sinir iletimini geçici bloke eden ajanlardır.

Lokal Anesteziklerin Yapısı

Halen kullanılmakta olan lokal anesteziklerin hepsi yağda eriyen alkoloidlerin, suda eriyen tuzlarıdır. Moleküllerinde hidrofilik grup, ara zincir ve aromatik lipofilik gruplar mevcuttur. Lokal anestezik ilaçlar, ara zincirin ester veya amid bağı oluşturmasına göre ester yapılı ve amid yapılı olarak iki grupta incelenir. İki grup arasındaki temel farklılıklar kimyasal stabilite, metabolizma ve allerjik potansiyellerindeki farklılıklardır.

Lokal Anesteziklerin Kimyasal Yapısına Göre Sınıflandırılması

Ester grubu (Benzoik asit esterleri): Kokain, prokain, klorprokain, tetrakain, benzokain'dir.

Amid grubu: Lidokain, mepivakain (carbocaine), prilokain (citanest), bupivakain (marcaine), etidokain (curanest), dibukain (nupercaine), ropivakain (naropin).

Özellik	**ESTER Grubu**	**AMİD Grubu**
METABOLİZMA	Plazma kolinesterazı tarafından Hızlıdır.	Karaciğerde Yavaştır.
SİSTEMİK TOKSİK ETKİ	Daha azdır.	Daha fazladır.
ALLERJİK REAKSİYON	Daha fazladır.	Nadirdir.
STABİLİTE	Stabil değildirler ışık, ısı vb. etkilenirler	Çok stabil ajanlardır.
ETKİ BAŞLANGICI	Yavaştır.	Hızlıdır (orta - çok hızlı)
pKa	pH'dan (7,4) yüksektir	pH'dan (7,4) düşüktür.

pKa: Her bir ilaç için spesifik bir hidrojen iyonu (pH) konsantrasyonunda, yüksüz bazın konsantrasyonu yüklü katyonun konsantrasyonuna eşittir. Bu hidrojen iyonu konsantrasyonu pKa diye isimlendirilir. Molekülün pKa'sı arttıkça katyonik (iyonize) şekli artar.

Farmakokinetik Özellikler

Absorbsiyon: Lokal anestezikler sağlam ciltten absorbe olmazlar ancak mukozalardan hızla absorbe olurlar. Lokal anesteziklerin enjekte edildikleri yerden absorbsiyonunu etkileyen faktörler;

- enjeksiyonun yeri,
- total doz, konsantrasyon,
- solüsyonun pH'sı,
- yağda eriyebilirliği,
- dokunun kanlanması,
- vazokonstriktör eklenmesidir.

Distribüsyon: İntravasküler alana absorbsiyon sonrasında lokal anesteziklerin büyük bir kısmı plazma proteinlerine, bir kısmı da eritrositlere bağlanarak dokulara dağılır ve dokular tarafından tutulur. Lokal anestezikler kan-beyin bariyeri ve plasentayı kolaylıkla geçerler.

Metabolizma: Ester yapılı lokal anestezikler plazma ve eritrosit içindeki kolinesterazlar tarafından hidroliz edilirler. Amid yapılı lokal anestezikler karaciğerde aromatik hidroksilasyon, dealkilasyon ve amid hidroliz yoluyla yıkılırlar, yıkım ürünleri böbreklerle atılır.

Lokal Anesteziklerin Etki Sürelerine Göre Sınıflandırılması

Kısa etkili: Prokain

Orta etkili: Lidokain, Mepivakain, Prilokain, Klorprokain

Uzun etkili: Tetrakain, Bupivakain, Etidokain

Bupivakain, etki süresi (5-16 saat) uzun amid grubu bir lokal anesteziktir. Spinal anestezide düşük yoğunlukta motor blok yapmadan analjezi sağlar. Birikici etkisi

yoktur. Gebelerde kullanımından sonra fetustaki düzeyi fazla yükselmez. Böbreklerle atılan az bir kısmı dışında karaciğerde yıkılır.

Vazokonstriktör ilaçların eklenmesi: Adrenalin gibi bir vazokonstriktör ajan, enjeksiyon yerinde perfüzyonu azaltarak lokal anestezik ilacın sistemik absorbsiyonunu azaltır. Bu özellikle prilokain dışında, prokain, lidokain ve mepivakain gibi kısa ve orta etkili ajanlar için doğrudur. Bu mekanizma ile:

a) ilacın nöronal alınımı (bağlanması) artar ve kan seviyesi ortalama % 33 azaldığı için sistemik toksik etki azalır.

b) Sistemik absorbsiyonun azalması ve sinir tarafından alınımın artması lokal anestezik etkiyi % 50 oranında artırır, etki süresini uzatır. Vazokonstriktör ajanlar lipid eriyebilirliği daha fazla olan uzun etkili lokal anesteziklerin (bupivakain, etidokain gibi) etkisini çok az uzatırlar. Çünkü bunlar yüksek lipid eriyebilirlikleri nedeniyle enjekte edildikleri yerde büyük oranda dokuya bağlanırlar.

2.2.1. Etki mekanizması

Lokal anestezikler sinir membranını stabilize ederek, depolarizasyona engel olurlar. Her tip sinir lifi lokal anesteziklerden etkilenir, ancak bu etki ince liflerde kalın liflere; miyelinsiz liflerde miyelinli liflere oranla daha çabuk ve daha düşük konsantrasyonlarda görülür. Düşük yoğunlukta kullanıldıklarında C lifleri ile ince ve orta kalınlıktaki A-δ lifleri bloke olduğundan ağrı ve ısı duyusu kaybolmakta; dokunma, proprioseptif ve motor fonksiyon etkilenmemektedir.

Spinal anestezide lokal anesteziklerin etki yeri spinal sinirlerin ön ve arka kökleridir. Blok sırasıyla aşağıdaki gibi tutulur.

1. Preganglioner sempatik lifler
2. Isı duyusu (sıcak ve soğuk)
3. Ağrı duyusu
4. Dokunma duyusu
5. Derinlik duyusu
6. Motor duyusu
7. Eklem pozisyon duyusu

8. Vibrasyon duyusu

Seviyesi en yüksek olan sempatik bloktur. Sempatik bloğun iki segment altında sensoriyal blok, sensoriyal bloğun iki segment altında ise motor blok gelişir. Spinal anestezinin temel amacı, sensoriyal ve motor blok oluşturmak olup, birlikte gelişen sempatik denervasyon, genellikle sistemik değişikliklere neden olan bir yan etki gibi görülür.

Lokal anestezik ajanın dozunu etkileyen faktörler şunlardır:

1. Ajanın özelliğine
2. Cerrahi girişim tipine
3. Cerrahi girişim süresine
4. Hastaya ait özellikler

- Obesite (intraabdominal basın artar, epidural venöz pleksus genişler, epidural ve subaraknoidal aralık daralır.)
- Gebelik
- Yaş (spinal ve epidural alanın kompliyansı azalır, epidural ve subaraknoidal alan daralır.)
- Boy

2.2.3. Yan etkiler

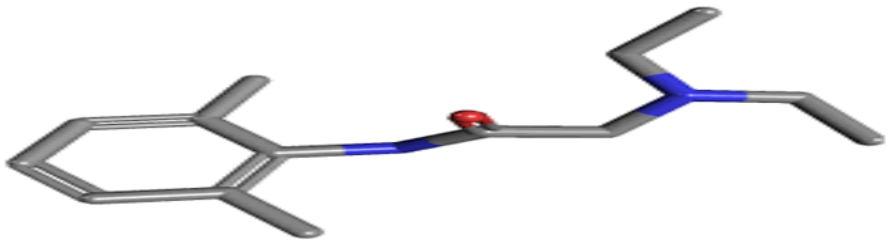
Sistemik reaksiyonlar: Bunlar ya ilaca karşı allerji veya ilacın kandaki düzeyinin yükselmesi sonucu ortaya çıkar. Lokal anesteziklere karşı gelişen reaksiyonların ancak %1'i aşırı duyarlılığa bağlı olup, burada ilacın dozu önemli değildir. Ya sistemik yaygın allerjik reaksiyonlar veya dermatit şeklinde kendini gösterir.

Yüksek dozaj: Yüksek plazma düzeyleri, hızlı absorbsiyon veya hatalı intravasküler enjeksiyon ile gelişebilmektedir. Lokal anestezik ilaçların korteks üzerindeki inhibitör etkinliği kaldırmaları sonucunda kortikal eksitabilite artar ve eksitasyon bulguları olan huzursuzluk, tremor, baş dönmesi, kulak çınlaması, görme bozukluğu, bulantı, kusma ve eğer eksitasyon dönemi şiddetli ise tonik-klonik kasılmalar görülebilir. Lokal anestezikler direkt etkileri ile miyokardda kontraktilite, eksitabilite ve iletim hızında azalma oluşturabilirler. Yüksek kan konsantrasyonunda

direkt etki ile medullar solunum merkezinin depresyonuna ve yüksek spinal anestezide frenik ve interkostal sinir paralizisine bağlı olarak apne oluşturabilirler.

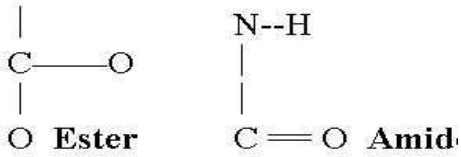
2.2.4. Lokal anestezik maddeler

Lokal anestezikler, sinir dokusuna uygun konsantrasyonda uygulandıklarında sinir iletimini bloke eden ilaçlara denir. Lokal anesteziklerin yarattıkları etkinin reversibl oluşu son derece önemlidir. Bu ilaçlar sinir sisteminin her yerinde ve her tip sinir lifi üzerinde etkili olurlar. ilk olarak keşfedilen lokal anestezik kokaindir, sonrasında benzoik asitin türevleri keşfedilmiştir. Lokal anestezik maddelerin genel yapısı şöyledir:



Aromatik kısmı →Ester ya da Amid → Amin kısmı

Genellikle benzen halkası olan bir lipofilik grup ve bir tersiyer amin olan bir hidrofilik gruptan oluşurlar. Bu iki grup ester veya amid yapıda olan bir ara zincir ile bağlıdır



Lipofilik grup (serbest baz) solüsyonun sinir membranına penetrasyonunu sağlar. Hidrofilik grup (katyonik form) ise farmakolojik olarak aktif olan kısımdır. Sinir hücresi içinde non-iyonize (lipofilik, serbest baz) ve iyonize (hidrofilik, katyonik form) kısım denge haline gelir, iyonize kısım reseptörle etkileşir, farmakolojik olarak aktif olan kısımdır.

Lokal anestezik ilaçlar ara zincirin yapısına göre ester ve amid olarak 2 temel

gruba ayrılırlar:

1-Ester grubu lokal anestezikler: Kokain, prokain, klorprokain, tetrakain, benzokain

2-Amid grubu lokal anestezikler: Lidokain, prilokain, mepivakain, bupivakain, dibukain, ropivakain

Lokal anestezik ilacın etki başlama süresinde en önemli faktör ajanın pKa'sıdır. pKa; baz (lipofilik grup) ile katyonik formun (hidrofilik grup) eşit olduğu hidrojen iyon konsantrasyonu (pH) olup her ajan için farklıdır. Lokal anesteziğin pKa'sı ne kadar fizyolojik pH'ya yakınsa etkisi o kadar çabuk başlar. Genellikle lokal anestezik ajanların pKa değerleri 7.5-9 arasında değiştiğinden dokuda (pH 7.4) lokal anestezikler daha çok katyon formunda bulunmaktadır. (Prilokain 7.7, lidokain 7.9, bupivakain 8.1). Lokal anesteziklerin alkali solüsyonları sinir iletimini daha etkin biçimde bloke ederler. Ajanın enjekte edildiği bölgenin pH'sı da bu olayı etkilemektedir. Enfekte bir bölgede pH'nın azaldığı düşünülürse pKa ile aradaki fark artacağından diffüze olabilen miktar azalacaktır.

Lokal anesteziklerin alkali solüsyonları sinir iletimini daha etkin biçimde bloke ederler. Ester türü lokal anesteziklerin pKa değerleri (8.5–8.9), amid türlerine (7.6–8.1) göre daha yüksektir ve fizyolojik pH düzeyinde daha fazla iyonize olurlar.

Lokal anestezik ajanlarda aranan özellikler:

-Düşük yoğunlukta etkin olabilmeli

-Dokulara penetrasyonu iyi olmalı

-Etki başlama zamanı hızlı olmalı

-Etki süresi uzun olmalı

-Düşük sistemik toksititesi olmalı

-İrritan olmamalı

-Etkisi geri döndürülebilmeli

-Kolay sterilize edilebilmeli

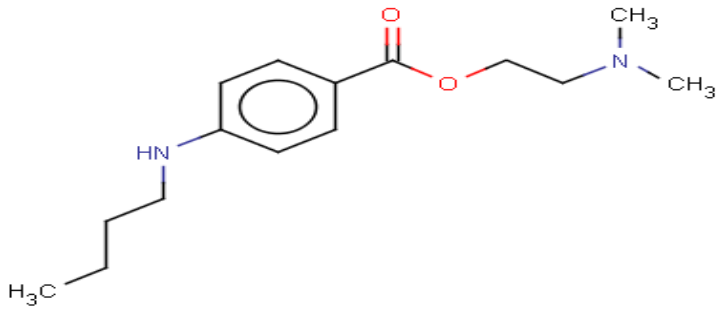
Lokal anestezikler etkinlikleri ve etki süreleri yönünden de üç gruba ayrılabilirler:

1- Zayıf güçte - Kısa etkili - Procaine (Novokain)

2- Orta etkinlikte - Orta etki süreli - Lidocaine (Aritmal), Prilocaine(Citanest)
3- Güçlü ve uzun etkili - Bupivakain (Marcaine)

2.2.5. Tetrakain

Uzun etkili bir amino ester lokal anesteziktir. Metabolizması yavaş olduğundan toksik etkileri fazladır.Uzun etkili anestezi gerektiğinde spinal yolla kullanılır. En sık kullanılan lokal anesteziklerden biridir.



Bileşiğin Adı - BENZOİK ASİT, 4-(BUTİLAMİNO)-, 2-(DİMETİLAMİNO)ETİL ESTER
CAS Number - 94246380

2.2.6. Tetrakain hidroklorür

$C_{15}H_{24}N_2O_2.HCl$

Benzoik Asit, 4-(bütilamino)-,2-(dimetil amino)etil ester, monoklorit

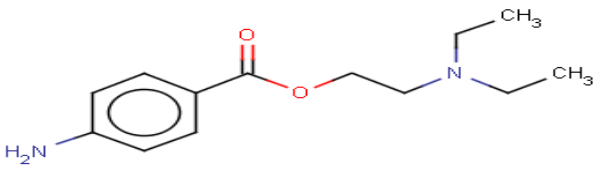
MA: 300,82

CAS :136-47-0

US:Toxic EU:Toxic

Tetrakain hidroklorür 98,5-101,0 oranları arasında $C_{15}H_{24}N_2O_2$.HCl dan oluşur,susuz bazda hesaplanmıştır.Sıkı bir şekilde koruma altına alınmalıdır,ışık geçirmeyen kaplarda saklanmalıdır.

2.2.7. Prokain



Bileşiğin Adı: - BENZOİK ASİT, 4-AMINO-,2-(DİETİLAMİNO)ETİL ESTER CAS Numarası - 59461340

İlk sentetik lokal anesteziktir.Amino ester yapısındadır. İnfiltrasyon anestezisi için kullanılır. Yavaş ve zayıf olan etkisi kısa sürer. Toksik etkileri azdır.

2.2.8. Prokain hidroklorür

C13H21N3O,ClH

MA:271,79

CAS:614-39-1

US:Tahriş Edici EU:Zararlı

Prokainamit hidroklorür 98.0-101.0 oranları arasında 4-amino-N-[2-(dietilamino)etil]benzamithidroklorür içerir, susuz numune baz alınarak hesaplanmıştır. Beyaz ya da çok açık sarı renkte, kristal yapıda,higroskopik,suda çözülebilir,alkolde

çözülebilir,asetonda az çözülebilir ve eterde çözünmez. 166^{o}C ile 170^{o}C arasında erime noktası vardır. Hava geçirmeyen bir kapta saklanmalı,ışıktan korunmalıdır.

2.3. Demir Minerali

2.3.1. Tanımı ve besinsel kaynakları

İnsan ve pek çok canlı türü için esansiyel bir elementtir. Kanın en önemli işlevsel bölümünü oluşturur. Organizmada esas olarak enerji metabolizmasında yeri olan, dokulara oksijen taşınması, elektron transferi, DNA sentezi ve pek çok yaşamsal önemi olan enzimin yapı ve işlevinde görev alan temel bir elementtir. Kolaylıkla ferröz (iki değerlikli demir) ve ferrik (üç değerlikli demir) şeklinde değişebilen redoks kimyası ile insan varlığı demire bağımlıdır ve demir metabolizmasındaki değişiklikler insan sağlığını önemli şekilde etkilemektedir (Unal, Yetgin, 2003 ; Kayaalp ,1998).

Besin maddeleri arasında en fazla demir içerenler, kasaplık hayvanların karaciğer, dalak, böbrek, kalp gibi iç organları, yumurta sarısı ve bira mayasıdır. Bitkisel besinlerden kuru baklagil tohumları (kuru fasulye gibi) ve buğday jermi de demir içerir. Daha az oranda olmak üzere tavuk, balık ve diğer deniz ürünleri dahil tüm et ürünlerinde, kabuğundan (veya kepeğinden) ayrılmamış buğday tanesi ve ondan yapılan unda, yulafta, yeşil sebzelerde, incir, ceviz ve fındıkta da bulunur.

Süt çocuklarında günlük demir gereksinimi 1 mg/kg'dır (en fazla 15 mg/gün). Düşük doğum ağırlıklı olan, prematürite, düşük Hb değeri olan veya perinatal dönemde önemli ölçüde kan kaybetmiş süt çocuklarında en fazla 15 mg/gün olmak üzere ihtiyaç 2 mg/kg/gündür.

2.3.3. Demirin vücuttaki dağılımı

Yetişkin insan vücudunda ortalama 4–5 g demir bulunur. Demirin vücuttaki dağılımı şu şekildedir (Unal, Yetgin, 2003; Munoz ve ark. 2009).

Hemoglobin: Yetişkin erkeklerde 2 g, kadınlarda ise 1,5 g demir Hb yapısında bulunur. Çocuklarda ise vücut demirinin % 65'i Hb'de bulunur (Unal, Yetgin, 2003; Munoz ve ark., 2009).

Depo Kısmı: Vücutta demir ya ferritin ya da hemosiderin şeklinde depolanır. Ferritin suda eriyebilirken hemosiderinin suda erime özelliği yoktur. Ferritin vücuttaki

esas depo proteinidir. Ferritinin en fazla bulunduğu yer Hb sentezinin yapıldığı eritroid ana hücreler ile demir metabolizması ve depolanmasında yeri olan makrofaj ve hepatositlerdir. Demiri depolayan ve hücre içinde detoksifiye eden ferritinin bir kısmı da plazmada bulunur. Yaklaşık her mikrogram plazma ferritini 8 mg depo demirini yansıtır ve yaş, cinsiyete göre düzeyi değişir. Normalde plazmadaki ferritin düzeyi hücresel ferritin miktarı orantılıdır. Ancak inflamatuvar hastalıklarda akut faz göstergesi olarak artması organizmanın demir durumunu göstermedeki değerini azaltmaktadır. Hemosiderin kemik iliği, dalak ve karaciğer gibi organlarda demir birikimi sonucu oluşur. Demirin aşırı arttığı durumlarda tüm dokularda birikebilir (Unal, Yetgin, 2003; Nadadur ve ark., 2008).

Miyoglobin: Yapısal olarak Hb'ne benzer fakat farklı olarak monomerik yapıdadır. Bütün iskelet kaslarında ve kalp kasında bulunur ve hipoksi gibi hücre hasarına neden olan durumlarda oksijen kaynağı olarak görev yapar. Vücut demirinin % 3,5'i miyoglobin içinde yer alır (Unal, Yetgin, 2003; Nadadur ve ark., 2008).

Değişken Demir Havuzu: Hem ve demir depo yapısına girmeden önce plazmadan ayrılarak intersitisyel ve intrasellüler alana giren demir miktarını gösterir (Unal, Yetgin, 2003).

Doku Demir İçeriği: Doku demir düzeyi yaklaşık 6–8 mg'dır ve dokularda bulunan sitokrom oksidaz, homogentisik oksidaz, monoamin oksidaz, peroksidaz ve katalaz gibi enzimlerin işlevlerinde rol alır (Unal, Yetgin, 2003; Nadadur ve ark., 2008).

Taşınan Kısmı: Vücut demirinin yaklaşık % 0,1'i dolaşımda bulunur ve tamamına yakını transferrine bağlıdır. Bunun önemi, fizyolojik durumlarda çözünebilir demir sağlamak, demir aracılı serbest radikal toksisitesini önlemek, demirin hücre içine alınmasını kolaylaştırmaktır. Transferrin esas olarak karaciğerde hepatositlerde üretilirken beyin ve testis dokusunda da üretildiği gösterilmiş bir glikoproteindir. Depo demiri transferin üretiminin düzenlenmesini sağlar. Depo demiri eksildiğinde üretimi artar, artmış depo demiri varlığında ise üretimi azalır. Serum demirinin, transferin bağlanma bölgesine oranı transferin saturasyonunu gösterir ki bu oran normalde % 15–40 arasındadır (Unal, Yetgin, 2003).

2.3.4. Demir emilimi

Demir vücuda girişi ve özellikle vücuttan çıkışı oldukça kısıtlı olan bir maddedir; organizmada var olan demir kapalı bir devre içinde tekrar tekrar kullanılır. Demir emilimi başlıca duodenum ve üst jejunum bölgesinde hem ya da ferro şeklinde olmaktadır, buranın asidik ortamı ferro (iki değerli) halindeki demirin emilimine yardımcıdır. Hidroklorik asit, askorbik asit gibi diğer indirgeyici maddeler de emilime yardımcı olurken; fosfatlar, fitatlar, tannat, antiasitler emilimi olumsuz etkiler. "Hem" şekli ise ne mide asiditesinden ne de gıdadaki içeriğinden etkilenmeden emilir (Munoz ve ark., 2009; Birsen, 2001; Frewin ve ark., 1997).

Gebelik, emzirme dönemi, büyüme ve demir eksikliği anemisi gibi ihtiyacın arttığı durumlarda demir emiliminin artma özelliği vardır, kısaca demir depoları ile demir emilimi arasında ters orantı bulunmaktadır. Ferrik demir ise ancak mide asidi ile 2 değerli ferro haline indirgendikten sonra emilir. Bütünsel veya kısmi gastrektomi, aklorhidri varlığında ve hızlı barsak geçişlerinde emilim bozuklukları olabilir. Demir bağırsaklardan emilince mukozal hücrelerden kana geçer, transferrin proteini ile ilikteki gelişmekte olan eritrositlere taşınır.

İlik, karaciğer ve dalak gibi başlıca retiküloendotelyal hücrelerde depolanır. Demir depolarını demir için kullanıma hazır kaynak olan, birçok hücrede bulunan ferritin ve ağırlıklı olarak makrofajlarda bulunan çözünmeyen hemosiderin oluşturur. Günde yaklaşık 1 mg demir idrar, dışkı, ter ve cilt ile gastrointestinal sistemden dökülen hücrelerle kaybedilir (Munoz ve ark., 2009; Birsen, 2001; Frewin ve ark., 1997).

2.3.5. Demir eksikliğinin nedenleri

I. Alım eksikliği: Yenidoğanlar ağırlıklı olarak süt ile beslenirler. Anne sütü ve inek sütünün demir içeriği her 1000 kalori için 1,5 mg'dan düşüktür (0,5–1,5 mg/l). Anne sütü ve inek sütünün aynı derecede demirden fakir olmasına rağmen anne sütü alan süt çocuklarında bu demirin % 49'u, inek sütü alanlarda ise yaklaşık % 10'u emilir. Anne sütündeki demirin biyoyararlanımı inek sütünden çok daha fazladır (Lanzkowsky, 2005).

II. Artmış ihtiyaç: Büyüme özellikle süt çocukluğu ve pubertede hızlanır. Kan hacmi ve vücut demiri yaşam boyunca vücut ağırlığıyla doğrudan ilişkilidir. Her 1 kg

artış vücut demirinde 35–45 mg artış gerektirir. Yenidoğandaki vücut total demir miktarı 75 mg/kg'dır.

Normalde doğumdaki depo zamanında doğanlarda 6 ayda, erken doğanlarda 3–4 ayda tükenecektir. Demir eksikliğinin en sık sebebi süt çocukluğu ve çocukluk çağı gibi hızlı büyüme yıllarında yetersiz demir alımıdır (Lanzkowsky, 2005).

III. Kan kaybı: Kan kaybı demir eksikliği anemisinin önemli bir sebebidir. Doğum öncesi, doğum ya da doğum sonrası nedenlerden dolayı olabilir. Prenatal nedenler fetomaternal kanama, plasenta arkasına ya da içine kanama, doğum öncesi fetal kan kaybı (plasenta previa, ablasyo plasenta), monokoryonik ikizlerde fetofetal kanama, plasenta anomalileri, göbek kordonunda yırtılma gibi nedenlerdir (Lanzkowsky, 2005).

Postnatal nedenlerden gastrointestinal sisteme ait nedenler;

a. Demir eksikliği eksudatif enteropatiye neden olarak var olan demir eksikliğiniartırır. Demir eksikliği olan çocukların %50'sinde gaytada gizli kan pozitiftir.

b. İnek sütüne karşı aşırı duyarlılık: Isıya dayanıksız proteinler inflamasyon yoluyla kan kaybına neden olabilir.

c. Yapısal bağırsak değişiklikleri (ösefagus varisleri, gastoözafagial reflü, hiatus hernisi, peptik ulcus, leimiyomata, ileit, kolit, hemoroidler, Meckel divertikülü, bağırsak duplikasyonu, herediter telenjiektazi, polipler), altta yatan bağırsak hastalığına bağlı enteropati (alerjik gastroenteropati, intestinal lenfanjiektazi gibi)

d. Aspirin, adrenokortikal steroidler, indometazin, fenilbutazona bağlı gastrit.

e. Bağırsak parazitleri (kancalı kurtlar örn. *Necator americanus*)

f. Henoch-Schönlein purpurası

Kan kaybına neden olabilecek diğer durumlar hematobilia, akciğer hemosiderozisi, Goodpasture sendromu, IgA eksikliğiyle beraber demir mobilizasyonunda bozukluk, tekrarlayan burun kanamaları, menstruel kayıp, kalp içi miksoma, kapak protez veya yamaları, mikroanjiopatik hemolitik anemi, hematüri, nefrotik sendrom (idrarla transferrin kaybı), hemosiderinüri, kronik damar içi hemoliz (paroksismal nokturnal hemoglobinüri, paroksismal soğuk hemoglobinürisi gibi), hemodiyaliz, travma olarak sayılabilir (Lanzkowsky, 2005).

IV. Bozulmuş emilim: Yaygın emilim bozukluğu sendromlarına bağlı gelişen demir emilim bozukluğu, demir eksikliği anemisinin sık görülmeyen bir nedenidir.

Ciddi demir eksikliğinin bağırsak mukozasına olan etkilerinden dolayı ikincil olarak emilim bozukluğuna neden olarak demir emilimini bozabilir (Lanzkowsky, 2005).

Demir emilimini etkileyen durumlar, malabsorbsiyon sendromları, çölyak hastalığı, kronik ishal, gastrektomi sonrası, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, *Giardia lamblia* infeksiyonu, *Helicobacter pylori* infeksiyonu ile ilişkili kronik gastrittir (Lanzkowsky, 2005).

2.3.6. Demirin toksik etkisi

Demirin fazlası insanlar için zehirleyicidir, çünkü aşırı miktarda alınan iki değerli demir (ferros demir) vücuttaki peroksitlerle reaksiyona girerek serbest radikaller yapar.

İnsan vücudu demirin emilimini çok sıkı kontrol eden bir mekanizmaya sahipse de vücuttan atılmasına ilişkin fizyolojik bir yetisi yoktur. Dolayısıyla, alınan aşırı miktardaki demir, sindirim sisteminin tüm bölgelerindeki hücrelere zarar verebilir ve kan dolaşım sistemine girebilir. Kan dolaşımına giren demir, kalp, karaciğer ve diğer organların hücrelerine de zarar vermeye başlar ve bu da, uzun süreli organ hasarları veya aşırı dozdan ölümlere kadar gidebilir.

İnsanlarda demir zehirlenmesinin başlangıç değeri vücut ağırlığının kilogramı başına alınacak 20 miligram demirdir. Kilogram başına 60 miligram demir, öldürücü dozdur. Altı yaşından küçük çocuklarda en çok görülen zehirlenme yoluyla ölüm nedeni, ferros sülfat tabletlerinin aşırı tüketimidir. Vücudun dayanabileceği günlük demir üst sınırı yetişkinlerde 45 miligram, 14 yaş altı çocuklarda ise 40 miligramdır.

Demir eksikliği hastalığı (demir eksikliğine bağlı anemi) olanların haricinde ve bir doktora danışmaksızın demir takviyesi ilaçlarının kullanımı sakıncalıdır. Kan veren kişiler de düşük demir seviyesi riskine sahip olup demir alımlarını takviye etmelidirler.

Demirden ileri gelen toksikasyonlarda spesifik antidot Deferroksamin'dir.

Ferroz (Fe^{2+}) ve ferrik (Fe^{3+}) durumlar arasında kolaylıkla değişim yapabildiğinden dolayı, demir bir redoks sistemi olarak fonksiyon görebilir. Hem demir-sülfür proteinlerindeki non-hem demiri hem de stokromlardaki hem demiri bu yolla kullanılır. Demir aynı zamanda siyanid, karbonmonoksit, moleküler oksijen, ve

organik moleküllerdeki azot atomları üzerinde bulunan serbest elektron uçlarına bağlanabilirler. Bu özellik hemoglobin, miyoglobin ve sitokrom oksidaz gibi oksijen bağlayan proteinlerde kullanılır. Aşırı veya yanlış yerlerde bulunduğu zaman demir çok toksiktir: diğer ağır metallerde olduğu gibi demir bazı proteinlere bağlanır, onların yapılarını ve biyolojik özelliklerini bozar. Hatta daha kötüsü, moleküler oksijen varlığında reaktif hidroksil ve oksidatif hasar oluşturmak suretiyle oksidatif hasarı başlatabilir. Bundan dolayı serbest demir konsantrasyonu, yani bağlı olmayan demir minimumda tutulmalıdır. Bu, fizyolojik şartlarda demirle tam olarak doyurulmamış demir bağlayıcı proteinlerle sağlanır. Normal yetişkin bir insanda 3-4 gram demir bulunur.

3. KAYNAK ARAŞTIRMASI

El-Ries ve arkadaşlarının 1994 yılında yapmış oldukları "Cu(II)-Lignokain kompleksinin hazırlanması ve karakterizasyonu. Farmasötik preparatlarda lignokainin atomik absorpsiyon spektroskopisiyle indirekt hesaplanması" başlıklı çalışmalarında, lignokain kompleksi üzerindeki ilginin, çözeltiler üzerinde inceleme yapan birkaç çalışmacının dikkatini uyandırdığı, ancak katı haldeki kompleksler, yapıları ve geometrileri ile ilgili daha az dikkat çektiğinin görüldüğü ifade edilmiştir. Bu çalışmanın amacının katı Cu-lignokain kompleksi hazırlamak ve elementel analiz, TGA, ve iletkenlik ölçümleriyle karakterize etmek olduğu belirtilmiştir. Cu(II) ve lignokain arasındaki bağlanma, IR ve H-NMR spektrumlarıyla doğrulanmıştır. Elektronik ve EPR spektral çalışmaları, Cu(II) iyonu etrafında lignokain moleküllerinin geometrisini açıklamak için yürütülmüştür. Ayrıca, farmasötik preparatlarda lignokainin atomik absorpsiyon spektroskopisiyle tayini için indirekt bir yöntem anlatılmıştır.

Xu ve arkadaşlarının 2011 yılında yapmış oldukları "Nadir toprak metali ile ofloxacin komplekslerinin sığır serum albümini ve protein yapısına bağlanması üzerindeki etkilerinin incelenmesi" başlıklı çalışmalarında, bir Ofloksasin türeviyle Pr (III) ve Nd (III) suda-çözünür kompleksleri hazırlanmış ve karakterize edilmiştir. Tek-kristal X-ışını kırınımı, Pr (III) ve Nd (III) komplekslerinin benzer molekül yapısına sahip olduğunu göstermiştir. Fizyolojik pH koşulları altında, $[PrL(NO_3)_2(CH_3OH)](NO_3)$ ve $[NdL(NO_3)_2(CH_3OH)](NO_3)$ komplekslerinin büyükbaş hayvan serum albüminine (BSA) etkileri, UV-vis absorbansı ve döngüsel dikroizm (CD) spektrumlarıyla kombinasyonunda fluoresans spektroskopisi kullanılarak incelenmiştir. Sonuç, iki kompleksle BSA'nın floresansının söndürme mekanizmasının statik bir söndürme işlemi oluğunu ve bağlanma yerlerinin sayısının her ikisi için de 1 olduğunu ortaya çıkarmıştır. Termodinamik parametreler $[PrL(NO_3)_2(CH_3OH)](NO_3)$ için (ΔH= -14.52 kJ.mol^{-1},ΔS=56.54 J.mol^{-}1.K^{-1}) ve $[NdL(NO_3)_2(CH_3OH)](NO_3)$ için (ΔH= -24.63 kJ.mol^{-1} ΔS=22.07 J.mol^{-1}.K^{-1}), hidrofobik ve elektrostatik etkileşimlerin kompleksler-BSA sisteminde esas bağlanma gücü olduğunu göstermiştir. Kompleksler ve BSA arasında ortalama bağlanma mesafesi Forster teorisinin temelinden elde edilmiştir. Ayrıca, sulu çözeltide komplekslerin varlığında BSA'nın ikincil yapısının değiştiği CD spektrumlarıyla kanıtlanmıştır.

K.C. Skyrianou ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptıkları “Nikel kinolonların etkileşimi. Bölüm 4-Çinko (II) 'analogları ile karşılaştırılarak nikel (II) enrofloksasin komplekslerinin yapı ve biyolojik değerlendirilmesi” başlıklı çalışmalarında, azot-verici (donör) heterosiklik ligandlar 1,10-fenantrolin, 2,2'-bipiridin ya da piridinin varlığında veya yokluğunda, ikinci jenerasyon kinolon antibakteriyel madde enrofloksasin ile nikel (II) kompleksleri sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Enrofloxacin keton oksijeni ve bir karboksilat oksijeni üzerinden Ni (II) iyonuna koordine olmuş çift dişli ligant olarak hareket eder. (1,10-fenantrolin)bis (enrofloksasinato)nikel(II) 'nin kristal yapısı, X-ışını kristallografisiyle tayin edilmiştir. Dana-timus DNA (CT DNA) ile komplekslerin etkileşiminin UV çalışması, CT DNA’ya en yüksek bağlanma sabiti sergileyen, CT DNA ve bis(piridin)bis(enrofloksasinato)nikel(II) bağlanması olduğunu göstermiştir. Komplekslerin siklik voltamogramları CT DNA varlığında komplekslerin, arakatman bağlanma modu ile CT DNA'ya bağlanabilir olduğunu göstermiştir, aynı zamanda DNA çözeltisinin viskozite ölçümleriyle de teyit edilmiştir. Etidinyum bromür (EB) ile yarışmalı çalışma, EB ile güçlü bir rekabet içinde DNA ya bağlananları işaret ederek, komplekslerin DNA-bağlı EB ile yer değiştirebileceğini göstermiştir. Kompleksler, bağıl olarak yüksek bağlanma sabiti değerlerine sahip olan insan ya da sığır serum albümini proteinine iyi bağlama eğilimi gösterirler. Komplekslerin biyolojik özellikleri Zn (II) enrofloksasinato komplekslerine karşılık gelen birinci nesil kinolon oksolinik asitle nikel (II) kompleksleriyle kıyaslanarak değerlendirilmiştir.

B.Pan ve arkadaşlarının 2012 yılında yapmış oldukları “Ofloksasin Cu (II) Kompleksinin Sıcaklığa Bağımlılığı Floresan Söndürme Yöntemi İle İncelenmesi” başlıklı çalışmada, çevrede ağır metaller ve antibiyotiklerin bir arada olmaları yaygın bir durum olduğu ve etkileşimlerinin karşılıklı olarak çevresel davranışlarını ve riskleri değiştirebileceği ifadeedilmiştir. Bu çalışmada OFL-Cu(II) etkileşimi floresans söndürme deneyleri kulanılarak incelenmiştir. Olası yapay maddeler dahil edilmemiştir ve OFL söndürmesi, doğrusal Stern-Volmer grafiğiyle önerildiği gibi statik söndürmeye atıfta bulunmaktadır ve artan sıcaklık ile söndürmenin azaldığı gözlenmiştir.

OFL-Cu(II) etkileşimi kantitatif olarak stokiyometri eşitliği kullanılarak tanımlanmıştır. Yapılan hesaplama OFL-Cu(II) etkileşiminin 1:1 ve 1:2 komplekslerinin karışımı olduğunu göstermiştir. Negatif ΔG değerleri ve negatif ΔH değerleri

kompleksleşmenin kendiliğinden ve ekzotermik bir proses olduğunu göstermiştir. Katyon-p bağlanma ve elektrostatik etkileşim alınmamış ve OFL ketonik ve karboksil grupları ile Cu (II) 'nin kompleksleşmesi UV-visible spektrumu karakterizasyonu, pH bağımlı kompleksleşme, ve termodinamik analizi yoluyla önerilmiştir.

C. Tong ve arkadaşlarının 2007 yılında yapmış oldukları "Çevre Dostu Olan Enoksasin-Tb^{3+} Kompleksiyle DNA için Floresans Prob Geliştirilmesi ve Uygulaması" başlıklı çalışmalarında, Enoksasin kompleksinin (ENX)-TB^{3+} floresans şiddetinin DNA tarafından arttırılması incelenmiştir. Bu çalışmanın temelinde, tek-iplikli ve çift-iplikli DNAnın tayini için çevre dostu enoksasin-TB3 + floresans prob geliştirilmiştir. Uygun koşullar altında, artan floresans şiddetinin, hsDNA için 2.0×10^{-8}-2.0×10^{-6} $g.ml^{-1}$, ctDNA lçln 1.0×10^{-8}-1.0×10^{-6} $g.ml^{-1}$ ve termal denatüre ctDNA için 5.0×10^{-9}-1.0×10^{-6} $g.ml^{-1}$ aralığında DNA konsantrasyon ile orantılı olduğu bulunmuştur. Tespit limitleri (S/N=3), sırasıyla 5.0, 9.0 ve 3.0 $ng.mL^{-1}$dir. ENX-TB^{+3} ve DNA arasındaki etkileşim modları ve floresans artışının mekanizması detaylı olarak da tartışılmıştır. UV absorpsiyon spektrumları, floresans spektrumları ve ENX-TB^{3+} kompleksi ve EB prob arasındaki rekabet kombinasyon testleri, elektrostatik bağlanma ve interkalasyon bağlanması olmak üzere, en az iki farklı bağlanma moduna sahip DNA ve ENX-TB^{3+} kompleksi ve arasındaki olası etkileşim modlarını göstermiştir. Ayrıca bu floresans prob, ağır metaller ve DNA arasındaki etkileşimlerle ilgili çalışmalarda kullanılmıştır.

2002 yılında I.Türel tarafından yapılan, "Kinolon Antibakteriyel Ajanlarının Metal İyonlarla Etkileşimleri" başlıklı çalışmada, Kinolonların yapısal olarak nalidiksik asite dayanan sentetik antibakteriyel maddelerin bir grubu olduğu ve magnezyum veya alüminyum antasitleriyle eşzamanlı olarak tüketildiğinde Kinolon türü ilaçların absorbsiyonunun düşürülmüş olacağı belirtilmiştir. Birçok iyon ilaçlarda aynı etkiye neden olur. Böyle bir davranışın önerilen sebebi, metal iyonlarının kinolonlarla şelat bağı yapmasıdır. Bu derleme makalede, kinolon-metal komplekslerinin kristal yapıları sunulmuş ve tartışılmıştır. Farklı fiziko-kimyasal yöntemlerin (termal analiz, potansiyometrik ölçümler, IR, UV, NMR spektroskopi) sonuçlarının yanı sıra, bazı biyoaktiflik testlerinin sonuçları da dahildir.

Wei ve arkadaşalarının 2010 yılında yaptıkları "Siprofloksasin + Al (III) + La (III) + Setiltrimetilamonyum Bromür Sisteminin Ve Uygulamasının Artan Floresans Spektrumu Üzerinde Çalışma ve Uygulaması" başlıklı çalışmalarında, Siprofloksasinin

(CIP) floresansı, HAc NaAc-tampon çözeltisinde ve setiltrimetilamonyum bromür (CTMAB) varlığında Al (III) ve La (III) eklenmesiyle gözle görülür bir şekilde arttığı gözlemlenmiştir. Bu artan floresans spektrumları incelenmiş ve La (III) + CTMAB+ CIP + Al (III) için yeni bir ortak lüminesans sistemi keşfedilmiştir. Optimize edilen koşullar altında, 0.50-80.2µg.l^{-1} aralığında CIP konsantrasyonu ve floresans şiddeti artışı arasında doğrusal bir ilişki vardır. Eser miktarda CIP tayini için yeni artan floresans yöntemi, bu ortak lüminesans sistemi kullanılarak kurulmuştur. Önerilen yöntemin tespit sınırı, CIP için 0.17µg.l^{-1}dir. Bu yöntem, basit, hızlı ve hassas olduğu belirtilmiştir. Süt örneklerinde CIP, başarılı sonuçlarla önerilen yöntem ile analiz edilmiştir. Bağıl standart sapma ve geri kazanmaları sırasıyla % 3.21-4.34 ve % 97.1-100.1 aralığında bulunmuştur. Ortak lüminesans reaksiyonunun mekanizması ve floresans artışının sebepleri tartışılmıştır.

Zordok ve arkadaşlarının 2013 yılında yaptıkları "Ofloksasin ile Bazı Metallerin Etkileşimleri Üzerine Spektroskopik, Termal Analiz, Yapısal ve Antibakteriyel Çalışmalar" başlıklı çalışmada, Florokinolon antibakteriyel ajan ofloksasin ve V (IV), Zr (IV) ve U (VI) arasındaki reaksiyon metanol ve aseton ortamında incelenmiştir. Ofloksasinin metal kompleksleri oluşturma yeteneği yüksektir. İzole edilmiş katı kompleksleri, elementel analiz, manyetik momenti, iletkenlik ölçümleri, kızıl ötesi, elektronik, 1H-NMR spektrumu ve termal inceleme ile karakterize edilmiştir. Bütün komplekslerde ofloksasin ligandı, piridon ve karboksilat oksijeni üzerinden 1:2 oranında M:HOfl kompleksleri oluşturarak koordine olmuştur. Hesaplanan bağ uzunluğu ve kuvvet sabiti uranil kompleksinde, F (U =O), sırasıyla 1.73 Å ve 640.83 Nm^{-1}'dir. V (IV) ve Zr (IV) komplekslerinin metal-ligand bağlanması, farklı V (IV) ve Zr (IV) ofloksasin yapılarının tahmin edilen dipol momenti, B3LYP-CEP-31G seviyesi teorisinde yoğunluk fonksiyon teorisi DFT ve toplam enerji kullanılarak hesaplanmıştır. Sentezlenen bütün kompleksler esas bileşikler ve standart ilaçlarla karşılaşılaştırıldığında, S. aureus K1, Bacillus subtilis K22, Br. otitidis K76, Escherichia coli K32, Pseudomonas aeruginosa SW1 ve Klebsiella oxytoca K42'ye karşı daha yüksek biyolojik aktivite göstermişlerdir.

Kapetanović ve arkadaşlarının 1996 yılında yaptıkları "Ofloksasin-Cu(II) Kompleksinin Spektrofotometrik ve Polografik İncelenmesi" başlıklı çalışmada, Spektrofotometrik yöntemler aracılığıyla, ofloksasinin bakır (II) iyonlarıyla, pH 4.00'de

1:1, pH 7.02'de 2:1 ve pH 8.30'de 3:1 ofloksasin:Cu(II) molar oranları ile kompleks oluşturmak üzere reaksiyona girdiği bulunmuştur. Komplekslerinin stabilite sabitleri belirlenmiştir. Ofloksasin:Cu(II) oranı 1:1 ve 3:1 olan komplekslerin oluşumu polarografik yöntemle bulunmuş ve karşılık gelen genel kararlılık sabiti hesaplanmıştır.

Zhaohui ve arkadaşlarının "Sıvı-Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon ve Plazma Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi ile İnsan plazmasında lokal anestezikler belirlenmesi" başlıklı çalışmalarında yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile birlikte sıvı-sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (LLLME) İnsan plazmasında üç lokal anesteziğin, lidokain, bupivakain, ve tetrakain aynı anda tespiti için geliştirilmiştir. Karıştırma hızı, ekstraksiyon süresi ve analitlerin zenginleştirme faktörü üzerindeki donör fazda pH etkisi araştırılmıştır. En uygun deneysel şartlar, organik faz olarak 200 μL benzen, aksaptör olarak 1.0 μl 0.2 mol / L HCl, karıştırma hızı 250 rpm, ve ekstraksiyon süresi 45 dakika olarak elde edilmiştir. Bu şartlar altında, yüksek zenginlikte faktörleri (tüm analitler için 305-kat daha fazla) elde edildi. Çalışılan analitlerin doğrusal aralıkları tetrakain dışında 0.025 ila 5 mg / L aralığında 0.05 ila 5 mg / L dir.(0.996 dan daha yüksek bir korelasyon katsayısında). Algılama sınırları lidokain için 0.005 mg / L, bupivakain için 0.015 mg / L ve tetrakain için 0.025 mg / L. Sinyal-gürültü oranı 3 (S/N=3) tü. Bağıl standart sapma % 5 ten daha düşüktür. LLLME ile, analitlerin belirlenmesinde insan plazmasında araya giren bazı maddeler, verimli bir şekilde elimine edildi. Bu yöntem insan plazmasında, lidokain, bupivakain, ve tetrakain belirlenmesi için küçük çözücü tüketimi ile hassas ve uygundur. Bu yöntem, ile lokal anestezi ile tedavi edilen hastanın insan plazmasında iki lokal anesteziğin(lidokain, bupivakain) aynı anda tespiti mümkün oldu.

2007 yılında Paula ve arkadaşlarının "Lesitinde İki Tabaka İçinde Etidokain, Lidokainin EPR, Floresans ve 2'H NMR İle Öncelikli Konumunun Belirlenmesi" başlıklı çalışmalarında yumurtada fosfatidilkolin lipozomların açil zinciri parçası üzerinde etidokain (EDC) ve lidokainin (LDC) yüksüz türlerinin etkisini incelemişlerdir. İki anesteziğin neden olduğu membranın düzenlenmesindeki değişiklikler EPR Spin etiketleri (5, 7 ve 12 DOKSİL stearik asit metil esteri) ya da floresan probları (4, 6, 10, 16 piren yağ asitleri) aracılığıyla tespit edilmiştir. LA (lokal anestezik) dan kaynaklanan rahatsızlık; problar açil zincirinin daha fazla dış pozisyonlarında yerleştirildiğinde daha büyük olduğu ve zarın hidrofobik çekirdeğine

doğru doğru azaldığı görülmüştür. Sonuçlara göre EDC iki tabakalı kutup arayüzünde, LDC ise açil zincirinin ilk yarısında öncelikli bir katılma göstermektedir. Ayrıca, açil zincir perdeutero DMPC ve EPC'den (1:4'lük % mol) oluşan çok katmanlı lipozomlarının 2H NMR spektrumları açil zinciri bölgesinin segmental sırası (Smol) ve dinamikleri (T1) tespitine izin verdiği ifade edilmiştir. Floresans ve EPR nin uyumlu sonuçlarına göre moleküler yönelim ve dinamik değişiklikler daha belirgindir eğer LA tercihli konumu daha yüzeysel ise LDC için olduğu kadar EDC için de organize görünmektedir ve açil zincirinin 2 ile 8 nolu karbonları arasındaki konumlandırma onun göstergesidir. Bu iki tabakanın içine LDC ve EDC tercih edilen konumu, bir geçiş sahası oluşturur ki bu anestezik etki ile ilişkilidir, çünkü bu onların voltaj geçişli sodyum kanallarındaki kendi bağlanma yerlerine, bu moleküllerin erişimini modüle edebilir.

1990 yılında Fernandez ve Calderon'un misellerin içinde lokal anestezik tetrakainin perilen floresans bir söndürücü olarak kullanılması başlıklı çalışmasında nötr pH da tetrakain HCl lokal anesteziğinin lipofilik perilen boyasının floresans etkisini iyonik olmayan miseller içinde söndürmesi incelenmiştir. Bu proses Stern Volmer denklemini izler, florofor ve söndürme karşılaştırıldığında söndürme olacağı farzedilmektedir. pH 5' ten 1'e kadar söndürme sabiti sigmoidal biçimde açıkça azalmaktadır, pH 2.3 te orta noktaya doğru kavis başladığı ve pK'ya yaklaştıkça anestezik bütil amino grubunun karakteristik iyonizasyonu tanımlanmaktadır. Söndürme pH 1'in aşağısında tamamen tersine dönmektedir. Bu sonuçlar gösteriyor ki tetrakainin perilen floresansına olan söndürme yeteneği misel içindeki tetrakainin aromatik amin grubunun üzerinde yük olmamasına bağlıdır. Yine söndürme homojen dioksan su çözeltisinde çalışılmıştır. Bu sistemde de söndürme sabiti düşük pH' larda sigmoidal olarak azalmıştır. Kavisin dönüm noktası yaklaşık olarak tetrakainin bütil amino grubunun susuz ortamda pK'sı ile çakışmaktadır. Bu grubun protonlanması söndürmenin % 60 tersine dönmesine sebep olmaktadır. Ana floresans sönüm mekanizması protonsuzlaştırılmış tetrakainden perilenin uyarma bölgesine é transferinden kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Bununla birlikte, bu tip bir amino grubu pozitif yüklü olduğunda bile çalışır durumda kalır ve ek bir proses de dahil edilmelidir. Bu düşük pH ile oluşturulan miseller içinde perilen floresansının, tetrakainin söndürme etkisinin tam tersine, kendi aromatik amin protonlanması üzerine misel içine anesteziğin bölünme yetersizliği nedeniyle olduğu söylenmektedir. Bunun

aksine nötr pH' larda lokal anestezik, miselin polar olmayan çekirdeğine (perilen in yerleştiği) ulaşabilir. Bu modelle uyumlu olarak şu söylenebilir; tetrakainin membran sınırı normal yüzeye paralel çubuk gibi konfigürasyonda aromatik bütil amino grubu ise yüksek hidrofobik bölgeye yerleşmiş sayılabilir.

Literatür taraması sonucunda, diğer ilaç etken maddelerinin metal komplekslerinin spektroskopik yöntemlerle incelenmesi ile ilgili birkaç literatür olmasına karşılık, lokal anestezik maddelerin özellikle metabolik öneme sahip bazı metaller arasında oluşturulan komplekslerin spektroflorimetrik yöntemle incelenmesi konusunda yok denecek kadar az çalışmaya rastlanmıştır.

4. MATERYAL VE YÖNTEM

Ester grubu (EGLA) lokal anesteziklerin (tetrakain=TCN) saf suda florimetrik parametrelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Florimetrik parametrelerin belirlenmesi için saf suda tetrakain in uygun derişimlerdeki çözeltileri hazırlanarak, uyarma dalga boyları 10'ar nm aralıklarla değiştirilip emisyon spektrumları alınarak tetrakain in, her bir çözücüde maksimum floresans şiddetine sahip oldukları uyarma ve emisyon dalga boyları belirlenmiştir. Daha sonra vücuttaki pekçok metabolik reaksiyonda önemli rol oynayan demir (III) ile tetrakain den oluşturulan komplekslerin aynı çözücü ortamlarında kompleks oluşturacağı en uygun koşullar tayin edilmiştir. Bu amaçla pH, çözücü ortamı, kompleks oluşum süresi, tetrakain konsantrasyonu ve sıcaklık koşulları incelenmiş, çözelti ortamında oluşturulan kompleksin, belirlenen en uygun koşullar altında, uyarma ve emisyon spektrumları alınarak en yüksek floresans şiddetine sahip olduğu uyarma ve emisyon dalga boyları tesbit edilmiştir. Ayrıca tetrakain-metal komplekslerinin stokiyometrileri de en uygun koşullar altında spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir.

Aynı zamanda, belirlenen en uygun koşullarda çalışılan metallerin kalibrasyon eğrileri çizilerek geliştirilecek yöntemin doğrusal tayin aralığı, gözlenebilme ve alt tayin sınırları belirlenmiştir. Çalışma kapsamında yabancı iyonların etkisi de incelenmiştir.

Geliştirilen florimetrik söndürme yöntemi, EGLA ile demirin etkileşimlerinin incelenmesinde uygulanmıştır.

4.1. Kullanılan Cihazlar

4.1.1. Spektroflorimetre

Bu çalışmada floresans ölçümleri PERKIN ELMER LS/55 marka spektroflorimetre ile yapıldı. Uyarma ve emisyon monokromotorlarının slit aralığı ise 10-5 nm olarak ayarlandı ve tüm ölçümler bu aralıkta yapıldı. Optik uzunluğu 1 cm olan kuvars bir küvet kullanıldı.

4.1.2. Spektrofotometre

Kompleks stokiyometrisinin job metodu ile tayininde AGİLENT 8453 marka spektrofotometre kullanıldı.

4.1.3. pH

Maddeler ACCULAB ATILON marka hassas terazi kullanılarak tartıldı. Deney çözeltilerinin pH'larını ayarlamak amacıyla METTLER TOLEDO marka pH-metre ve aynı marka kombine cam-pH elektrodu kullanıldı. pH-metrenin kalibrasyonu, Merck firmasından temin edilen pH 4, pH 7 ve pH 10 tampon çözeltileri kullanılarak yapıldı.

4.1.4. Saf su cihazı, su banyosu ve ısıtıcı:

Çözeltileri hazırlamak için kullanılan ultra saf su Pure Lab Option-Q ELGA DV25 marka ultra saf su cihazdan elde edildi. Sıcaklığı 25°C'de sabit tutabilmek için WiseCircu marka sirkülasyonlu su banyosu ve çözeltiyi karıştırmak için ULTRASONIC LC/30H marka su banyosu kullanıldı.

4.2. Kimyasal Maddeler

4.2.1. Lokal anestezikler

Lokal anesteziklerin ilaç etken madde standartları, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen Germany firmasından temin edildi.

4.2.2. Çözücüler

Tüm deneysel çalışma boyunca çözeltilerin hazırlanmasında, saf su kullanıldı.

4.2.3. Amonyum asetat çözeltisi

Deney çözeltilerinin pH'sını ayarlamak amacıyla kullanılan %20'lik amonyum asetat çözeltisi, Merck firmasından temin edilen ekstra saflıktaki amonyum asetattan, saf su kullanılarak hazırlandı.

4.2.4. Hidroklorik asit ve sodyum hidroksit çözeltisi

Deney çözeltilerinin pH'sını ayarlamak için kullanılan *1M HCl ve 1M NaOH çözeltileri*, Merck firmasından alınan %37'lik ekstra saf hidroklorik asit ve ekstra saf sodyum hidroksitten, saf su kullanılarak hazırlandı.

4.2.5. Stok Demir Çözeltisi

Fe (III)'ün standart stok çözeltisi (1000 ppm), Merck firmasından temin edilen 1000 ppm'lik standart demir çözeltisinden, ultra saf su kullanılarak hazırlandı. Her gün, stok çözeltiden saf su ile seyreltilerek çalışma çözeltileri hazırlandı.

4.2.6. Bozucu iyonların çözeltileri

Bozucu iyonların etkisinin incelenmesinde kullanılan, magnezyum, çinko, kalsiyum, selenyum, bakır, krom, mangan, potasyum klorürün standart çözeltileri Merck firmasından ekstra saflıkta seçilerek temin edildi. Bunların uygun derişimlerdeki çözeltileri ultra saf su kullanılarak hazırlandı.

4.2.7. Stok tetrakain standart çözeltileri

10^{-3} M'lık tetrakain stok standart çözeltileri, standart tetrakain suda çözülerek hazırlandı. Stok çözeltiler karanlıkta ve minimum bozunma için 5°C'de buzdolabında tutulmuştur. 10^{-4} M'lık seyreltik tetrakain çözeltileri, günlük olarak suda hazırlanmıştır.

4.2.8. Tetrakain numune çözeltileri

Eczaneden alınan otimisin den 1 ml alındı ve 10 mL'lik balon jojede 5 dakika ultrasonik banyoda bekletilerek ultra saf suda çözüldü. Çalışma çözeltileri, bu çözelti uygun konsantrasyonlara ultra saf suyla seyreltilerek hazırlandı.

4.3. Deneysel İşlem

Fe(III)'ün TCN ile kompleks oluşumuna dayanan spektroflorimetrik tayini için kullanılan deneysel işlem şöyledir:

25 mL'lik bir ölçülü balona jojeye, demir derişimleri 10^{-6} M-10^{-4} M olacak şekilde Fe(III)'ün stok çözeltisinden 2.5 mL hacimlerinde ilave edildi. Bunun üzerine tetrakain için 2.5 mL 1×10^{-3} M stok tetrakain çözeltisinden, ilave edildi, 2.5 mL % 20'lik amonyum asetat çözeltisi eklendi. Daha sonra 1 M HCl ve 1 M NaOH çözeltileri kullanılarak pH 5.5'e ayarlandı. Çözeltilerin hacmi ultra saf suyla 25 mL'ye tamamlandı. Kompleks oluşumu için TCN - Fe(III) 20 dakika en uygun sıcaklıkta bekletildi. Hazırlanan bu çözeltilerin uyarma ve emisyon spektrumları alındı ve floresans şiddetleri ölçüldü. Belirlenen en uygun uyarma ve emisyon dalga boylarında, tetrakain için demir derişimleri 0.22-2.23 $\mu g.ml^{-1}$ aralıklarında olan Stern-Volmer kalibrasyon grafikleri (F_0/F-$[Fe^{+3}]$) çizildi. Belirlenen en uygun şartlarda bozucu iyon tayinleri yapıldı. Kompleks stokiyometrisi job metodu ile belirlenen en uygun deney şartları altında belirlendi. En uygun deney şartları altında vitamin-mineral kombinasyonu ilaçlarda bulunan Fe(III)'ün tayini yapıldı. Geri kazanım, alt tayin sınırı (LOQ) ve gözlenebilme sınırı (LOD) değerleri hesaplandı.

4.4. En uygun Deney Koşullarının Belirlenmesi

Öncelikle, TCN nin demirle kompleks oluşturacağı en uygun koşullar belirlenmeye çalışıldı. Bu amaçla pH, çözücü ortamı, kompleks oluşum süresi, TCN nin konsantrasyonları ve sıcaklık koşulları incelendi. Çözelti ortamında oluşturulan kompleksin, belirlenen en uygun koşullar altında, uyarma ve emisyon spektrumları alınarak en yüksek floresans şiddetine sahip olduğu uyarma ve emisyon dalga boyları belirlendi. Aynı zamanda, belirlenen en uygun koşullarda demirin Stern-Volmer kalibrasyon eğrileri çizildi ve geliştirilen yöntemin tayin aralığı ve alt tayin sınırı belirlendi.

4.4.1. Uyarma ve emisyon dalga boylarının belirlenmesi

TCN stok çözeltisinden 2.5 mL alındı ve demirin stok çözeltisinden 2.5 mL alınarak 25 mL'lik bir behere ilave edildi. Üzerine 2.5 mL amonyum asetat eklenerek HCl ve NaOH ilave edilerek belirlenen pH' ya ayarlandı. TCN ler ve demir kompleksleri çoklu taramalar yapılarak uygun dalga boyları seçilmiştir. TCN nin demir kompleksi için uygun uyarma ve emisyon dalga boyları belirlendi. Daha sonraki sıcaklık, süre ve stokiyometri çalışmalarında belirlenen dalga boyları kullanılmıştır.

4.4.2. TCN' nin uygun derişimlerinin belirlenmesi

TCN için 1×10^{-3} M stok çözeltisi ultra saf su ile hazırlandı. Stok çözeltiden uygun hacimlerde seyreltilerek 1×10^{-4} M, 1×10^{-5} M, 1×10^{-6} M TCN çözeltileri hazırlandı. Daha sonra bu çözeltilere uyarma dalga boyu 200 nm den başlayan ve 10'ar nm arttırılarak 26' lı çoklu tarama yapıldı. Yapılan taramalar sonucunda belirlenen dalga boylarında, en yüksek floresans şiddetini veren TCN derişimleri seçildi.

4.4.3. Uygun pH'nın belirlenmesi

TCN in, ortamın asidik ve bazik olmasına göre metal iyonlarıyla kompleks oluşturma özellikleri farklıdır. Bu yüzden kompleks oluşumunda pH önemli bir etkiye sahiptir. Belirlenen derişimlerdeki TCN in pH 4-7 arasında çoklu spektrum taraması yapılarak floresans şiddetleri ölçüldü. Daha sonra pH 4-7 arasında TCN ile Fe(III)'ün farklı konsantrasyonlarıyla su ortamında kompleks oluşturuldu. Oluşturulan komplekslerin uygun dalga boylarında floresans şiddetleri ölçüldü ve floresans şiddetleri pH'ya karşı grafiğe geçirildi. Kompleks oluşumu için en uygun pH aralığı belirlendi.

4.4.4. Kompleks oluşumuna sıcaklığın etkisinin belirlenmesi

TCN in demir komplekslerine sıcaklığın etkisinin belirlenmesi için, belirlenen pH'larda ve konsantrasyonlarda 20 ve 40˚C arası çözeltiler hazırlandı. Belirlenen dalga boylarında floresans şiddetleri ölçüldü. Elde edilen floresans şiddetleri sıcaklığa karşı grafiğe geçirilerek, TCN demir kompleksleri için en uygun sıcaklıklar belirlenmiştir.

4.4.5. Kompleks oluşum sürenin etkisi

TCN demir komplekslerinin çözeltileri belirlenen diğer en uygun koşullar altında hazırlandı ve kompleks oluşumu için 5-60 dakika sürelerle bekletildi. Elde edilen floresans şiddetleri süreye karşı grafiğe geçirilmiştir. TCN demir kompleksleri için uygun kompleks oluşum süresi belirlenmiştir.

4.4.6. Kalibrasyon grafiklerinin çizilmesi

TCN demir komplekslerinin pH 5.5 'da, 0.22-2.23 $\mu g.ml^{-1}$ demir içeren çözeltilerinin (herbir çözelti 2.5 mL % 20'lik amonyum asetat ve su ortamında hazırlanmıştır) floresans şiddeti ölçülerek, Stern-Volmer eşitliğine göre demir derişimine karşı floresans şiddetleri grafiğe geçirildi. Ayrıca elde edilen eğrilerden bu spektroflorimetrik yöntem ile tayin edilebilecek en düşük demir konsantrasyonları da belirlendi.

4.4.7. Kompleks stokiyometrisinin belirlenmesi

TCN-Fe(III) kompleksinin stokiyometrisi, job yönteminin spektrofotometre uyarlanmasıyla belirlendi. Bu amaçla demir ve TCN in 1×10^{-4} ve 1×10^{-4} M' lık çözeltileri hazırlanarak, TCN in demire mol oranı 0:10 ile 10:0 arasında olacak şekilde, her iki derişim için birer seri çözelti hazırlandı. Çözeltilerin pH'sı 5.5'a ayarlandı ve kompleks oluşumu için 10 dakika beklendi. Daha sonra çözeltilerin hacimleri ultra saf suyla 25 mL'ye tamamlandı. Bu çözeltilerin floresans şiddetleri ölçülerek TCN hacmine karşı grafiğe geçirildi

4.4.8. Demir tayinine yabancı iyonların etkisi

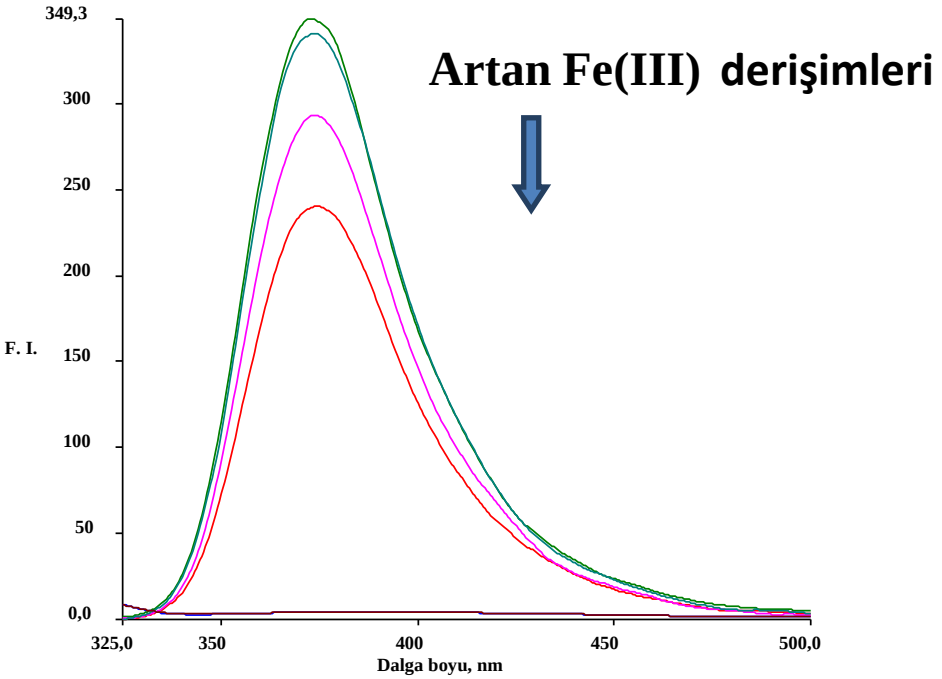
TCN ile demirin florimetrik tayinine, insan vücudunda ve kanda bulunan diğer anyon ve katyonların (Se, Cu, Ca, Mg, Zn, I, Cl, Mn ve Cr) bozucu etkisini incelemek amacıyla, demir içeren çözeltiye, incelenen iyonun demire oranı sırasıyla 1000, 100, 10, 1 ve 0.1 olacak şekilde incelenen iyonu içeren çözelti eklenerek belirlenen en uygun şartlarda çözeltiler hazırlandı. Her bir çözeltinin floresans şiddeti ölçülerek, TCN-Fe(III) komplekslerinin floresans şiddetinde meydana getirdikleri farklar belirlendi.

5. DENEY SONUÇLARI VE TARTIŞMA

5.1. Uygun Uyarma ve Emisyon Dalga Boylarının Belirlenmesi

TCN Fe(III) komplekslerinin uygun pH'larda çözeltileri hazırlanarak uyarma dalga boyları 200 nm den başlayarak 10'ar nm arttırılan dalga boylarında yirmi altılı çoklu tarama yapılarak floresans değerleri okundu. TCN ve demir için 10^{-6}-10^{-4} M çözeltilerinin pH 5.5' da uyarma ve emisyon spektrumları kaydedildi (Şekil 5.1).

En uygun uyarma ve emisyon dalga boyları sırasıyla, TCN demir kompleksi için 306 ve 373 nm, olarak belirlenmiştir.



Şekil 5.1. Dört farklı demir derişiminde TCN-Fe (III) kompleksinin emisyon spektrumları (pH=5.5, λ_{uy}= 306 nm, λ_{em}=373 nm, [TCN]=10^{-4} M, [Fe^{3+}]= 0, 0.22, 0.45, 0.89, 1.34, 2.23 and 4.48 μg.ml^{-1})

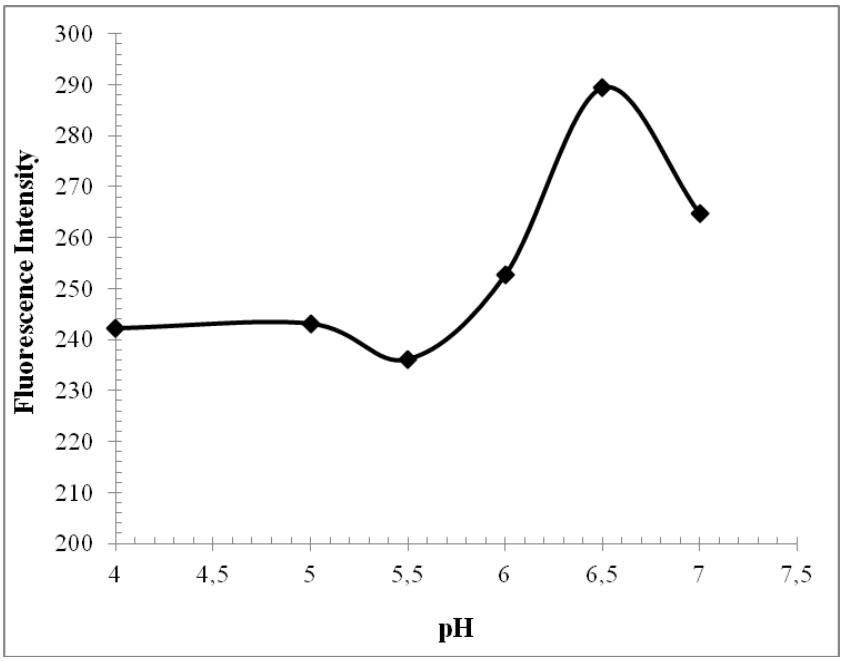
5.2. TCN' nin Uygun Derişimlerinin Belirlenmesi

TCN-Fe(III) kompleksinde ligand olarak kullanılan TCN in yüksek floresans özelliğe sahip olmalarından dolayı, bu reaktifin konsantrasyonunun çok iyi seçilmesi

gerekmektedir. Bu nedenle, TCN derişimi 1×10^{-3}, 1×10^{-4} ve 1×10^{-5} M olan çözeltileri hazırlanarak floresans şiddetleri ölçüldü. Daha sonra bu çözeltilere uyarma dalga boyu 200 nm' den başlayan yirmi altılı çoklu tarama yapıldı. Yapılan taramalar sonucu, demir kompleksleri TCN in floresans şiddetini düşürdükleri için, yüksek floresans şiddetini veren TCN derişimleri seçildi. TCN için 1×10^{-4} M derişimi seçildi.

5.3. Uygun pH'ın Belirlenmesi

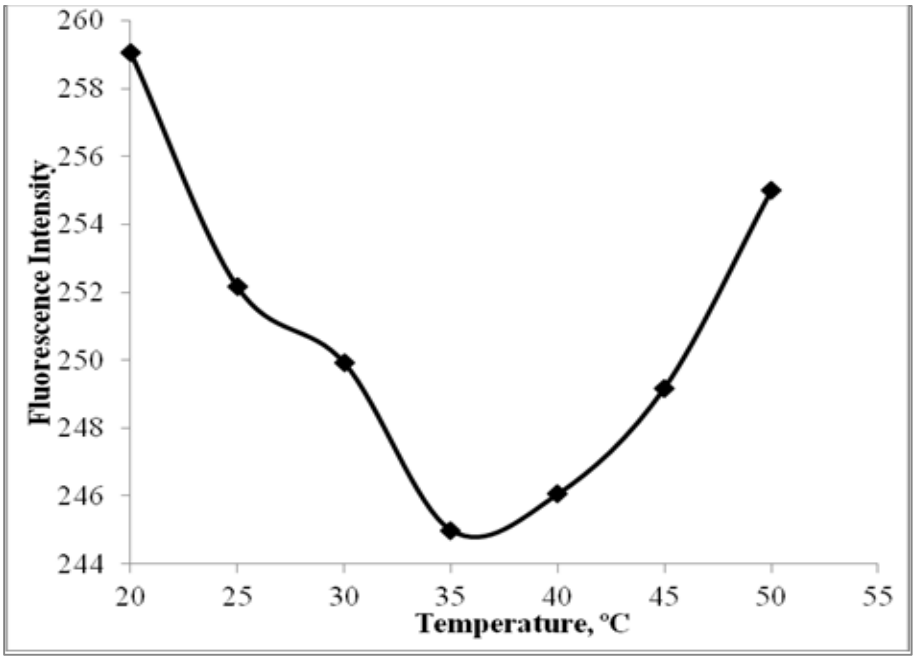
Kompleks oluşum reaksiyonlarında pH'nın önemli olduğu bilinmektedir. Çalışılan TCN, hidrojen iyonu bağlayabilen bir ligand olduğundan bir katyon ile kompleks verirken hidrojen iyonları ile metal iyonu bir yarışmaya girecektir. Bu nedenle, metal iyonunun tamamen kompleksleştiği pH aralığının bulunması önemlidir. Kompleks oluşumu için en uygun pH'ın belirlenmesi amacıyla su ortamında, her birinin pH'sı 4 ile 7 arasında olacak şekilde 10^{-3}-10^{-5} M demir içeren TCN-Fe (III) kompleks çözeltileri hazırlanarak, her bir demir derişimi için floresans şiddetleri pH'ya karşı grafiğe geçirildi (Şekil 5.2). Demir derişiminin 10^{-3} M olduğu TCN kompleksinde floresans şiddeti çok düştüğü için ve pH 7'den sonra demirin oksit şeklinde çökmesinden dolayı, bu komplekslerin floresans şiddetleri sağlıklı olarak okunamamıştır. TCN demir kompleksinde en uygun sonuçlar demir derişiminin 10^{-4} M olduğu zaman elde edilmiştir. Floresans şiddetleri pH ya karşı grafiğe geçirelerek uygun pH seçilmiştir ve floresans şiddetinin en düşük olduğu pH uygun olarak belirlenmiştir. TCN demir kompleksi için pH 5.5 olarak seçilmiştir.



Şekil 5.2. TCN -Fe(III) kompleksinin floresans şiddetine pH'nın etkisi. Deney koşulları: [TCN] = 10^{-4} M, [Fe^{3+}] = 10^{-4} M, 35˚C, su ortamı, λ_{uy} = 306 nm, λ_{em} = 373nm.

5.4 . Kompleks Oluşumuna Sıcaklığın Etkisinin Belirlenmesi

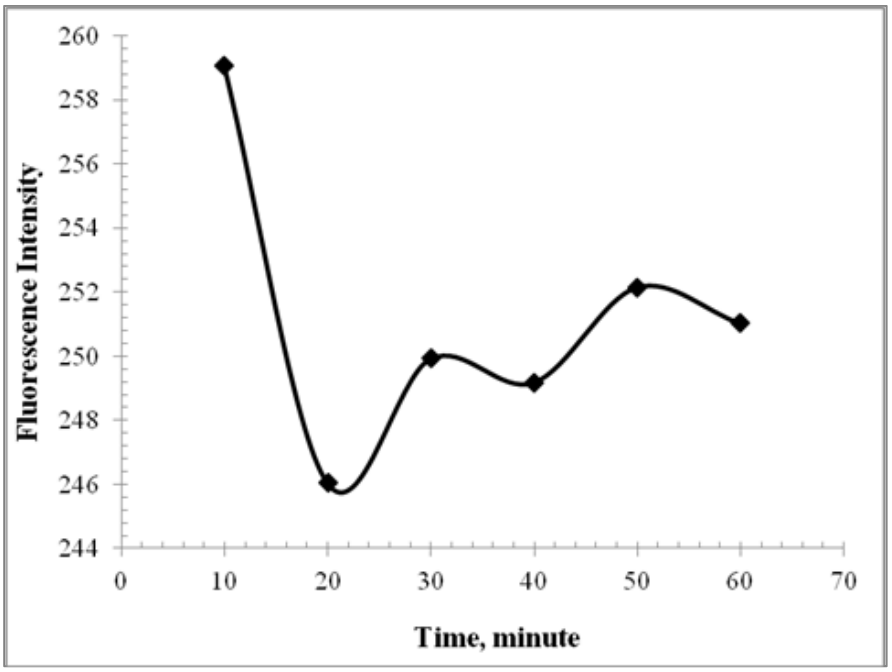
Kompleks oluşumu üzerine sıcaklığın etkisinin büyük olduğu belirtilmektedir. TCN demirle kompleksine sıcaklığın etkisinin belirlenmesi için belirlenen pH' larda ve konsantrasyonlarda 20-50˚C arasında çözeltiler hazırlandı. Belirlenen dalga boylarında floresans şiddetleri ölçüldü. TCN demir kompleksinin 40˚C den sonra bozulduğu gözlenmiştir. Elde edilen floresans şiddetleri sıcaklığa karşı grafiğe geçirilmiştir (Şekil 5.3). TCN demir kompleksi için 35˚C seçilmiştir.



Şekil 5.3. TCN -Fe(III) kompleksinin floresans şiddetine sıcaklığın etkisi. Deney koşulları: [TCN] = 10^{-4} M, [Fe^{3+}] = 10^{-4} M, pH = 5.5, su ortamı, λ_{uy} = 306 nm, λ_{em} = 373 nm.

5.5. Kompleks Oluşum Süresinin İncelenmesi

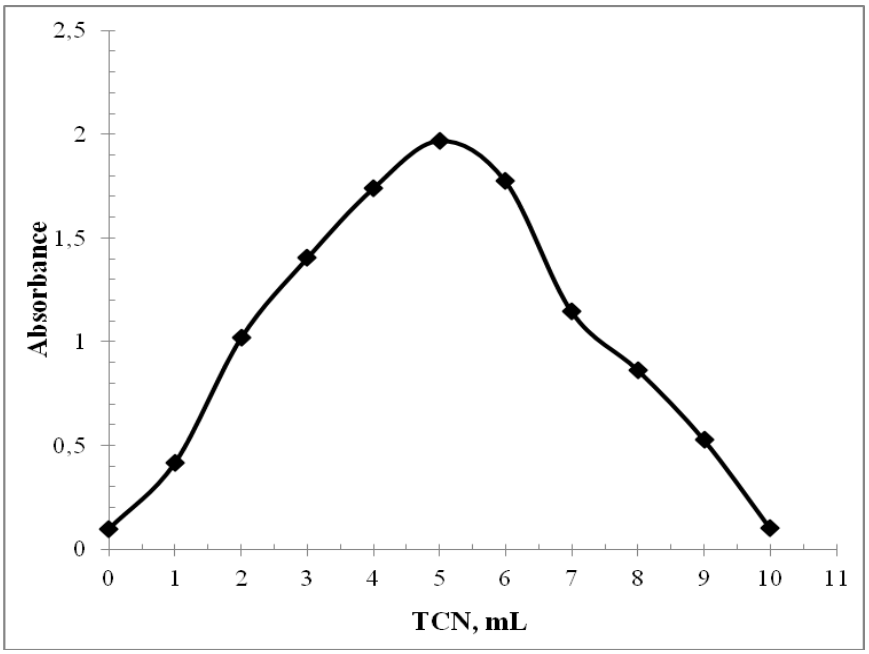
Sürekli olarak yapılan analizler için ne kadar kısa sürede analiz yapıldığı oldukça önemlidir. Bu çalışmada analiz süresini etkileyen en önemli faktör kompleks oluşum süresidir. Bu sürenin belirlenmesi amacıyla pH 5.5'da, su ortamında, 1×10^{-4} M derişiminde ve demir derişimleri 1×10^{-4} M olacak şekilde çözeltiler hazırlanarak, kompleks oluşumunun tamamlanması için her bir çözelti 5-60 dakika arasında 5'er dakika aralıklarla bekletildi. Daha sonra bu çözeltilerin, TCN için 306 nm uyarma dalga boyu, 373 nm emisyon dalga boyunda floresans şiddetleri ölçülerek, zamana (dakika cinsinden) karşı grafiğe geçirildi (Şekil 5.4). TCN demir kompleksi için 20 dakika seçilmiştir.



Şekil 5.4 TCN -Fe(III) kompleksinin floresans şiddetine kompleks oluşum süresinin etkisi. Deney koşulları: [TCN] = 10^{-4} M, [Fe^{3+}] = 10^{-4} M, pH = 5.5, su ortamı, λ_{uy} = 306 nm, λ_{em} = 373nm.

5.6. Kompleks Stokiyometrisinin Belirlenmesi

Çalışmada, oluşan kompleksin yapısı ile ilgili bir öneri yapabilmek için kompleksinin stokiyometrisinin belirlenmesi düşünüldü. Bu amaçla, literatürde bu tip komplekslerin stokiyometrisinin tayini için uygun olduğu bilinen spektrofotometrik Job yöntemi kullanıldı. TCN demir kompleksi için bu amaçla TCN ve demir derişimleri sırasıyla1×10^{-4} ve 1×10^{-4} M olacak şekilde çözelti hazırlanarak, TCN in demire oranı 0:10 ile 10:0 arasında olacak şekilde, hacimleri birer birim değiştirilmek suretiyle her iki derişim için en uygun koşullarda birer seri çözelti hazırlandı. Hazırlanan çözeltilerin pH'sı 5.5'a ayarlandı. Bu çözeltilerin 306nm uyarma dalga boyunda absorbans değerleri ölçülerek ligandın (TCN) hacmine karşı grafiğe geçirildi,(Şekil 5.5.) Elde edilen eğriden TCN demire mol oranının (1:1) olduğu belirlendi. Buna göre su ortamında oluşan kompleksin Fe(TCN) şeklinde olduğu söylenebilir.



Şekil 5. 5. TCN ve Fe(III)'ün aynı derişimlerdeki TCN-Fe(III) kompleksinin stokiyometrisinin job yöntemiyle belirlenmesi (pH=5.5, λ_{abs} = 295 nm, $[Fe^{3+}] = 10^{-4}$ M, $[TCN]=1\times10^{-4}$ M)

5.7. TCN floresansının Fe(III) kompleksleriyle sönme mekanizması

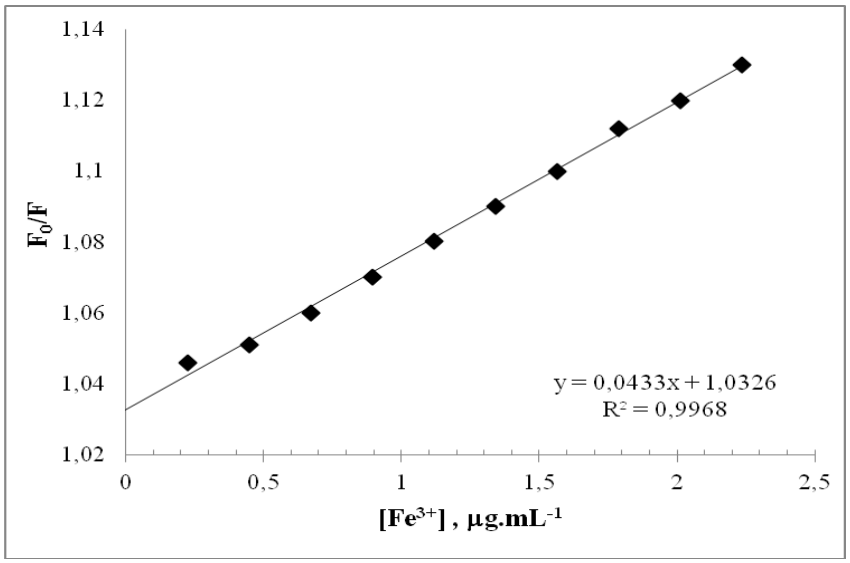
Floresans sönmesi, bir florofordan söndürücü molekülle, uyarıcı durum reaksiyonlarıyla, moleküler düzenlemeyle, enerji transferiyle, temel halde kompleks oluşumuyla ve çarpışmaya bağlı söndürme işlemleri gibi muhtelif moleküler etkileşimlerle floresansın miktarındaki azalmadır. Sönme dinamik veya statik olarak değişik mekanizmalarla sınıflandırılabilir. Dinamik sönme floroforla söndürücü arasındaki çarpışma sonucunda, statik sönme ise floroforla söndürücü arasında temel halde kompleks oluşması sonucunda oluşur. Genel olarak dinamik ve statik sönme, farklı sıcaklık ve viskozitedeki ilişkileri ile ayırt edilebilirler. Sönme oranı sabitleri statik sönmede sıcaklık artışı ile azalırken dinamik sönmede tam tersi olur [Lakowicz, 1999].

Komplekslerle oluşan sönme mekanizmasını daha açık hale getirmek için, Stern-Volmer eşitliklerinden oluşturulan, [Q]'ya karşı F_0/F grafikleri Şekil 5.6'da görülmektedir. Eğriler, Stern-Volmer sönme eşitliklerine gore düzgün lineer ilişki göstermektedir (Eşitlik (1)) [Lehrer, 1971; Lakowicz, 1973]:

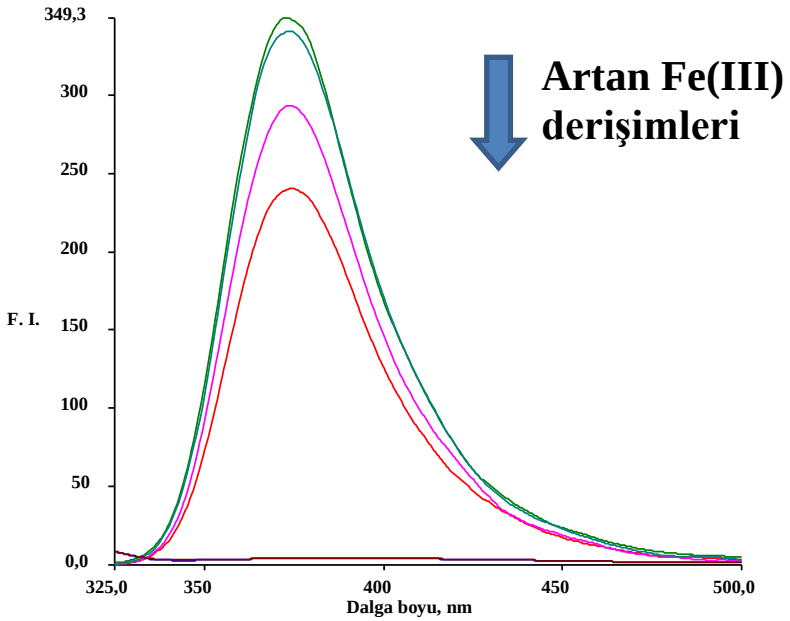
$$F_0/F = 1+ K_q\tau_0[Q] = 1+K_{sv}[Q] \qquad (1)$$

Eşitlikte, F_0 ve F sırasıyla söndürücü varlığında ve yokluğunda floresans şiddetlerini, [Q] söndürücünün konsantrasyonunu, τ_0 söndürücü yokluğunda ortalama ömrü, ve K_q diffüzyon katsayısı ve dolayısıyla çözücü sıcaklığıyla orantılı olması beklenen sönme oranı sabitini göstermektedir. Ksv Stern-Volmer sönme sabitidir. ELGA ların floresans ömür süresi olarak (τ_0) 10^{-8} s civarında alındığında [Lakowicz, 1999], dinamik sönme sabiti (K_{sv}, M^{-1}), ve buna bağlı olarak yaklaşık sönme sabiti (K_q, $M^{-1}s^{-1}$), F_0/F-[Fe^{+3}] diagramındaki eğriden saptanabilir (Şekil 5.6). Genel olarak, dinamik süreçte, floresans komplekslerin sönme oran sabitleri sıcaklıkla artar. Yüksek sıcaklıklar daha hızlı diffüzyona ve büyük oranda çarpışma sonucu sönmeye neden olur. Bu sebepten, sönme mekanizmalarının öncelikle dinamik sönmeye bağlı olduğunu söyleyebiliriz.

Lokal anestezikler kullanılarak, demirin florimetrik tayininin yapılabilmesi amacıyla kalibrasyon grafiklerinin çizilmesi gerekir. Bu kalibrasyon grafiklerinden yararlanılarak demirin tayin edilebileceği, tayin aralığı ve tayin edilebilecek en düşük demir derişimi belirlenebilir. Kalibrasyon grafikleri Stern-Volmer eşitlikleri kullanılarak çizilmiştir. Çünkü Fe(III) iyonları, spektroflorimetrik olarak floresans sönümleme (quenching) metodu ile tayin edilmiştir. TCN -Fe (III) kompleksi için pH 5,5 da 0.22-2.23 $mg.ml^{-1}$ aralığında demir içeren ve en uygun koşullarda hazırlanan çözeltiler TCN için 306 nm, 373nm uyarma dalga boylarında floresans şiddetleri ölçülerek F_0/F-[Fe^{+3}] Stern-Volmer kalibrasyon grafikleri çizilmiştir (Şekil 5.6).



Şekil 5.6. TCN – Fe(III) kompleksi nin, 0.22-2.23 µg.ml^{-1} demir derişimi aralığında Stern-Volmer kalibrasyon grafiği (pH=5.5, λ_{uy}=306 nm ve λ_{em}=373 nm, [TCN]=1×10^{-4} M).



Şekil 5.7. TCN – Fe kompleksinin, 0.22-4.48 µg/mL demir derişimi aralığında floresans spektrumları (pH=5.5, λuy=306 nm ve λem=373 nm, [TCN]=1×10^{-4}M)

Kalibrasyon grafiklerinden de anlaşılacağı gibi, farklı derişim aralıklarında demir içeren numunelerde, demir tayini büyük bir doğrulukla yapılabilir. Çünkü, elde edilen eğrilerin korelasyon katsayıları 1'e yakın değerlerdir.

5.8. Bozucu Etki Yapan Türlerin Belirlenmesi

EGLA' lerin insan vücudunda ve kanda bulunan diğer katyonlarla (Se, Cu, Ca, Mg, Zn, Mn ve Cr) kompleks oluşturduğu ve demirin de pekçok anyonla (I, Cl) etkileştiği, hatta EGLA-metal komplekslerinin yapısına bu anyonların katılabildiği de bilinmektedir. Bu nedenle önerilen spektroflorimetrik demir tayin yöntemine, diğer katyon ve anyonların etkisinin incelenmesi gerekmektedir. Çizelge 5.1' de demir tayinine etki eden yabancı iyonlar gösterilmiştir. Ca(II) ve Mg(II) iyonlarının yabancı iyonun demire mol oranının >1000 olduğu durumda bile demir tayinini etkilemediği, ancak Se(IV) ve Cr(III) iyonlarının ise yabancı iyonun demire mol oranının <0.1 olduğu durumda tayini büyük oranda bozduğu belirlenmiştir.

Çizelge5.1. Demirin TCN ile florimetrik tayininde çeşitli iyonların etkisi ([TCN]=1×10^{-4} M, [Fe^{+3}]= 10^{-4} M, pH=5.5)

Tolerans oranı, ($m.m^{-1}$)	Yabancı İyonlar
0.1	Se^{4+}, Cr^{3+},
1.0	Cu^{2+}
10	Mn^{2+}
100	Zn^{2+}
1000	$Ca^{2+,}$ Mg^{2+}

5.9. Demirin Florimetrik Tayini İçin Belirlenen En Uygun Koşullar

Yukarıda yapılan bütün çalışmalar demir tayini için en uygun koşulların aşağıdaki gibi olduğunu göstermiştir;

Çizelge 4.2. TCN demirin tayini için belirlenen en uygun koşullar

Uyarma dalga boyu	306nm
Emisyon dalga boyu	373 nm,
En uygun TCN konsantrasyonu	1×10^{-4} M
En uygun pH	5.5
En uygun çözücü ortamı	su ortamı
Kompleks oluşum sıcaklığı	35°C
Kompleks oluşum süresi	20 dakika

5.10. Yöntem Validasyon

5.10.1. Doğrusallık

Regresyon grafiği, Çizelge 5.5'de verilen aralıkta Fe (III) konsantrasyonu üzerinde floresans şiddetinin doğrusal bir bağıntısının olduğunu göstermiştir. TCN Fe(III) komplekslerine ait verilerin doğrusal regresyon analizi aşağıdaki eşitliklerle verilmiştir:

$F_0/F = 0.0433\ C + 1.0326,\ R^2 = 0.9968$

F_0 ve F, Fe(III)'ün yokluğu ve varlığında TCN floresans şiddetleri, C, $\mu g.mL^{-1}$ olarak Fe (III)'ün konsantrasyonu, R^2 ise, korelasyon katsayısıdır. Doğrusallık, en uygun şartlar altında, Fe(III)- TCN kompleksi için 0.22-2.23 $\mu g.ml^{-1}$ olarak belirlenmiştir.

5.10.2. Gözlenebilme sınırı (LOD) ve alt tayin sınırı (LOQ)

Fe(III)-TCN kompleksi için geliştirilen yöntemin gözlenebilme sınırı (LOD) sırasıyla 8.29 $ng.mL^{-1}$ ve bu komplekslerin alt tayin sınırı (LOQ) sırasıyla 27.6 olarak bulunmuştur. Sonuçlar Çizelge 5.3'de verilmiştir.

Çizelge 5.3. Geliştirilen floresans söndürme yönteminin istatistik parametreleri

Parametreler	Fe(III)-TCN kompleksi
Doğrusal aralık ($\mu g.ml^{-1}$)	0.22-2.23
LOD ($ng.ml^{-1}$)	8.29
LOQ ($ng.ml^{-1}$)	27.60
Eğim (b)	0.0433
Kayma (a)	1.0326
Korelasyon katsayısı (R^2)	0.9968

5.10.3. Doğruluk ve kesinlik

Geliştirilen florimetrik yöntemin doğruluk ve kesinliği, numunelerin beş tekrarlı (n=5) analiziyle tayin edilmiştir. Bağıl ortalama hata olarak ifade edilen yöntemin doğruluğu, % 0.50–0.98 aralığındadır. Düşük değerlerdeki yüzde bağıl standart hata (% 0.92-1.86), TCN ile Fe(III) iyonu arasındaki etkileşimin tayini için geliştirilen yöntemin iyi bir kesinliğinin ve tekrar yapılabilirliğinin olduğunu göstermektedir. Bu istatistik parametreler Çizelge 5.4'da verilmiştir.

5.10.4. Geri kazanım

Sonuçlar, geri kazanımların % 86.80–103.00 aralığında olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar Çizelge 5.4'de verilmiştir.

Çizelge 5.4. Florimetrik söndürme yöntemiyle TCN ve Fe(III) iyonu arasındaki etkileşimlerin tayini için geri kazanım çalışmaları.

Eklenen Fe(III) iyonu ($\mu g.ml^{-1}$)	Bulunan Fe(III) iyonu (μgml^{-1}) ± SD [a]	Geri kazanım (%)	RSD (%)
0.894	0.864±0.009	96.65	1.042
1.117	1.097±0.008	98.21	0.729
1.340	1.326±0.004	98.89	0.302
1.564	1.557±0.007	99.54	0.449
2.011	2.014±0.006	100.16	0.298

[a] Üç tayinin ortalaması ve standart sapması

5.11. Geliştirilen Florimetrik Söndürme Yönteminin Eczaneden Alınan İlaca Uygulanması

Tetrakain için eczaneden alınan otimisin isimli ilaç içindeki pantokain(tetrakain-HCl) etken maddesinin sulu çözeltisi hazırlanarak kullanıldı. Bu çözelti içindeki TCN ile standart demir(III) çözeltisinden alınan demirin komplex oluşturmasına bakıldı. Bu uygulamaların sonuçları Çizelge 5.5'de verilmiştir.

Çizelge 5.5. Fe(III) iyonunun florimetrik söndürme yönteminin Otimisin kulak damlasına (220 mg tetrakain HCl(pantokain)/10 ml ilaç içinde) uygulanması

İlaca eklenen Fe(III) , $\mu g.ml^{-1}$	Bulunan Fe(III), $\mu g.ml^{-1}$	Geri kazanım (%)
1.34	1.40±0.08	104.45
1.56	1.60±0.10	102.56
2.23	2.30±0.12	103.14

[a] 5 değerin ortalaması ve standart sapması

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez çalışması kapsamında, ester grubu lokal anesteziklerden tetrakainin öncelikle çözücü çalışması yapılarak, suda çok kısa sürede çözündüğü ve insan plazmasına da uygun olduğu için çözücü olarak su seçilmiştir. Daha sonra tetrakainin floresans özelliklerini incelenerek, yüksek floresans özelliğe sahip bir madde olduğu tespit edilmiştir. Farklı derişimlerde (1×10^{-4} M, 1×10^{-5} M, 1×10^{-6} M) TCN çözeltileri hazırlanmış, en uygun floresans şiddetine sahip olduğu, 1×10^{-4} M tetrakain derişiminde uyarma dalga boyu 306 nm en uygun olarak seçilmiştir. Bu dalga boyunda emisyon dalga boyu ise 373 nm olarak tespit edilmiştir. Daha sonra tetrakainin demir ile kompleks oluşturma özelliğine bakılmıştır. Demir iyonlarının eklenmesi, tetrakainin floresans özelliğini azalttığından (quenching-söndürme) kompleks oluşturduğu sonucuna varılmıştır. Kompleksin 1×10^{-4} M, 1×10^{-5} M, 1×10^{-6} M demir derişimlerinde (bütün çözeltilerde TCN derişimi, 1×10^{-4} M'dır) alınan emisyon spektrumlarında en uygun demir derişimi 1×10^{-4} M olarak seçilmiştir. Bundan sonra ise kompleksin en uygun emisyon yaptığı optimum koşullar tespit edilmeye çalışılmış ve bu koşullar aşağıdaki gibi tespit edilmiştir.

Uyarma Dalga Boyu	306 nm
Emisyon Dalga Boyu	373 nm
En Uygun TCN Derişimi	1×10^{-4} M
En Uygun pH	5.5
En Uygun Çözücü Ortamı	Su ortamı
Kompleks Oluşum Sıcaklığı	35ºC
Kompleks Oluşum Süresi	20 Dakika

Lokal anestezikler, sinir dokusuna uygun konsantrasyonda uygulandıklarında sinir iletimini bloke eden ilaçlardır. Lokal anesteziklerin yarattıkları etkinin geri dönüşümlü olması son derece önemlidir. Bu ilaçlar sinir sisteminin her yerinde ve her tip sinir lifi üzerinde etkili olurlar. Lokal anestezik ilaçlar günümüzde pek çok tıbbi operasyonda kullanılmaktadır. Bu tezde pek çok metabolik reaksiyonda önemli rol oynayan ve vücutta en çok bulunan makro element demir ve mangan, çok daha az

miktarlarda bulunan mikro elementler çinko, bakır ve kobalt gibi temel minerallerle lokal anestezik ilaç etken maddelerinin kompleks oluşturabilme özelliklerinin spektroflorimetrik yöntemle incelenmesiyle, lokal anestezik ilaçların metallerle kompleks oluşturarak etkinliklerinin azalmasına sebep olduğuna dair önemli bilgiler edinilmiştir. Böylece, bu konuda hemen hemen hiçbir çalışmaya rastlanmadığı için, literatüre de katkı sağlandığına inanılmaktadır. Ayrıca demir iyonlarıyla lokal anestezik ilaçların etkileşimlerinin olabileceği ispatlandığı için, lokal anestezik ilacın etkisini azaltabileceği düşünülerek operasyon bölgesine uygulanması önerilebilir.

KAYNAKLAR

Akkan, H.A., Karaca, M., 2003, Veteriner iç hastalıklarında antibiyotiklerin kullanımı *YYÜ Vet. Fak. Derg*., 14(2) 72-77.

Birsen U., 2001, Demir Eksikliği Anemisi, Klinik hematolojinin ABC'si, *Anemiler Sempozyumu Özet Kitabı*, İstanbul, 23-32**.**

El-Ries, M.A., Abou Atria, F.M., Abdel-Gawad, F.M., Abu El-Wafas, S.M., 1994, Preparation and characterization of Cu(II)-lignocaine complex. Indirect estimation of lignocaine in pharmaceutical preparations by atomic absorption spectroscopy (AAS), *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis*, 12, 9, 1209-1213.

Fernandez M., Calderon E., 1990, The local anesthetic tetracaine as a quencher of perylene fluorescence in micelles, *Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology,* 7, 75-86.

Frewin R, Henson A, Provan D., 1997, ABC of Clinical haematology: Iron deficiency anemia, BMJ; 314, 360-363.

Gündüz, B., 1995, Fotolüminesans ve analitik uygulama alanları, Doktora Semineri, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Gündüz, B., 2002. Eser alüminyum tayini için spektrofluorimetrik yöntem geliştirilmesi, Doktora Tezi. S.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.

Gündüz, T., 2002, İnstrümental Analiz, Altıncı baskı, Bölüm 12, *Gazi Büro Kitabevi*, Ankara.

Kapetanović, V., Milovanović, L., Erceg, M., 1996, Spectrophotometric and polarographic investigation of theofloxacin-Cu(II) complexes, *Talanta*, 43, 2123-2130.

Kayaalp, O., 1991, Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, 6. baskı. *Feryal Matbaacılık,* Ankara, 826-863.

Kayaalp, O. 1998, Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. 8.baskı, 2.Cilt, *Hacettepe Taş Kitapçılık*, Ankara, 1566–79.

Kayaalp, O., 2000, Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, 8. baskı, 1.cilt. *Hacettepe Taş Yayınları*, Ankara, 175-292.

L.Wei, G. Li, H. Li, 2010, Study on the enhanced fluorescent spectrum of ciprofloxacin + Al(III) + La(III)+ cetyltrimethylammonium bromide system and its application, *Spectrochimica Acta Part A,* 75, 1486–1491.

K. C. Skyrianou, V. Psycharis, C. P. Raptopoulou, D. P. Kessissoglou, G. Psomas, 2011, Nickel–quinolones interaction. part 4 — structure and biological evaluation of nickel(II)–enrofloxacin complexes compared to zinc(II) analogues, *Journal of Inorganic Biochemistry* 105, 63–74.

Lanzkowsky P., 2005, Manuel of pediatric hematology and oncology, iron deficiency anemia, 4th Ed. *Elsevier Academic Press*, 31–46.

Lakowicz, J.R., 1986, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Plenum Press, New York and London.

Lakowicz, J.R., 1999, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Second Ed., Plenum Press, New York.

Lakowicz, J.R., Weber, G., 1973, Quenching of fluorescence by oxygen. A probe for structural fluctuations in macromolecules, *Biochemistry*, 12, 21, 4161–4170.

Lehrer, S.S., 1971, Solute perturbation of protein fluorescence. The quenching of the tryptophyl fluorescence of model compounds and of lysozyme by iodide ion, Biochemistry, 10, 17, 3254–3263.

Munoz M, Villar I, Garcia-Erce JA., 2009, An update on iron physiology, *World J Gastroenterol*, 15(37), 4617–26.

Özalp, E.A.D., 2002. Farmakoloji, 3.baskı. , *Nobel Tıp Kitabevleri*, İstanbul, 457-462.

Pan, B., Han, X., Wu, M., Peng, H., Zhang, D., Li, H., Xing, B., 2012, Temperature dependence of ofloxacin fluorescence quenching and complexation by Cu(II), *Environmental Pollution*, 171, 168-173.

Paula E., Schreier S., Jarrell H. C., Fraceto L. F., 2007, Preferential location of lidocaine and etidocaine in lecithin bilayers as determined by EPR, fluorescence and 2H NMR, *Biophys Chem.*, 132, 1, 47-54.

Schenk, G.H., 1980, Molecular fluorescence and phosphorescence. Eds: Bauer, H.H. and O'Reilly, J.E. Fifth ed. Chap. 9, p. 288-255, Allan and Bacon Inc., USA.

Skoog.D:A 2007. Enstrumental Analiz ilkeleri 1. Baskı Bilim Yayıncılık, Ankara

Skyrianou K.C., Psycharis V., Raptopoulou C.P., Kessissoglou D.P., Psomas G., 2001, Nickel–quinolones interaction. part 4 — structure and biological evaluation of nickel(II)–enrofloxacin complexes compared to zinc(II) analogues, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 105, 63–74.

Turel I., 2002, The interactions of metal ions with quinolone antibacterial agents coordination chemistry reviews, *Coordination Chemistry Reviews*, 232, 27-47.

Tong, C., Hua, Z., Liu, W., 2007, Enoxacin–Tb^{3+} complex as an environmentally friendly fluorescence probe for dna and its application, *Talanta*, 71, 816–821.

Unal S, Yetgin S., 2003, Demir Eksikliği Anemisi. Katkı Dergisi, *Hacettepe Üniversitesi*, 327–45, Ankara.

Xu, M., Chen, F., Huang, L., Xi, P., Zeng, Z., 2011, Binding of rare earth metal complexes with an ofloxacin derivative to bovine serum albümin and its effect on the conformation of protein, *Journal of Luminescence*, 131, 1557–1565.

Zhang, L.W., Wang, K., Zhang, Xin-Xiang., 2007, Study of the interactions between fluoroquinolones and human serum albumin by affinity capillary electrophoresis and fluorescence method, *Analytica Chimica Acta*, 603, 101-110.

Zhaoui, Z., Q., Kang, S., Chen, B., Ma, M., Yao, S., 2006, Determination of local anesthetics in human plasma by liquid-liquid-liquid microextraction coupled with high performance liquid chromatography, *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 34, 2, 165–169.

Zordok, W.A., El-Shwiniy, W.H., El-Attar, M.S., Sadeek, S.A., 2013, Spectroscopic, thermal analyses, structural and antibacterial studies on the interaction of some metals with ofloxacin, *Journal of Molecular Structure*, 1047, 267–276.

www.gazi.edu.tr/.../Molekuler Luminesans Spektroskopisi.ppt

http://tr.wikipedia.org/wiki/Demir

http://www.tiplopedi.com/Lokal_anestezikler /Lokal Anesteziklerin Kimyasal Yapısı

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı	**:**	Mesut MÜSLÜMOĞLU
Uyruğu	**:**	T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi	**:**	Konya- 02/12/1978
Telefon	**:**	05354492777
Faks	**:**	
e-mail	**:**	mesutmus@hotmail.com

EĞİTİM

Derece		**Adı, İlçe, İl**	**Bitirme Yılı**
Lise	:	Bergama Lisesi, İzmir	1995
Üniversite	:	Selçuk Üniversitesi, Selçuklu, Konya	2002
Yüksek Lisans	:	Selçuk Üniversitesi, Selçuklu, Konya	2015

UZMANLIK ALANI

İlaç Etken Maddelerinin Metal etkileşimlerinin Spektrofotometrik ve Florimetrik Yöntem ile Tayini