



T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI FLOROKİNOLON TÜRÜ ANTİBİYOTİKLERİN METAL BAĞLAMA ÖZELLİKLERİNİN FLORİMETRİK YÖNTEMLE İNCELENMESİ

Sevil ÇAN

YÜKSEK LİSANS

Analitik Kimya Anabilim Dalını

Ocak-2015

KONYA

Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

YÜKSEK LİSANS

BAZI FLOROKİNOLON TÜRÜ ANTİBİYOTİKLERİN METAL BAĞLAMA ÖZELLİKLERİNİN FLORİMETRİK YÖNTEMLE İNCELENMESİ

Sevil ÇAN

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Analitik Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doc. Dr. S.Beniz GÜNDÜZ

2015, 93 Sayfa

Jüri
Doc. Dr. Beniz GÜNDÜZ
Prof. Dr. Erol PEHLİVAN
Doc. Dr. Semahat KÜÇÜKKOLBAŞI

Florokinolon türü antibiyotiklerin metal bağlama özellikleri spektroflorimetrik metot kullanarak incelenmiştir. Fe(III) iyonunun levofloksasin (LEV) ve siprofloksasinin (CIP) floresansını söndürmesi çalışılmıştır. En uygun deney koşulları tayin edilmiştir. Uyarma ve emiyon dalga boyları pH 5.5 ve su oartamında Fe (III)-LEV kompleksi için sırasıyla λ_{ex}= 390nm ve λ_{em}= 500nm, Fe(III)-CIP kompleksi için ise sırasıyla λ_{ex}= 370nm ve λ_{em}= 462nm'dir. Kalibrasyon grafikleri Stern-Volmer eşitliğinden elde edilen F_0/F-$[Fe^{+3}]$ grafiklerinden elde edilmiştir ve en uygun koşullar altında, doğrusallık Fe(III)-LEV kompleksi için 0.056-0.56 $\mu g.mL^{-1}$ aralığında, Fe (III)-CIP kompleksi için ise 0.56-5.58 $\mu g.mL^{-1}$ aralığındadır. Fe(III)-LEV ve Fe(III)-CIP kompleksleri için gözlenebilme sınırları (LOD) sırasıyla 1.6 $ng.mL^{-1}$ and 5.9 $ng.mL^{-1}$, alt tayin sınırları (LOQ) ise sırasıyla 5.3 $ng.mL^{-1}$ and 19.7 $ng.mL^{-1}$'dir. Her iki kompleksin stokiyometrisi, sürekli değişkenler yöntemi (JOB yöntemi) kullanılarak tayin edilmiştir ve Fe(III):Florokinolon mol oranı 2:3 olarak hesaplanmıştır. Tablet formundaki florokinolonlar ile vitamin mineral kombinasyonu tablet içindeki Fe(III) arasındaki etkileşim, bu floresans söndürme yöntemi uygulanarak incelenmiştir ve tatmin edici sonuçlar elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Levofloksasin, siprofloksasin, Fe(III) kompleksi, floresans söndürme, ilaç analizi.

ABSTRACT

MS THESIS

INVESTIGATION OF THE METAL BONDING PROPERTIES OF FLUOROQUINOLONE TYPE ANTIBIOTICS USING SPECTROFLUORIMETRIC METHOD

Sevil ÇAN

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

2015, 93 Pages

Jury
Assoc.Prof.Dr. Beniz GÜNDÜZ
Prof. Dr. Erol PEHLİVAN
Assoc.Prof.Dr. Semahat KÜÇÜKKOLBAŞI

The metal bonding properties of fluoroquinolone type antibiotics, namely levofloxacin and ciprofloxacin, were investigated by using spectrofluorimetric method. Fluorescence quenching of levofloxacin (LEV) and ciprofloxacin (CIP) by Fe(III) has been studied. The optimum experimental conditions were determined. The excitation and emission wavelengths were λ_{ex}= 390nm and λ_{em}= 500nm for the Fe (III)-LEV complex and λ_{ex}= 370nm and λ_{em}= 462nm for the Fe(III)-CIP complex at pH 5.5 in water medium. The calibration curves were obtained from Stern-Volmer equation plotting to F_0/F-$[Fe^{+3}]$ graphs and the linearity was found within the range of 0.056-0.56 $\mu g.mL^{-1}$ for the Fe(III)-LEV complex and 1.12-5.58 $\mu g.mL^{-1}$ for the Fe(III)-CIP complex under the optimum conditions. The detection limits (LOD) of the proposed method for the Fe(III)-LEV and Fe(III)-CIP complexes were 1.6 $ng.mL^{-1}$ and 5.9 $ng.mL^{-1}$ respectively and the quantitation limits (LOQ) of these complexes were found to be 5.3 $ng.mL^{-1}$ and 19.7 $ng.mL^{-1}$ respectively. The stochiometry of both complexes was also determined by using the continuous variation method and the molar ratio of Fe(III):Fluoroquinolone was calculated as 2:3. The interaction between the fluoroquinolones in tablet forms and Fe(III) in the vitamin-mineral combination tablet was investigated by applying this fluorescence quenching method and obtained satisfactory results.

Keywords: Levofloxacin, ciprofloxacin, Fe(III) complex, fluorescence quenching, pharmaceutical analysis

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 değerli hocam Doç. Dr. Beniz GÜNDÜZ'e, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan sevgili hocam Doç. Dr. Semahat KÜÇÜKKOLBAŞI' na, sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Laboratuar çalışmalarım boyunca bilgi ve deneyiminlerini benden esirgemeyen Havva Nur Tatlı' ya ve çalışma arkaşım Ahmet DÖNERTAŞ'a teşekkür etmeyi borç bilirim. Laboratuar çalışmalarım boyunca desteğini esgirgemeyen Havvanur ALTUN' a da teşekkür etmeyi borç bilirim.

Üniversite yıllarım boyunca benim yanımda olan Ananeme ve yaşamım boyunca bana sonuna kadar destek olan bugünlere kadar gelmemi sağlayan, sevgi ve desteklerini esirgemeyen her zaman, her konuda, hep yanımda olan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Sevil ÇAN

KONYA-7 OCAK 2015

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iv**

ABSTRACT ..... **v**

ÖNSÖZ ..... **vi**

ŞEKİLLER LİSTESİ ..... **x**

ÇİZELGE LİSTESİ ..... **xii**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **xiii**

1.GİRİŞ **1**

2.TEORİK KISIM **4**

2.1. Lüminesans ve Çeşitleri 4
2.1.1. Fotolüminesans spektroskopisi 5
2.1.2. Floresans ve fosforesans spektroskopisi 8
2.2. Aktifliğin Bozulması 11
2.2.1. Fotolüminesans emisyonu 12
2.2.2. İç dönüşüm 13
2.2.3.Titreşim relaksasyonu 13
2.2.4. Dış dönüşüm 14
2.2.5. Dissosyasyon 14
2.2.6. Sistemler arası geçiş 15
2.2.7. Çarpışmalı söndürme: 15
2.3. Absorpsiyon ve Emisyon Hızları 15
2.4. Uyarma Spektrumları ile Floresans Spektrumları Arasındaki İlişki 16
2.5. Floresans Ve Fosforesansı Etkileyen Faktörler 17
2.5.1. Kuantum verimi 17
2.5.2. Gelen ışının dalga boyunun ve şiddetinin etkisi 18
2.5.3. Derişimin floresans şiddetine etkisi 18
2.5.4. Yapısal faktörler 20
2.5.5. Sıcaklık ve viskozite: 23
2.5.6. Çözücü etkisi 23
2.5.7. pH'ın Etkisi 24
2.5.8. Çözünmüş oksijen, paramagnetikler ve ağır atomlar 25
2.6. Floresans Analiz Cihazları 25
2.7. Spektroflorometrelerin Ayarlanması 28
2.8. Florimetrinin Uygulama Alanları 29
2.8.1.İnorganik analizler 29
2.8.2. Organik bileşiklerin analizi 32
2.9. Antibiyotikler 33
2.9.1. Kinolonlar 34
2.9.2. Kinolonların yapısı 36
2.9.3. Sınıflandırılmaları ve farmokinetik özellikleri 37

2.9.4. Kinolonların etki mekanizmaları 38
2.9.5. Florokinolonlara karşı direnç mekanizmaları....40
2.9.6. Kinolonların genel yan etkileri 41
2.9.7. Kinolonların tayininde kullanılan yöntemler....42
2.9.8. Tedavide kullanımları 42
2.9.9. Florokinolon Türleri....43
2.10.Demir Minerali 46
2.10.1.Tanımı ve besinsel kaynakları 46
2.10.2. Demirin Vücuttaki Dağılımı....47
2.10.3. Demir Emilimi 48
2.10.4. Demir Eksikliğinin Nedenleri....49
2.10.5. Demirin Toksik Etkisi 49

3. KAYNAK ARAŞTIRMASI 51

4. MATERYAL VE YÖNTEM....61

4.1. Kullanılan Cihazlar....61
4.1.1. Spektroflorimetre....61
4.1.2. Spektrofotometre 62
4.1.3. pH....62
4.1.4. Saf su cihazı, su banyosu ve ısıtıcı: 62
4.2. Kimyasal Maddeler....62
4.2.1. Florokinolonlar 62
4.2.2. Çözücüler....64
4.2.3. Amonyum asetat çözeltisi 64
4.2.4. Hidroklorik asit ve sodyum hidroksit çözeltisi....64
4.2.5. Stok Fe(III) Çözeltisi 64
4.2.6. Bozucu iyonların çözeltileri 64
4.2.7. Florokinolon ve vitamin-mineral kombinasyonu tabletlerin çözeltileri....65
4.3. Deneysel İşlem 65
4.4. En uygun Deney Koşullarının Belirlenmesi 66
4.4.1. Uyarma ve emisyon dalga boylarının belirlenmesi 66
4.4.2. Florikinolonların uygun derişimlerinin belirlenmesi 66
4.4.3. Uygun pH'nın belirlenmesi 67
4.4.4.Kompleks oluşumuna sıcaklığın etkisinin belirlenmesi....67
4.4.5. Kompleks oluşum sürenin etkisi....67
4.4.6. Kalibrasyon grafiklerinin çizilmesi....67
4.4.7. Kompleks stokiyometrisinin belirlenmesi....68
4.4.8. Demir tayinine yabancı iyonların etkisi 68

5. DENEY SONUÇLARI VE TARTIŞMA 69

5.1. Uygun Uyarma ve Emisyon Dalga Boylarının Belirlenmesi....69
5.2. Florikinolonların Uygun Derişimlerinin Belirlenmesi 70
5.3. Uygun pH'ın Belirlenmesi 71
5.4 . Kompleks Oluşumuna Sıcaklığın Etkisinin Belirlenmesi....72
5.5. Kompleks Oluşum Süresinin İncelenmesi 74
5.6. Kompleks Stokiyometrisinin Belirlenmesi 75
5.7. Florokinolonların floresansının Fe(III) kompleksleriyle sönme mekanizması....76
5.8. Bozucu Etki Yapan Türlerin Belirlenmesi....80

5.9. Demirin Florimetrik Tayini İçin Belirlenen En Uygun Koşullar 81
5.10. Method Validation 82
5.10.1. Doğrusallık 82
5.10.2. Gözlenebilme sınırı (LOD) ve alt tayin sınırı (LOQ) 82
5.10.3. Geri kazanım.....83
5.10.4. Doğruluk ve kesinlik 83
5.11. Geliştirilen Florimetrik Söndürme Yönteminin Vitamin-Mineral Kombinasyonu Tabletlerdeki Demir Tayinine Uygulanması 84

6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....86

KAYNAKLAR 88

ÖZGEÇMİŞ.....93

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Lüminesans oluşum şeması....4
Şekil 2.2. Elektomanyatik spektrum....5
Şekil 2.3. Atomların uyarılmış halleri......7
Şekil 2.4. Jabloski diyagramında moleküler floresans gösterimi. 8
Şekil 2.5. Jabloski diyagramında moleküler fosforesans gösterimi....9
Şekil 2.6. Floresans ve fosforesansın oluşum süreleri 9
Şekil 2.7. Bir moleküldeki ışımalı ve ışımasız geçişler 12
Şekil 2.8. Alkol içerisinde 1ppm antrasenin floresans spektrumları: (a) uyarma spektrumu 17
Şekil 2.9. Floresans şiddetine konsantrasyon etkisi.....20
Şekil 2.10. Kinolin ve indol molekülleri. 20
Şekil 2.11. Floresans şiddetine konjügasyonun etkisi.....22
Şekil 2.12. Floren ve bifenil molekülleri.....22
Şekil 2.13. Yapısal sertliğin etkisi. 23
Şekil 2.14. Anilin molekülün iyonlaşmış halleri.....24
Şekil 2.15. Fotolüminesans ölçümleri için kullanılan cihaz.....26
Şekil 2.16. Fotolüminesans cihazının şematik gösterimi 27
Şekil 2.17. Antrasenin uyarma, lüminesans ve senkron lüminesans spektrumları.....28
Şekil 2.18. Florimetrik reaktif olarak kulanılan bazı genel kompleksleştirici maddeler.....31
Şekil 2.19. Klorokinin saflastırılmasıyla nalidiksik asitin elde edilmesi. 35
Şekil 2.20.Kinolonların genel gösterimi 37
Şekil 2.21. Florokinolonların etki mekanizmaları 39
Şekil 2.22. DNA replikasyonundaki iki enzimin işleyişi 39
Şekil 2.23. Florokinolonların DNA'ya etkisi 40
Şekil 2.24. Florokinolonların farmokimyası.....40
Şekil 2.25. Siprofloksasinin elde edilişi 43
Şekil 2.26. Levofloksasinin yapısı 45
Şekil 3.1. Artan bakır derişimlerinde ofloksasin bakır kompleksi 53
Şekil 3.2. Siprofloksasinin Hac- NaAc tampon çözeltisinde ve setiltrimetilamonyum bromür (CTMAB) varlığında Al (III) ve La (III) kompleksleri. 54
Şekil 3.3. Ofloksasinin V ve Zr metal kompleksleri. 55
Şekil 3.4. Ofloksasin U kompleksi.....56
Şekil 3.5. a →n : C LEV / CHSA artan 0-10 aralığında ekitasyon ve emiyon pikleri.(sıcaklık 298K, pH=7.4, tampon çozelti:50mM) 58
Şekil 3.6. LEV – HSA kompleksinin Stern-Volmer kalibrasyon grafiği. 59
Şekil 4.1. Siprofloksasin molekülü.....63
Şekil 4.2. Levfloksasin molekülü.....63
Şekil 5.1. Dört farklı demir derişiminde LEV-Fe kompleksinin emisyon spektrumları. (pH=5.5, λ_{uy}= 390nm, λ_{em}=500 nm, [LEV]=10^{-4} M, [Fe^{3+}]= 0, 0.335, 0.447, 0.558 ve 0.669 μg.mL^{-1}). 69

Şekil 5.2. Üç farklı demir derişiminde CIP-Fe kompleksinin emisyon spektrumları (pH=5.5, λ_{uy} = 370nm, λ_{em} = 462 nm, [CIP]=10^{-3} M, [Fe^{3+}]= 0, 3.35, 4.47 ve 5.58 $\mu g.mL^{-1}$). 70
Şekil 5.3. Levofloksasin-Fe(III) kompleksinin floresans şiddetine pH'nın etkisi (Deney koşulları: [LEV] = 10^{-4} M, [Fe^{3+}] = 10^{-5} M, 25°C, su ortamı, λ_{uy} = 390 nm, λ_{em} = 500 nm)....71
Şekil 5.4. Siprofloksasin-Fe(III) kompleksinin floresans şiddetine pH'nın etkisi (Deney koşulları: [CIP] = 10^{-3} M, [Fe^{3+}] = 10^{-4} M, 35°C, su ortamı, λuy = 370 nm, λem = 462 nm)....72
Şekil 5.5. Levofloksasin-Fe(III) kompleksinin floresans şiddetine sıcaklığın etkisi (Deney koşulları: [LEV] = 10^{-4} M, [Fe^{3+}] = 10^{-5} M, pH = 5.5, su ortamı, λuy = 390 nm, λem = 500 nm) 73
Şekil 5.6. Siprofloksasin-Fe(III) kompleksinin floresans şiddetine sıcaklığın etkisi (Deney koşulları: [CIP] = 10^{-3} M, [Fe^{3+}] = 10^{-4} M, pH = 5.5, su ortamı, λ_{uy} = 370 nm, λ_{em} = 462 nm). 73
Şekil 5.7. Levofloksasin-Fe(III) kompleksinin floresans şiddetine kompleks oluşum süresinin etkisi (Deney koşulları: [LEV] = 10^{-4} M, [Fe^{3+}] = 10^{-5} M, pH = 5.5, su ortamı, λ_{uy} = 390 nm, λ_{em} = 500 nm). 74
Şekil 5.8. Siprofloksasin-Fe(III) kompleksinin floresans şiddetine kompleks oluşum süresinin etkisi (Deney koşulları: [CIP] = 10^{-3} M, [Fe^{3+}] = 10^{-4} M, pH = 5.5, su ortamı, λ_{uy} = 370 nm, λ_{em} = 462 nm). 75
Şekil 5.9. LEV ve Fe(III)'ün aynı derişimlerdeki LEV-Fe(III) kompleksinin stokiyometrisinin job yöntemiyle belirlenmesi (pH=5.5, λuy = 390 nm, λem = 500 nm, [Fe^{3+}] = 10^{-5} M, [LEV]=1×10^{-4} M). 76
Şekil 5.10.a LEV – Fe kompleksi nin, 0.056-0.558 µg/mL demir derişimi aralığında Stern-Volmer kalibrasyon grafiği (pH=5.5, λuy=390,0 nm ve λem=500 nm, [LEV]=1×10^{-4} M).....78
Şekil 5.10.b. LEV – Fe kompleksi nin, 0.056-0.558 µg/mL demir derişimi aralığında floresans spektrumları (pH=5.5, λuy=390,0 nm ve λem=500 nm, [LEV]=1×10^{-4} M)...78
Şekil 5.11.a. CIP – Fe kompleksinin, 1.12-5.58 µg/mL demir derişimi aralığında Stern-Volmer kalibrasyon grafiği (pH=5.5, λ_{uy}=370,0 nm ve λ_{em}=462 nm, [CIP]=1×10^{-3} M)….. 79
Şekil 5.12.b. CIP – Fe kompleksinin, 1.12-5.58 µg/mL demir derişimi aralığında floresans spektrumları (pH=5.5, λuy=370,0 nm ve λem=462 nm, [CIP]=1×10^{-3} M). ...79

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 5.1. Demirin levofloksasin ile florimetrik tayininde çeşitli iyonların etkisi ([LEV]=1×10^{-4} M, [Fe^{+3}]= 10^{-5} M, pH=5.5). 80

Çizelge 5.2. Demirin siprofloksasin ile florimetrik tayininde çeşitli iyonların etkisi ([CIP]=1×10^{-3} M, [Fe^{+3}]= 10^{-4} M, pH=5.5).....81

Çizelge 5.3. Levofloksasinle demirin tayini için belirlenen en uygun koşullar 81

Çizelge 5.4. Siprofloksasinle demirin tayini için belirlenen en uygun koşullar.....81

Çizelge 5.5. Geliştirilen floresans söndürme yönteminin istatistik parametreleri.....82

Çizelge 5.6. Florimetrik söndürme yöntemiyle florokinolonlar ve Fe(III) iyonu arasındaki etkileşimlerin tayini için geri kazanım çalışmaları.....83

Çizelge 5.7. Levfloksasin türü antibiyotik tablet ve vitamin-mineral kombinasyonu tablet karışımı kullanılarak florimetrik söndürme yöntemi ile vitamin-mineral kombinasyonu tablet içindeki Fe(III) iyonunun tayini. 84

Çizelge 5.8. Siprofloksasin türü antibiyotik tablet ve vitamin-mineral kombinasyonu tablet karışımı kullanılarak florimetrik söndürme yöntemi ile vitamin-mineral kombinasyonu tablet içindeki Fe(III) iyonunun tayini……84

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

A:	Absorbans
Å:	Angstorm (10^{-10} m)
b:	Işığın çözelti içinde kat ettiği yol (cm)
C:	Derişimi (mol / L)
°C:	Santigrat derece
E:	Enerji
Fe:	Demir
g:	Gram
h:	Planck sabiti
kg:	Kilogram
K:	Kelvin
L:	Litre
M:	Molarite
mg:	Miligram
nm:	Nanometre
s:	Saniye
ν:	Frekans
µg:	Mikrogram
µM:	Mikromolar
ε:	Molar absortive katsayısı(L / mol.cm)
λ:	Dalgaboyu
ΔH:	Entalpi değişimi
ΔS:	Entropi değişimi
ΔG:	Gibbs serbest enerjisindeki değişim

Kısaltmalar

CIP:	Siprofloksasin
DNA:	Deoksiribonükleik asit
F:	Floresans şiddeti
Hb:	Hemoglobin
I:	Soğurulup gecen fotonun siddeti
I_0:	Gelen fotonun siddeti
LEV:	Levofloksasin
t :	Süre

1. GİRİŞ

Kinolonlar yaygın şekilde kullanılan anti bakteriyel ilaçlardır. Bu ilaçların geliştirilmesi 1960'lı yılların başlarında, yapısında flor ihtiva etmeyen ilk üyesi olan nalidiksik asit ile başlamıştır. 1980'lerde yapılarında 6-flor grubu bulunduran ve antibakteriyel etki spektrumları Gram negatif bakterileri de kapsayacak şekilde genişletilmiş türevleri (norfloksasin, oflaksasin, siprofloksasin gibi) geliştirilmiştir. Daha sonraki dönemde Gram pozitif bakterilere karşı etkisi arttırılan florokinolonlar (moksifloksasin, gatifloksasin) terapötik amaçla kullanılmaya başlanmıştır. Son zamanlarda ise yüksek aktiviteye sahip, 6 numaralı C atomlarında flor grubu taşımayan ancak yan zincirde flor ihtiva eden türevleri geliştirilmiştir. Bu şekliyle hazırlanan ilaçlar nalidiksik asit gibi klasik ilaçlardan belirgin farklılıklar gösterirler ve genel bir terim olarak da florokinolon yerine kinolonlar olarak adlandırılabilirler.

Siprofloksasin, levofloksasin, enoksasin, ofloksasin ve pefloksasin, gibi antibakteriyel ilaçlar (florokinolonlar) genital ve üriner sistem infeksiyonlar, prostat yangısı, mide bağırsak yangısı, cinsel yolla bulaşan hastalıklar, solunum sistemi hastalıkları, deri ve yumuşak doku infeksiyonları, tümör önleyici etkinlikleri, idrar yolu infeksiyonları, alt solunum yolu infeksiyonları, genore ve gonokoksik olmayan üretrit tedavisinde yaygın olarak kullanılır. Gıdalar florokinolonların çoğunun emilimini etkilemez. Suda çözünen lipofilikliği yüksek ilaçlardır.

Etkisi, güvenirliği ve geniş antibakteriyal spektrumu ile florokinolonlar bir çok infeksiyon hastalığının tedavisinde cazip bir seçenek haline gelmiştir. Ancak bu antimikrobiyallerin yaygın kullanımı nedeniyle bakteriyel direnç gelişiminin hızlanması söz konusu olmaktadır. Pek çok infeksiyon hastalığında vücut direncini arttırmak amacıyla, yanlış bir uygulama olmasına karşın, vitamin-mineral kombinasyonu ilaçların da antibiyotiklerle birlikte alınmasına sıklıkla rastlanmaktadır.

Tüm florokinolonlara bakterisidal etkili olup ortak etki mekanizması olarak hepsi de bakterilerdeki DNA jiraz enzimini (type II topoizomeraz) hedef alırlar. Bununla birlikte; alüminyum, magnezyum, kalsiyum, demir ve bakır gibi bazı katyonlarla kinolonlar şelat oluştururlar. Bu etkileşmeler emilme ve biyoyararlanımı önemli ölçüde azaltır, aynı şekilde serum ilaç yoğunluklarını düşürür ve hedef dokulara geçişi zayıflatır.

İnsan vücudunda yaklaşık toplam 150 element bulunup bunun yaklaşık on ikisi: O, C, H, N, Ca, P, K, S, Na, Cl, Mg ve Fe toplam elementlerin %99.5'unu, bu 12'nin ilk altısıda %99'unu oluşturur. Kalan diğer elementler toplamın yaklaşık %0.5'i kadardır.

Demir, 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(deoksiribonükleik asit) 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). Demir yetersizliğinde kansızlık görülür. Kansızlık durumunda, hemoglobin miktarı, alyuvarların sayısı ve diğer elemanların miktarında düşüş olur. Bunun sonucu olarak baş ağrısı, baş dönmesi, iştahsızlık ve yorgunluk görülür.

Demir, oksijenin vücut içinde dolaşımı için vazgeçilmez bir mineraldir. Vücuttaki total demir miktarı 3-5 gramdır. %65'i hemoglobinde, %4'ü miyoglobinde, %1'i intraselüler oksidasyonu kolaylaştıran hem bileşiklerinde, %0.1'i kan plazmasında transferin proteini ile birleşir, %15-30'u da ferritin halinde retiküloendoteliyal sistem ve karaciğer parankim hücrelerinde depolanır.

Metabolik reaksiyonda önemli rol oynayan ve vücutta en çok bulunan makro element demir minerallinin florokinolon bileşikleriyle kompleks oluşturabilme özelliklerinin spektroflorimetrik yöntem ile incelenmesi amaçlanmaktadır.

Floresans ve fosforesans spektrumları, absorpsiyon spektrumları gibi deneysel şartları verilen bir madde için karakteristiktir. Bu spektrumlar maddelerin kalitatif ve kantitatif analizlerinde kullanılabilir. Lüminesans metodlar diğer absorbsiyometrik tekniklerden yaklaşık 10^3 defa daha duyarlıdır. Floresans spektroskopisi, gelişmiş floresans cihazına dayalı teknikler sayesinde doğru, hassas, hızlı, güvenilir sonuçlara ve yorumlara ulaşılmasını sağlayan optik bir yöntemdir. Lüminesans teknikler organik ve mineral katıların molekül yapılarının incelenmesi ile fotokimya ve moleküler biyoloji alanlarında geniş bir uygulama alanı bulmuştur.

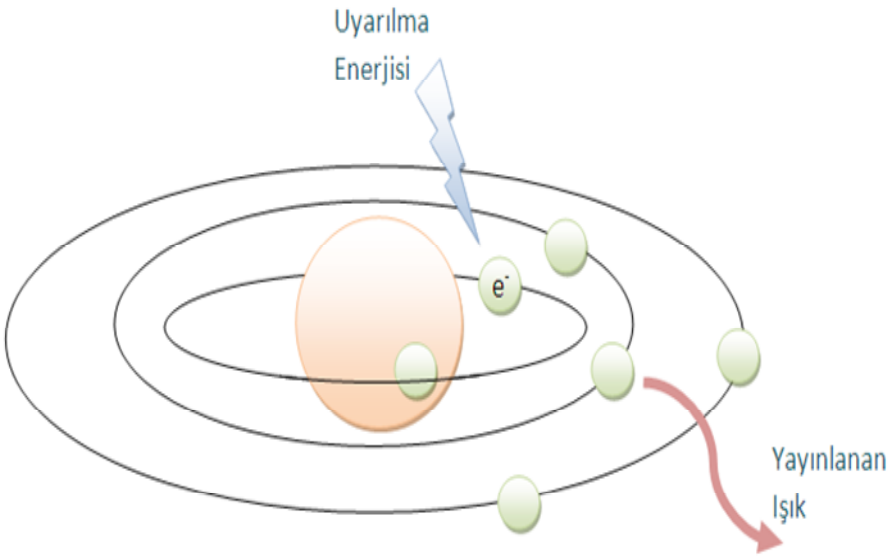
Bu tezde, florokinolon tipi antibiyotiklerin, özellikle levofloksasin ve siprofloksasinin, metal, Fe(III), bağlama özellikleri, spektroflorimetrik yöntem kullanılarak incelenmiştir. Fe(III) iyonlarının levofloksasin ve siprofloksasinin floresansını

söndürme etkisi su ortamında çalışılmıştır. Ayrıca, tablet formundaki florokinolonlar ile vitamin-mineral kombinasyonu tabletlerdeki Fe(III) iyonları arasındaki etkileşim, önerilen bu floresans söndürme yöntemi uygulanarak incelenmiştir ve uygun sonuçlar elde edilmiştir.

2.TEORİK KISIM

2.1. Lüminesans ve Çeşitleri

Uyarılmış bir atom veya molekül karasızdır ve fazla enerjisini geri vererek temel duruma dönmek ister. Atom veya molekül, temel enerji düzeyine dönerken fazla enerjisinin tümünü veya bir kısmını ışık yayılması şeklinde verebilir böylece sistemden ışıma gözlenir. Bu ışık yayılması olayına genel olarak lüminesans denir (Doğan, 2010).



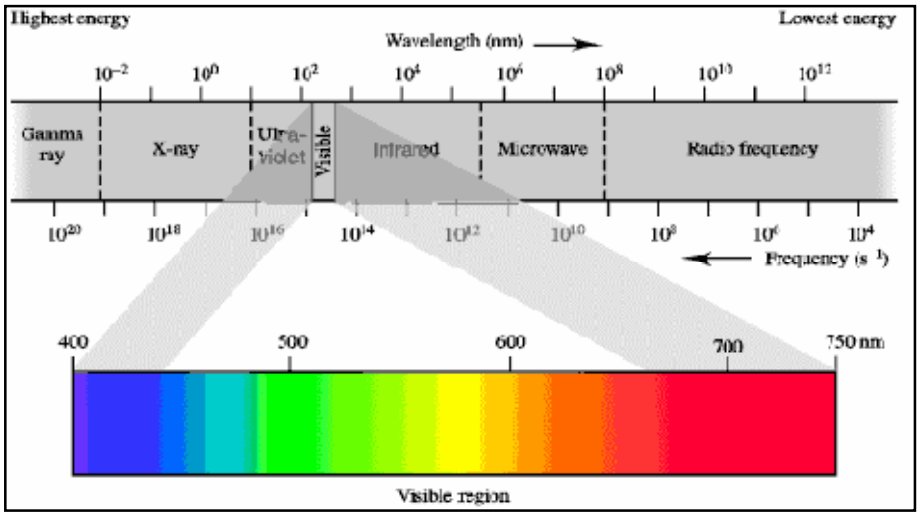
Şekil 2.1. Lüminesans oluşum şeması.

Atom veya molekül, gerekli uyarılma enerjisini çeşitli yollardan sağlayabilir.

- 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.

2.1.1. Fotolüminesans spektroskopisi

Spektroskopi, bir örnekteki atom, molekül veya iyonların, bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri sırasında soğurulan veya yayılan elektromanyetik ışımanın ölçülmesi ve yorumlanmasıdır (Erdik ve Sarıkaya, 1998). ***Elektromanyetik ışıma***, hem dalga hem tanecik özelliğine sahiptir. İnterferans (girişim) ve difraksiyon (kırınım) davranışları dalga özelliğiyle açıklanır. Bir metal yüzeyinden ışıma ile elektronların koparılması (fotoelektrik olay), ışıma enerjisinin bir madde tarafından soğurulması ve emisyonu (yayınımı) olayları ışımanın tanecik özelliği (foton) ile açıklanır (Arthur, 1997).



Şekil 2.2. Elektomanyatik spektrum.

Fotonların bir molekül tarafından soğurulması olarak tanımlanan ışık soğurulması sonucu, molekül temel enerji durumundan uyarılmış duruma geçer.

$$\text{Temel Hal} + \text{UV} \xrightarrow[\text{(uyarma)}]{\text{absorpsiyon}} \text{Uyarılmış Hal} \xrightarrow[\text{(uyarma)}]{\text{emisyon}} \text{Temel Hal} + \text{floresans veya fosforesans}$$

$$x + h\nu \longrightarrow x^{*} \longrightarrow x + h\nu$$

Elektronların daha üst enerji düzeylerine yerleşmesi ile atom veya molekülün uyarılmış hali oluşur. 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 ışığa dönüştürebilir. Işınım ile uyarma sonucu molekülün enerjisini ortama ışıma olarak yayması olayı fotolüminesans ya da

lüminesans olarak adlandırılır. Lüminesans; uyarılmış enerji seviyesinin durumuna göre iki şekilde olabilir: ***floresans veya fosforesans*** (Lakowicz ve ark., 1986).

Temel hal: Bir atom veya molekülün en düşük enerjili halidir. Işının belli dalga boyları madde tarafından absorblanırsa (soğurulur, emilir) absorbsiyon denir

Bu enerji maddeyi (yani onu oluşturan atom veya molekülleri) uyarılmış hale geçirir. Bir kimyasal türün ısı, elektrik veya ışın enerjisi ile temel halden üst enerji seviyesine geçmesidir.

$$X + h\nu \longrightarrow X^* \qquad (2.1)$$

Tanecik eski haline dönerken bu enerji geri verilir.

$$X^* \longrightarrow X + \text{ısı} \qquad (2.2)$$

Uyarılmış maddenin temel hale dönerken yaydığı ışına emisyon denir,

$$X^* \longrightarrow X + h\nu \qquad (2.3)$$

Atomların uyarılmış halleri:

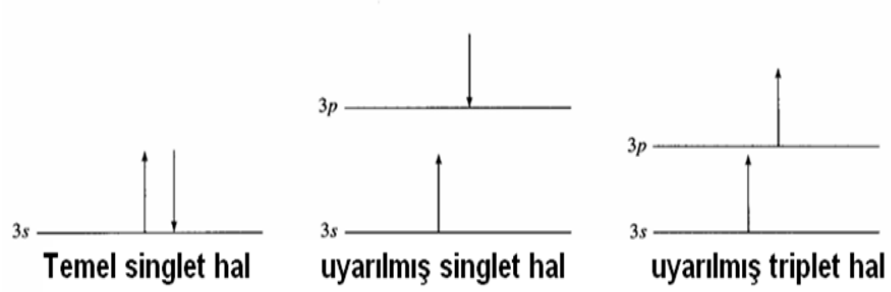
İki atom arasındaki bir bağ, bağları oluşturan bir çift elektronun atomik orbitallerinin üst üste düşmesiyle oluşan bir veya daha fazla moleküler orbitalden oluşur. İki atomik orbitalin birleşmesiyle bir bağ orbitali ve bir anti-bağ orbitali meydana gelir; birincinin enerjisi daha düşüktür ve bu nedenle temel haldeki elektronlar buraya yerleşirler. Her bir moleküler orbitalin elektronik enerji seviyesi üzerinde birbirine çok yakın bir seri titreşim enerji seviyeleri bulunur. Bundan dolayı, her elektronik absorbsiyon bandında, temel halden uyarılmış bir elektronik halin birkaç titreşim seviyesine geçişten kaynaklanan, bir seri birbirine yakın titreşim pikleri yer alır(Gülcan,2012).

Pek çok molekülde çift sayıda elektron vardır; temel halde, bu elektronlar çeşitli atomik ve moleküler orbitallerde çiftler şeklindedirler. Pauli dışlama ilkesine göre bir orbitaldeki iki elektronun spinleri birbirinin zıttıdır (yani çiftleşmiş spinler). Spin çiftleşmesinin (çift sayılı elektronlu) net elektron spini yoktur ve molekül diamagnetik özelliktedir.

Floresans ve fosforesansta maddelerin elektron çekici veya verici gruplarında bulunan bir elektron, molekül üzerine gönderilen kısa dalga boylu ışın ile uyarılarak bir üst (bazen ikiveya üç üst) enerji seviyelerine çıkar. Molekülün bir çift elektronundan birinin daha yüksek enerji seviyesine çıkması ile singlet ya da triplet hal meydana gelir.

Singlet hal: Uyarılma ile elektronun spininin değişmeden bir üst veya iki, üç enerji seviyelerine çıkması durumuna uyarılmış *singlet* hali denir. Bu uyarılmış singlet halinde bulunan bir molekül temel halinde olduğu gibi diamanyetiktir yani molekül bir manyetik alana maruz bırakıldığında elektronik enerji seviyesinde hiçbir değişiklik meydana gelmez (Gülcan, 2012).

Triplet hal: Uyarılmış elektronun spinini değiştirerek üst enerji seviyelerine çıktığı duruma triplet hali denir. Triplet halde iki ortaklanmamış elektron bulunur ve bu tür moleküller paramanyetik özellik gösterirler. Böyle moleküller manyetik alan içinde iki türlü yönlenme gösterir ve iki farklı enerji hali vardır (Gülcan, 2012). Bunları şöyle sıralayabiliriz:



Şekil 2.3. Atomların uyarılmış halleri.

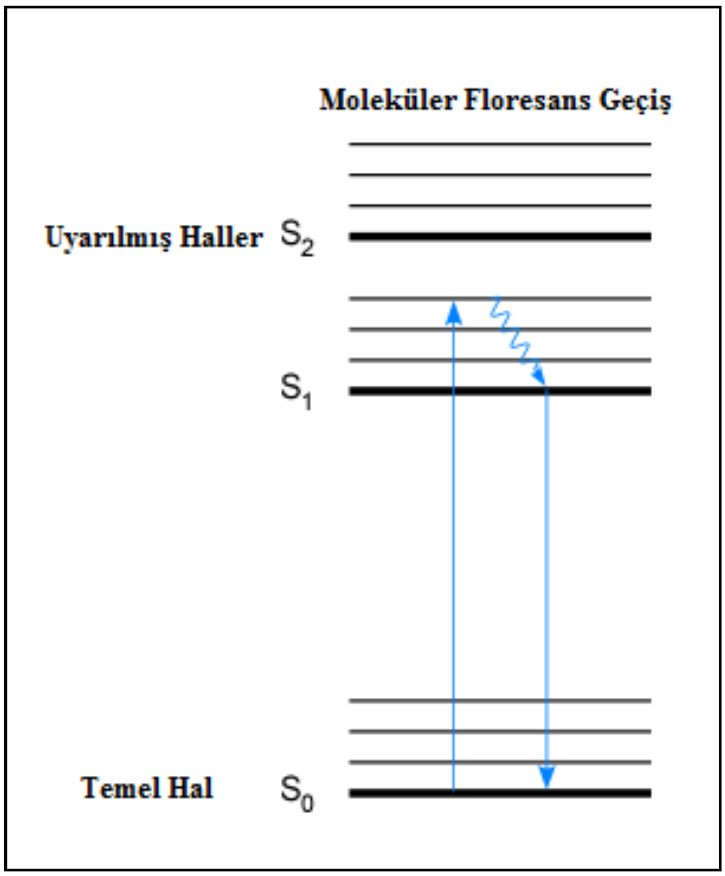
Uyarılmış triplet haldeki bir molekülün özellikleri, buna uygun singlet haldeki özelliklerinden farklıdır. Örneğin, molekül birinci durumda paramagnetik olduğu halde, ikinci durumda diamagnetiktir. Elektronik haldeki bir değişiklikle de ilgili olan bir siglet-triplet geçişi (veya tersi) olasılığı, singlet-singlet geçişten daha azdır. Bundan dolayı, uyarılmış bir triplet halin ortalama yaşam süresi bir saniye (veya daha fazla) gibi uzun bir zamandır. Uyarılmış bir singlet hal içinse bu süre 10^{-8} s kadardır. Bundan başka bir temel hal molekülünün ışın etkisiyle bir triplet hale uyarılması çabukça gerçekleşemez ve bu işlem nedeniyle oluşan absorbsiyon piklerinin şiddeti, benzer singlet-singlet geçişten oluşan piklerin şiddetinden birkaç derece daha küçüktür. Uyarılmış bir triplet hali, bazı moleküllerin "uyarılmış" bir singlet halinin bir arada toplanmasıyla da oluşabilir; bu işlemin sonucunda fosforesans davranış çıkar.

2.1.2. Floresans ve fosforesans spektroskopisi

Floresans, uyarılmış bir singlet sistemden temel haldeki singlet bir sisteme geçiş sırasında yayılan ışığa denir. (Lakowicz ve ark., 1986)

$$^1S_0 + h\nu_1 \longrightarrow {}^1S^*_1 \quad \text{(uyarılma)} \qquad (2.4)$$

$$^1S^*_1 \longrightarrow {}^1S_0 + h\nu_2 \quad \text{(floresans)} \qquad (2.5)$$



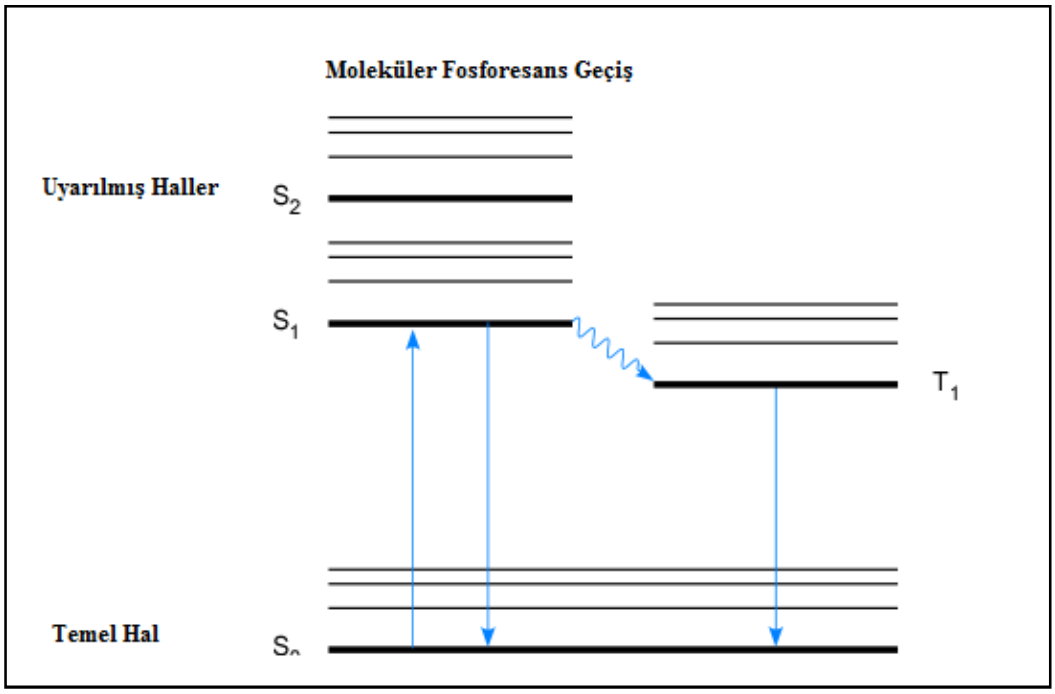
Şekil 2.4. Jabloski diyagramında moleküler floresans gösterimi.

Fosforesans ise uyarılmış bir triplet sistemden temel haldeki singlet bir sisteme geçis sırasında yayılan ışığa denir (Lakowicz ve ark., 1986).

$$^1S_0 + h\nu_1 \longrightarrow {}^1S^*_1 \text{ (uyarılma)} \qquad (2.6)$$

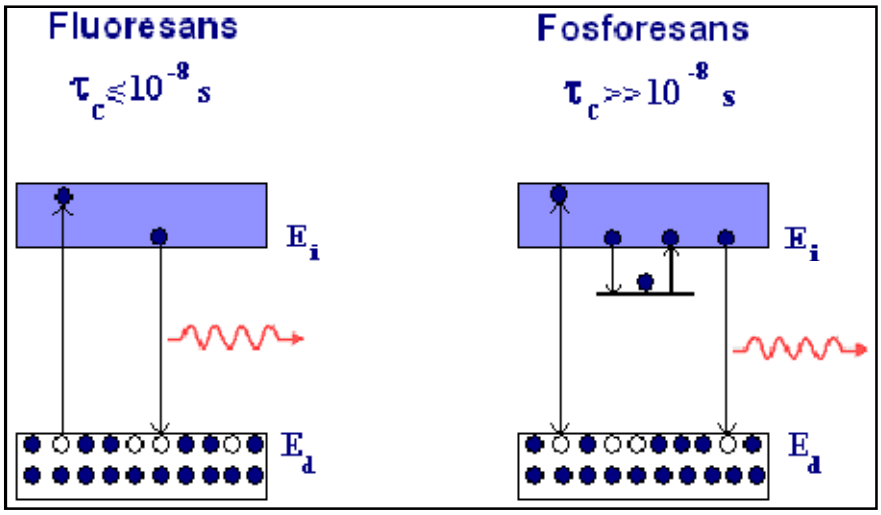
$$^1S^*_I \longrightarrow T^*_1 \text{ (sistemlerarası geçiş)} \qquad (2.7)$$

$$T^*_1 \longrightarrow {}^1S_0 + h\nu_3 \text{ (fosforesans)} \qquad (2.8)$$



Şekil 2.5. Jabloski diyagramında moleküler fosforesans gösterimi.

Genelde türler uyarılmış hale eriştikten sonra floresans emisyonu çok çabuk (10^{-9}–10^{-6} s) meydana gelir. Bunun için ultraviyole ışımasının kaynağı uzaklaştırıldığı anda floresant bir maddeyi gözle sezmek imkansızdır. Fosforesans emisyonu çok daha yavaştır (>10^{-4} s) ve fosforesans emisyonunun ömründe daha büyük bir değişmeyle meydana gelir. Floresansta foton emisyonu uyarılmış bir seviyeden taban duruma olan direkt bir geçişten kaynaklanır ve 10^{-8} s veya daha kısa sürer. Fosforesansta ise uyarma durdurulduktan sonra lüminesansı dakikalar hatta saatler sürebilir.



Şekil 2.6. Floresans ve fosforesansın oluşum süreleri.

Böylece, birçok organik moleküllü fosforesant madde, ultraviyole kaynağı uzaklaştırıldığı anda gözle sezilmezken, ultraviyole uyarması durduktan sonra fosforesans ışıması devam eden inorganik minerallerin sayısı oldukça fazladır. Kaydedilmiş en uzun fosforesans olayına özel bir örnek, 340 saatlik fosforesansından dolayı, Willemite ($ZnSiO_4$) mineralidir.

Floresans, hem gaz hem sıvı hem de katı haldeki sistemlerde ortaya çıkabilir. Eser miktardaki pek çok inorganik ve organik madde floresans şiddetinin ölçülmesiyle kantitatif olarak analiz edilebilir; özellikle biyolojik sistemler için çok sayıda florometrik yöntem geliştirilmiştir.

Florometrenin en önemli özelliklerinden biri yapısından kaynaklanan hassasiyetidir. Yöntemin alt sınırı, bir absorbsiyon yönteminden en az 10 kat daha düşüktür (1-100 ppb) ve seçiciliği diğer yöntemlerden daha iyidir. Bu avantajlarına karşın florometre diğer absorbsiyon yöntemleri kadar fazla kullanılmaz, çünkü floresans özellik gösteren kimyasal sistemler sınırlı sayıdadır.

2.1.2.1. Rezonans floresasansı

Floresans ve fosforesans maddelerde ışın enerjisinin alınıp verilmesi (madde ışın etkileşmesi) kısaca,

$$M + hv \longrightarrow M^* \qquad (2.9)$$

$$M^* \longrightarrow M + hv_1 \qquad (2.10)$$

şeklinde gösterilir. Madde önce ışın enerjisini (hv) absorplar ve uyarılmış hale (M*) gelir. Bu halde çok kısa bir süre kaldıktan (yaşadıktan) sonra ışın enerjisi (hv_1) yayar ve eski haline veya temel haline (M) döner. Genelde hv > hv_1‘ dir. Ancak hv ‘nün hv_1' e eşit olduğu haller de vardır. Floresans olayında yayılan ışığın frekansı ile sistemi uyaran ışığın frekansı birbirine eşit ise buna ***rezonans floresansı*** denir (Şener, 2006).

Rezonans floresansı olayı:

1.Genellikle gaz halindeki atomlardan elde edilir. Bilindiği gibi bunlarda titreşim seviyeleri bulunmaz. (sadece elektronik seviyeler bulunur) Bu nedenle: element buharları absorpladıkları ışınların dalga boyunda floresans ışınları yayarlar.

2. Atomlarda ve moleküller arası çarpışmanın olmadığı bazı katı maddelerde,

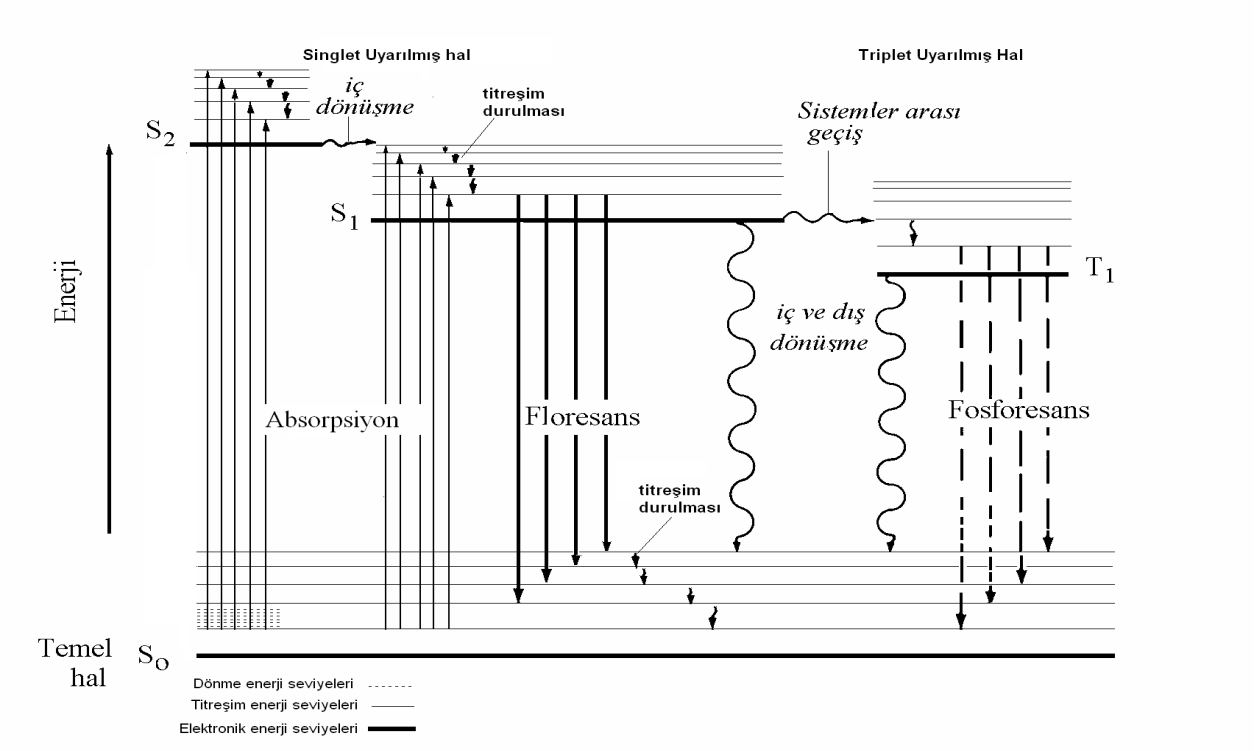
3. Çözeltide oluşan uyarılmış moleküller ise daha uzun dalga boyunda floresans yaymanın yanısıra aynı frekansta ışında yayabilirler. Sodyum buharının rezonans floresansı (sarı ışın) buna örnek verilebilir. Buhar halindeki sodyum atomlarının 3s elektronları, 589.6 ve 589 nm'lik dalga boylarındaki ışınların absorpsiyonu ile 3p enerji seviyesine uyarılabilir. 10^{-5}- 10^{-8} s sonra, elektronlar temel duruma geri döner ve her yöne doğru, aynı iki dalga boyunda ışın yayar.

2.1.2.2. Stokes kayması

Moleküler floresans bantlarındaki geçişler, uyarılmalarına neden olan absorplanmış ışıma bandındaki geçişlere göre daima uzun dalga boyu veya daha az enerji içermektedirler. Daha uzun dalga boylarına doğru olan bu değişme bazen **stokes kayması** olarak adlandırılır.

2.2. Aktifliğin Bozulması

Molekülün temel hale geçiste seçtigi yol uyarılmış halin en kısa süreli oldugu yoldur. Yani eğer floresans yayma işlemi, ışımasız yola kıyasla daha çabuk oluyorsa floresans yayar. Işımasız yol daha hızlı ise ışın yayma ya çok azdır veya yoktur. Eğer uyarılmış singlet hal nispeten dayanıksızsa molekül temel duruma genellikle ışıma yaymaksızın döner. Temel duruma dönmenin dışında uyarılmış veya temel durumların çeşitli titreşimsel seviyelerinden en düsük seviyeye inişlerde yada bir uyarılmış singlet halden bir baskasına veya uyarılmış triplet hale geçişte ışımasız enerji kayıpları olmaktadır. Şekil 2.7'de bir moleküldeki ışımalı ışımasız geçişler kısaca gösterilmiştir.



Şekil 2.7. Bir moleküldeki ışımalı ve ışımasız geçişler.

Bir molekülden floresans ve fosforesans ışınların yayılma mekanizmaları.

S_0) Temel hal ve üzerindeki titreşim seviyeleri,

S_1) Birinci uyarılmış hal ve üzerindeki titreşim seviyeleri,

S_2) İkinci uyarılmış hal ve üzerindeki titreşim halleri,

A) İç geçiş,

2.2.1. Fotolüminesans emisyonu

Uyarılmış bir singlet sistemden temel haldeki singlet bir sisteme geçiş sırasında yayılan ışığa ***floresans*** (hv_2) denir.

$$S_0 + hv_1 \longrightarrow S_2 \text{ (uyarılma)} \qquad (2.11)$$

$$S_2 \longrightarrow S_0 + hv_2 \text{ (floresans)} \qquad (2.12)$$

Uyarılmış bir triplet sistemden temel haldeki singlet bir sisteme geçiş sırasında yayılan ışığa ise ***fosforesans*** (hv_3) adı verilir.

$$S_0 + hv_1 \longrightarrow S_2 \text{ (uyarılma)} \qquad (2.13)$$

$S_1 \longrightarrow T_1$(sistemler arası geçiş) (2.14)

$T_1 \longrightarrow S_0 + h\nu_3$ (fosforesans) (2.15)

2.2.2. İç dönüşüm

Bir elektronik durumun titreşimsel seviyelerinin aynı olması halinde iki uyarılmış durumun potansiyel enerjileri aynıdır. Bu durumda aynı enerjili titreşimsel seviyeler arasında ışımasız bir geçiş olur bu geçişe ***iç dönüşüm*** denir. Böylece daha yüksek bir elektronik halden daha düşük uyarılmış singlet halin en düsük titreşimsel seviyesine geçiş olmaktadır. İç dönüşüm işlemi sonucunda elektronun spini aynı yönde kalır. Bağıl olarak çok az bileşiğin floresans göstermesi bunların genellikle çok etkili olduklarının açık göstergesidir.

$S_2 \longrightarrow S_1 + ısı$ (2.16)

"Ön disosiyasyon (ön ayrışma)" olayı da iç değişmeye neden olabilir. Burada, elektron, yüksek bir elektronik seviyeden, titreşim enerjisi bir bağı koparabilecek kadar büyük olan, daha düşük bir elektronik seviyenin en üstteki titreşim haline geçer. Büyük bir molekülde, kromoforların elektronik uyarılma enerjilerinden daha az kuvvetli bağların bulunma olasılığı fazladır. Elektronik enerjinin iç değişimle titreşim enerjiye geçmesinin ardından kromoforların enerji absorbsiyonu sonunda bu bağlar kopar.

Bir ön disosiyasyon, bir disosiyasyon olayından farklıdır; disosiyasyonda absorblanan ışın, bir kromoforun elektronunu kromoforik bandı koparabilecek kadar yüksek bir titreşim seviyesine doğrudan uyarır; bir iç değişme olayı yoktur. Disosiyasyon işlemi de floresans olayına rakiptir.

2.2.3.Titreşim relaksasyonu

Uyarma işlemi ile herhangi bir titreşimsel seviyenin çarpışması sonucu titreşimsel enerjinin fazlası derhal kaybedilir ve uyarılmış halin en düşük enerji seviyesine geçiş olur. Bu işlem sonucu ısı oluşur. Çözeltinin sıcaklığı artar. Temel durumda da benzer hal olur. Herhangi bir yol ile temel durumun bir titreşimsel

seviyesine dönüş olduktan sonra bu seviyelerden en düşük titreşimsel seviyeye geçiş yine titreşimsel dinlenme işlemi ile olmaktadır.

2.2.4. Dış dönüşüm

Bir molekülün üzerinde bulunan uyarılma enerjisini ortamda bulunan safsızlık moleküllerine aktararak temel hale dönmesine, dış geçiş denir. Molekülün uyarılma enerjisini diğer moleküllere aktarması, onlarla çarpışması suretiyle gerçekleşir. Buna göre çarpışma azaltılırsa, dış geçişin azalması ve floresansın (fosforesansın) artması gerekir. Böyle olduğu denel olarak gösterilebilir. Şöyleki, çözelti soğutulduğu (çarpışma azaltıldığı) zaman bir maddenin fosforesansı azalır ve floresansı artar. Bu da çarpışmanın azalması demektir. Çünkü bunlar bir birine rakip olan iki olaydır. Birinin azalması, ötekinin artması anlamına gelir. Aynı olay floresans madde, daha viskoz çözücülerde çözüldüğü zaman da görülür ve maddenin floresansı artar. En düşük enerjili singlet veya tripletin uyarılmış halden ışın yaymaksızın temel hale geçişleri iç ve dış geçişlerin bir sonucudur.

Uyarılmış bir elektronik halin sönümlenmesi, uyarılmış molekül ve çözücü veya diğer çözünenler arasındaki etkileşimi ve enerji aktarılmasını içerebilir. Bu olaylara topluca dış dönüşüm veya çarpışma ile sönüm denir. Dış dönüşüm için delil, çözücünün floresans şiddeti üzerindeki, kuvvetli etkisini içerir; ayrıca tanecilikler arasındaki çarpışma sayısını azaltan koşullar (düşük sıcaklık ve yüksek viskozite) genellikle floresansı azaltır.

Dış ve iç dönüşümler, fosforesans ile o kadar başarılı bir, şekilde rekabet ederler ki, normal olarak bu tür emisyon, sadece düşük sıcaklıklarda; çok viskoz ortamlarda veya katı yüzeyle absorplanmış moleküllerde gözlenir.

2.2.5. Dissosyasyon

Dissosyasyon olayı, maddenin floresansını azaltma yönünde cereyan eder. Böyle bir olayda, molekülün bir bağı üzerine düşen çok yüksek enerjili bir ışın bağın bir elektronunu molekülden doğrudan dışarı fırlatır. Bu da bağın kopması anlamına gelir. Maddenin gün ışığında eskimesinde bu olayın büyük etkisinin olduğu zannedilmektedir.

2.2.6. Sistemler arası geçiş

Uyarılmış elektronun spininin ters dönmesiyle elektronun spini değişir ve molekül singlet halden triplet hale geçer. Bu olaya **sistemler arası geçiş** denir.

$S_1 \longrightarrow T_1$ (2.17)

Sistemler arası geçiş, iyot veya brom gibi ağır atomları içeren moleküllerde çok yaygındır. Böyle geçişler, iyot, brom, klor, kükürt gibi ağır element ihtiva eden moleküllerde daha çok görülür. Buna ağır atom etkisi denir. Bunlarda spin/orbital etkileşmelerinin çok fazla olduğu zannedilmektedir. Örneğin, naftalinin fosforesans etkisi, halojenli benzen çözücüler içinde en fazla iyodobenzende, en az da florobenzende görülür. Ayrıca bir çözeltide bulunan oksijen gibi paramanyetik bir madde de sistemler arası çapraz geçişleri kolaylaştırarak fosforesansı artırır.

2.2.7. 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 kalkınca10^{-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.

2.3. Absorpsiyon ve Emisyon Hızları

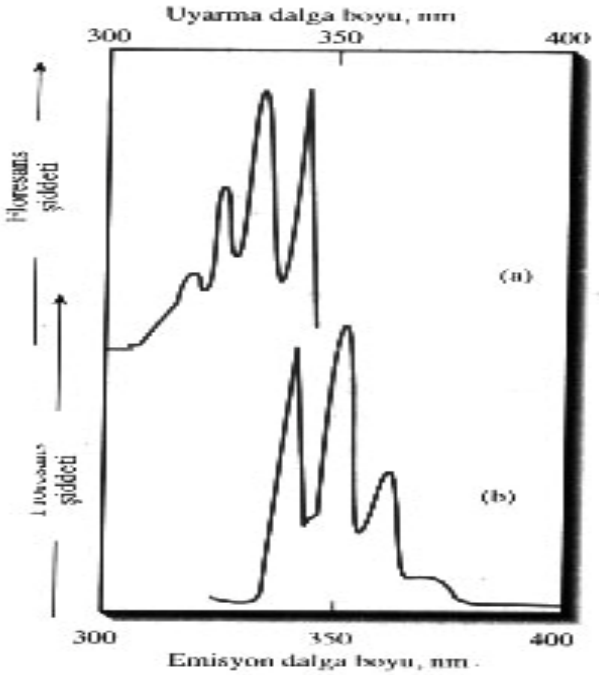
Çeşitli dalga boylarında ışın içeren bir demet, şeffaf bir ortamdan geçirilirse, içinden bazı dalga boylarının kaybolduğu görülür. Böylece ışın absorplanır. Absorpsiyonla ışın enerjisi maddenin iyon, atom veya moleküllerine aktarılır. Böyle ışın

enerjisini absorplamış olan atom, iyon veya moleküller uyarılmış hale geçerler. Uyarılmış bir atom veya molekül 10^{-8} s kadar yaşayabilir. Sonra absorpladığı ışın enerjisini geri vererek tekrar eski haline veya temel haline döner. Madde tarafından absorplanan ışın enerjisinin geri verilmesi, genellikle ısı şeklinde olur ve madde çok az ısınır. Maddenin titreşim enerjisi artar. Atomların ve iyonların sınırlı sayıda uyarılmış halleri vardır. Bu nedenle sınırlı sayıda ışın enerjisini veya sınırlı sayıda ışın dalgalarını absorplarlar. Atomik absorpsiyon ve moleküler absorpsiyon olmak üzere 2 tür vardır. Bir maddenin temel haliyle uyarılmış halleri arasındaki enerji farkları başka bir maddeninkinden farklı olduğundan, her maddenin kendine özgü bir absorpsiyon spektrumu vardır.

Bir ışın fotonunun absorplanma hızı çok büyüktür. Bu işlem 10^{-14}-10^{-15} saniyede tamamlanır. Diğer taraftan, floresans emisyonu önemli derecede daha yavaş hızda oluşur. Burada uyarılmış halin ömrü, uyarılma işlemine karşılık gelen absorpsiyon pikinin molar absorptivitesi ile ters orantılıdır. Bu nedenle, 10^{3}-10^{5} aralığındaki molar absorptiviteler için uyarılmış hallerin ömrü 10^{-7}-10^{-9} s'dir. Geçiş olasılığının daha küçük olduğu zayıf absorplayıcı sistemler için ömür, 10^{-6}-10^{-5} s kadar uzun olabilir. Önceden de belirttiğimiz gibi, tripletten singlete geçişin ortalama hızı, buna karşılık gelen singlet-singlet geçişininkinden daha azdır. Bu nedenle, fosforesans emisyonu 10^{-4}-10 s veya daha fazla bir süre gerektirir.

2.4. Uyarma Spektrumları ile Floresans Spektrumları Arasındaki İlişki

Titreşim düzeyleri arasındaki enerji farkları, temel ve uyarılmış haller için hemen hemen aynı olduğu için, bir bileşik için absorpsiyon veya uyarma spektrumu ve floresans spektrumu genellikle birbirlerinin yaklaşık ayna görüntüsü şeklinde olup rezonans çizgisine çakışma vardır. Bu ilişkiler şekil 2.8.'deki spektrumlarla gösterilmektedir (Skoog, 2000).



Şekil 2.8. Alkol içerisinde 1ppm antrasenin floresans spektrumları: (a) uyarma spektrumu, (b) emisyon spektrumu.

2.5. Floresans Ve Fosforesansı Etkileyen Faktörler

Bir maddenin floresans veya fosforesans olup olmaması moleküler yapısına, kimyasal çevresine ve oluşan emisyonun şiddetine bağlıdır. Bunlardan başlıcaları aşağıda açıklanmıştır:

2.5.1. Kuantum verimi

Yayılan foton sayısının, absorplanan foton sayısına oranı o molekülün kuantum verimini verir. Kuantum verimi, Φ ile gösterilir.

$$\phi = \frac{\text{floresans gösteren kuantum sayısı}}{\text{toplam uyarılmış kuantum sayısı}}$$

Floresans veya fosforesans için kuantum verimi veya kuantum verimi oranı basit olarak lüminesans yapan moleküllerin sayısının toplam uyarılmış molekül sayısına oranıdır. Uyarılmış moleküller titreşim enerjilerini atarak, ışın yayarak en alt elektronik enerji seviyesine geldiklerinde bile, bunların hepsi ışın yaymaz. Ancak belirli bir yüzdesi yayar. Bu yüzdeye kuantum verimi denir. (Skoog, 2000 ve Gündüz, 2002)

$$\phi = \frac{kf}{kf + ks + kdd + kid + köa + ka}$$

Floresans şiddeti etkileyen yapısal ve çevresel etkenlerin kalitatif yorumuna olanak verir. Floresans hız sabiti k_f nin büyük olması ve diğer k terimlerinin küçük olmalarının fluoresansı artıracağı açıktır. k_f nin büyüklüğü, öndisosiyasyon hız sabiti k_{pd}, ve disosiyasyon hız sabiti k_d kimyasal yapıya bağlıdır. Diğer sabitler daha çok çevreden, az derecede de yapıdan etkilenirler.

2.5.2. 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 ve ürün oluşması gibi olaylar yüzünden de azalabilir. Ayrıca gelen ışının şiddetinin artması floresansı arttırır.

Ultraviyole ışının veya 250 nm' den kısa dalga boylarındaki ışının absorbsiyonu floresans vermez (veya nadiren verir). Çünkü bu ışının enerjisi uyarılmış halin öndisosiyasyon veya disosiyasyon ile deaktivasyonu için yeteri kadar yüksektir. Örneğin, 250 nm dalga boyundaki ışın 140 kcal/mol kadar enerjiye eşdeğerdir; pek çok moleküldeki bazı bağlar bu büyüklükteki enerjiyle koparılır. Floresans ışıması meydana getiren dalga boylarının alt sınırı 250 nm kadardır. Bu nedenle $\sigma \rightarrow \sigma^*$ geçişine tekabül eden floresanslara pek rastlanmaz. Anılan dalga boyuna kadar olan ışınlar ancak $\pi \rightarrow \pi^*$ ve $\pi \rightarrow n$ geçişleri meydana getirebilirler. 200 nm' lik bir ışının enerjisi 140 kcal/mol kadardır. Bu büyüklükteki enerji floresans ışıması yapan molekülün bağlarından bir kısmını koparır.

Bir molekülün uyarılması ne kadar enerjili olursa olsun, en düşük uyarılmış hale titreşim relaksasyonuyla veya iç dönüşüyle gelir ve ondan sonra floresans ışıması yapar. Gelen ışının şiddetinin(yoğunluğunun) artması, floresansı artırır.

2.5.3. Derişimin floresans şiddetine etkisi

Bir molekülün floresans etki gösterebilmesi için önce üzerine gönderilen ışımayı soğurması gerekmektedir. Floresans ışının şiddeti maddenin derişimi ile ancak düşük

derişimlerde doğru orantılıdır. Yüksek derişimde gelen ışının tümü çözeltinin ilk tabakaları tarafından soğurulur ve çözeltinin uzak kısımlarına ulaşamaz.

Gelen ışın ile analit molekülü tarafından absorblanan ışın arasında bir oran vardır ve bu oran Lambert-Beer yasası ile tanımlanır. Lambert-Beer yasası aşağıdaki eşitlik ile verilir.

$$A = \varepsilon bC = -\log I/I_o \qquad (2.18)$$

Eşitliğin her iki tarafı 1'den çıkarılırsa;

$$1 - I/I_o = 1 - e^{-\varepsilon bC} \quad I_o - I = I_o(1 - e^{-\varepsilon bC}) \qquad (2.19)$$

halini alır. Burada; $I_o - I$ = absorblanan ışın olduğuna göre floresans yoğunluğu F,

$$F = (I_o - I)\Phi \qquad (2.20)$$

Burada Φ, kuantum verimi veya kuantum verimi oranı, yani lüminesans yapan moleküllerin sayısının toplam uyarılmış molekül sayısına oranıdır. Örneğin; floresein gibi oldukça floresans bir molekül için kuantum verimi bire yakındır.

Floresans yapmayan bazı moleküllerde ise sıfıra yakındır. Yukarıdaki son iki eşitlik göz önüne alınırsa floresans yoğunluğu için,

$$F = I_o(1 - e^{-\varepsilon bc})\Phi \qquad (2.21)$$

eşitliği elde edilir. Seyreltik çözeltilerde εbC küçük olacaktır. Yukarıdaki eşitliğin seri açılımı, yaklaşık olarak

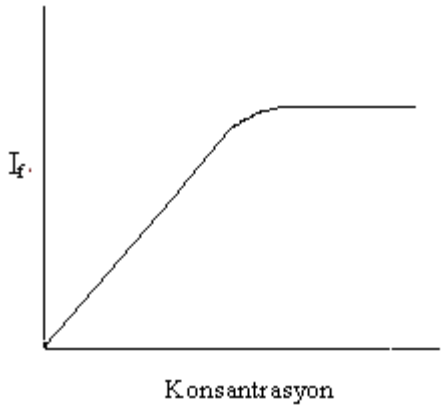
$$F = 2{,}303\varepsilon bI_o\Phi C \qquad (2.22)$$

eşitliğine eşit olur. Eşitlikte $2{,}303\varepsilon bI_o\Phi$ değerleri sabittir cihaza ve analizi yapılacak maddeye özgüdür ve K bu sabiti temsil etmek üzere eşitlik

$$F = KC \qquad (2.23)$$

şekline dönüşür. Bu eşitliğe göre bir maddenin yaydığı floresans ışını şiddeti, seyreltik numunenin derişimiyle orantılıdır ve ışın yayan molekülün derişimine karşı floresans gücünün grafiği seyreltik çözeltilerde doğrusaldır. Elde edilen doğrunun eğimi K sabitini verecektir.

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(Şekil 2.9.).

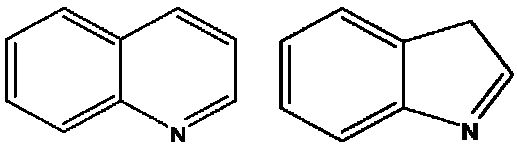


Şekil 2.9. Floresans şiddetine konsantrasyonun etkisi

2.5.4. Yapısal faktörler

Moleküllerde düzlemsellik, dönmenin engellenmiş olması, konjugasyon ve halka sayısının artması genellikle floresans verimini arttırır.

Bunlardan birincisini ele alırsak, molekülde $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişini kolaylaştıracak konjuge π(pi) bağları olmalıdır. Örneğin kinolin ve indol gibi maddeler oldukça şiddetli floresans özelliği gösterirler.



Şekil 2.10. Kinolin ve indol molekülleri.

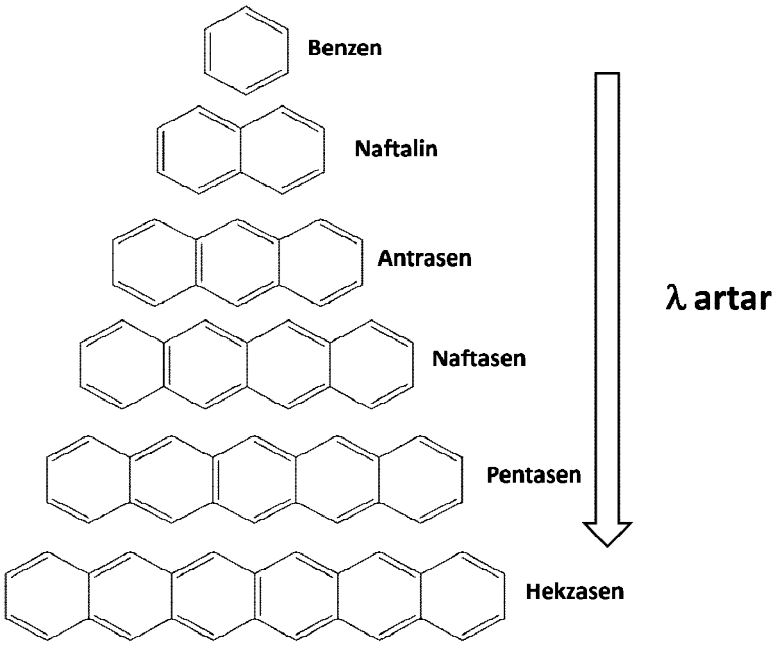
Konjuge π bağları içeren moleküllere sübstitüe grupların etkisi ise şöyle verilebilir; elektron verici gruplar (örneğin $-NH_2$, -OH gibi) floresansı arttırdığı halde, elektron alıcı olan gruplar (örneğin, $-NO_2$, -X, -CHO, -N=N- gibi) floresansı azaltır, bazen de ortadan kaldırır. Genellikle orto- ve para- pozisyondaki sübstitüentler halkaya elektron verirler ve muhtemelen oluşacak floresansı arttırırlar. Meta- pozisyondaki sübstitüentler halkadan elektron çekerler ve muhtemel floresansı azaltırlar. 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. Bir çok sübstitüe olmamış aromatik bileşik floresans 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 pridin, furan, pirol gibi maddeler örnek verilebilir. Bunun nedeni, böyle bileşiklerde en düşük enerjili geçişin n → π* olmasıdır. Bu tip bir geçiş sonucu uyarılan maddeler kolaylıkla triplet hale geçerler ve sadece fosforesans özelliği gösterirler.

2.5.4.1. Konjügasyon etkisi

Konjügasyona hem aromatik hem de alifatik bileşiklerde rastlanır. Bu iki bileşik türü karşılaştırıldığı zaman; aromatik konjügasyonda π elektronları delokalize durumda, alifatik konjügasyonda ise lokalize durumda olduğu görülür. Yani π elektronları aromatik bileşiklerde düşük bir enerjiyle uyarılabilirken alifatik bileşiklerde molekül yapısını bozmadan uyarılabilecek kadar gevşek bağlı değildirler. Ancak alifatik karbonil bileşikleri floresans kuantum verimini çok düşük olacak şekilde bir floresans yapabilirler. Çünkü karbonil oksijeni üzerindeki bağ yapmamış elektron çifti π* orbitaline düşük bir enerji ile uyarılabilir. Yukarıda belirtildiği gibi aromatik bileşiklerde konjuge durumdaki çift bağların π elektronları delokalize durumdadır. Halka sayısı arttıkça delokalizasyon da artar. Bunun sonucu olarak da halka sayısı arttıkça floresans şiddeti artar.

Benzende floresans yüksek enerjili fotonlarla gerçekleştirilirken pentasende düşük enerjili fotonlarla olmaktadır. Benzendeki floresans daha yüksek enerjili olan UV bölgede olurken, pentasendeki floresans görünür bölgede olur.

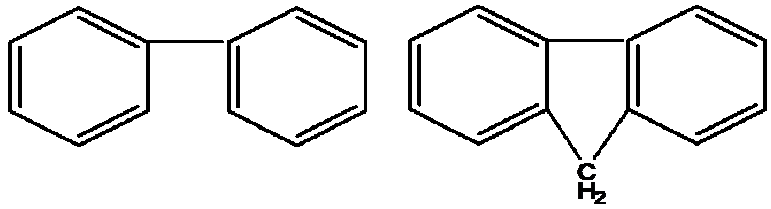


Şekil 2.11. Floresans şiddetine konjügasyonun etkisi.

2.5.4.2.Yapısal sertliğin etkisi

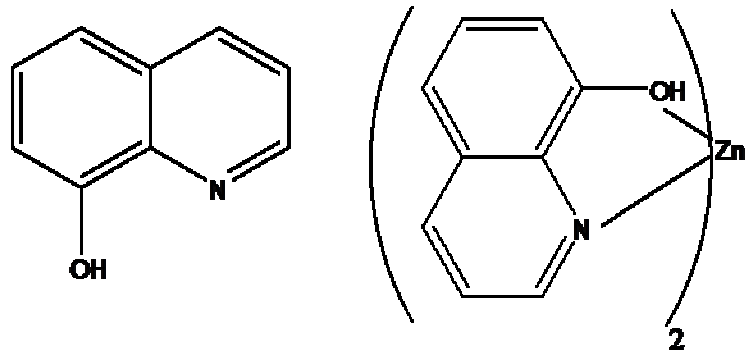
Sert yapılı moleküllerdeki floresansın daha fazla olduğu deneylerle saptanmıştır. Örneğin, fluoren ve bifenilin kuantum verimleri, benzer ölçme koşullarında sırasıyla, 1.0 ve 0.2 dolayındadır.

Fluoren metilen grubu köprüsü nedeniyle daha sert bir yapıdadır, bu nedenle de floresans özelliği bifenilden daha fazladır. Benzer pek çok örnek gösterilebilir. Ayrıca, floresans boyalar katı bir yüzey (sertliği artırıcı etki) üzerinde absorblandığında emisyon artar.



Şekil 2.12. Bifenil ve Floren molekülleri.

Bazı organik şelat maddeleri bir metal iyonuyla kompleks oluşturduğunda, floresans özellik artar, bu durum da molekül sertliğinin artmasının bir sonucudur. Örneğin, 8-hidroksikinolinin floresans şiddeti, bunun çinko kompleksininkinden çok daha azdır.



Floresans çok az gösterir Floresans gösterir

Şekil 2.13. Yapısal sertliğin etkisi.

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.

2.5.5. Sıcaklık ve viskozite:

Sıcaklığın artması ve çözücünün viskozitesinin azalması, uyarılmış molekül ile diğer moleküllerin çarpısması ve ayrıca sistemler arası geçislerin olasılığını arttırmaktadır. Düşük sıcaklıkta ve yüksek viskoziteli ortamda ise dinlenme zamanı uyarılmış durumun ömründen daha uzun olmakta ve floresans artmaktadır.

2.5.6. Çözücü etkisi

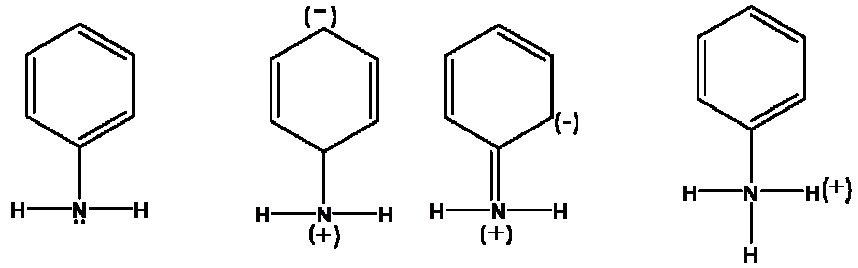
Kullanılan çözücüler floresans şiddetinin veya floresansın görüldüğü dalga boyunun değişmesine neden olabilir. Çözücünün genellikle uyarılmış durumundaki moleküller ile H bağı oluşturması temel hale ışımasız dönüş işleminin hızını arttırdığından floresansın şiddetinde azaltma olur. Çözücünün polarlığının artmasıda floresansı etkiler. Çünkü, polar çözücüler $n\rightarrow\pi^*$ geçişlerinde enerji farkını genellikle artırarak floresans ışımasını azaltır. Bazı hallerde $\pi\rightarrow\pi^*$geçişinin enerjisi $n\rightarrow\pi^*$ geçişininkinin altına bile düşer. İçinde ağır atomlar içeren çözücüler, örneğin, karbontetraklorür ve etiliyodür, floresans ışımasının şiddetini azaltır. Ağır atomlar floresant madde üzerinde olduğu zaman da aynı özelliği gösterirler. Atom numarası

arttıkça spin ve toplam orbital momentleri arasındaki etkileşmeler büyür ve uyarılmış triplet hale dönüşmesi olasılığı artar. Triplet hal fosforesansı artırıp, floresansı azaltır.

Bir molekülün floresansını, ağır atomlar içeren çözücüler veya yapısında ağır atomlar bulunan bileşikler azaltır; karbon tetrabromür ve etil iyodür bu tip maddelerdir. Buradaki etki, fluoresans maddelere ağır atomların sübstitüsyonunda görülen etki ile aynıdır; orbital spin etkileşimi üçlü oluşum hızını artırır ve buna uygun olarak da floresans azalır. Ağır atomlar içeren bileşiklerde yüksek floresans istendiğinde, madde uygun bir solventle birleştirilir.

2.5.7. pH'ın Etkisi

Asidik veya bazik halka sübstitüenti bulunan bir aromatik bileşiğin floresansı, çoğunlukla, pH'a bağımlıdır. Bileşiğin iyonize ve iyonize olmamış hallerinin dalga boyu ve emisyon şiddetleri farklıdır. Böyle maddelerin iyonlaşmış ve iyonlaşmamış (molekül) hallerinin hem floresans şiddetleri, hem de yaydıkları floresan ışınların dalga boyları birbirinden farklıdır. Bunlara anilin ve fenolün molekül ve iyon halleri örnek verilebilir.



Şekil 2.14. Anilinin iyonlaşmış halleri.

Bu bileşiklerin emisyon değerlerindeki değişiklikler, asit-baz indikatörlerinde gözlenen farklılığa benzer; gerçekte, çok renkli çözeltilerde asit-baz titrasyonları floresans indikatörlerle yapılır. Örneğin, 1-naftol-4-sülfonik asitin floresansı, ultraviole bölgede oluştuğundan, gözle izlenemez. Baz ilavesiyle madde fenolat şekline dönüştürülürse, emisyon piki görünür dalga boylarına kayar ve gözle izlenebilir hale gelir. Bu değişiklik, fenolün asit disosiyasyon sabitinden çıkarılan pH dan farklı bir pH'da oluşur; nedeni "uyarılmış" molekülün asit disosiyasyon sabitinin aynı molekülün temel haddeki değerinden farklı olmasıdır. Uyarılma ile asit veya baz disasiyasyon sabitlerinin değişmesi olağandır; büyüklüğü 4. veya 5. derecedendir.

Bu incelemelere göre, floresansa dayanan analitik işlemlerde pH'ın çok iyi kontrol edilmesi gereği açıkça görülmektedir.

2.5.8. Çözünmüş oksijen, paramagnetikler ve ağır atomlar

Çözünmüş oksijen genellikle floresans ışımasının şiddetini azaltır. Bunun nedeni, maddenin fotokimyasal indüksiyonla oksitlenmesidir. Ancak, genellikle paramanyetik oksijen mokelülünün etkisiyle bağlanma yoluyla quencing olayı meydana gelir. Bu sistemler arası geçişi ve dış geçişi etkiler ve triplet hal ortaya çıkar. Moleküler oksijen paramagnetik olduğundan, singlet halin triplet hale dönüşmesini kolaylaştırıp floresansını azaltır. Bu nedenle analizden önce çözeltiden çözünmüş havanın uzaklaştırılması uygundur.

Floresans bir çözeltinin şiddeti, ortamda çözünmüş oksijen bulunması durumunda azalır. Bu etki, floresans taneciklerin fotokimyasal tesirle oksitlenmelerinden kaynaklanabilir.

Oksijenden başka Fe^{3+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Cu^{2+} gibi paramagnetik ve dış d orbitalleri dolmamış geçiş elementleri de floresansı söndürmektedir. Bunların etkileri de oksijende olduğu gibidir. Hg^{2+}, Au^{2+} gibi diyamagnetik atomlarda floresansı azaltmaktadır. Na^{+}, K^{+}, Ca^{2+}, Mg^{2+} gibi diyamagnetik hafif metaller floresansı değiştirmezler.

Paramagnetik maddeler: Mıknatıslanma çok zayıftır ve mıknatıslayıcı magnetik alan yönündedir. Paramagnetik maddeler kuvvetli mıknatıs tarafından hafifçe çekilirler. Örnegin; O_2, N_2O, Al, ozon, Pt gibi.

2.6. Floresans Analiz Cihazları

Fotolüminesans ölçümlerinde kullanılan alet şekil 2.15'de şematik olarak görülmektedir (Skoog, 2000).

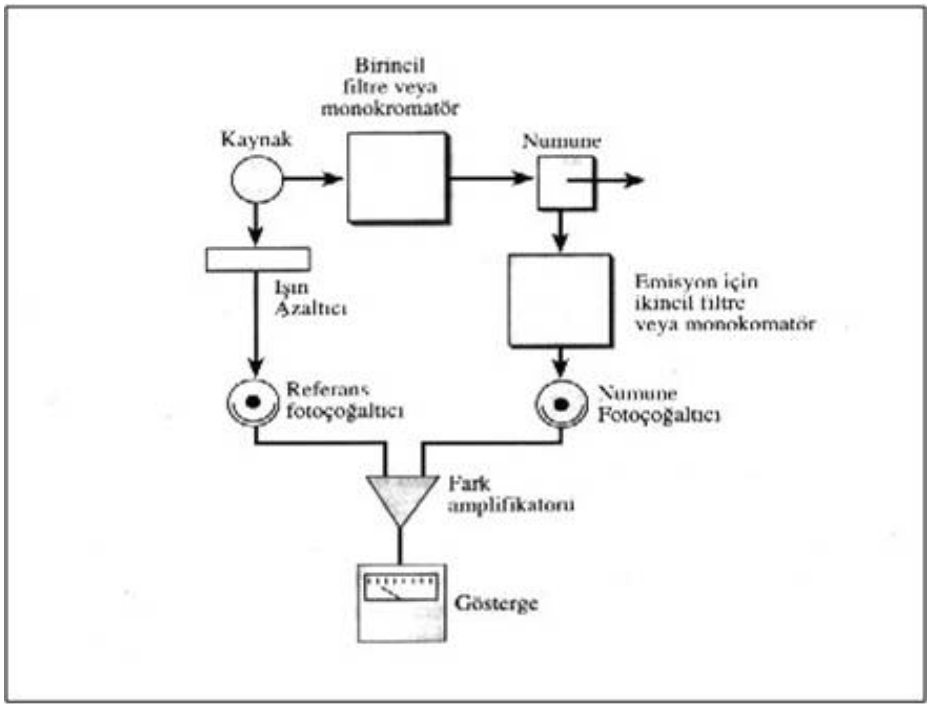
Ultraviyole (UV) ve görünür bölgede ışın yayan bir ışık kaynağından gelen ışın bir monokromatörden (uyarma monokromatörü) geçtikten sonra örneğe gönderilir. Örnekten kaynaklanan lüminesans genellikle uyaran ışığa göre 90°'lik bir açıdan toplanarak dedektöre ulaşır. Böylece numuneyi uyaran ışının dedektöre 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 2.15. Fotolüminesans ölçümleri için kullanılan cihaz.

Fotolüminesans ölçülmesi için kullanılan cihazların çeşitli bileşenleri, ultraviyole görünür bölge fotometreleri veya spektrofotometrelerinde bulunanlarla benzerdir. Şekilde florimetreler ve spektroflorometrelerdeki bu bileşenlerin tipik bir dizilişi görülmektedir. Hemen hemen bütün floresans cihazlarında güç kaynağındaki dalgalanmaları dengelemek (etkisini gidermek) için çift ışınlı optik sistem kullanılır. Numuneden gelen ışın, önce floresans uyaracak ışınları geçiren, fakat floresans emisyonunun dalga boyundaki ışınları dışarıda tutan veya sınırlayan bir uyarılma filtresinden veya bir monokromatörden geçer.



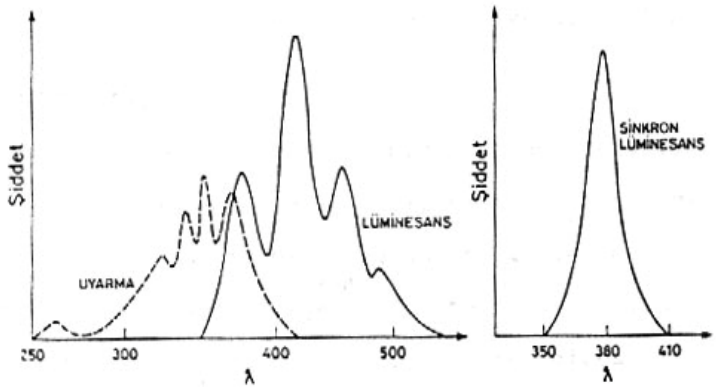
Şekil 2.16. Fotolüminesans cihazının şematik gösterimi.

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. 320nm'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 dalga boyu 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,

Δλ, 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 Şekil 2.17'de görülmektedir.



Şekil 2.17. 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.

2.7. 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, 2002).

2.8. Florimetrinin Uygulama Alanları

Spektroflorimetri veya fotolüminesans metotları en hassas analitik metotlar arasındadır. Spektroflorimetrik metotlar hassaslıklarının yanı sıra çok da spesifiktir. Literatürde 2000 ile 3000 arasında maddenin direkt florimetrik ölçümünün yapılabildiği yayımlanmıştır.

Floresans gösteren bir maddenin yaydığı ışının dalga boyu o madde için karakteristik oldugundan floresans analizleri ile maddelerin kalitatif analizi mümkün olur. Kantitatif analizler ise belirli bir derisim aralıgında floresans siddeti ile derisimi arasındaki ilişkinin dogrusal olmasından yararlanılarak yapılır. Kolorimetrik veya spektrofotometrik yöntemlerle tayin edilemeyen çok düsük derisimlerdeki çözeltiler (10^{-4} - 10^{-9} μM) floresans yöntemiyle tayin edilebilirler.

Florimetri besin endüstrisinde, farmakolojide, klinik numunelerde, biyokimyasal bileşiklerin analizinde, hava ve çevre kirliliği tayinlerinde, tarım kimyasında ve pekçok organik ve inorganik bileşiğin analizinde tercih edilen bir enstrümental yöntemdir.

2.8.1.İnorganik analizler

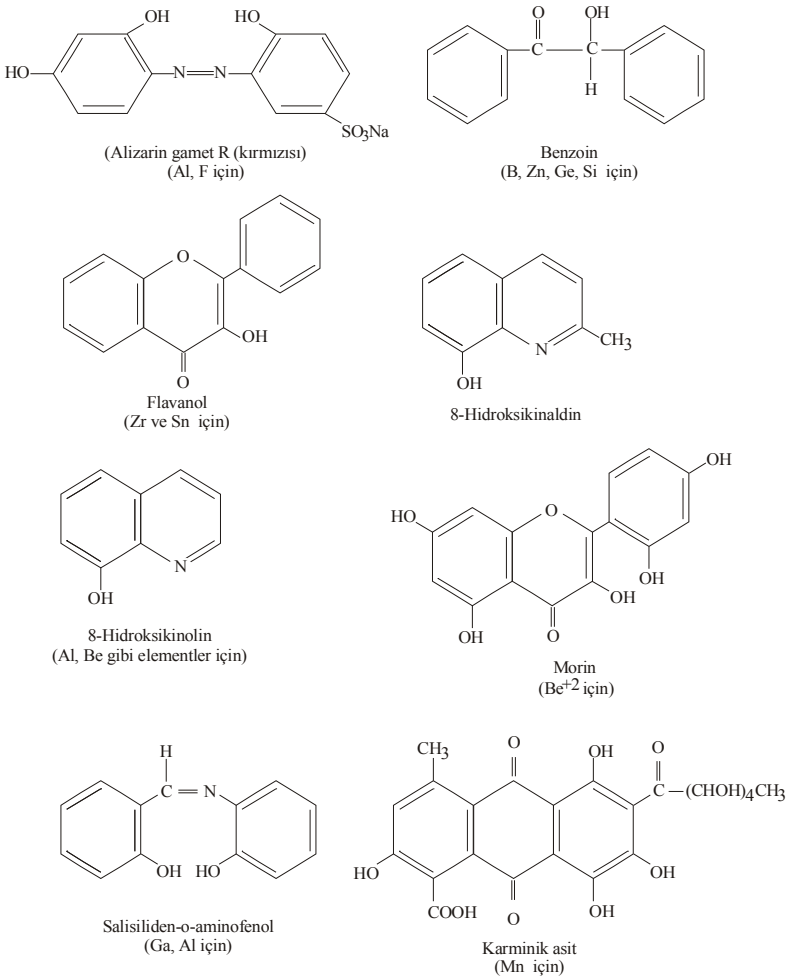
Florimetrik olarak tayini yapılan inorganik maddeler başlıca üç gruba ayrılırlar. Birincisi doğrudan analiz yöntemidir; bunda, bir floresans şelat oluşturularak bunun emisyonu ölçülür. İkinci yöntemde, analizi yapılan maddenin söndürülme (guenching) özelliğinden yararlanılır; yöntem floresanstaki azalmanın ölçülmesine dayanır (anyon analizlerinde çok kullanılır). Katyonlar uygun şelatlaştırıcı maddelerle floresant kompleks verebilir. Bu şekilde floresant kompleksler veren katyonlar renksiz katyonlardır ve bunların kompleksleri genellikle renksizdirler. Renkli kompleks oluşturan iyonlar spektrofotometrik yöntemle kolayca tayin edilebilirler. Renksiz kompleks oluşturan iyonları da tayin etme olanağı vermesi nedeniyle florimetriye spektorofotometrinin tanımlayıcısı da denebilir.

1.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. Bunlar, doğrudan doğruya uygun bir çözeltileri hazırlanarak tayin edilebilirler. Çözeltilerinde doğal olarak floresans özellik gösteren

türlere en önemli örnek lantanitler ve aktinitlerdir. Bunların ortak özellikleri UV ışınının absorpsiyonuyla daha yüksek enerjili orbitale yükseltilebilen f elektronlarının dolmamış enerji düzeyinin varlığıdır.

2.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: Florometrik tayin, geçiş metallerinin bir floresant madde ile tepkimeye sokulup yeni bir floresant ürün veya etiketlenmiş ürün oluşturulması ile yapılır. Bu yöntemin nicel eser analizlerde geniş bir kullanım alanı vardır. Bazı organik bileşiklerin geçiş metal katyonlarıyla verdikleri kompleks bileşiklerin tayini, benzokinonun siyanürle reaksiyonuyla floresent 2,3-disiyano-dihidroksikinon halinde tayini örnek olarak verilebilir. Genellikle kompleksleştirici madde olarak kullanılan organik ligandlar oksijen ve azot gibi heteroatomlar içerir ve floresant değillerdir. Florimetrik bir reaktifin ilavesiyle tayin edilmekte olan inorganik elementler arasında Al, Au, B, Be, Ca, Cd, Cu, Eu, Ga, Gd, Ge, Hf, Mg, Nb, Pd, Rh, Ru, S, Sb, Se, Si, Sm, Sn, Ta, Te, Th, W, Zn ve Zr yer almaktadır.

Florimetrik reaktif olarak kullanılan, genel kompleksleştirici maddelerin bazılarının yapıları:



Şekil 2.18. Florimetrik reaktif olarak kulanılan bazı genel kompleksleştirici maddeler.

Florimetrik reaktifler kullanılarak yapılan doğrudan tayinlere ek olarak dolaylı tayinler yapmak da mümkündür. Analite, floresant olmayan bir kompleksin aşırısı ilave edildiğinde, analit, kompleksin yapısında bulunan metale liganddan daha kuvvetle etki eder ve komplekste ligand ile yerdeğiştirir. Böylece serbest hale gelen ligand miktarıyla, dolayısıyla analit miktarıyla orantılı bir floresans ortaya çıkar.

3.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 söndürme 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. Yayılan floresans ısının çözeltideki bileşenler tarafından soğurulması nedeniyle şiddetinin azalması olayına söndürme denir. Maddenin kendi kendini söndürmesi olayına çevreye bağlı sönme (self quenching) denir. Derişim artması ile bu durum ortaya çıkar (Brand ve ark., 1997). Söndürme; uyarılmıs durumundaki moleküllerin safsızlık olarak bulunan yabancı moleküller ile çarpışması sonucu ışımasız enerji kaybı ile de olabilir. (safsızlık söndürmesi).

Geçiş elementlerinin katyonlarının şelat kompleksleri floresans özellik göstermezler. Bunun nedenleri şöyledir, (Gündüz, 2002):

a) Geçiş elementleri katyonları genellikle paramanyetiktir. Paramanyetik maddeler haller arası geçişi kolaylaştırdıklarından singlet hal kolayca triplet hale dönüşür.

b) Geçiş elementleri katyonlarında enerjice birbirlerine çok yakın enerji düzeyleri olduğundan, iç dönüşmeler kolaydır.

2.8.2. Organik bileşiklerin analizi

Organik bileşiklerin bir bölümü kendiliğinden doğal olarak lüminesanttır. Bunlara en iyi örnek, naftalen, fenantren, antrasen, pentosen, perilen vb. çoklu halkalı bileşikler aromatik hidrokarbonlardır. Lüminesant olmayan organik ve biyokimyasal bileşikler, floresans veya fosforesans özelliğe sahip bir türevi kantitatif olarak hazırlanabiliyorsa florimetrik veya fosforimetrik olarak tayin edilebi

Organik sorunlara uygulanan florometrik analizlerin sayısı şaşırtıcıdır. Weissler ve White bunlardan çok önemlilerini çeşitli tablolarda toplamışlardır. "Organik ve Genel Biyokimyasal Maddeler" başlığı altında 100'den fazla madde için bilgi bulunabilir; Adenin, antranilik asit, aromatik polisiklik hidrokarbonlar, sistein, guanidin, indol naftoller, bazı sinir gazları, proteinler, salisilik asit, skatol, triptofan, ürik asit, ve varfarin bu tablolardaki bazı maddelerdir. Florometrik olarak analiz edilebilen 50 kadar tıbbi madde sayılabilir. Bunlardan bazıları adrenalin, alkilmorfin, kloroquin, digitalis prinsipıls, liserjik asit dietilamin (LSD), penisilin, fenobarbütal, prokain, ve reserpindir.

Florometrenin yiyeceklerde, farmasetiklerde, klinik örneklerde, ve doğal ürünlerde çok geniş bir uygulama alanı bulunur. Yöntemin bu alanda başarıyla uygulanabilmesinin en önemli nedeni hassasiyeti ve seçiciliğidir.

2.9. Antibiyotikler

Antibiyotikler, bakteri, mantar ve aktinomisetler gibi canlı mikroorganizmalar tarafından meydana getirilen veya sentezle hazırlanan, düşük yoğunlukta bile bakterilerin gelişmesini etkileyen ya da onları öldüren maddelerdir. Bütün bakterilerde yavaş gelişme, hızlı gelişme ve dinlenme dönemlerinden oluşan üç çoğalma devresi vardır. Antibiyotikler bakterilerin hızlı ve yavaş gelişme dönemlerinde etki gösterirler. Bu etkileşim ya bakterilerin öldürülmesi (bakterisid etki) ya da bakterilerin gelişimi ve üremesinin durdurulması (bakteriostatik etki) şeklinde olur. Örnegin penisilinler, aminoglikozidler, sefaloporinler, vankomisin, florokinolonlar ve basitrasin, bakterisid etkiye; tetrasiklinler, makrolidler ve sülfonamidler ise bakteriostatik etkiye sahiptirler. Antibiyotikler;

1. Hücre duvarı sentezini engelleyerek
2. Sitoplazmik zarın geçirgenliğini degiştirerek
3. Nükleik asit sentezini önleyerek
4. Ara metabolizmayı bozarak
5. Protein sentezini engelleyerek bakteri hücresi üzerinde etkilerini gösterirler (Akkan ve ark., 2003; Dökmeci ve ark., 1992; Kayaalp, 1991).

Ara metabolizmanın bozulmasına neden olan ilaçlar, bakteriler için gerekli bazı maddelerin (folik asit gibi) sentezini engellerler. Bu grup ilaçlara örnek olarak sülfonamidler, kinolonlar, sülfonlar, trimetoprim, p-salisalik asit ve izoniazid gösterilebilir. İstenen antibakteriyel etkinin saglanması için antibiyotiklerin seçiminde bu önemli koşullara dikkat edilmesi yerinde olur. Penisilinler ise irin varlığından etkilenmezler. Oral kullanılan tetrasiklinler mide-barsak içeriğinin kalsiyumdan zengin olması durumunda gerekli antibakteriyel etkilerini gösteremezler. İki değerli mineraller ise florokinolonların etkisini önemli ölçüde azaltırlar.

Vücutta bulunan doğal bariyerler antibiyotiklerin kullanımını önemli ölçüde kısıtlayabilirler. Kan-beyin bariyerini florokinolonlar, sülfonamidler, rifampin, izoniazid ve metronidazol kolayca geçerken penisilinler, sefalosporin, tetrasiklinler ve kanamisin iltihablı durumlarda geçebilir (Akkan ve ark., 2003; Şanlı ve ark., 1994).

Antibiyotiklerin farmakokinetik özelliklerine göre sınıflandırılmaları:

1. Akciğer dokusuna girifli iyi olan antibiyotikler:

- Penisilin, Ampisilin
- Tetrasiklin
- Eritromisin,
- Spiramisin
- Florokinolonlar

2. Kemik dokusuna girifli iyi olan antibiyotikler:

- Metisilin
- Sefazolin
- Klindamisin,
- Linkomisin

3. intraselüler penetrasyonu iyi olan antibiyotikler:

- Tetrasiklinler
- Makrolitler
- Etambutol
- Kloramfenikol
- Rifamisin
- Florokinolonlar
- Klindamisin
- Trimetoprim

4. Barsaklardan emilmeyen vemide sıvısında parçalanmayan antibiyotikler:

- Aminoglikozidler:
- Kanamisin,
- Neomisin,
- Paromomisin
- Kolistin,
- Polimiksin

5. Kan-beyin engelini aşabilen Menenjit tedavisinde kullanılabilen antibiyotikler:

1. Kolay Aşabilenler:

- Kloramfenikol
- Ko-trimoksazol
- 3.Kuşak Sefalosporinler
- Florokinolonlar

Yüksek Dozda Aşabilenler:

- Penisilinler,
- Ampisilin
- Gentamisin

Tüberküloz Menenjitte Kullanılanlar

- Rifampisin
- isoniazid
- Streptomisin

6. Safradan aktif şekilde atılanlar:

- Ampisilin
- Makrolitler
- Linkomisin
- Tetrasiklin
- Tiamfenikol

7. İdrarla aktif şekilde atılanlar:

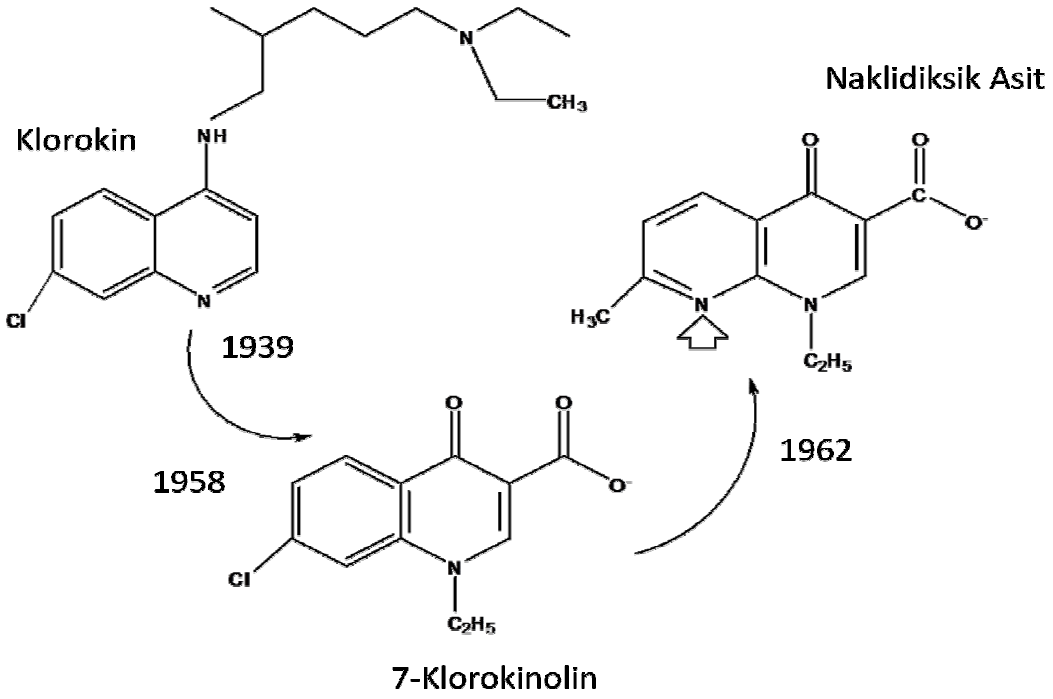
- Ampisilinler
- Sefalosporinler
- Aminoglikozidler
- Kolistin, Polimiksin B
- Ko-trimoksazol
- Kinolonlar

2.9.1. Kinolonlar

Kinolonlar, insan ve veteriner ilaçları olarak geniş kullanım alanı olan sentetik antimikrobiyal ajanlardır (Shim ve ark., 2003; Turiel ve ark., 2003; Espinosa- Mansillal ve ark., 2005). Kinolonlar, bakterilerde DNA giraz enziminin inhibisyonu ile gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı aktivite gösteren geniş spektrumlu bir gruptur (Quiming ve ark., 2007; Toussiant ve ark., 2002; Lü ve ark., 2005). Kinolonlar insanlarda ve hayvanlarda üst solunum yolu, üriner sistem ve sindirim sistemi infeksiyonlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan ilaçlardır. Bununla birlikte, bu

ilaçların hayvanlarda yoğun olarak kullanılması gıda maddesi olarak kullanılan hayvan dokularında ilaç kalıntılarının kalmasına neden olabilmekte bu da insanlarda zehirlenme, ilaç direnci ya da alerjik reaksiyonlar gibi ciddi problemlere neden olabilmektedir (Toldra ve Reig., 2006).

Kinolonlar sentetik olarak üretilen kimyasal maddelerdir. Bu grup antibakteriyel ajanların ilk üyesi olan nalidiksik asit 1960'lı yıllarda antimalaryal bir ilaç olan klorokinin saflaştırılması sırasında elde edilen bir ara üründen üretilmistir (şekil 2.19) (www.sbimc.org).



Şekil 2.19. Klorokinin saflastırılmasıyla nalidiksik asitin elde edilmesi.

Daha sonra 1980'li yıllarda florlanmış kinolonlar, 4-kinolonlar, kinolon karboksilik asitler de denilen yeni kinolon türevleri klinik kullanıma girmiş ve çeşitli infeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Özalp, 2002; www.omu.edu.tr; Dökmeci, 1992). Kinolonlarda yapılan yapı degişiklikleri ile yeni jenarasyon kinolonlar geliştirilmiştir. Nalidiksik asitle yapısal ilişkisi bulunan yeni kinolon türevleri nalidiksik aside benzer şekilde bakterisidal, oral alındığında iyi absorbe olan, kullanımı kolay ilaçlardır. Nalidiksik asitten farklı olarak in vitro daha etkin, daha geniş antibakteriyel etki spektrumuna, daha üstün farmakokinetik özelliklere sahip, dirençli bakteri gelişimine de daha az neden olmaktadırlar (Park ve ark., 2002).

Geçen son 15 yılda florokinolonlar, bakteriyel infeksiyonların tedavisinde çok büyük önem kazanmıştır. Kinolon gurubu ilaçlar, geniş spektrumu ve oral yoldan kullanılabilirliğinden dolayı bu sınıfta hala geniş kullanım alanı bulmaktadır. Kinolonlarda yapı aktivite ilişkilerinin geliştirilmesi ile yeni birçok kinolon üretilmiştir ve klinik testleri yapılmaktadır (Andriole, 2000).

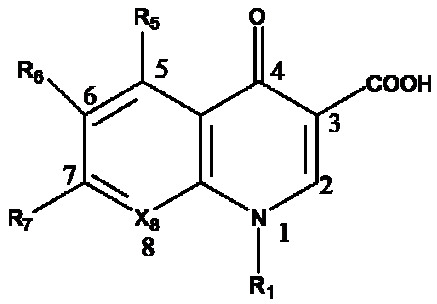
Yeni kinolonlarm binlerce türevi elde edilmiş ve halen üretilmekte iken bunlardan ancak bazıları insan infeksiyonlarında kullanılır durumdadır. En çok uygulananların başında norfloksasin, enoksasin, ofloksasin, siprofloksasin, pefloksasin gelmekte; bunları fleroksasin, lomefloksasin, temafloksasin, amifloksasin, difloksasin, tosufloksasin, sparfloksasin izlemektedir.

Gıdalar florokinolonların çoğunun emilimini etkilemez. Bununla birlikte; alüminyum, magnezyum, kalsiyum, demir ve bakır gibi bazı katyonlarla kinolonlar şelat oluştururlar. Bu etkileşmeler emilme ve biyoyararlanımı önemli ölçüde azaltır, aynı şekilde serum ilaç yoğunluklarını düşürür ve hedef dokulara geçişi zayıflatır.

Kinolonların, biyolojik numunelerdeki tayinleri sıklıkla UV ve floresans dedektörler kullanılarak sıvı kromatografi yöntemi ile yapılır. (Ballesteros ve ark., 2003).

2.9.2. Kinolonların yapısı

Kinolonların temel yapısı iki halkadan olusmaktadır. Ana çekirdek genellikle bir azot atomu (kinolinler) içerir. Birinci pozisyonda (N), üçüncü pozisyonda (COOH) ve dördüncü karbon atomuna çift bagla baglı (O) içeren temel yapı antibakteriyel etki için şarttır. Tüm yeni kinolonlarda C6 poziyonunda antibakteriyel aktivite için bir flor bulunur. Son zamanlarda ise yüksek aktiviteye sahip, 6 numaralı C atomlarında flor grubu taşımayan ancak yan zincirde flor ihtiva eden türevleri geliştirilmiştir. Bu şekliyle hazırlanan ilaçlar nalidiksik asit gibi klasik ilaçlardan belirgin farklılıklar gösterirler ve genel bir terim olarak da florokinolon yerine kinolonlar olarak adlandırılabilirler. Şekil 2.20'de kinolonların temel yapısı gösterilmektedir.



Şekil 2.20. Kinolonların genel gösterimi

Son 15-20 yılda bu temel yapıdan üretilen çok sayıda kinolon klinik kullanıma girmiş, çok daha fazlasının da klinik öncesi çalışmaları devam etmektedir (www.omu.edu.tr). Kinolonlar arasındaki antibakteriyel etkinlik ve farmakokinetik farklılıklar, kimyasal yapılarındaki farklılıktan kaynaklanmaktadır(www.infeksiyon.org)

2.9.3. Sınıflandırılmaları ve farmokinetik özellikleri

Kinolonlar sentez edildikleri sıraya göre sınıflandırılırlar:

1. Kuşak Kinolonlar (nalidiksik asit, oksolinik asit ve sinoksasin),
2. Kuşak Kinolonlar (pipedimik asit ve flumekin),
3. Kuşak Kinolonlar (florokinolonlar) (siprofioksasin, enoksasin, ofloksasin, norfloksasin, pefloksasin, lomefloksasin, fleroksasin, temafloksasin, amifloksasin ve sparfloksasin).

Kinolonların Farmakokinetik Özellikleri :

Kinolonlar biyoyararlanımları oldukça iyi olan ilaçlardır. Ağız yolu ile alındıklarında gastrointestinal sistemden iyi emilirler. Ağız yoluyla alınan florokinolonlardan norfloksasinin dışındakilerin emilimleri %70-95 oranındadır.

Tüm kinolonlar gerek küçük moleküllü olmaları, gerekse proteine bağlanma oranlarının düşük olması nedeniyle serumda, dokuda, vücut sıvılarında ve fagositler içinde oldukça yüksek konsantrasyonlara ulaşırlar (Özalp, 2002; www.infeksiyon.org; Kayaalp, 2000). Akciğerler, karaciğer, kalp, kemik, prostat dokusuna, iyi etkili oldukları bakterilere karşı minimum inhibisyon konsantrasyonunun üzerindeki yoğunlukta ulaşır. İdrar konsantrasyonları da oldukça yüksektir. Dışkıda aerop florayı yok edecek düzeylerde bulunurlar. Tükrük ve brons sekresyonlarında serum düzeylerinden daha düşük, akciğer dokusundan daha yüksek yoğunlukta bulunurlar. Ayrıca suda çözünen lipofilikligi yüksek ilaçlardır. Oral biyoyararlanımları yüksektir. +2 ve +3 yükseltgenme

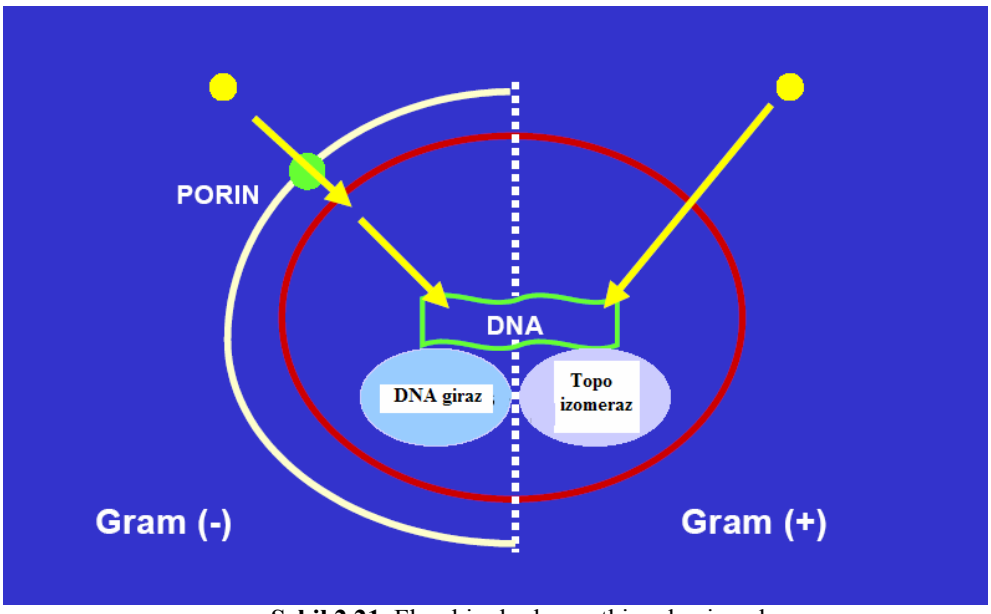
basamağındaki (besinler ve antasidler gibi ilaçlar içindeki) katyonlarla şelat yaparlar. Karaciğerde metabolize edilirler. Böbreklerden glomerüler filtrasyon ve tübüler sekresyonla atılırlar (www.ctf.istanbul.edu.tr).

Kinolonlar, oral kullanımdan sonra yüksek biyoyararlanım oranları başta olmak üzere çok iyi farmakokinetik özellikleri, geniş antibakteriyel etki alanları, mükemmel doku penetrasyonları ve nispeten düşük ve önemsiz yan etki profilleri nedeniyle çok değişik infeksiyonların tedavisinde başarı ile kullanılan seçkin ilaçlar arasındadır.

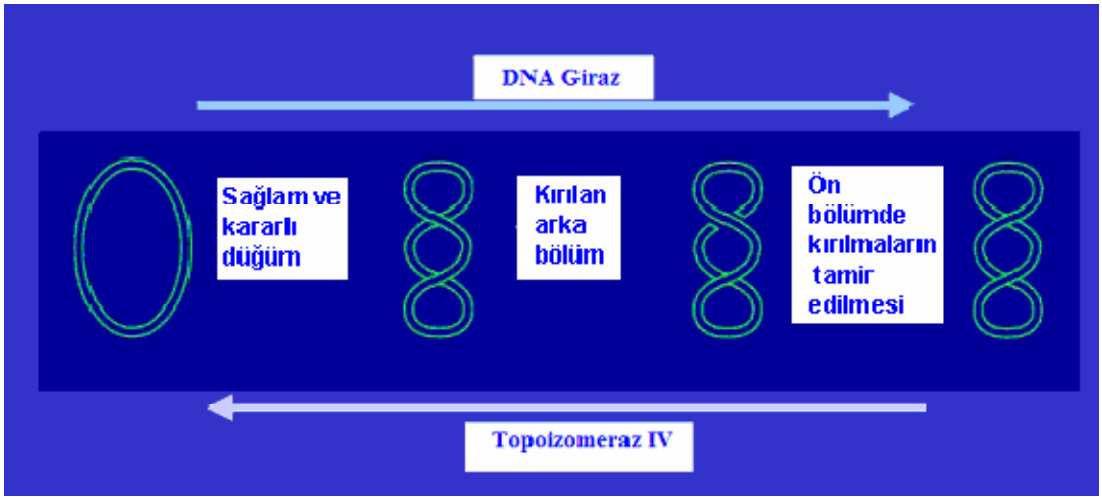
2.9.4. Kinolonların etki mekanizmaları

Kinolonlar bakterisidal antibiyotiklerdir, etkilerini DNA sentezini bozarak gösterirler. Kinolonların bakteri hücresindeki temel hedefleri DNA-giraz (Topoizomeraz II) enzimidir. Şekil 2.21' de kinolonların etki mekanizması gösterilmektedir. Şekil 2.22' de kinolonların etki grupları belirtilmektedir. DNA giraz enzimi gyrA tarafından kodlanan A ve gyrB tarafından kodlanan B olmak üzere 2 alt bölümden oluşur. Florokinolonlar bu enzimin A kısmına bağlanarak etki gösterirler. (www.infeksiyon.org).

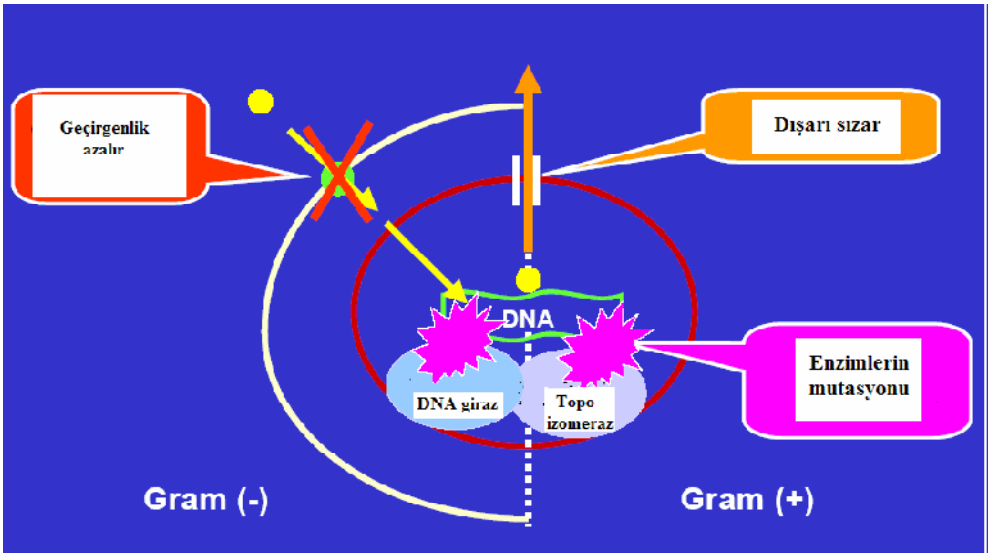
Bakteri sitoplazmasında DNA giraz enzimini inhibe ederek bakteriyal DNA'nın replikasyonunu bozarlar (şekil 2.23). Bunun sonucunda bakteri kromozomlarında DNA'nın bakteri hücresi içine yerleşebilmesini sağlayan negatif süper sarmal oluşturma işlemi (süper coiling) engellenir. DNA fonksiyonlarının yapılabilmesi için çok önemli olan bu olayın engellenmesiyle bakteri bölünemez ve anormal şekilde uzayarak ölür. Bakteri DNA'sının fazla kıvrımlı negatif süper sarmal şeklini almasını DNA giraz enzimi sağlar (şekil 2.24). Kinolonlar ayrıca topoizomeraz IV gyrA ve gyrB'ye benzeyen parC ve parE genlerinden olusur. Nalidiksik asid türevi olan florokinolonlar, DNA'yı negatif süpersarmal hale getiren DNA- giraz (topoizomeraz II) enzimini, alfa-alt birimine bağlanarak inhibe ederler. Siprofloksasin ve ofloksasin ayrıca, bakteri sitoplazma membranını zedeleyerek, diğerlerine göre daha güçlü antibakteriyel etki yaparlar. Geniş spektrumlu ve bakterisid etkilidirler (Özalp,2002; Dökmeci, 1992; Kayaalp, 2000; Cross, 2001; www.sbimc.org).



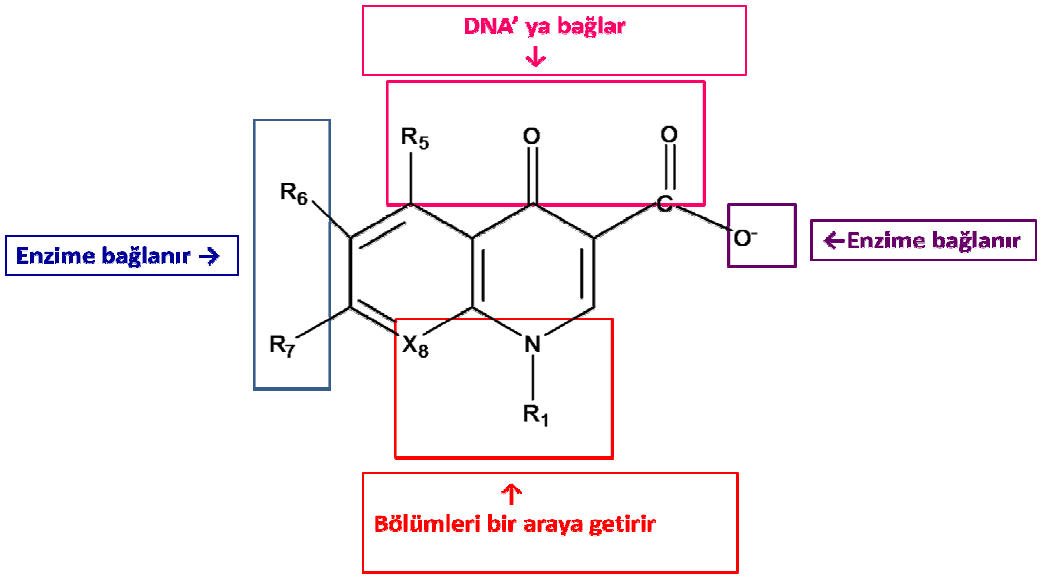
Şekil 2.21. Florokinolonların etki mekanizmaları.



Şekil 2.22.DNA replikasyonundaki iki enzimin işleyişi.



Şekil 2.23. Florokinolonların DNA'ya etkisi.



Şekil 2.2. Florokinolonların farmokimyası.

2.9.5. Florokinolonlara karşı direnç mekanizmaları

Zaman içinde florokinolonların kullanımı giderek artmıştır. Bunun yanında bazılarının (temafloksasin, grepafloksasin ve trovafloksasin gibi) kullanımı, yan etkilerinden dolayı sınırlandırılmış veya terkedilmiş, aynı şekilde bu grubun yeni üyeleri de (gatifloksasin ve moksifloksasin) geliştirmeye devam edilmiştir.

Çalışılan tüm türlerde florokinolonlara direncin bir ya da iki mekanizma ile oluştuğu tespit edilmiştir; bunlar, ilacın hedefi niteliğindeki yapıların değişmesi ve ilacın hedef noktaya ulaşması mekanizmasındaki değişikliklerdir. Florokinolonlara karşı

bakteriyel direnci sağlayan özel bir enzim veya mekanizma söz konusu değildir; bununla birlikte bazı mantarlar kinolonların metabolik olarak yıkımını sağlayabilmektedirler (Sardohan, 2006).

2.9.6. Kinolonların genel yan etkileri

Bulantı, kusma, ishal ve diğer gastrointestinal sistem ile ilgili rahatsızlıklar kinolonların en önemli yan etkilerini oluştururlar. Geniş spektrumlu diğer antibakteriyel ilaçlar (penisilinler veya sefalosporinler gibi) ile karşılaştırıldığında ishalin şiddeti daha azdır.

Mide-bağırsak kanalındaki olumsuzluklar sonucu iştahsızlık, kusma, sancı görülebilir. Merkezi sinir sistemine etki etmesi sonucu da görme bozuklukları, ışığa bakamama, uyarı, depresyon, kramplar ortaya çıkar. Işığa karşı alerji sonucu deride eritemler ve duyarlılık tepkimeleri nedeniyle kaşıntı, dil iltahabı ve ödem görülebilir. Dolaşım sistemi üzerine de olumsuz etkileri vardır. Kan basıncının düşmesi, taşikardi, leukopeni, trombositopeni ve akyuvar azalmasına neden olur. Plazmada karaciğer enzimlerinin (transaminaz ve alkalen fosfataz) düzeylerini çoğaltır. Bunların dışında en önemli yan etkileri, kıkırdaklar üzerinde ortaya çıkar. Büyüme dönemindeki genç hayvanların eklem kıkırdaklarında erozyonlar ve ülserler oluşturur.

Kinolonlar duyarlı bireylerde, gebelerde, ayrıca çok gençlerde kıkırdak lezyonu oluşturması nedenleriyle uzun süre kullanılmamalıdırlar (Doğan ve ark., 1991).

Sinir sistemine yönelik istenmeyen etkileri daha seyrektir (<0.5%); ama psikolojik reaksiyonlar, halusinasyonlar, depresyonlar ve konvulsiyonlar kinolonlar ile tedavi sırasında sıklıkla ortaya çıkmaktadır; bu nedenle, hastanın bu ilaçlar ile tedavisi sırasında bu tür etkiler göz önünde tutulmalıdır. Tüm kinolonlar iki ve üç yüklü katyonlar ile şelatları oluşturular.

Kinolonların hayvanlarda yoğun olarak kullanılması gıda maddesi olarak kullanılan hayvan dokularında ilaç kalıntılarının kalmasına neden olabilmekte bu da insanlarda zehirlenme, ilaç direnci ya da alerjik reaksiyonlar gibi ciddi problemlere neden olabilmektedir. Bu nedenle gıda maddelerinde potansiyelolarak zararlı bu ilaçların kalıntılarının izlenmesi, halk sağlığı açısından önem arz etmektedir (Ball, 2000).

2.9.7. Kinolonların tayininde kullanılan yöntemler

Kinolonların analizleri titrimetrik, UV spektroskopik, spektroflorimetrik, voltametrik, mikrobiyolojik metotların yanı sıra gaz kromatografi, ince tabaka kromatografisi, yüksek performans sıvı kromatografi, kapiler elektroforez yöntemleri ile yapılmaktadır (Belal ve ark., 1999).

Kinolonların, biyolojik numunelerdeki tayinleri sıklıkla UV ve floresans dedektörler kullanılarak sıvı kromatografi yöntemi ile yapılır. Fakat günümüzde sıvı kromatografi ve kütle spektroskopisi birlikte kullanılarak biyolojik numunelerde florokinonların tayinleri ve doğrulaması yapılmaktadır. Tanımlamada yüksek derecede kesinlik gerektiren doğrulama metotlarından kütle spektroskopisi (mass spektral analiz), florokinon analizlerinde spesifikliği ve hassasiyetinden dolayı tercih edilen tekniktir.

2.9.8. Tedavide kullanımları

Türkiye'de sekiz florokinolon ilaç pazarlanmıştır. Florokinolonların antibakteriyel spektrumlarındaki farklılıklar ve vücutta dağılım ve eliminasyon gibi farmakokinetik özelliklerindeki farklılıklar nedeniyle indikasyonları bakımından aralarında farklılık vardır.

Florokinolonlar (siprofloksasin, ofloksasin, levofloksasin, norfloksasin gibi) halen erişkinlerdeki idrar yolu infeksiyonlarında, tifo, paratifo ve kolerada en tercih edilen ilaçlar arasındadır. Ancak hasta gebe ise kullanılmamalıdırlar. Kronik idrar yolu infeksiyonunun akut etkileri önlemede yararlı olabilirler. Cilt ve yumuşak doku infeksiyonları, eğer aerob gram-negatif basillere bağlı ise florokinolonlar etkilidir.

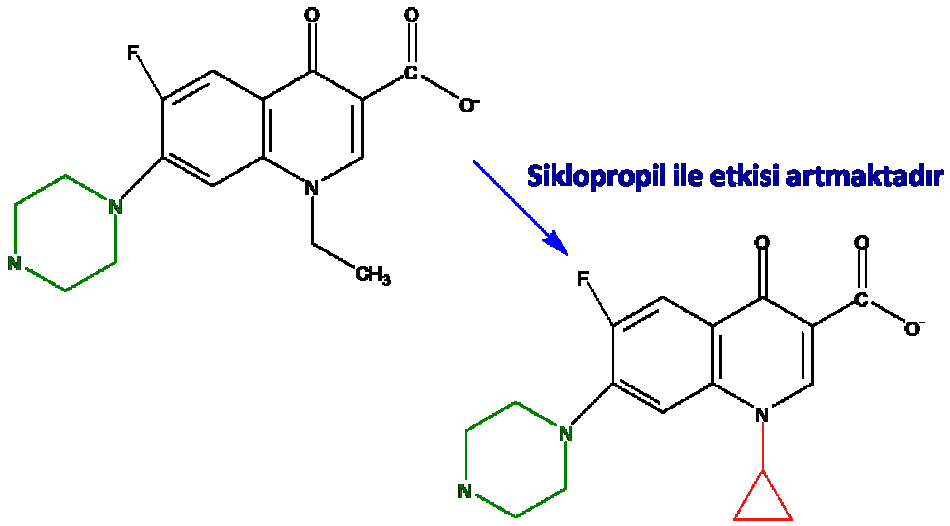
Levofloksasin ve moksifloksasin sinüzit dahil üst solunum yolu infeksiyonlarının ve toplumdan edinilmiş pnömoninin tedavisi için, ayrıca kronik bronşitin akut alevlenmelerinin tedavisi için kullanılabilir.

Siprofloksasin, ofloksasin ve lomefloksasin oftalmik solüsyon şeklinde duyarlı bakterilerin yaptığı blefarit, konjonktivit ve gözün ön segmentinin diğer bakteriyel infeksiyonlarının tedavisinde kullanılır. Dış kulak yolu iltihaplarında kulak damlası şeklinde kullanılırlar. Kulak zarı delik olan kronik olitis media'lı hastalarda kontrindike olan aminoglikozidli kulak damlarının yerine fluorokinolonlu kulak damlaları kullanılabilir.

2.9.9. Florokinolon Türleri

Siprofloksasin, sistemik infeksiyonlara karşı halen en fazla denenmiş olan florokinolondur. Aynı zamanda gravimetrik etki gücü en yüksek olan türevdir. Ağızdan tablet şeklinde ve damar yolundan 100 veya 200 mg'lık infüzyon solüsyonu şeklinde kullanılır. Türkiye'de her iki şekli de pazarlanmıştır.

Norfloksasinden siprofloksasinin elde edilişi şekil 2.25' de gösterilmiştir.



Şekil 2.25. Siprofloksasinin elde edilişi.

Farmakolojik Özellikleri :

- ***Farmakodinamik özellikleri:***

Siprofloksasin, florokinolon grubundan geniş antibakteriyel etki alanlı sentetik bir antibiyotiktir. Siprofloksasin'in bakterisid etkisi, bakteriyal DNA' nın kopyalanması, transkripsiyonu, yenilenmesi, rekombinasyonu için gerekli olan topoizomeraz II ve topoizomeraz IV enzimlerinin inhibisyonu ile gerçekleşir. Siprofloksasin dahil florokinolonların bu etki mekanizması, penisilinler, sefalosporinler, aminoglikozitler, makrolidler ve tetrasiklinlerden farklıdır, bu nedenle bu sınıf ilaçlara dirençli olan mikroorganizmalar, siprofloksasin ve diğer kinolonlara karşı duyarlı olabilir. Siprofloksasin ve diğer antimikrobiyaller arasında çapraz direnç olup olmadığı bilinmemektedir. Siprofloksasin'e karşı hassas Gram (-) organizmalar için MIC değeri 0.004-2 $\mu g.mL^{-1}$, Gram (+)'ler için ise 0.12-4 $\mu g.mL^{-1}$'dir. Aşağıdaki gram negatif ve gram pozitif bakteriler ve diğer mikroorganizmalar üzerinde bakterisit etkisi vardır:

Şu mikroorganizmalar Siprofloksasin'e dirençlidirler :

- ✓ Gram (-) anaerob bakteriler (Bacteroides),Spiroket'ler.
- ✓ Siprofloksasin, aminoglikozit, penisilin, sefalosporin, tetrasiklin grubu antibiyotiklere direnç kazanmış bakteriler üzerinde yüksek etkinliğe sahiptir.

♦ ***Farmakokinetik özellikleri :***

Siprofloksasin ağız yoluyla uygulandığında biyoyararlılığı % 70-84 arasındadır. Oral yolla alınan 500 mg'lık siprofloksasin dozu plazmada 1-2 saat sonra 2,5 µg/mL lik pik konsantrasyonu oluşturur. Serumda yarılanma süresi 3,5-4,5 saattir. Serum proteinlere bağlanma oranı % 20 - % 40'dır.

Oral uygulamayı takiben çok geniş bir şekilde vucüt dokularına dağılır. Siprofloksasin vücuttaki bütün doku ve sıvılarda terapötik konsantrasyonlar oluşturur. Multipl doz farmakokinetiği incelemeleri, 500 mg'lık oral dozların her 12 saatte bir uygulamasında, birinci gün 1,9 $\mu g.mL^{-1}$ olan serum seviyelerinin yedinci günde 2,8 $\mu g.mL^{-1}$'ye yükseldiğini göstermiştir. Siprofloksasin, serebrospinal sıvıya difüse olur, ancak genellikle konsantrasyonu, doruk serum konsantrasyonunun % 10'undan azdır.

Böbrek fonksiyonları normal olan hastalarda serum eliminasyon yarı ömrü, yaklaşık 4 saattir. Siprofloksasin' in % 40-50'si 24 saat içinde idrar yoluyla ve değişikliğe uğramamış, biyolojik aktif substans halinde elimine edilir. 500 mg' lık bir oral dozdan sonra idrarda 300-500 $\mu g.mL^{-1}$' lik pik seviyeler saptanır. Siprofloksasinin renal klirensi, yaklaşık 300 $ml.dk^{-1}$.

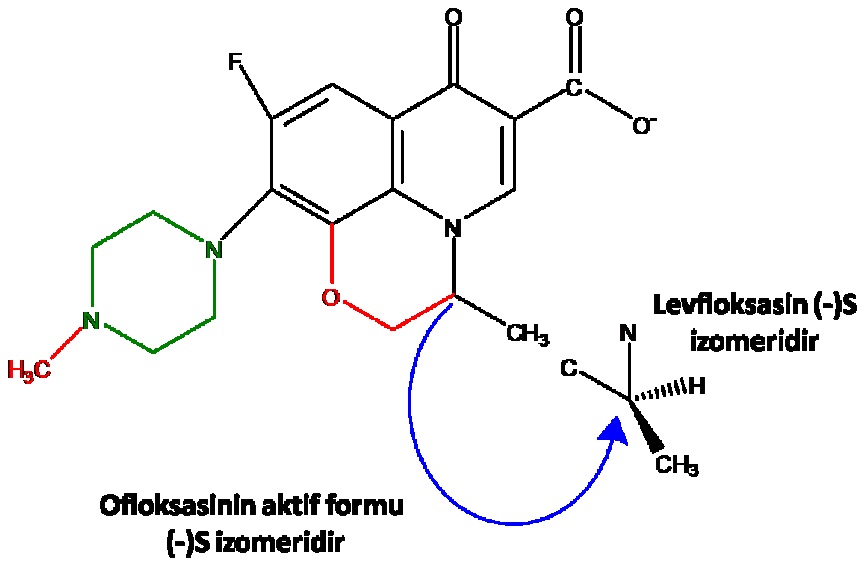
Midenin dolu ve boş olmasının, siprofloksasinin absorbsiyonu ve farmakokinetiğinde herhangi bir etkisi olmadığı açıkça saptanmıştır.

♦ ***Endikasyonları :***

Siprofloksasin, duyarlı mikroorganizmaların neden olduğu aşağıdaki enfeksiyonlara etkilidir :

- Solunum yolları enfeksiyonları,
- Kulak - burun - boğaz enfeksiyonları,
- Böbrek ve üriner sistem enfeksiyonları
- İntraabdominal enfeksiyonları,
- Deri ve Yumuşak doku enfeksiyonları,
- Gonore dahil genital organ enfeksiyonları,
- Kemik ve Eklem enfeksiyonları,

Levofloksasin, rasemik bir karışım olan ofloksasin'in saf olarak üretilen L-izomeridir. Ofloksasilin'in aktif şekli bu izomeri olduğundan ve D-izomeri inaktif olduğundan levofloksasinin antimikrobik etki gücü ofloksasininkinin iki katıdır.(Şekil 2.26). Ağızdan genellikle günden tek doz halinde 500 mg kullanılır. Üriner kanal infeksiyonlarında, ofloksasin gibi büyük ölçüde böbrekten ve değişmeden atılması, ayrıca idrarda konsantre olması nedeniyle daha küçük dozda (günde bir 250 mg) verilir. Ağır infeksiyonlarda damar yolundan kullanılır. Böbrek fonksiyon bozukluğunda dozunun ayarlanması gerekir.



Şekil 2.26. Levofloksasinin yapısı.

Farmakolojik Özellikler:

- ***Farmakodinamik özellikler:***

Levofloksasin, kinolon grubu antimikrobiyal ajan olan ofloksasinin L-izomeridir. Bakterisit etkisini duyarlı mikroorganizmalarda topoizomeraz IV ve DNA giraz enzimini (tip II topoizomeraz) inhibe ederek gösterir.

- ***Farmakokinetik özellikler:***

Oral kullanımda tam ve hızlı olarak emilir ve plazma doruk konsantrasyonuna 1-2 saatte ulaşılır. Oral kullanımda 500-750 mg dozun biyoyararlılığı yaklaşık % 99'dur. Oral ve I.V. uygulamanın farmakokinetiği linear ve benzer olduğundan oral ve I.V. uygulamadan birinden diğerine geçiş yapılabilir. İlaç konsantrasyonuna bağlı olmaksızın % 24-38 oranında serum albümine bağlanır. Akciğer dokusuna geçer.

Levofloksasinin oral ve intravenöz yoldan uygulanmasının farmakokinetiğinde önemli bir fark bulunmamaktadır, bu nedenle oral ve intravenöz yolla uygulamanın birinden diğerine geçiş yapılabilmektedir.

Oral yoldan uygulanan levofloksasin gastrointestinal sistemden hızla ve tamamen emilir. Oral uygulamadan sonra serum doruk konsantrasyonlarına ortalama 1 saat içinde ulaşılır. Mutlakbiyoyararlanım yaklaşık % 100'dür. 150-600 mg doz aralığında levofloksasin doğrusal bir farmakokinetik izler.

Levofloksasin serum proteinlerine yaklaşık %30-%40 oranında bağlanır. Oral veya intravenöz yolla uygulanan levofloksasinin serum yarı-ömrü 6-8 saat arasında bulunmuştur. Levofloksasin çok az oranda metabolize olur. Atılım esas olarak böbrekler yoluyla (%85) gerçekleşir. Böbrek yetersizliği durumunda eliminasyonu geçikir.

- ***Endikasyonlar:***

Levofloksasine duyarlı mikroorganizmaların neden olduğu aşağıdaki enfeksiyonlara etkilidir:

Akut sinüzit tedavisinde

Kronik bronşitin akut alevlenmesi

2.10.Demir Minerali

2.10.1.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 $mg.gün^{-1}$ olmak üzere ihtiyaç 2 mg/kg/gündür.

2.10.2. 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).

2.10.3. 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. 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. Demir bağırsaklardan emilince mukozal hücrelerden kana geçer, transferrin proteini ile ilikteki gelişmekte olan eritrositlere taşınır.

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).

2.10.4. Demir Eksikliğinin Nedenleri

I. Alım eksikliği: Yeni doğanlar 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 $mg.kg^{-1}$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 (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, Helicobacter pylori infeksiyonu ile ilişkili kronik gastrittir (Lanzkowsky, 2005).

2.10.5. 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

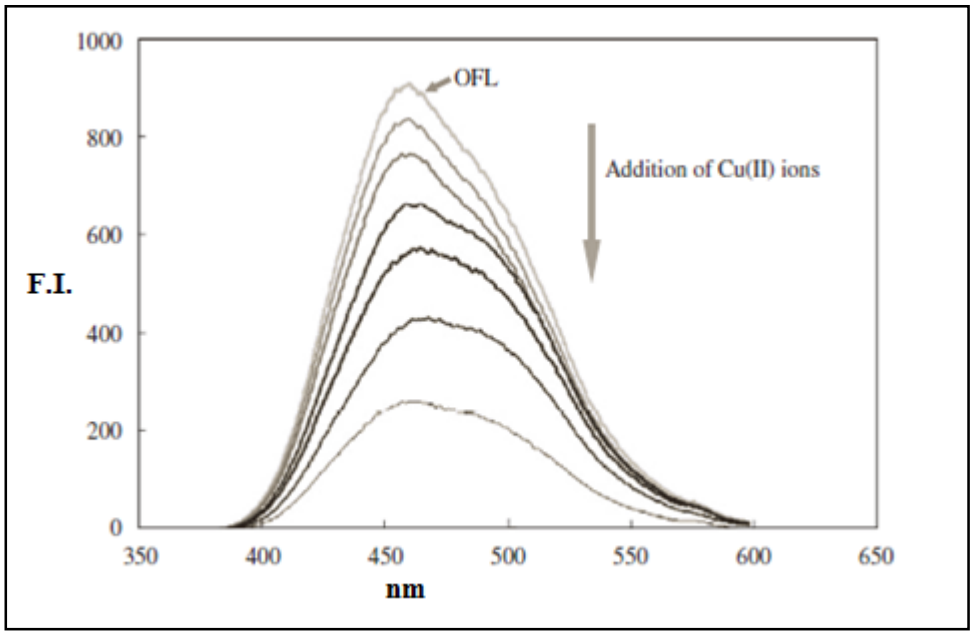
Xu ve arkadaşlarının 2011 yılında yapmış oldukları "Nadir toprak metali ile ofloxacin komplekslerinin sığır serum albümini ve protein yapısına bağlanması üzerindeki etkilerinin incelenmesi" başlıklı çalışmalarında, bir Ofloksasin türeviyle Pr (III) ve Nd (III) suda çözünür kompleksleri hazırlanmış ve 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 floresans 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 ($\Delta H$= -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.

2009 yılında S. T. Ulu'nun yapmış olduğu "Enrofloxacin, levofloxacin ve ofloksasinin 2,3,5,6-tetrakloro-p-benzokinon ile yaptığı kompleksin hızlı ve yüksek seçicililikte spektrofluorimetrik yöntem ile belirlenmesi" başlıklı çalışmada, farmasötik preparatlarda florokinolonlara(FQ) ait üç antibakteriyel maddenin, enrofloksasin (ENR), levofloksasin (LEV) ve ofloksasinin (OFL) 2,3,5,6-tetrachloro-p-benzokinon(CLA) ile kompleks oluşumundaki yük transferi son derece hassas bir yöntem olan spektrofluorimetri ile ilk kez incelenmiştir. FQ-CLA kompleksleri en uygun reaksiyon koşullarında, maksimum uyarmayı 359-363 nm ve maksimum emisyonu 442-488 nm arasında değişen dalga boylarında gösterdiği ifade edilmiştir. Çizgisel kalibrasyon grafiklerinde sırasıyla ENR, LEV ve OFL için 50-1000, 50-1000 ve 25-500 $ng.mL^{-1}$ konsantrasyon aralığı elde edilmiştir. Algılama sınırı sırasıyla LEV 17 $ng.mL^{-1}$, ENR 17 $ng.mL^{-1}$, OFL 8 $ng.mL^{-1}$ olduğu bulunmuştur. Ticari formülasyonlarda katkı maddesi olarak kullanılan yardımcı maddelerin analizlerde etkisi olmadığı görülmüştür. Önerilen

yöntem, farmasötik preparatların analizlerine başarılı bir şekilde uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlarla, resmi yöntem kullanılarak elde edilenler arasında iyi bir uyum olduğu, kabul edilebilir t ve F testi değerleriyle ortaya konduğu gibi doğruluk ve kesinlikte önemli bir fark olmadığı görülmüştür.

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.

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.



Şekil 3.1. Artan bakır derişimlerinde ofloksasin bakır kompleksi.

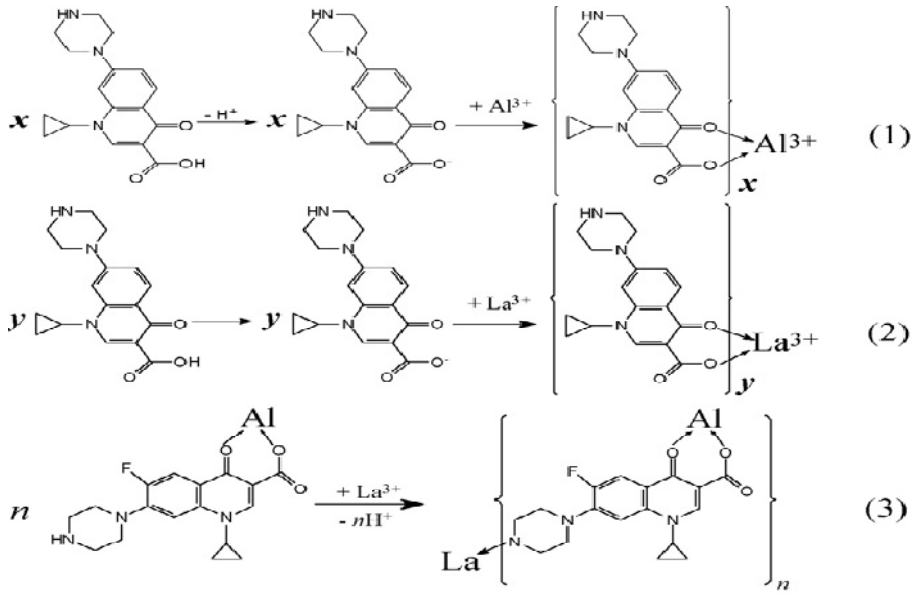
OFL-Cu(II) etkileşimi kantitatif olarak stokiyometri eşitliği kullanılarak tanımlanmıştır. Yapılan hesaplama OFL-Cu(II) etkileşiminin 1:1 ve 1:2 komplekslerinin karışımı olduğunu göstermiştir. Negatif ΔG değerleri ve negatif ΔH değerleri kompleksleşmenin kendiliğinden ve ekzotermik bir proses olduğunu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

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 DNA' nın tayini için çevre dostu enoksasin-TB^{3+} floresans prob geliştirilmiştir. Uygun koşullar altında, artan floresans şiddetinin, hsDNA için 2.0 x 10^{-8}-2.0 x 10^{-6} g.mL^{-1}, ctDNA için 1.0 x 10^{-8}-1.0 x 10^{-6} g.mL^{-1} ve termal denatüre ctDNA için 5.0 x 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 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.

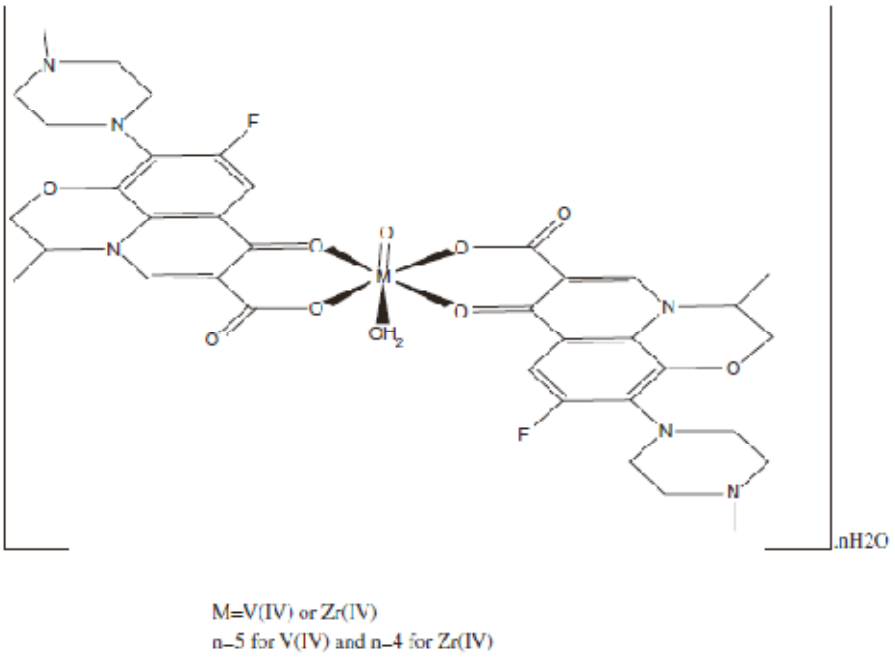
Wei ve arkadaşalarının 2010 yılında yaptıkları "Siprofloksasin + Al(III) + La (III) + Setiltrimetilamonyum Bromür Sisteminin Ve Uygulamasının Artan Floresans Spektrumu Üzerinde Çalışma ve Uygulaması" başlıklı çalışmalarında, Siprofloksasinin (CIP) floresansı, HAc NaAc-tampon çözeltisinde ve setiltrimetilamonyum 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.



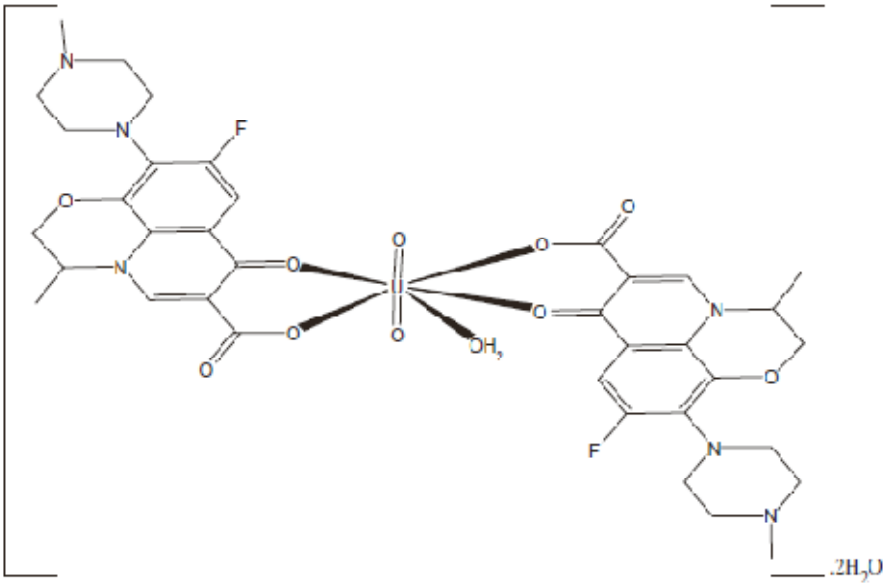
Şekil 3.2. Siprofloksasinin Hac- NaAc tampon çözeltisinde ve setiltrimetilamonyum bromür (CTMAB) varlığında Al (III) ve La (III) kompleksleri.

Optimize edilen koşullar altında, 0.50-80.2 $\mu g.L^{-1}$ 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 0.17 $\mu g.L^{-1'}$ 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.



Şekil 3.3. Ofloksasinin V ve Zr metal kompleksleri.



Şekil 3.4. Ofloksasin U kompleksi.

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 K42ye karşı daha yüksek biyolojik aktivite göstermişlerdir.

Kapetanović ve arkadaşlarının 1996 yılında yaptıkları "Ofloxacin-Cu(2) 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.

Li Ming Du ve arkadaşlarının 2004 yılında yaptıkları "Yük transfer kompleksi oluşumu aracılığıyla bazı florokinolonların spektroflorimetrik tayini" konulu

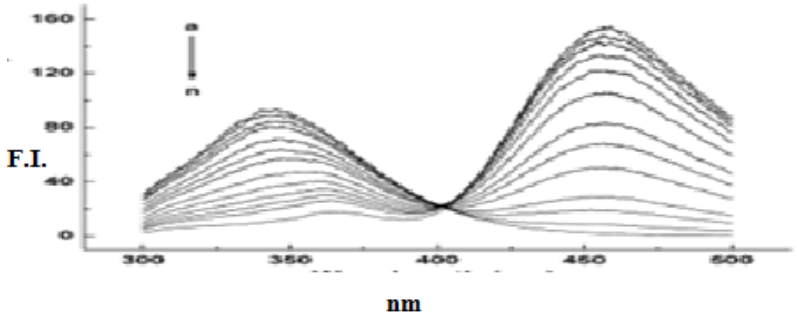
çalışmalarında, ofloksasin (OFL), levofloksasin (LEV), lomefloxacin (LOM) olarak adlandırılan antibakteriyel üç florokinolonun ve pipemidik asidin (PIP) 7.7-8.8 tetrasiyanokinodimetan (TCNQ) ile yük transfer kompleksi oluşumu aracılığıyla tayini için bir spectrofluorimetrik yöntem geliştirilmiştir. Kararlı kompleksler oluşturmak için TCNQ' nın bu ilaçlar ile reaksiyon verdiği bulunmuş ve komplekslerin floresans şiddeti, ilaçların kendisiyle çalışıldığı zamankinden 15-90 kat daha yükseltilmiştir. Böyle komplekslerin oluşumu, hem IR hem de UV-görünür bölge spektroskopisi ile de doğrulanmıştır. Floresans şiddetini etkileyen farklı deneysel parametreler dikkatlice çalışılmış, en uygun reaksiyon koşullarında araştırılan ilaçlar için 0.02-2.2 $\mu g.mL^{-1}$ konsantrasyon aralığında doğrusal kalibrasyon grafikleri ve dedeksiyon limitleri 0.006-0.016 $\mu g.mL^{-1}$ arasında elde edilmiştir. Önerilen işlemler, t ve F testleri ile ortaya konularak, resmi ve rapor edilen yöntemlerle karşılaştırıldığında iyi bir kesinlik ve doğrulukla farmasötik dozaj formlarında incelenen ilaçların tayini için başarıyla uygulanabilmiştir. Resmi ve sunum metotlarına göre t ve F testlerinde gösterildi. Ayrıca bu ilaçlar, alkollü idrar ve plazma örneklerinin tayini için uygulanmıştır.

Juan Antonio Ocaña González ve arkadaşlarının 2000 yılında yaptıkları "İnsan idrar ve serumunda tabletlerdeki levofloksasinin spektroflorimetrik tayini" konulu çalışmalarında, tabletlerdeki ve alkollü insan idrar ve serumundaki levofloksasin tayini için bir spektrofluorimetrik yöntem önermişlerdir. Florimetrik yöntem sırasıyla λex = 292 nm ve λem = 494 nm' de asetik asit-sodyum asetat tamponu (pH 4) içeren sulu çözeltideki levofloksasinin 20-3000 $ng.mL^{-1}$'sinin tayinine olanak sağlamıştır. Floresans arttırıcı misel duyarlılığı iyileştirmiş ve pH 5'de 8 mM sodyum dodesil sülfat çözeltilerinde, alkollü insan serumunda (5 $mg.mL^{-1}$) ve idrarda (420 $mg.mL^{-1}$) levofloksasinin doğrudan ölçümünü sağlamıştır.

Oscar Ballesteros ve arkadaşlarının 2002 yılında yaptıkları "İnsan idrarında ve serum örneklerinde antibakteriyel ofloksasinin katı faz spectrofluorimetrisiyle tayini" konulu çalışmalarında, ofloksasinin eser miktarının tayini için katı faz spektrofluorimetrisine dayanan bir yöntem geliştirilmiştir. Sefadeks SPC-25 jelinde sabitlenmiş olan ofloksasinin bağıl floresans şiddeti, bir katı faz eklentisi kullanarak, 1-mm silika hücrede jel boncuklar istiflendikten sonra direkt olarak ölçülmüştür. Uyarılma ve emisyon dalga boyları sırasıyla 294 ve 494 nm'dir. Uygulamanın doğrusal derişim aralığı, %1.1'lik bağıl standart sapma ile (8.0 $ng.mL^{-1}$ seviyesi için) 0.5-16.0 $ng.mL^{-1}$ ofloksasin ve dedeksiyon limiti ise 0.14 $ng.mL^{-1}$'dir. Yöntem, insan idrarı ve

serum örneklerinde ofloksasin tayinine uygulanmıştır. Yöntem, standart ekleme yöntemi ve referans bir yöntem olarak HPLC kullanılarak doğrulanmıştır. Yöntemin geri kazanım seviyeleri bütün durumlarda %100'e ulaşmıştır.

Zhang ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptıkları "Florokinolonlar ve insan serumu albumini arasındaki etkileşimlerin affinite kapiler elektroforez ve floresans yöntemleriyle incelenmesi" konulu çalışmalarında. Florokinolonlar ve insan serumu albumini (HSA) arasındaki etkileşimlerin affinite kapiler elektroforez (ACE) ve floresans söndürme teknikleriyle çalışmışlardır. Basit bir fosfat tamponu kullanarak çeşitli florokinolonların etkin ayırımına dayalı, florokinolonların insan serumu albumini ile bağlanma sabitleri, ACE yöntemiyle bir set elektroforez süresince eş-zamanlı olarak tayin edilmiştir. Termodinamik parametreler, farklı sıcaklıklardaki verilerden elde edilmiştir ve negatif ΔH ve ΔS değerleri göstermiştir ki hem hidrojen bağları hem de vander Waals etkileşimi, florokinolonların insan serumu albuminine bağlamnmasında başlıca rol oynadıklarını belirtmişlerdir. Bu etkileşimler, floresans söndürme tekniğiyle de çalışılmıştır. Floresans titrasyon sonuçları göstermiştir ki florokinolonlar, statik söndürme işlemi boyunca insan serumu albumininin floresansını söndürmek konusunda güçlü bir yeteneğe sahiptirler. Bağlanma alanı sayısı n, bilinen bağlanma sabiti Kb ve Stern-Volmer söndürme sabiti K_{sv} tayin edilmiştir. Termodinamik parametreler floresans yöntemiyle de çalışılmış ve sonuçlar ACE'ninkilerle uyumlu olarak bulunmuştur.



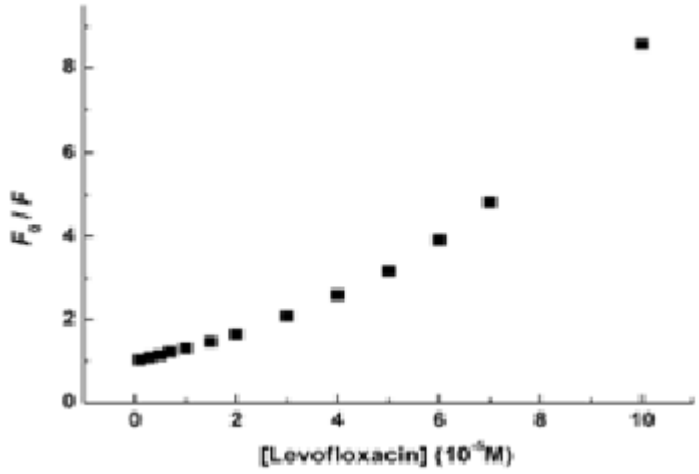
Şekil 3.5. a →n : C LEV / CHSA 0-10 aralığında ekitasyon ve emiyon pikleri(sıcaklık 298K, pH=7.4, tampon çozelti:50mM).

Şekilde görüldüğü gibi, levofloksasin 280 nm'lik eksitasyon dalgaboyunda HSA'nın iç floresansında konsantrasyona bağımlı bir söndürme göstermiş ve triptofanın HSA'daki maksimum floresansında görülebilir kaymalara neden olmuştur. Hidrofobik

özelliğin HSA' da triptofanın bağlanma kapasitesinin levofloksasinle etkileşimi sonucu azaldığı ve HSA ve proteine sekonder oluşumların değiştiği izlenmektedir. Florofor türlerinin söndürme etkinliği Stern-Volmer eşitliğine tabidir:

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_Q \tau_0 [Q] = 1 + K_{SV}[Q]$$

F_0 ve F, sırasıyla söndürücü yokluğunda veya varlığında durağan floresans şiddetlerini göstermektedir. [Q] söndürücünün konsantrasyonudur. KQ bimoleküler söndürme oran sabiti ve K_{SV} de Stern–Volmer söndürme sabitidir. τ_0 floroforun ortamdaki ömrüdür.



Şekil 3.6. LEV – HSA kompleksinin Stern-Volmer kalibrasyon grafiği.

Anargiros I. Drakopoulus Pinelopi C. Loannou 1997 yılında yaptıkları "Sulu çözeltideki florokinon antibitikleri olan ofloksasin, norfloksasin, cıprofloksasin ve pefloksasinin asit, baz dengeleri ve kompleks davranışının spektometrik çalışması" konulu çalışmalarında, florokinon antibitikleri olan ofloksasin (OF), norfloksasin (NOR), cıprofloksasin (CIP) ve pefloksasinin (PEF) asit, baz özellikleri ve kompleks davranışının spektometrik çalışması gerçekleşmiştir. Bu bileşik maddelerin potansiyometri ve fluorimetrik tekniklerde ayrışma sabitleri belirlenmiştir. Skandiyum (Sc^{3+}) ile bütün forokinonların floresans kompleksleri biraz asidik çözeltilerde (pH: 4.2; λex = 280 nm; λem = 430 nm (Ofloxacin için 480 nm) okundu. Sulu çözeltilerde Ofloksasin, Norfloksasin, Sıprofloksasin ve Pefloksasin belirlenmesi için Skandiyum (Sc^{3+}) oluşum kompleksleriyle basit, hızlı ve hassas spektrofluorimetrik metot geliştirildi.4 florokinonlar için kalibrayon grafikleri doğrusal 1 µM ye kadar sonuçlar ile

%3.2 bağıl hata sahiptir. 3α tespit sınırları sırasıyla Ofloksasin: 1.1 nm, Norfloksasin: 0.6 nm, Siprofloksasin: 0.5 nm ve Pefloksasin: 1.0 nm belirlendi. Metot başarılı bir şekilde onaylandı. Norfloksasin için sentetik serum örnekleri (5.0-50.0 μM)sonr ayrışma ile asetonitril (serum-asetonitril, 1:2 oranında) geri kazanımı % 93.4 (n:3) bulundu.

Literatür taraması sonucunda, Florokinolon türü antibiyotiklerle özellikle metabolik öneme sahip bazı metaller arasında oluşturulan komplekslerin spektroflorimetrik yöntemle incelenmesi konusunda oldukça az çalışmaya rastlanmıştır.

4. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmada florokinolon türü (siprofloksasin ve levofloksasin) antibiyotiklerin ve metal komplekslerinin florimetrik parametrelerinin belirlenmesi amaçlandı. Florimetrik parametrelerin belirlenmesi için ultra saf suda florokinolonların uygun derişimlerdeki çözeltileri hazırlanarak, uyarma dalga boyları 10'ar nm aralıklarla değiştirilip emisyon spektrumları alınarak ve her bir florokinolonun, her bir çözücüde maksimum floresans şiddetine sahip oldukları uyarma ve emisyon dalga boyları belirlendi. Daha sonra vücuttaki pekçok metabolik reaksiyonda önemli rol oynayan demir(III) ile florokinolonlardan oluşturulan komplekslerin aynı çözücü ortamlarında kompleks oluşturacağı en uygun koşullar tayin edildi. Bu amaçla pH, çözücü ortamı, kompleks oluşum süresi, florokinolon konsantrasyonu 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 tesbit edildi. Ayrıca florokinolon-metal komplekslerinin stokiyometrileri de en uygun koşullar altında spektrofotometrik olarak tayin edildi.

Aynı zamanda, belirlenen en uygun koşullarda çalışılan metallerin kalibrasyon eğrileri çizildi yöntemin doğrusal tayin aralığı, gözlenebilme ve alt tayin sınırları belirlendi. Çalışma kapsamında yabancı iyonların etkisi de incelendi.

Geliştirilen florimetrik söndürme yöntemi, florokinolon türü antibiyotikler ile vitamin-mineral kombinasyonu ilaçlarda bulunan demirin etkileşimlerinin incelenmesinde uygulandı.

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 AGILENT 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. Florokinolonlar

Florokinolonlardan, siprofloksasin ve levofloksasin ilaç etken madde standartları Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Sibel A. Özkan tarafından, levofloksasin, DEVA İlaç firmasından (İstanbul, Türkiye) ve siprofloksasin ise, SANOVEL ilaç firmasından temin edildi.

Siprofloksasin:

CAS numarası: 85721-33-1

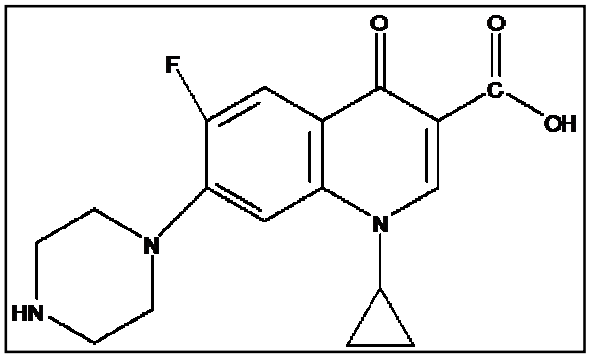
Kimyasal adı: 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-piperazin-1-ylquinoline-3-carboxylic acid 1-ethyl-6-fluoro-4-oxo-7-piperazin-1-yl-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid.

Kapalı formülü: $C_{17}H_{18}FN_3O_3$

Molekül Ağırlığı : 331.3415 $g.mol^{-1}$

Erime noktası : 255 - 257^oC

Açık formülü:



Şekil 4.1. Siprofloksasin molekülü

Levfloksasin:

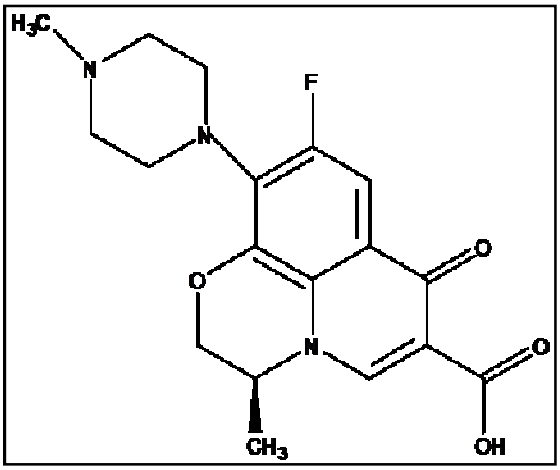
CAS numarası: 100986-85-4

Kimyasal adı: 9-fluoro-2,3-dihydro-3-methyl-10-(4-methyl-1-piperazinyl)-7-oxo-7Hpyrido[1,2,3-de]-1,4 benzoxazine-6-carboxylic acid hemihydrate

Kapalı formülü: $C_{18}H_{20}FN_3O_4$

Molekül Ağırlığı : 361.3675 $g.mol^{-1}$

Açık formülü:



Şekil 4.2. Levfloksasin molekülü

4.2.2. Çözücüler

Tüm deneysel çalışma boyunca çözeltilerin hazırlanmasında, ultra 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, ultra 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, ultra saf su kullanılarak hazırlandı.

4.2.5. Stok Fe(III) 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 ultra saf su ile seyreltilerek çalışma çözeltileri hazırlandı.

4.2.6. Bozucu iyonların çözeltileri

Bozucu iyonların etkisinin incelenmesinde kullanılan ve vitamin-mineral kombinasyonu ilaçların içeriğinde bulunan, magnezyum, çinko, kalsiyum, selenyum, bakır, krom, mangan, iyot, potasyum klorürün standart çözeltileri Merck firmasından ekstra saflıkta seçilerek temin edildi. Bunların uygun derişimlerdeki çözeltileri ultra saf su kullanılarak hazırlandı.

4.2.7. Florokinolon ve vitamin-mineral kombinasyonu tabletlerin çözeltileri

Kullanılan İlaçlar:

Levofloksasin için floxilevo(500mg) tablet, siprofloksasin için cipro(500mg) tablet ve Fe(III) için supradyn all day tablet eczaneden temin edildi.

Numune Çözeltilerinin Hazırlanışı:

Yirmi tane florokinolon tablet tartıldı ve ince toz haline getirildi. Belirlenen miktarlara eşdeğer toz levofloksasin ve siprofloksasin tabletler tartıldı ve 100 mL' lik balon jojede 60 dakika ultrasonik banyoda bekletilerek ultra saf suda çözüldü, çözünmeyen kısımlar süzülerek atıldı. Vitamin tabletlerinin çözeltileri de aynı işlemler uygulanarak hazırlandı.

4.3. Deneysel İşlem

Florokinolon türü antibiyotikler, Fe(III)' ün siprofloksasin ve levofloksasin 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 levofloksasin için 2,5 mL 1×10^{-3} M stok levofloksasin çözeltisinden, cipro için 1×10^{-2} M 2.5 mL stok siprofloksasin çözeltisinden ilave edildi, 2.5 mL % 20'lik amonyum asetat çözeltisi eklendi. Daha sonra 1M HCl ve 1M NaOH çözeltileri kullanılarak pH 5.5'e ayarlandı. Çözeltilerin hacmi ultra saf suyla 25 mL' ye tamamlandı. Hazırlanan bu çözeltilerin uyarma ve emisyon spektrumları alındı ve floresans şiddetleri ölçüldü. Belirlenen en uygun uyarma ve emisyon dalga boylarında, siprofloksasin için demir derişimleri 0.56-5.58 $\mu g.mL^{-1}$ ve levofloksasin için 0.056-0.558 $\mu g.mL^{-1}$ 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, levofloksasinin ve siprofloksasinin demirle kompleks oluşturacağı en uygun koşullar belirlenmeye çalışıldı. Bu amaçla pH, çözücü ortamı, kompleks oluşum süresi, florokinolonların konsantrasyonları ve sıcaklık koşulları incelendi. Çözelti ortamında oluşturulan komplekslerin, belirlenen en uygun koşullar altında, 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

Florokinolonların stok çözeltilerinden 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. Florokinolon demir kompleksleri için 200 - 460 nm aralığında 10'ar nm değiştirilerek her bir dalga boyunda emisyon spektrumları alındı. Levofloksasin demir kompleksi ve siprofloksasin demir kompleksi için uygun uyarma ve emisyon dalga boyları belirlendi. Daha sonraki sıcaklık, süre ve stokiyometri çalışmalarında belirlenen dalga boyları kullanıldı.

4.4.2. Florikinolonların uygun derişimlerinin belirlenmesi

Levofloksasin için 1×10^{-2} M stok çözeltisi ultra saf su ile hazırlandı. Stok çözeltiden uygun hacimlerde seyreltilerek 1×10^{-3} M, 1×10^{-4} M, 1×10^{-5} M levofloksasin çözeltileri hazırlandı. Siprofloksasin için 1×10^{-2} M stok çözelti ultra saf su ile hazırlandı. Stok çözeltiden uygun hacimlerde seyreltilerek 1×10^{-3} M, 1×10^{-4} M, 1×10^{-5} M siprofloksasin 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 florokinolon derişimleri seçildi.

4.4.3. Uygun pH'nın belirlenmesi

Florokinolonların, ortamın asidik ve bazik olmasına göre metal iyonlarıyla kompleks oluşturma özellikleri farklıdır. Bu yüzden kompleks oluşumunda pH önemli bir etkiye sahiptir. Belirlenen derişimlerdeki florokinolonların pH 4-7 arasında çoklu spektrum taraması yapılarak floresans şiddetleri ölçüldü. Daha sonra pH 4-7 arasında florokinolonlarla 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

Florokinolonların 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, levofloksasin ve siprofloksasinin demir kompleksleri için en uygun sıcaklıklar belirlendi.

4.4.5. Kompleks oluşum sürenin etkisi

Florokinolonların demir komplekslerinin çözeltileri belirlenen diğer en uygun koşullar altında hazırlandı ve kompleks oluşumu için 5-40 dakika bekletildi. Elde edilen floresans şiddetleri süreye karşı grafiğe geçirildi. Levofloksasin ve siprofloksasinin demir kompleksleri için uygun kompleks oluşum süresi belirlendi.

4.4.6. Kalibrasyon grafiklerinin çizilmesi

Levofloksasin ve siprofloksasin demir komplekslerinin pH 5.5 ' da, 0.056-0.558 $\mu g.mL^{-1}$ ve 0.56-5.58 $\mu g.mL^{-1}$ 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

LEV-Fe(III) kompleksinin stokiyometrisi, job yönteminin spektrofotometre uyarlanmasıyla belirlendi. Bu amaçla demir ve levofloksasinin 1×10^{-4} ve 1×10^{-4} M'lık çözeltileri hazırlanarak, levofloksasinin 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 levofloksasinin hacmine karşı grafiğe geçirildi. CIP-Fe(III) kompleksinin stokiyometrisi bu şartlar altında hesaplanamamıştır.

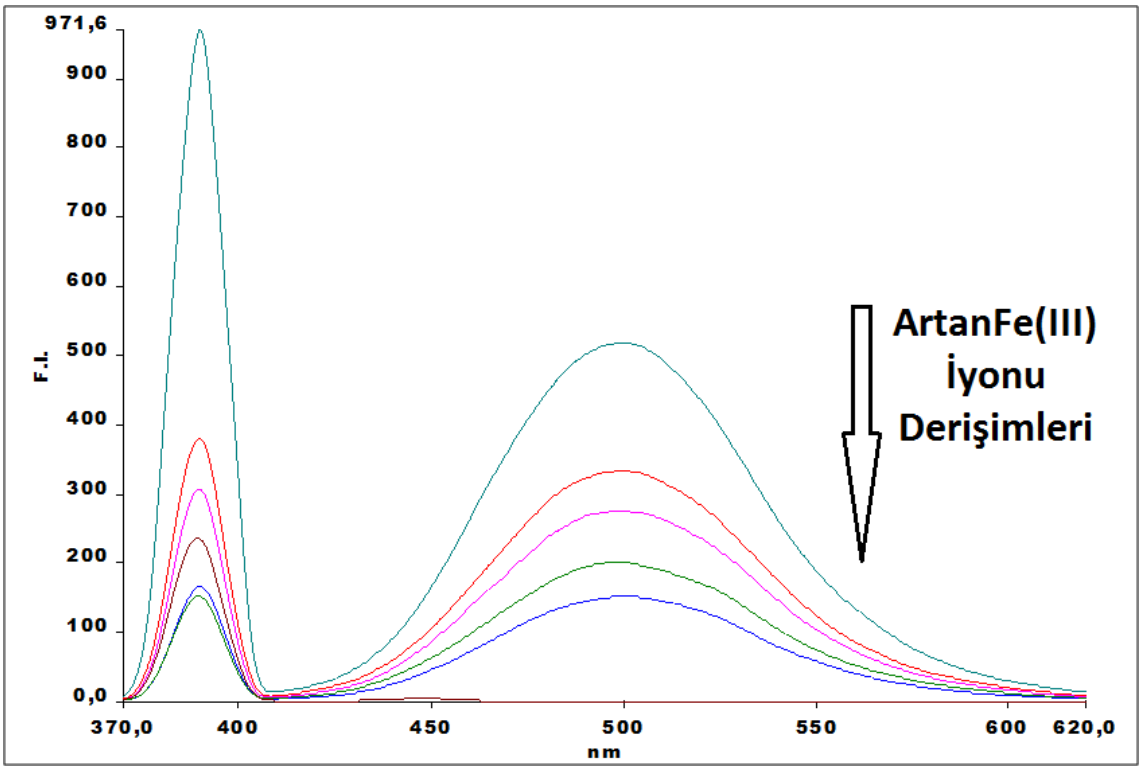
4.4.8. Demir tayinine yabancı iyonların etkisi

Levofloksasin ile demirin florimetrik tayinine, özellikle vitamin-mineral kombinasyonu ilaçlar içinde bulunan diğer anyon ve katyonların (I, Cl, Cr, Mn, Se, Zn, Ca, Mg, Cu) bozucu etkisini incelenmesi amaçlandı. 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. Siprofloksasin ile demirin florimetrik tayinine, benzer şekilde anyon ve katyonların bozucu etkisini incelemesi amaçlandı. 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, LEV-Fe(III) ve CIP-Fe(III) komplekslerinin floresans şiddetinde meydana getirdikleri farklar belirlendi.

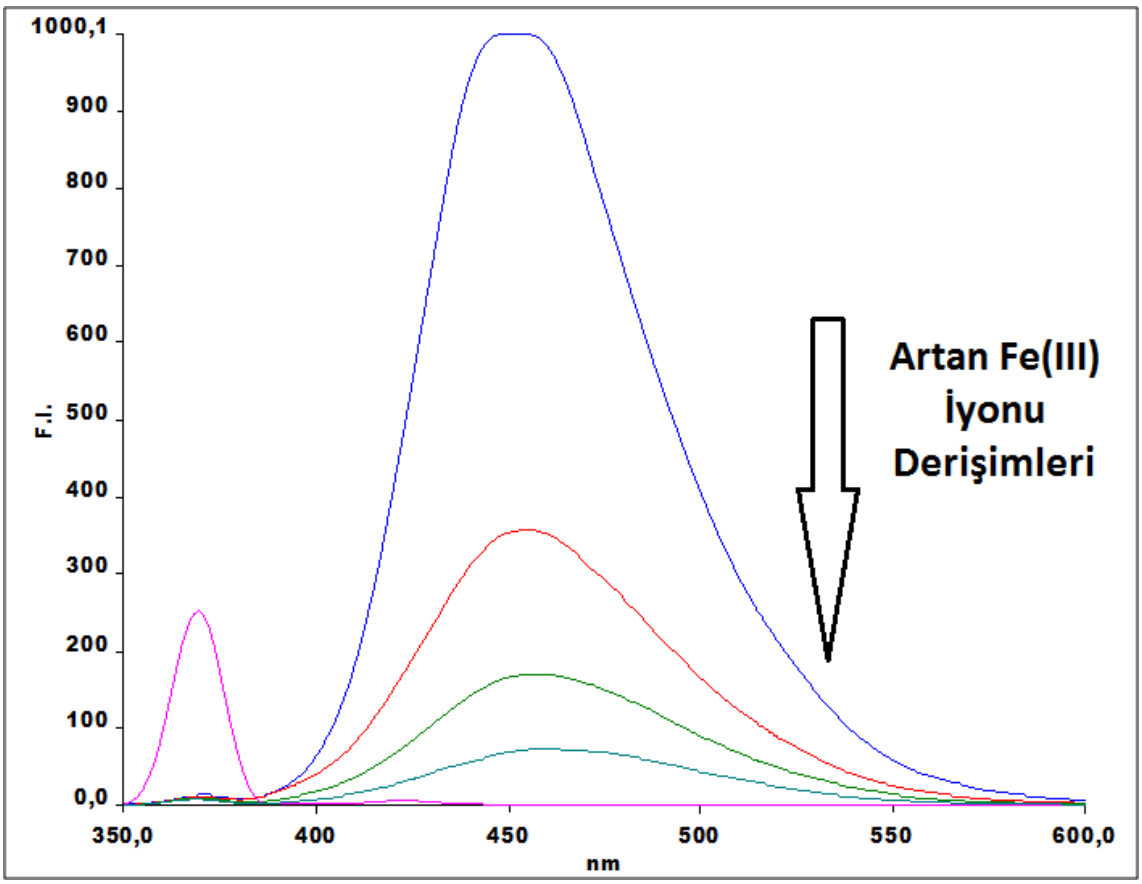
5. DENEY SONUÇLARI VE TARTIŞMA

5.1. Uygun Uyarma ve Emisyon Dalga Boylarının Belirlenmesi

Levofloksasin ve siprofloksasinin 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. Levofloksasinin 0-0.669 $\mu g.mL^{-1}$ demir içeren çözeltilerinin pH 5.5' da uyarma ve emisyon spektrumları kaydedildi (Şekil 5.1). Siprofloksasinin ise 0-5.58 $\mu g.mL^{-1}$ demir içeren çözeltilerinin pH 5.5'da uyarma ve emisyon spektrumları kaydedildi (Şekil 5.2). En uygun uyarma ve emisyon dalga boyları sırasıyla, levofloksasin demir kompleksi için 390 ve 500 nm, siprofloksasin demir kompleksleri için 370 ve 462 nm olarak belirlendi.



Şekil 5.1. Dört farklı demir derişiminde LEV-Fe kompleksinin emisyon spektrumları. (pH=5.5, λuy= 390nm, λem=500 nm, [LEV]=10^{-4} M, [Fe^{3+}]= 0, 0.335, 0.447, 0.558 ve 0.669 $\mu g.mL^{-1}$).



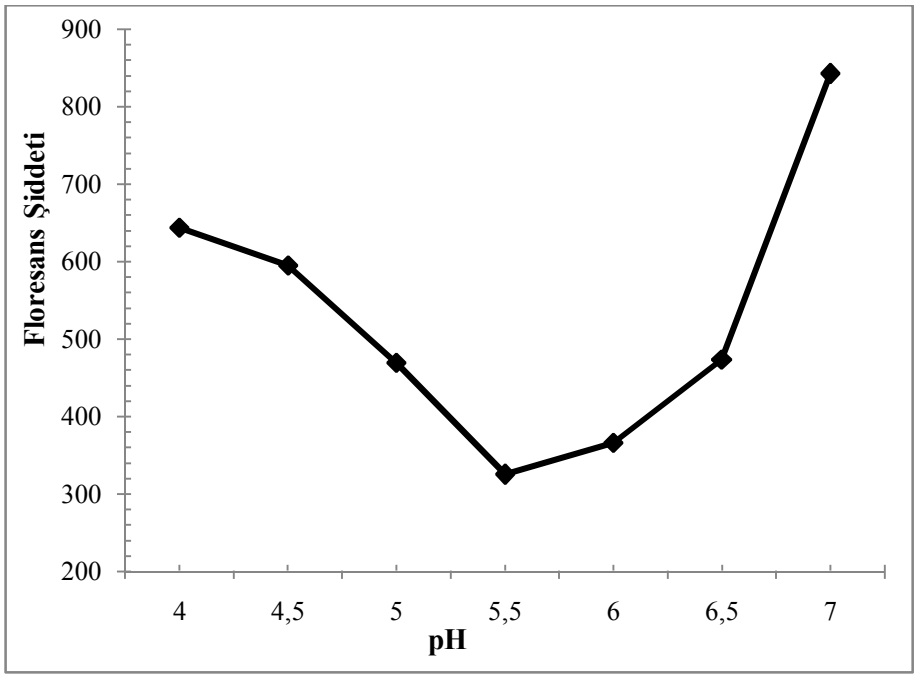
Şekil 5.2. Üç farklı demir derişiminde CIP-Fe kompleksinin emisyon spektrumları (pH=5.5, λuy = 370nm, λem = 462 nm, [CIP]=10^{-3} M, [Fe^{3+}]= 0, 3.35, 4.47 ve 5.58 µg.mL^{-1}).

5.2. Florikinolonların Uygun Derişimlerinin Belirlenmesi

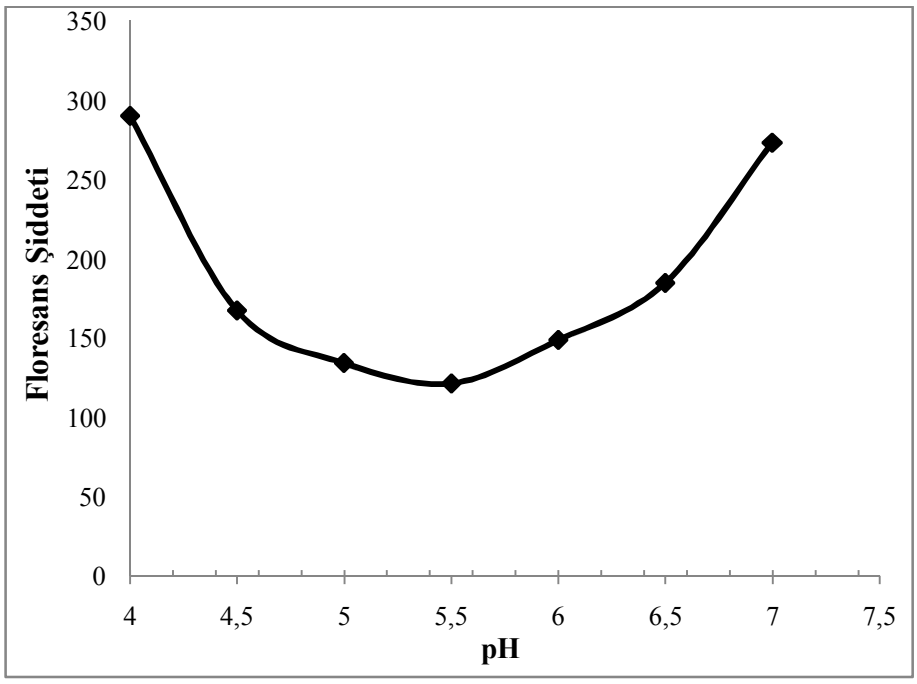
LEV-Fe(III) ve CIP-Fe(III) komplekslerinde ligand olarak kullanılan, LEV ve CIP' nin yüksek floresans özelliğe sahip olmalarından dolayı, bu reaktifin konsantrasyonunun çok iyi seçilmesi gerekmektedir. Bu nedenle, LEV ve CIP' nin derişimi 1×10^{-3}, 1×10^{-4} ve 1×10^{-5} M olan çözeltileri hazırlanarak floresans şiddetleri ölçüldü. Daha sonra bu çözeltilere uyarma dalga boyu 200 nm' den başlayan yirmi altılı çoklu tarama yapıldı. Yapılan taramalar sonucu, demir kompleksleri florokinolonların floresans şiddetini düşürdükleri için, yüksek floresans şiddetini veren florokinolon derişimleri seçildi. Levofloksasin için 1×10^{-4} M, siprofloksasin için 1×10^{-3} M derişimleri seçildi.

5.3. Uygun pH'ın Belirlenmesi

Kompleks oluşum reaksiyonlarında pH'nın önemli olduğu bilinmektedir. Çalışılan florokinolonlar, 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 LEV-Fe(III) ve CIP-Fe(III) kompeks çözeltileri hazırlandı. Floresans şiddetleri pH' ya karşı grafiğe geçirelerek uygun pH seçildi ve floresans şiddetinin en düşük olduğu pH uygun olarak belirlendi (Şekil 5.3 ve 5.4). Demir derişiminin 10^{-3} M olduğu levofloksasin ve siprofloksasin komplekslerinde floresans şiddeti çok düştüğü için ve pH 7'den sonra demirin oksit halinde çökmesinden dolayı, bu komplekslerin floresans şiddetleri sağlıklı olarak okunamadı. Siprofloksasin demir kompleksi için en uygun sonuçlar demir derişiminin 10^{-4} M ve levofloksasin demir kompleksi için en uygun sonuçlar ise demir derişiminin 10^{-5} M olduğu zaman elde edilmiştir. Levofloksasin ve siprofloksasinin demir kompleksleri için en uygun pH 5.5 olarak seçildi.



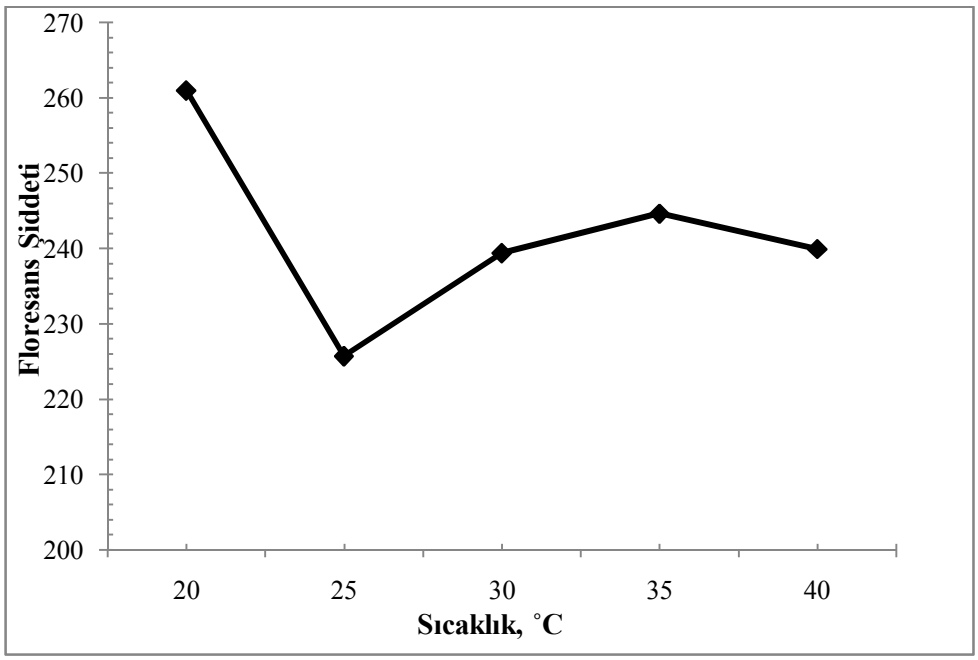
Şekil 5.3. Levofloksasin-Fe(III) kompleksinin floresans şiddetine pH'nın etkisi (Deney koşulları: [LEV] = 10^{-4} M, [Fe^{3+}] = 10^{-5} M, 25°C, su ortamı, λ_{uy} = 390 nm, λ_{em} = 500 nm).



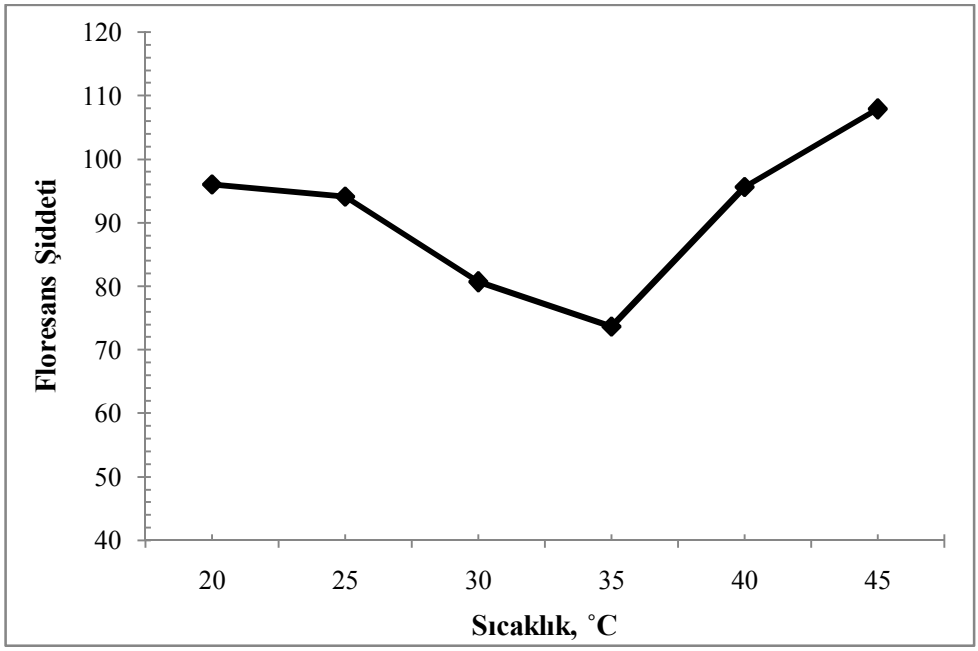
Şekil 5.4. Siprofloksasin-Fe(III) kompleksinin floresans şiddetine pH'nın etkisi (Deney koşulları: [CIP] = 10^{-3} M, [Fe^{3+}] = 10^{-4} M, 35˚C, su ortamı, λuy = 370 nm, λem = 462 nm).

5.4 . Kompleks Oluşumuna Sıcaklığın Etkisinin Belirlenmesi

Kompleks oluşum reaksiyonlarında sıcaklığın etkisinin önemli olduğu bilinmektedir. Florokinolonların demirle kompleksine sıcaklığın etkisinin belirlenmesi için belirlenen pH' larda ve konsantrasyonlarda 20-45˚C arasında çözeltiler hazırlandı. Belirlenen dalga boylarında floresans şiddetleri ölçüldü. Levofloksasin demir kompleksinin 40˚C' den sonra bozulduğu gözlendi. Elde edilen floresans şiddetleri sıcaklığa karşı grafiğe geçirildi (Şekil 5.5 ve 5.6). Levofloksasin demir kompleksi için en uygun sıcaklık 25˚C ve siproloksasin demir kompleksi için en uygun sıcaklık 35˚C olarak seçildi.



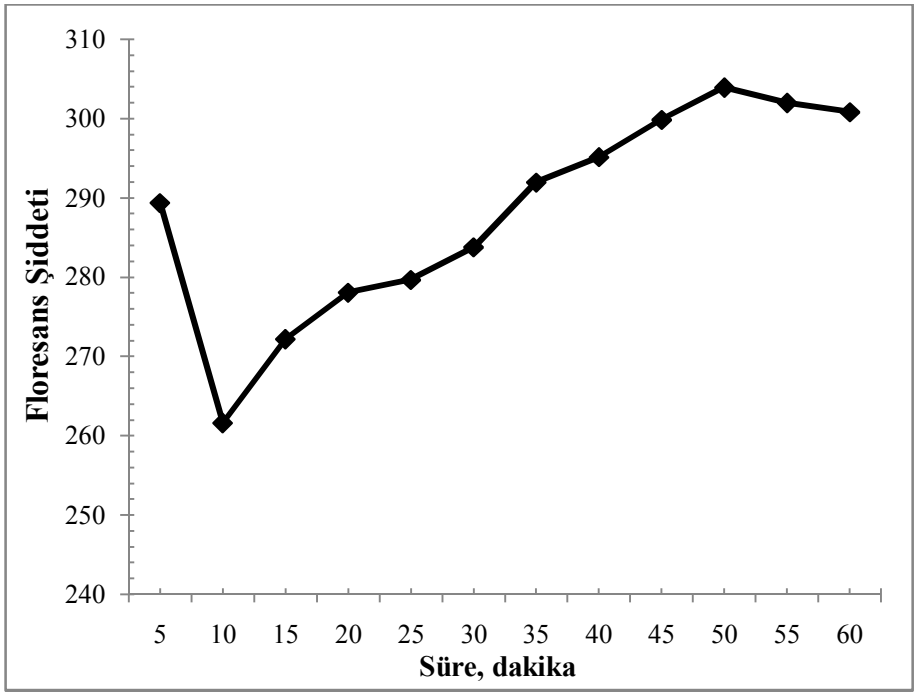
Şekil 5.5. Levofloksasin-Fe(III) kompleksinin floresans şiddetine sıcaklığın etkisi (Deney koşulları: [LEV] = 10^{-4} M, [Fe3+] = 10^{-5} M, pH = 5.5, su ortamı, λuy = 390 nm, λem = 500 nm).



Şekil 5.6. Siprofloksasin-Fe(III) kompleksinin floresans şiddetine sıcaklığın etkisi (Deney koşulları: [CIP] = 10^{-3} M, [Fe^{3+}] = 10^{-4} M, pH = 5.5, su ortamı , λ_{uy} = 370 nm, λ_{em} = 462 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} ve 1×10^{-3} M levofloksasin ve siprofloksasin derişiminde ve demir derişimleri sırasıyla 1×10^{-5} ve 1×10^{-4} M olacak şekilde çözeltiler hazırlanarak, kompleks oluşumunun tamamlanması için her bir çözelti 5-40 dakika arasında 5'er dakika aralıklarla bekletildi. Daha sonra bu çözeltilerin, levofloksasin ve siprofloksasin için sırasıyla 390 nm, 370 nm uyarma dalga boyu ve 500 nm, 460 nm emisyon dalga boyunda floresans şiddetleri ölçülerek, zamana (dakika cinsinden) karşı grafiğe geçirildi (Şekil 5.7 ve 5.8). Levofloksasin demir kompleksi için 10 dakika ve siproloksasin demir kompleksi için 25 dakika seçildi.



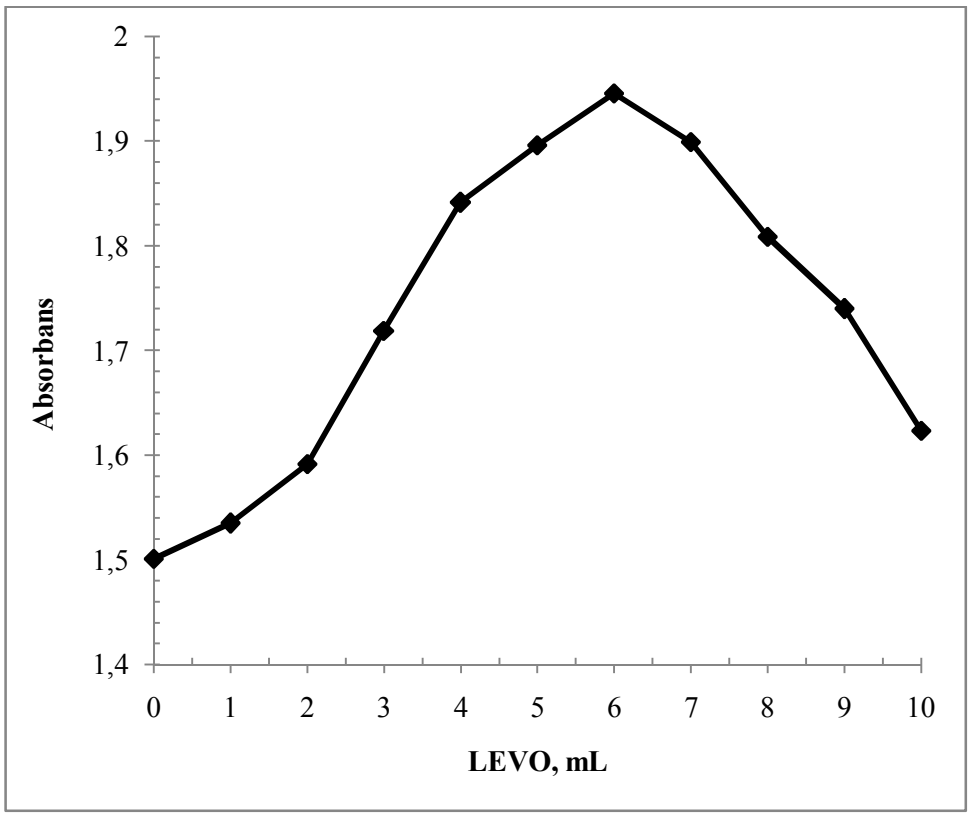
Şekil 5.7. Levofloksasin-Fe(III) kompleksinin floresans şiddetine kompleks oluşum süresinin etkisi (Deney koşulları: [LEV] = 10^{-4} M, [Fe^{3+}] = 10^{-5} M, pH = 5.5, su ortamı, λ_{uy} = 390 nm, λ_{em} = 500 nm).



Şekil 5.8. Siprofloksasin-Fe(III) kompleksinin floresans şiddetine kompleks oluşum süresinin etkisi (Deney koşulları: [CIP] = 10^{-3} M, [Fe^{3+}] = 10^{-4} M, pH = 5.5, su ortamı, λuy = 370 nm, λem = 462 nm).

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. Ancak siprofloksasin demir kompleksinin stokiyometrisi, Job metoduyla, belirlediğimiz şartlarda ne spektroflorimetrik ne de spektrofotometrik olarak hesaplanamadı. Levofloksasin demir kompleksi için bu amaçla, levofloksasin ve demir derişimlerinin her ikisi de 1×10^{-4} M olacak şekilde çözelti hazırlanarak, levofloksasinin 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 286 nm uyarma dalga boyunda absorbans değerleri ölçülerek ligandın (LEV) hacmine karşı grafiğe geçirildi, Şekil 5.9. Elde edilen eğriden levofloksasinin demire mol oranının (3:2) olduğu belirlendi. Buna göre su ortamında oluşan kompleksin $Fe_2(LEV)_3$ şeklinde olduğu söylenebilir.



Şekil 5.9. LEV ve Fe(III)'ün aynı derişimlerdeki LEV-Fe(III) kompleksinin stokiyometrisinin job yöntemiyle belirlenmesi (pH=5.5, λ_{abs} = 286 nm, [LEV]=1×10^{-4} M).

5.7. Florokinolonların floresansının Fe(III) kompleksleriyle sönme mekanizması

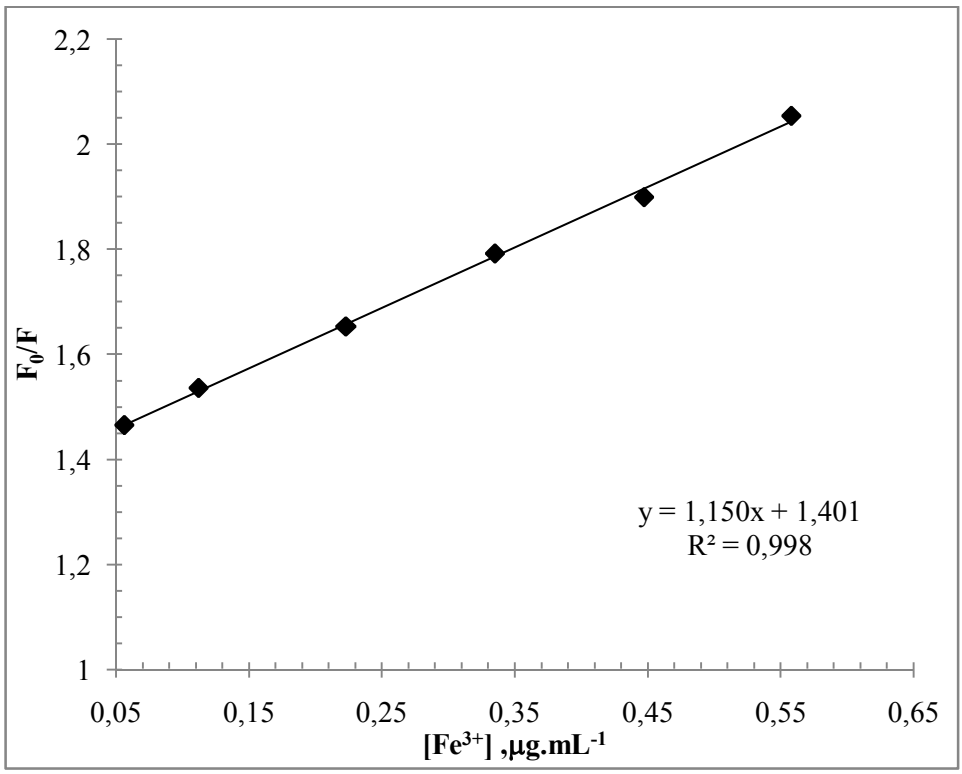
Floresans sönmesi, bir florofordan söndürücü molekülle, uyarıcı durum reaksiyonlarıyla, moleküler düzenlemeyle, enerji transferiyle, temel halde kompleks oluşumuyla ve çarpışmaya bağlı söndürme işlemleri gibi muhtelif moleküler etkileşimlerle floresansın miktarındaki azalmadır. Sönme dinamik veya statik 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, 1986).

Komplekslerle oluşan sönme mekanizmasını daha açık hale getirmek için, Stern-Volmer eşitliklerinden oluşturulan, [Q]'ya karşı F_0/F grafikleri Şekil 5.10.a ve 5.11.a' de görülmektedir. Eğriler, Stern-Volmer sönme eşitliklerine göre düzgün lineer ilişki göstermektedir (Eşitlik (5.1)) (Lehrer, 1971; Lakowicz, 1973):

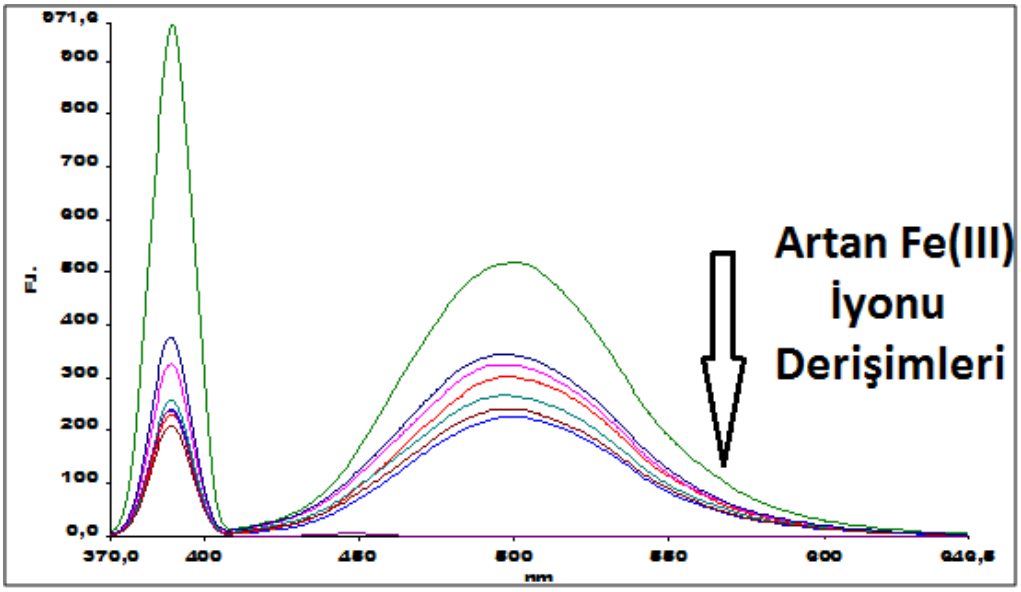
$$F_0/F = 1 + K_q \tau_0 [Q] = 1 + K_{sv} [Q] \quad (5.1)$$

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. Florokinolonların floresans ömür süresi olarak (τ_0) 10^{-8} s civarında alındığında (Lakowicz, 1986), 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 5.10.a ve 5.11.a.). 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.

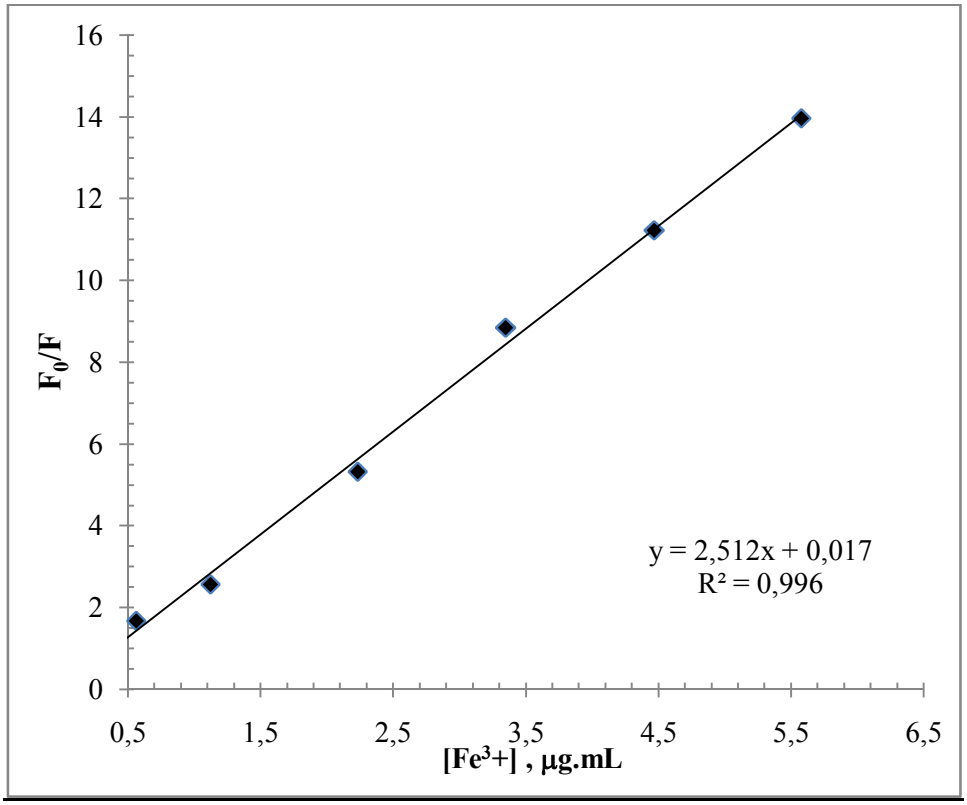
Florokinolonlar kullanılarak, demirin florimetrik tayininin yapılabilmesi amacıyla kalibrasyon grafiklerinin çizilmesi gerekir. Bu kalibrasyon grafiklerinden yararlanılarak demirin tayin edilebileceği, tayin aralığı ve tayin edilebilecek en düşük demir derişimi belirlenebilir. Kalibrasyon grafikleri Stern-Volmer eşitlikleri kullanılarak çizildi. Çünkü demir (III) iyonları, spektroflorimetrik olarak floresans sönümleme (quenching) metodu ile tayin edildi. LEV-Fe (III) kompleksi için pH 5,5 da 0.056-0.558 $\mu g.mL^{-1}$ ve CIP-Fe (III) kompleksi için pH 5,5 da 0.56-5.58 $\mu g.mL^{-1}$ aralığında demir içeren ve en uygun koşullarda hazırlanan çözeltiler levofloksasin ve siprofloksasin için sırasıyla 390 nm, 370 nm uyarma dalga boyu ve 500 nm, 460 nm emisyon dalga boylarında floresans şiddetleri ölçülerek (Şekil 5.10.b ve 5.11.b), F_0/F-$[Fe^{3+}]$ Stern-Volmer kalibrasyon grafikleri çizildi (Şekil 5.10.a. ve 5.11.a.).



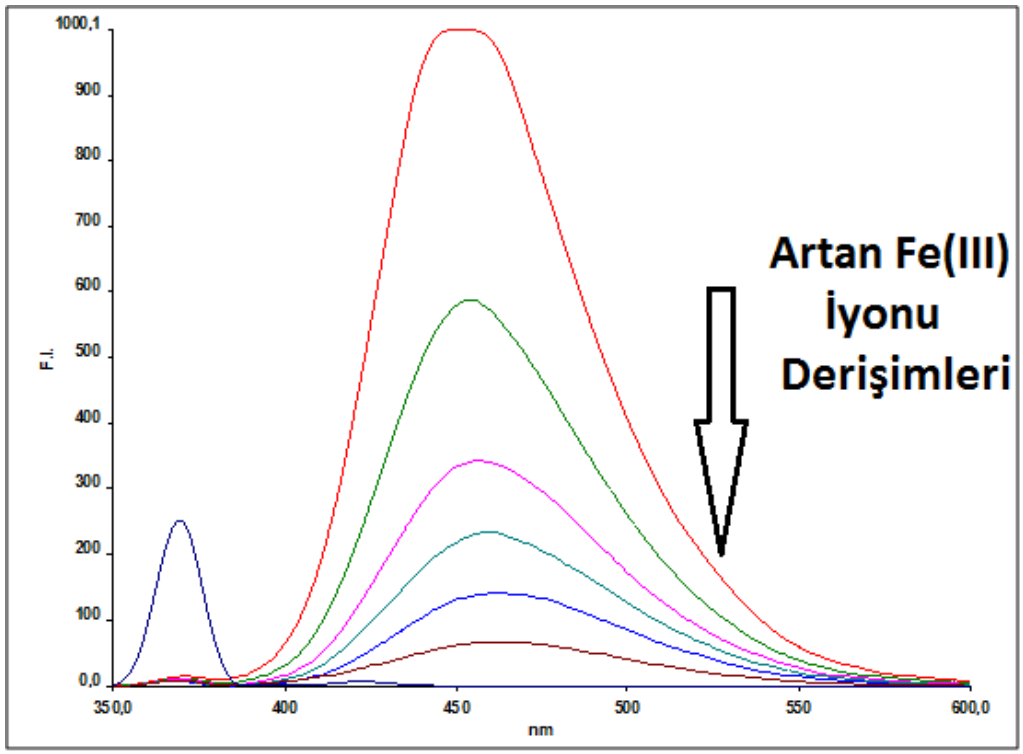
Şekil 5.10.a. LEV – Fe(III) kompleksi nin, 0.056-0.558 µg.mL^{-1} demir derişimi aralığında Stern-Volmer kalibrasyon grafiği (pH=5.5, λuy=390.0 nm ve λem=500 nm, [LEV]=1×10^{-4} M).



Şekil 5.10.b. LEV – Fe(III) kompleksi nin, 0-0.558 µg.mL^{-1} demir derişimi aralığında floresans spektrumları (pH=5.5, λuy=390.0 nm ve λem=500 nm, [LEV]=1×10^{-4} M).



Şekil 5.11.a. CIP – Fe(III) kompleksinin, 0.56-5.58 µg.mL^{-1} demir derişimi aralığında Stern-Volmer kalibrasyon grafiği (pH=5.5, λ_{uy}=370.0 nm ve λ_{em}=462 nm, [CIP]=1×10^{-3} M).



Şekil 5.11.b. CIP – Fe(III) kompleksinin, 0-5.58 µg.mL^{-1} demir derişimi aralığında floresans spektrumları (pH=5.5, λuy=370.0 nm ve λem=462 nm, [CIP]=1×10^{-3} M).

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

5.8. Bozucu Etki Yapan Türlerin Belirlenmesi

Florokinolonların pekçok metal iyonuyla (Se, Cu, Ca, Mg, Zn, Mn ve Cr) kompleks oluşturduğu ve demirin de pekçok anyonla (I, Cl) etkileştiği hatta bu anyonların komplekse bağlanarak kompleksin koordinasyonunu tamamlayabildikleri de bilinmektedir. Bu nedenle önerilen spektroflorimetrik demir tayin yöntemine, özellikle vitamin-mineral kombinasyonu ilaçlar içinde bulunan diğer katyon ve anyonların etkisinin incelenmesi gerekmektedir. Ayrıca geliştirilen bu yöntemin, vitamin tabletlerinin çözeltilerinde demir tayinine uygulanıp uygulanamayacağı da araştırılacağından, vitamin tableti çözeltisinde bulunan iyonların da yönteme etkisi incelenmelidir. Çizelge 5.1 ve 5.2'de demir tayinine etki eden yabancı iyonlar gösterilmiştir. Kalsiyum ve magnezyum iyonları yabancı iyonun demire mol oranının >1000 olduğu durumda bile demir tayinini hemen hemen hiç etkilemezken, Se(IV) ve Cr(III) iyonları yabancı iyonun demire mol oranının <0.1 olduğu durumda tayini büyük oranda bozduğu belirlenmiştir.

Çizelge 5.1. Demirin levofloksasin ile florimetrik tayininde çeşitli iyonların etkisi ([LEV]=1×10^{-4} M, [Fe^{3+}]= 10^{-5} M, pH=5.5).

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

Çizelge 5.2. Demirin siprofloksasin ile florimetrik tayininde çeşitli iyonların etkisi ([CIP]=1×10^{-3} M, $[Fe^{+3}]= 10^{-4}$ M, pH=5.5).

Tolerans oranı, ($m.m^{-1}$)	Yabancı İyonlar
0.1	Se^{4+}, Cr^{3+}, Cu^{2+}
1.0	Cl^-, I^-
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 5.3. Levofloksasinle demirin tayini için belirlenen en uygun koşullar

Uyarma dalga boyu	390 nm
Emisyon dalga boyu	500 nm,
En uygun LEV konsantrasyonu	1×10^{-5} M
En uygun pH	5.5
En uygun çözücü ortamı	su ortamı
Kompleks oluşum sıcaklığı	25°C
Kompleks oluşum süresi	10 dakika

Çizelge 5.4. Siprofloksasinle demirin tayini için belirlenen en uygun koşullar

Uyarma dalga boyu	370 nm
Emisyon dalga boyu	462 nm,
En uygun CIP konsantrasyonu	1×10^{-4} M
En uygun pH	5.5
En uygun çözücü ortamı	su ortamı
Kompleks oluşum sıcaklığı	35°C
Kompleks oluşum süresi	25 dakika

5.10. Method Validation

5.10.1. Doğrusallık

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

$F_0/F = 1.1503\ C + 1.4013,\ R^2 = 0.9981$ (LEV için) (5.3)

$F_0/F = 2.152\ C + 0.017,\ R^2 = 0.9966$ (CIP için) (5.4)

F_0 ve F, Fe(III)'ün yokluğu ve varlığında florokinolonların floresans şiddetleri, C, $\mu g.mL^{-1}$ olarak Fe (III)'ün konsantrasyonu, R^2 ise, korelasyon katsayısıdır. Doğrusallık, en uygun şartlar altında, Fe(III)-LEV kompleksi için 0.056-0.56 $\mu g.mL^{-1}$, Fe(III)-CIP kompleksi için 0.56-5.58 $\mu g.mL^{-1}$ olarak belirlendi.

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

Fe(III)-LEV ve Fe(III)-CIP kompleksleri için geliştirilen yöntemin gözlenebilme sınırları (LOD) sırasıyla 1.6 $ng.mL^{-1}$ ve 5.9 $ng.mL^{-1}$ ve bu komplekslerin alt tayin sınırları (LOQ) sırasıyla 5.3 $ng.mL^{-1}$ ve 19.7 $ng.mL^{-1}$ olarak bulundu. Sonuçlar Çizelge 5.5'de verildi.

Çizelge 5.5. Geliştirilen floresans söndürme yönteminin istatistik parametreleri

Parametreler	Fe(III)-LEV Kompleksi	Fe(III)-CIP Kompleksi
Doğrusal aralık ($\mu g.mL^{-1}$)	0.056-0.56	0.56-5.58
LOD ($ng.mL^{-1}$)	1.6	5.9
LOQ ($ng.mL^{-1}$)	5.3	19.7
Eğim (b)	1.1503	2.152
Kayma (a)	2.4760	0.1870
Korelasyon katsayısı (R^2)	0.9981	0.9966

5.10.3. Geri kazanım

Sonuçlar, geri kazanımların, LEV-Fe(III) kompleksi için %95.5–102.9 ve CIP-Fe(III) kompleksi için %85.7–110.7 aralığında olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar Çizelge 5.6'de verildi. Sonuçlara bakıldığında, levofloksasinin siprofloksasinle kıyaslandığında çok daha düşük derişimlerdeki Fe(III) iyonlarını bile oldukça iyi bir doğruluk ve kesinlikle bağlayabildiği görülmüştür.

Çizelge 5.6. Florimetrik söndürme yöntemiyle florokinolonlar ve Fe(III) iyonu arasındaki etkileşimlerin tayini için geri kazanım çalışmaları.

LEV-Fe(III)Kompleksi için			
Eklenen Fe(III) iyonu ($\mu g.mL^{-1}$)	Bulunan Fe(III) iyonu ($\mu g.mL^{-1}$) ± SD [a]	Geri Kazanım (%)	RSD (%)
0.056	0.048±0.008	85.7	16.67
0.112	0.124±0.003	110.7	2.42
0.223	0.224±0.004	100.4	1.78
0.335	0.325±0.009	97.0	2.77
0.446	0.451±0.006	101.1	1.33
[a] Beş tayinin ortalaması ve standart sapması.			
CIP-Fe(III)Kompleksi için			
Eklenen Fe(III) iyonu ($\mu g.mL^{-1}$)	Bulunan Fe(III) iyonu ($\mu g.mL^{-1}$) ± SD [a]	Geri Kazanım (%)	RSD (%)
1.12	1.15±0.03	102.7	2.61
2.23	2.24±0.02	100.4	0.89
3.35	3.20±0.09	95.5	2.81
4.47	4.60±0.04	102.9	0.86
5.58	5.56±0.05	99.6	0.90
6.70	6.70±0.01	100.0	0.15
[a] Altı tayinin ortalaması ve standart sapması.			

5.10.4. Doğruluk ve kesinlik

Geliştirilen florimetrik yöntemin doğruluk ve kesinliği, numunelerin beş ve altı tekrarlı (n=5 ve 6) analiziyle tayin edildi. Bağıl ortalama hata olarak ifade edilen yöntemin doğruluğu, LEV-Fe(III) kompleksi için %1.33-16.67 ve CIP-Fe(III) kompleksi için %0.86–2.81 aralığındadır. Düşük değerlerdeki yüzde bağıl standart hata,

florokinolonlar ile vitamin-mineral kombinasyonu tablet içindeki Fe(III) iyonu arasındaki etkileşimin tayini için geliştirilen yöntemin iyi bir kesinliğinin ve tekrar yapılabilirliğinin olduğunu göstermektedir. Bu istatistik parametreler Çizelge 5.6'da verildi.

5.11. Geliştirilen Florimetrik Söndürme Yönteminin Vitamin-Mineral Kombinasyonu Tabletlerdeki Demir Tayinine Uygulanması

Florokinolon türü antibiyotik tabletler ve vitamin-mineral kombinasyonu tabletler, bakteriyel infeksiyon hastalıklarında vücut direncini arttırmak için genellikle birlikte alınmaktadır. Bunun için, geliştirilen florimetrik söndürme yöntemi, vitamin-mineral kombinasyonu tablet içindeki Fe(III) iyonu ile florokinolonlar arasındaki etkileşimi incelemek için, florokinolon antibiyotik tablet (500 mg Floxilevo tablet ve 500 mg Cipro tablet) ve vitamin-mineral kombinasyonu tablet (Supradyn all day tablet) karışımına uygulandı. Bu uygulamaların sonuçları Çizelge 5.7'de verildi:

Çizelge 5.7. Levfloksasin türü antibiyotik tablet ve vitamin-mineral kombinasyonu tablet karışımı kullanılarak florimetrik söndürme yöntemi ile vitamin-mineral kombinasyonu tablet içindeki Fe(III) iyonunun tayini.

Tabletin Etiket adı	Etikette belirtilen Fe (III) miktarı, mg/tablet	Bulunan Fe(III) miktarı, Değer±SD	Geri Kazanım (%)
Supradyn [Fe(III) için]	14	13.22±0.15 14.56±0.22 13.89±0.19	94.4 104.0 99.2

[a] Değerler 5 tayinin ortalamasıdır.

Çizelge 5.8. Siprofloksasin türü antibiyotik tablet ve vitamin-mineral kombinasyonu tablet karışımı kullanılarak florimetrik söndürme yöntemi ile vitamin-mineral kombinasyonu tablet içindeki Fe(III) iyonunun tayini.

Tabletin Etiket adı	Etikette belirtilen Fe (III) miktarı, mg/tablet	Bulunan Fe(III) miktarı, Değer±SD	Geri Kazanım (%)
Supradyn [Fe(III) için]	14	12.99±0.12 13.77±0.18 13.43±0.23	92.8 98.4 95.9

[a] Değerler 5 tayinin ortalamasıdır.

Her iki florokinolon ile de Supradyn vitamin mineral kombine tablet içindeki demir miktarı iyi bir geri kazanım yüzdesiyle tayin edilmiştir. Ayrıca, Supradyn vitamin mineral kombine tablet içindeki diğer iyonların, ortamdaki derişimleri bozucu etki oluşturdukları derişimlerden çok daha düşük olması (yaklaşık derişim aralığı 10^{-6}-10^{-4} M civarındadır) sebebiyle, demirin florokinolonlara bağlanmasında herhangi bir bozucu etki oluşturmamışlardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

4-Kinolonlar, karboksikinolonlar veya yalnızca kinolonlar olarak adlandırılan ajanlar, yapıca nalidiksik aside benzeyen sentetik antibakteriyel bileşiklerdir (yapıca 6-floro-4-kinolonkarboksilik asit türevleridir). Bu grubun ilk üyesi olan nalidiksik asit, dar spektrumu, oldukça zayıf antibakteriyel aktivitesi ve hızlı bakteriyel rezistans gelişmesinden dolayı yaygın kullanım alanı bulamamıştır. Kinolonların yeni bir kuşağı olan florokinolonlar, geniş antimikrobiyal spektrum, hızlı ve bakterisit etki ve yavaş rezistans gelişmesi gibi önemli terepötik üstünlüklere sahiptirler. Sitoplazmaya giren florokinolonlar, burada DNA'yı negatif süpersarmal hale getiren bakteriyel DNA-jiraz (topoizomeraz II) enzimini alfa-alt birimine bağlanarak inhibe ederler. Bu nedenle de "DNA-jiraz inhitörleri" olarak da adlandırılırlar.

Etkisi, güvenirliği ve geniş antibakteriyal spektrumu ile florokinolonlar birçok infeksiyon hastalığının tedavisinde cazip bir seçenek haline gelmiştir. Ancak bu antimikrobiyallerin yaygın kullanımı nedeniyle bakteriyel direnç gelişiminin hızlanması söz konusu olmaktadır. Gıdalar florokinolonların çoğunun emilimini etkilemez. Bununla birlikte; alüminyum, magnezyum, kalsiyum, demir ve bakır gibi bazı katyonlarla kinolonlar şelat oluştururlar. Bu etkileşmeler emilme ve biyoyararlanımı önemli ölçüde azaltır, aynı şekilde serum ilaç yoğunluklarını düşürür ve hedef dokulara geçişi zayıflatır.

Florokinolon türü (siprofloksasin, pefloksasin, ofloksasin, enoksasin ve norfloksasin gibi) çoğu geniş spektrumlu olan antibiyotikler bakteriyel infeksiyonlarda yaygın olarak ve sıklıkla kullanılmaktadır. Pek çok infeksiyon hastalığında vücut direncini arttırmak amacıyla, yanlış bir uygulama olmasına karşın, vitamin-mineral kombinasyonu ilaçların da antibiyotiklerle birlikte alınmasına sıklıkla rastlanmaktadır. Bu nedenle florokinolon türü antibiyotiklerle birlikte alınan vitamin-mineral kombinasyonu ilaçların içeriğinde makro miktarda bulunan demir ve eser (iz) oranda bulunan çinko, bakır, kobalt ve mangan gibi metallerin florokinolon türü antibiyotiklerle kompleks oluşturma ve her iki ilacın da etkinliklerinin azalmasına sebep olma olasılığının incelenmesi büyük önem taşımaktadır.

Vitamin-mineral kombine tablet içerisndeki demir ile levofloksasin ve siprofloksasin arasındaki etkileşime dayanan florimetrik söndürme yöntemi; vitamin mineral kombine tablet içerisindeki demirin tayini için kullanılabilir. Bütün deney

sonuçları, vitamin-mineral kombinasyonuyla florokinolonların birlikte alınması durumunda, etkileşime girerek birbirlerinin özelliklerini zayıflatabileceğini göstermiştir.

Florokinolon türü siprofloksasin ve levfloksasin ile vitamin mineral tabletleri birlikte kulanılamamalıdır. Birlikte kullanılması gerekiyorsa iki saat ara ile alınmalıdır.

KAYNAKLAR

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

Anargiros I., Drakopoulus Pinelopi, C. Loannou, 1997, Spectrofluorimetric study of the acid base equilibria and complexation behavior of the fluoroquinolone antibiotics ofloxacın, norfloxacın, cıprofloxacın ve pefloxacın in aqueous solution, *Analiticia Chimica Acta*, 354 197-204.

Arthur Beiser, 1997, *Modern Fizigin Kavramları*.

Ball P., 2000, The quinolones history and overview, In: The quinolones, (Andriole, V.T.,- ed.) Academic Press, *California Fakültesi Dergisi*, 1-242(1-2), 141-151, San Diego.

Ballesteros O., Vílchez J.L., Navalón A., 2002, Determination of the antibacterial ofloxacin in human urine and serum samples by solid-phase spectrofluorimetry, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis,* 30(4), 1103-1110.

Ballesteros O., Toro I., Sanz-Nebot V., Navalón A., Vilchez J.L., Barbosa J., 2003, Determination of fluoroquinolones in human urine by liquid chromatography coupled to pneumatically assisted electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 798(1), 137–144.

Belal F., Al-Majed A.A., Al-Obaid A.M., 1999, Review: Methods of analysis of 4-quinolone antibacterials, *Talanta*, 50, 765–786.

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

Brand L. and Johnson, M. L., Eds., 1997, Fluorescence spectroscopy (Methods in enzymology), *Academic Press*, 278.

Cross J.T., Jr, MD, MPH, 2001, Fluoroquinolones, Seminars in pediatric infectious diseases, 12(3), 211-223.

Doğan A., Bilgili A., Dağoğlu G., 1991, Veteriner hekimikte klinik kullanıma yeni giren ilaçlar: Kinolonlar, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi.

Doğan Tamer, 2010, Optiksel uyarılmayla lüminesans (osl) tarihlendirme yöntemini kullanarak doğu anadolu fay sisteminin (dafs) paleosismolojik analizi, Doktora Tezi, *Çukurova Üniversitesi*, Adana,6-8.

Dökmeci İ., Akçasu, A., Banoglu N., Berkarda S. ve ark., 1992, Farmakoloji ilaç uygulamalarında temel kavramlar, *Nobel Tıp Kitabevleri*, 705-785.

Du L.M., Yang Y.Q, Wang Q.M., 2004, Spectrofluorometric determination of certain quinolone through charge transfer complex formation, *Analytica Chimica Acta*, 516, 237–243.

Erdik E., Sarıkaya Y., 1998, Temel üniversite kimyası, *Gazi Kitapevi*, Ankara.

Espinosa-Mansilla A., Mu˜noz de la Pe˜na A., Gonz´alez G´omez D., Salinas F., 2005, HPLC determination of enoxacin, siprofloksasin, norfloxacin and ofloxacin with photoinduced fluorimetric (PIF) detection and multiemission scanning Application to urine and serum, *Journal of Chromatography B*, 822, 185–193.

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

González J.A.O., Mochón M. C., Rosa F. J. B., 2000, Spectrofluorimetric determination of levofloxacin in tablets, human urine and serum, *Talanta*, 52(6), 1149–1156.

Gülcan M., 2012, Anorganik kimyada spektroskopik yöntemler, *Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi*, 24-30.

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

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

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

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

Kapetanović V., Milovanović L., Erceg M., 1996, Spectrophotometric and polarographic investigation of theofloxacin-Cu(II) complexes, *Talanta,* 43(12), 2123-2130.

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

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

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

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.

Lü H., Wu X., Xie Z., Lin X., Guo L., Yan C., Chen G., 2005, Separation and determination of seven fluoroquinolones by pressurized capillary electrochromatography, *Journal of Seperation Science*, 28, 2210–2217.

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

Nadadur SS, Srirama K, Mudipalli A., 2008, Iron transport & homeostasis mechanisms: Their role in health & disease, *Indian J Med Res*, 128, 533–44

Özalp E.A.D., 2002, Farmakoloji, *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.

Park H.R., Kim T.H., Bark K.M., 2002, Physicochemical properties of quinolone antibiotics in various environments, Eur. J. Med. Chem, 37(6), 443-460.

Sardohan Tuğba, 2006, Bazı kinolonların iyonlasma sabitlerinin su-metanol ve su-asetonitril ikili karışımlarında potansiyometrik yöntem ile tayini, *Yüksek Lisans Tezi*, Isparta, 3-25.

Shim, J.H., Lee M.H., Kim M.R., Lee C.J., Kim I.S., 2003, Simultaneous measurement of fluoroquinolones in eggs by a combination of supercritical fluid extraction and high pressure liquid chromatography, *Biosci biotechnol biochem.*, 67(6), 1342-8.

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.

Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A., 2000, Çeviri: Kılıç, E., Köseoğlu, F., Yılmaz, H., , Enstrümental Analiz İlkeleri, *Bilim Yayıncılık*, Ankara, 355-377.

Şanlı Y., Kaya S., 1994, Veteriner farmakoloji ve ilaçla sagıtım seçenekleri, *Medisan Yayınevi*, 571-650, Ankara.

Şener L., 2006, Floresans spektroskopisi yöntemlerinin biyolojik etkileşimlerin ve enzimatik etkinliklerin incelenmesinde kullanımı, Yüksek Lisans Tezi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü,* İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 8-20.

Toldra F., Reig M., 2006, Methods for rapid detection of chemical and veterinary drug residues in animal foods, *Trends in Food Science & Technology,* 17(9), 482–489.

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.

Toussaint B., Bordin G., Janosi A., Rodriguez A.R., 2002, Validation of a liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the simultaneous

quantification of 11 (fluoro)quinolone antibiotics in swine kidney, *Journal of Chromatography A*, 976(1-2), 195–206.

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

Turiel E., Bordin, G., Rodrıguez, A.R., 2003, Trace enrichment of (fluoro)quinolone antibiotics in surface waters by solid-phase extraction and their determination by liquid chromatography–ultraviolet detection, *Journal of Chromatography A*, 1008(2), 145–155.

Ulu Tatar S., 2009, Rapid and sensitive spektrofluorimetric determination of enrofloxacin, levofloksasin and ofloksasin with 2,3,5,6-tetrachloro-p-benzoquinone, *Spectrochimica Acta Part A*, 72 1038–1042.

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

Zhang L.W., Wang K., Zhang X.X., 2007, Study of the interactions between fluoroquinolones and human serum albumin by affinity capillary electrophoresis and fluorescence method, *Analytica Chimica Acta*, 603(1), 101-110.

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(5), 267–276.

Quiming N.S., Denola N.L., Saito Y., Ueta I., Ogawaa M., Jinnoa K., 2007, Effect of Counter-Anions on the retention of zwitterionic quinolones in reversed phase liquid chromatography, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies,* 30, 1343–1360.

Wei L., Li G., Li H., 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.

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.

http://www.infeksiyon.org/Detail.Kinolonlar

http://www.omu.edu.tr/~hakan/ders/30kinol2001.pdf

http://www.ctf.istanbul.edu.tr/farma/Florokinolonlar.ppt

http://www.sbimc.org/1999/fall/tulkens-van-bambeke-slides/sld001.ht

http://www.sigmaaldrich.com/

http://people.whitman.edu/~dunnivfm/FAASICPMS_Ebook/CH1/1_2_2.html

http://www.biofarma.com.tr/

http://www.sanofi.com.tr/

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Sevil ÇAN
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : İZMİR- 17/11/1989
Telefon : 05076349433
Faks :
e-mail : sevl_35@hotmail.com

EĞİTİM

Derece		Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	:	Selma Yiğit Alp, Göztepe, İzmir	2006
Üniversite	:	Selçuk Üniversitesi, Selçuklu, Konya	2008
Yüksek Lisans	:	Selçuk Üniversitesi, Selçuklu, Konya	2015

UZMANLIK ALANI

İlaç Etken Maddelerinin Metal etkileşimlerinin Spektrofotometrik ve Florimetrik Yöntem ile Tayini

BİLİMSEL ÇALIŞMALAR

Siprofloksasinin Fe^{3+} iyonlarıyla bağlanma özelliklerinin florimetrik olarak incelenmesi – 7. Ulusal Analitik Kimya Kongresi Kahramanmaraş

Valsartanın Cu^{2+} iyonlarıyla bağlanma özelliklerinin florimetrik olarak incelenmesi - 7. Ulusal Analitik Kimya Kongresi Kahramanmaraş

Investigation of The Solvent Effect on The Fluorescence Properties of Some New Synthesized Schiff Bases- 7. Ulusal Analitk Kimya Kongresi Trabzon

YAYINLAR

Sevil ÇAN, S.Beniz GÜNDÜZ, Sibel A. ÖZKAN, 2015, "Investigation of The Metal Bonding Properties of Fluoroquinolone Type Antibiotics Using Spectrofluorimetric Method", *CDTH-Special issue entitled RECENT DEVELOPMENT ON PHARMACEUTICAL DOSAGE FORMS: DEVELOPMENT, APPLICABILITY, BIOEQUIVALANCE-BIOAVAILABILITY, NEW ASSAY METHODS AND THEIR VALIDATION*, baskıda.