



T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI ARA-II BİLEŞİKLERİNİN (ANJİYOTENSİN RESEPTÖR ANTAGONİSTLERİNİN) METAL BAĞLAMA ÖZELLİKLERİNİN SPEKTROFLORİMETRİK YÖNTEMLE İNCELENMESİ

Ahmet DÖNERTAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Analitik Kimya Anabilim Dalını

Ocak-2015

KONYA

Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI ARA-II BİLEŞİKLERİNİN (ANJİYOTENSİN RESEPTÖR ANTAGONİSTLERİNİN) METAL BAĞLAMA ÖZELLİKLERİNİN SPEKTROFLORİMETRİK YÖNTEMLE İNCELENMESİ

Ahmet DÖNERTAŞ

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Analitik Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. S. Beniz GÜNDÜZ

2015, 77 Sayfa

Jüri
Doç. Dr. S. Beniz GÜNDÜZ
Doç. Dr. Mahmut KUŞ
Yrd. Doç. Dr. Fatih DURMAZ

Valsartan (VAL), losartan (LOS) gibi, ARA-II (Anjiyotensin II Reseptör Antagonistleri) bileşiklerinin metal bağlama özellikleri spektroflorimetrik metot kullanarak incelenmiştir. Cu(II) iyonunun valsartanın (VAL) ve Fe(II) iyonunun da losartanın (LOS) floresansını söndürmesi çalışılmış ve en uygun deney koşulları tayin edilmiştir. Uyarma ve emisyon dalga boyları pH 5.5 ve metanol ortamında Cu(II)-VAL kompleksi için sırasıyla λ_{ex}= 280 nm ve λ_{em}= 436 nm, pH 5.5 ve su ortamında Fe(II)-LOS kompleksi için ise sırasıyla λ_{ex}= 270 nm ve λ_{em}= 371 nm'dir. Kalibrasyon grafikleri Stern-Volmer eşitliğinden elde edilen F_0/F-$[Cu^{2+}]$ ve F_0/F-$[Fe^{2+}]$ grafiklerinden elde edilmiştir ve en uygun koşullar altında, doğrusallık Cu(II)-VAL kompleksi için 0.25-2.54 $\mu g.ml^{-1}$ aralığında, Fe (II)-LOS kompleksi için ise 0.26-2.09 $\mu g.mL^{-1}$ aralığındadır. Cu(II)-VAL ve Fe (II)-LOS kompleksleri için gözlenebilme sınırları (LOD) sırasıyla 4.96 $ng.mL^{-1}$ ve 9.30 $ng.mL^{-1}$, alt tayin sınırları (LOQ) ise sırasıyla 16.53 $ng.mL^{-1}$ ve 31.00 $ng.mL^{-1}$'dir. Her iki kompleksin stokiyometrisi, sürekli değişkenler yöntemi (JOB yöntemi) kullanılarak tayin edilmiştir ve Cu(II):VAL ve Fe(II):LOS mol oranı sırasıyla 1:1 ve 1:2 olarak hesaplanmıştır. Tablet formundaki valsartan ile vitamin mineral kombinasyonu tablet içindeki Cu(II) ve tablet formundaki losartan ile vitamin mineral kombinasyonu tablet içindeki Fe(II) arasındaki etkileşimler, bu floresans söndürme yöntemi uygulanarak incelenmiştir ve tatmin edici sonuçlar elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Valsartan, Losartan, Fe(II) kompleksi, Cu(II) kompleksi, floresans söndürme, ilaç analizi.

ABSTRACT

MS THESIS

INVESTIGATION OF THE METAL BONDING PROPERTIES OF SOME ARA-II (ANGIOTENSIN II RECEPTOR ANTAGONISTS) COMPOUNDS USING SPECTROFLUORIMETRIC METHOD

Ahmet DÖNERTAŞ

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE

Advisor: Assoc.Prof.Dr. S. Beniz GÜNDÜZ

2015, 77 Pages

Jury
Assoc.Prof.Dr. S. Beniz GÜNDÜZ
Assoc.Prof.Dr. Mahmut KUŞ
Asst. Prof. Dr. Fatih DURMAZ

The metal bonding properties of some ARA-II (Angiotensin II Receptor Antagonists) compounds, such as valsartan (VAL), losartan (LOS), were investigated by using spectrofluorimetric method. Fluorescence quenching of VAL by Cu(II) and LOS by Fe(II) was studied and optimum experimental conditions were determined. The excitation and emission wavelengths were λ_{ex}= 280 nm and λ_{em}= 436 nm for the Cu(II)-VAL complex in methanol medium and λ_{ex}= 270 nm and λ_{em}= 371 nm for the Fe(II)-LOS complex in water medium at pH=5.5. The calibration curves were obtained from Stern-Volmer equation plotting to F_0/F-$[Cu^{2+}]$ and F_0/F-$[Fe^{2+}]$ graphs and the linearity was found within the range of 0.25-2.54 $\mu g.ml^{-1}$ for the Cu(II)-VAL complex and 0.26-2.09 $\mu g.ml^{-1}$ for the Fe(II)-LOS complex under optimum conditions. The limit of detection (LOD) and the limit of quantitation (LOQ) of the proposed method for this complex were 4.96 $ng.ml^{-1}$ and 16.53 $ng.ml^{-1}$ for the Cu(II)-VAL complex and 9.30 $ng.ml^{-1}$ and 31.00 $ng.ml^{-1}$ for the Fe(II)-LOS complex respectively. The stochiometry of this complex was also determined by using the continuous variation method and the molar ratio of Cu(II):VAL and Fe(II):LOS was calculated as 1:1 and 1:2 respectively. The interactions between the valsartan in tablet form and Cu(II) in the vitamin-mineral combination tablet and between the losartan in tablet form and Fe(II) in the vitamin-mineral combination tablet were investigated by applying this quenching method and obtained satisfactory results.

Keywords: Valsartan, Losartan, Fe(II) complex, Cu(II) 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. S. Beniz GÜNDÜZ'e, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan sevgili hocam Doç. Dr. Semahat KÜÇÜKKOLBAŞI' na ve Doç. Dr. Ziya Erdem KOÇ'a sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tez çalışmalarım boyunca bana laboratuvar imkanı sağlayan, hoşgörüyle desteklerini hiç esirgemeyen Kimya Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Zafer YAZICIGİL'e, Analitik Kimya Ana Bilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Emine ÖZCAN'a ve Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü' nde görev yapan bütün değerli hocalarıma çok teşekkür ederim. Çalışma arkadaşlarım Sultan ÇAM'a, Beyza ARSLAN'a, Sevil ÇAN'a, Mesut MÜSLÜMOĞLU'na laboratuvar çalışmalarım boyunca bilgi ve deneyiminlerini benden esirgemeyen Havva Nur TATLI'ya ve Zehra ERDOĞAN'a teşekkür etmeyi borç bilirim.

Ahmet DÖNERTAŞ

KONYA-2015

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iv**

ABSTRACT ..... **v**

ÖNSÖZ ..... **vi**

ŞEKİLLER LİSTESİ ..... **ix**

ÇİZELGELER LİSTESİ ..... **x**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **xi**

1. GİRİŞ **1**

2. TEORİK KISIM **4**

2.1. Moleküler Floresans ve Fosforesans 4
2.1.1. Floresans ve fosforesans spektroskopisi yöntemleri 5
2.1.2. Lüminesans spektrofotometreleri 6
2.1.3. Spektroflorometrelerin ayarlanması 8
2.1.4. Floresans ve Fosforesansı Etkileyen Faktörler 9
2.1.4.1 Kuantum verimi 9
2.1.4.2. Maddenin yapısının etkisi 10
2.1.4.3. Yapısal rijiditenin etkisi 12
2.1.4.4. Sıcaklık ve çözücü etkisi 13
2.1.4.5. pH etkisi 13
2.1.4.6. Çözünmüş oksijen etkisi 14
2.1.4.7. Gelen ışının dalga boyunun ve şiddetinin etkisi 14
2.1.4.8. Konsantrasyon etkisi 14
2.1.5. Floresans analizin avantaj ve dezavantajları 15
2.1.6. Anorganik bileşiklerin analizi 16
2.1.7. Organik bileşiklerin analizi 17
2.2. Anjiyotensin II Reseptör Antagonistleri 18
2.2.1 Anjiotensin II Reseptör Antagonistlerinin Kimyasal Yapıları 21
2.2.1.1. Valsartan 21
2.2.1.2. Losartan 21
2.3.Demir Minerali 22
2.3.1. Demirin Tanımı ve besinsel kaynakları 22
2.3.2. Demirin Vücuttaki Dağılımı 22
2.3.3. Demir Emilimi 24
2.3.4. Demir Eksikliğinin Nedenleri 24
2.3.5. Demirin Toksik Etkisi 26
2.4. Bakır ve Bakır Toksitesi 27

3. KAYNAK ARAŞTIRMASI 30

4. MATERYAL VE YÖNTEM..... 34

4.1. Kullanılan Cihazlar 34
4.1.1. Spektroflorimetre 34
4.1.2. Spektrofotometre 35
4.1.3. pH metre 35
4.1.4. Saf su cihazı, su banyosu ve ısıtıcı: 35
4.2. Kimyasal Maddeler 35
4.2.1. Sartanlar 35
4.2.2. Çözücüler 35
4.2.3. Amonyum asetat çözeltisi 36
4.2.4. Hidroklorik asit ve sodyum hidroksit çözeltisi 36
4.2.5. Stok Bakır(II) ve Demir(II) Çözeltisi 36
4.2.6. Bozucu iyonların çözeltileri 36
4.2.7. Sartan ve vitamin-mineral kombinasyonu tabletlerin çözeltileri 36
4.3. Deneysel İşlem 37
4.4. En uygun Deney Koşullarının Belirlenmesi 38
4.4.1. Uyarma ve emisyon dalga boylarının belirlenmesi 38
4.4.2.Sartanların uygun derişimlerinin belirlenmesi 38
4.4.3. Uygun pH'nın belirlenmesi 39
4.4.4. Kompleks oluşumuna sıcaklığın etkisinin belirlenmesi 39
4.4.5. Kompleks oluşumuna sürenin etkisi 39
4.4.6. Kalibrasyon grafiklerinin çizilmesi 39
4.4.7. Kompleks stokiyometrisinin belirlenmesi 40
4.4.8. Demir ve bakır tayinine yabancı iyonların etkisi 40

5. DENEY SONUÇLARI VE TARTIŞMA 41

5.1. Uygun Uyarma ve Emisyon Dalga Boylarının Belirlenmesi 41
5.2. Sartanların Uygun Derişimlerinin Belirlenmesi 42
5.3. Uygun pH'ın Belirlenmesi 42
5.4 . Kompleks Oluşumuna Sıcaklığın Etkisinin Belirlenmesi 44
5.5. Kompleks Oluşum Süresinin İncelenmesi 46
5.6. Kompleks Stokiyometrisinin Belirlenmesi 47
5.7. Sartan floresansının Fe(II) ve Cu(II) kompleksleriyle sönme mekanizması 48
5.8. Bozucu Etki Yapan Türlerin Belirlenmesi 52
5.9. Demirin ve Bakırın Florimetrik Tayini İçin Belirlenen En Uygun Koşullar 54
5.10. Methot Validation 55
5.10.1. Doğrusallık 55
5.10.2. Gözlenebilme sınırı (LOD) ve alt tayin sınırı (LOQ) 55
5.10.3. Geri kazanım 56
5.10.4. Doğruluk ve kesinlik 56
5.11. Geliştirilen Florimetrik Söndürme Yönteminin Vitamin-Mineral Kombinasyonu Tabletlerdeki Demir Tayinine Uygulanması 57

6. SONUÇ VE ÖNERİLER..... 59

KAYNAKLAR 61

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Bir moleküldeki ışımalı ve ışımasız geçişler 6
Şekil 2.2. Fotolüminesans ölçümleri için kullanılan cihaz 7
Şekil 2.3. Antrasenin uyarma, lüminesans ve senkron lüminesans spektrumları 8
Şekil 2.4. Valsartanın kimyasal yapısı 21
Şekil 2.5. Losartanın kimyasal yapısı 21
Şekil 5.1. Farklı bakır derişiminde Cu(II)-VAL kompleksinin emisyon spektrumları (pH=5.5, λ_{uy}= 281 nm, λ_{em}=436 nm, [VAL]=10^{-4} M, [Cu^{2+}]= 0.25-2.54 µg.mL^{-1}) 41
Şekil 5.2. Farklı demir derişiminde Fe(II)-LOS kompleksinin emisyon spektrumları (pH=5.5, λ_{uy} = 270 nm, λ_{em} = 371 nm, [LOS]=10^{-4} M, [Fe^{2+}]= 0,26-2,09 µg.mL^{-1}) 42
Şekil 5.3. Fe(II)-LOS kompleksinin floresans şiddetine pH'nın etkisi. Deney koşulları: [LOS] = 10^{-4} M, [Fe^{2+}] = 10^{-5} M, 35˚C, su ortamı, λ_{uy} = 270 nm, λ_{em} = 371 nm 43
Şekil 5.4. Cu(II)-VAL kompleksinin floresans şiddetine pH'nın etkisi. Deney koşulları: [VAL] = 10^{-5} M, [Cu^{2+}] = 10^{-5} M, 40˚C, metanol ortamı, λ_{uy} = 281 nm, λ_{em} = 436 nm . 44
Şekil 5.5. Fe(II)-LOS kompleksinin floresans şiddetine sıcaklığın etkisi. Deney koşulları: [LOS] = 10^{-4} M, [Fe^{2+}] = 10^{-5} M, pH = 5.5, su ortamı, λ_{uy} = 270 nm, λ_{em} = 371 nm 45
Şekil 5.6. Cu(II)-VAL kompleksinin floresans şiddetine sıcaklığın etkisi. Deney koşulları: [VAL] = 10^{-5} M, [Cu^{2+}] = 10^{-5} M, pH = 5.5, su ortamı, λ_{uy} = 281 nm, λ_{em} = 436 nm. 45
Şekil 5.7. Fe(II)-LOS kompleksinin floresans şiddetine kompleks oluşum süresinin etkisi. Deney koşulları: [LOS] = 10^{-4} M, [Fe^{2+}] = 10^{-5} M, pH = 5.5, su ortamı, λ_{uy} = 270 nm, λ_{em} = 371 nm 46
Şekil 5.8. Cu(II)-VAL kompleksinin floresans şiddetine kompleks oluşum süresinin etkisi. Deney koşulları: [VAL] = 10^{-5} M, [Cu^{2+}] = 10^{-5} M, pH = 5.5, su ortamı, λ_{uy} = 281 nm, λ_{em} = 436 nm. 47
Şekil 5.9. VAL ve Cu(II)'ün aynı derişimlerdeki Cu(II)-VAL kompleksinin stokiyometrisinin job yöntemiyle belirlenmesi (pH=5.5, λ_{abs} = 260 nm, [Cu^{2+}] = 10^{-5} M, [VAL]=1×10^{-5} M) 48
Şekil 5.10. Fe(II)-LOS kompleksi nin, 0.26-2.09 µg.mL^{-1} Fe(II) derişimi aralığında Stern-Volmer kalibrasyon grafiği (pH=5.5, λ_{uy}=270,0 nm ve λ_{em}=370 nm, [LOS]=1×10^{-4} M). 50
Şekil 5.11. Fe(II)-LOS kompleksi nin, 0.26-2.09 µg.mL^{-1} Fe(II) derişimi aralığında floresans spektrumları (pH=5.5, λuy=270,0 nm ve λem=370 nm, [LOS]=1×10^{-4} M)... 50
Şekil 5.12. Cu(II)-VAL kompleksinin, 0.25-2.54 µg.mL^{-1} Cu(II) derişimi aralığında Stern-Volmer kalibrasyon grafiği (pH=5.5, λ_{uy}=281,0 nm ve λ_{em}=436 nm, [VAL]=1×10^{-5} M) 51
Şekil 5.13. Cu(II)-VAL kompleksinin, 0.25-2.54µg/mL Cu(II) derişimi aralığında floresans spektrumları (pH=5.5, λuy=281,0 nm ve λem=436 nm, [VAL]=1×10^{-5} M) . 52

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 2.1. Benzenin floresans özelliğine sübstitüsyonların etkisi (etanol içinde) 11
Çizelge 2.2. Emisyon dalga boyu ve ışın şiddetine birkaç sübstitüentlerin etkilerinin listesi 12
Çizelge 2.3. Nadir toprak elementlerinin doğrudan analiz duyarlılığı. 16
Çizelge 5.1 Bakırın valsartan ile florimetrik tayininde çeşitli iyonların etkisi ([VAL]=1×10^{-5} M, [Cu^{+2}]= 10^{-5} M, pH=5.5) 53
Çizelge 5.2. Demirin losartan ile florimetrik tayininde çeşitli iyonların etkisi ([LOS]=1×10^{-4} M, [Fe^{+2}]= 10^{-5} M, pH=5.5) 53
Çizelge 5.3. Losartan ile demirin tayini için belirlenen en uygun koşullar 54
Çizelge 5.4. Valsartan ile bakırın tayini için belirlenen en uygun koşullar 54
Çizelge 5.5. Geliştirilen floresans söndürme yönteminin istatistik parametreleri 55
Çizelge 5.6. Florimetrik söndürme yöntemiyle Fe(II)-LOS ve Cu(II)-VAL arasındaki etkileşimlerin tayini için geri kazanım çalışmaları. 56
Çizelge 5.7. Sartan türü tansiyon ilacı tablet ve vitamin-mineral kombinasyonu tablet karışımı kullanılarak florimetrik söndürme yöntemi ile vitamin-mineral kombinasyonu tablet içindeki Fe(II) ve Cu(II) iyonunun tayini. 57

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

A	Absorbans
Å	Angstorm (10^{-10} m)
B	Işığın çözelti içinde kat ettiği yol (cm)
C	Derişimi (mol / L)
E	Enerji
Fe	Demir
Cu	Bakır
G	Gram
H	Planck sabiti
Kg	Kilogram
K	Kelvin
L	Litre
M	Molarite
Mg	Miligram
Nm	Nanometre
S	Saniye
N	Frekans
µg	Mikrogram
µM	Mikromolar
ε	Molar absortive katsayısı(L / mol.cm)
λ	Dalgaboyu
∆H	Entalpi değişimi
∆S	Entropi değişimi
∆G	Gibbs serbest enerjisindeki değişim

Kısaltmalar

VAL	Valsartan
DNA	Deoksiribonükleik asit
F	Floresans şiddeti
Hb	Hemoglobin
I	Soğurulup gecen fotonun siddeti
I_0	Gelen fotonun siddeti
LOS	Losartan
T	Süre

1. GİRİŞ

Anjiyotensin II Reseptör Antagonistleri (ARA-II), hipertansiyon ve kalp yetmezliği tedavisinde etkin maddelerdir ve geleneksel anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) inhibitörlerine alternatif olarak düşünülmüştür. Çünkü bunlar, renin-anjiyotensin sistemde anjiyotensin tip 1'i (AT 1) seçimli olarak bloke edebilirler. İrbesartan, losartan, kandesartan, valsartan ve telmisartan birçok özelliği ADE inhibitörlerininkine benzeyen özgül anjiyotensin II reseptör antegonistleridir. ARA-II'ler oral yolla alımından sonra hızlı bir şekilde absorplanır ve 0.5-4 saat sonra plazmadaki derişimi maksimum konsantrasyona ulaşabilir. Bununla birlikte, oral yolla alımından sonra bu ilaçların bazıları plazmada ng/ml seviyesindeki düşük derişimlerde oluşur ki bu da onların tayini ve/veya görüntülenmesi için problemler ortaya çıkarır. İnsan vücudunda bu ilaçların tayini için yine de duyarlı bir yöntem oluşturulabilir. Anjiyotensin II Reseptör Antagonistleri amfoterik bileşiklerdir ve yapısal olarak bağlı bifenilkarboksilik asit kısmı içeren telmisartan dışında, aynı bifeniltetrazol kısmına sahiplerdir.

İnsan vücudunda yaklaşık toplam 150 element bulunup bunun yaklaşık 12si: O, C, H, N, Ca, P, K, S, Na, Cl, Mg ve Fe toplam elementlerin %99,5 unu, bu 12 nin ilk 6 sı da %99 unu oluşturur. Kalan diğer elementler toplamın yaklaşık %0,5 i kadardırlar. Bu 12 elemente makro veya nicel elementler (O, C, H, N, Ca, P, K, S, Na, Cl, Mg ve Mn gibi), kalanına mikro veya iz (eser) elementler (Fe, Cu, Co, I, Zn, F ve Si gibi) denir. Mikro elementler insan vucudunda ve besinlerde %0,005 kadar veya daha az miktarda bulunan elementlerdir. Biyolojik değerlendirmeye göre elementler yaşam için gerekli olanlar asal veya esas elementler ve istenmeyen veya son derece zararlı olan elementler olarak ayırt edilebilir. Asal elementler enzim, vitamin ve hormonların bileşenleri olarak emilme, sindirim ve metabolizmada önemli rol oynarlar veya belirli vücut maddelerinin (kemikler, dişler) tamamlayıcı parçalarıdır. Vücutta bulunan iz (eser) elementlerden bakır, demirin kullanılmasını katalizler ve kan oluşumunda kobalt her ikisini de etkiler. Bu tezde pek çok metabolik reaksiyonda önemli rol oynayan ve vücutta en çok bulunan makro element demir ve mangan, çok daha az miktarlarda bulunan mikro elementler çinko, bakır ve kobalt gibi temel minerallerle ARA-II bileşiklerinin kompleks oluşturabilme özelliklerinin spektroflorimetrik yöntem ile incelenmesi amaçlanmıştır.

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. Yetişkinlerdeki total demir miktarı yaklaşık 3–5 gr arasında değişir. % 65'i hemoglobinde, %4'ü miyoglobinde, %1'i intraselüler oksidasyonu kolaylaştıran hem bileşiklerinde, %0.1'i kan plazmasında transferrin proteini ile birleşir, % 15-30'u da ferritin halinde retiküloendoteliyal sistem ve karaciğer parankim hücrelerinde depolanır.

Bakır pek çok biyokimyasal ve fiziksel fonksiyon için gerekli bir besindir. Fe(III) ve Zn (II) den sonra insanlarda en çok bulunan üçüncü eser elementtir (Barceloux, 1999). Bakır çeşitli hücre ve dokularda küçük miktarlarda, karaciğerde yüksek konsantrasyonlarda bulunur (Turnlund, 1998).

Bütün canlıların bu metali su, toprak ve besin yoluyla bünyelerinde bulundurmaları kaçınılmazdır. Bakır alımı büyük ölçüde besin seçimi ve alışkanlığa bağlıdır. Memeliler bakırı sudan çok yiyeceklerle alır. Günlük besinlerle alım miktarı 1.5-3.0 mg/gün, çocuklar için 0.7-2.5 mg/gün ve bebekler için 0.4-0.7mg/gündür (U.S. AF,1990). Doğal sular organik maddelere bağlı bakır şeklinde, 4-10 µg $Cu.l^{-1}$ bakır içerir (Barceloux, 1999). İçme sularındaki bakır konsantrasyonu 2 $mg.l^{-1}$ den fazla olmamalıdır (World Health Organisation, 1993), ve içme suyuyla günlük bakır ihtiyacımızın %6-13'ünü alırız (Fitzgerald, 1998). Topraktaki bakırın doğal konsantrasyonu yaklaşık 50 ppm'dir. Bakır toz, volkanlar, orman yangınları gibi doğal kaynaklı ve bakır tasfiye fırınları, demir ve çelik üretimi, belediye çöp yakma fırınları gibi insan üretimli olarak havada bulunur. Atmosferdeki bakırın bileşimi 5-20 ng $Cu.m^{-3}$ aralığındadır (Barceloux, 1999).

İnsanlarda bakır tuzlarının gram miktarlarda vücuda alınması karın ağrısı, kusma, ishal, hematuri, proteunuri, yüksek tansiyon, çarpıntı, koma gibi belirtilerle mide, bağırsak, karaciğer ve böbrek hastalıklarına sebep olabilir. Bakır toksitesi Wilson

hastalığı, siroz, Hint çocuk sirozu ve safra kanallarında tıkanıklık (cholestasis) gibi hastalıklara da sebep olur ve bu hastaların karaciğer, böbrekler, beyin, kemik ve kornealarında yüksek seviyelerde bakır bulunur. Çok düşük seviyelerde bakır alımında ise Menke's sendromu ve nörodejeneratif bozukluklar görülmüştür.

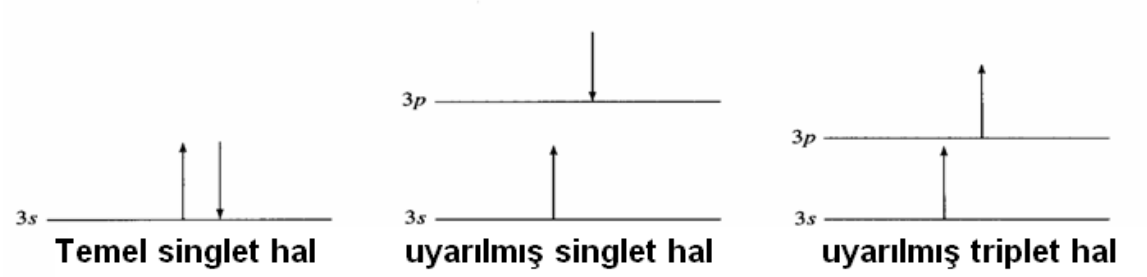
Metabolik reaksiyonda önemli rol oynayan ve vücutta en çok bulunan makro element demir ve bakır minerallinin sartan bileşikleriyle kompleks oluşturabilme özelliklerinin spektroflorimetrik yöntem ile incelenmesi amaçlanmaktadır.

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

2. TEORİK KISIM

2.1. Moleküler Floresans ve Fosforesans

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



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

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

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

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

2.1.1. Floresans ve fosforesans spektroskopisi yöntemleri

1.Fotolüminesans emisyonu: Uyarılmış bir singlet sistemden temel haldeki singlet bir sisteme geçiş sırasında yayılan ışığa floresans (hv_2) denir.

$^1S_0 + hv_1 \longrightarrow {}^1S^*_{II}$ (uyarılma)

$^1S^*_1 \longrightarrow {}^1S_0 + hv_2$ (floresans)

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

$^1S_0 + hv_1 \longrightarrow {}^1S^*_{II}$ (uyarılma)

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

$^3T^* \longrightarrow {}^1S_0 + hv_3$ (fosforesans)

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

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

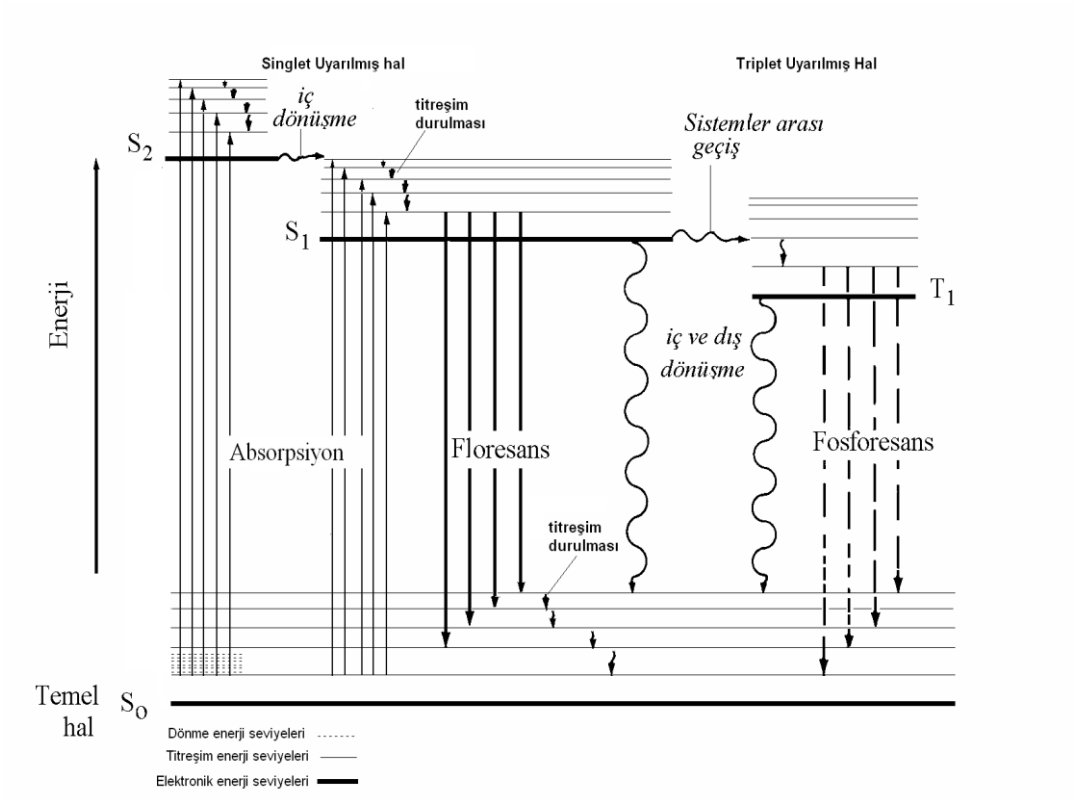
3. *Sistemler arası geçiş*: Uyarılmış singlet türü bir molekülden yine ışımasız yoldan daha düşük enerjili triplet türü uyarılmış bir molekül oluşabilir. Olasılığı oldukça az olan ve bu nedenle yavaş bir biçimde gerçekleşen bu olayda üst orbitaldeki elektronun spini terse çevrilir. Bu olaya sistemlerarası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

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

4. *Çarpışmalı söndürme*: Absorpsiyon yapan madde çözelti halindeyse, uyarılmış madde çarpışmalar sonucu enerjisini titreşim enerjisi halinde çözücünün moleküllerine aktarabilir. Böylece çözücü moleküllerin kinetik enerjileri artar ve ortam az da olsa ısınır. Işın absorpsiyonu için 10^{-15} s gibi çok kısa bir süre gerekir ve uyarılmış singlet halde bulunan bir molekülün ömrü 10^{-10}–10^{-6} s, uyarılmış triplet halde bulunan bir molekülün ömrü ise 10^{-6}–10^{2} s'dir. İç dönüşüm ve sistemlerarası geçiş olaylarının

süreleri ise sırasıyla yaklaşık 10^{-12} s ve 10^{-8} s'dir. Floresans olayı sistemi uyaran ışıma ortadan kalkınca 10^{-10}–10^{-6} s kadar daha sürerken, böyle bir durumda fosforesans 10^{6}–10^{2} s kadar daha devam eder. Temel hale dönme süresi maddenin molar absorplama katsayısının artmasıyla azalır.

Oda sıcaklığında S_1 düzeyine uyarılmış bir türün, fazla enerjisini kaybederek S_1 düzeyinden S_0 düzeyine dört farklı şekilde dönmesi söz konusudur (Gündüz, 1995). Şekil 2.1. de bunlar kısaca açıklanmıştır.



Şekil 2.1. Bir moleküldeki ışımalı ve ışımasız geçişler

2.1.2. Lüminesans spektrofotometreleri

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

Ultraviyole (UV) ve görünür bölgede ışın yayan bir ışık kaynağından gelen ışın bir monokromatörden (uyarma monokromatörü) geçtikten sonra örneğe gönderilir. Örnekten kaynaklanan lüminesans genellikle uyaran ışığa göre 90° lik bir açıdan

toplanarak dedektöre ulaşır. Böylece numuneyi uyaran ışının dedektöre ulaşması önlenir. Lüminesans spektrumunun elde edilmesi için ikinci bir monokromatörün (emisyon monokromatörü) örnek ile dedektör arasına yerleştirilmesi gerekir. Daha basit aletlerle monokromatörler yerine uygun filtreler kullanılır. Filtreli aletlere, kullanıldığı amaca göre *florimetre veya fosforimetre*, monokromatörlü aletlere ise *spektroflorimetre veya spektrofosforimetre* adı verilir. Lüminesans ölçümü yapan aletlerin tek kanallısı olduğu gibi, çift kanallı türleri de vardır.



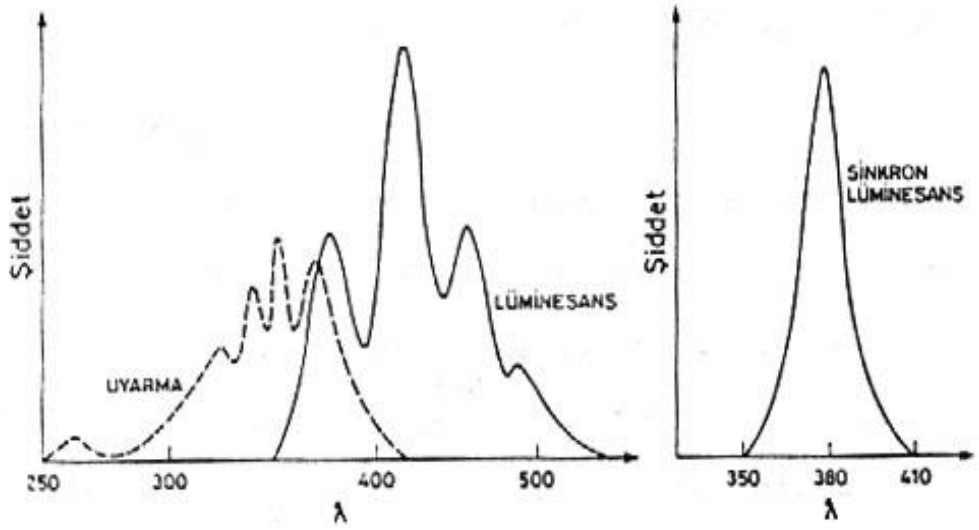
Şekil 2.2. Fotolüminesans ölçümleri için kullanılan cihaz

Civa ark lambası hat şeklinde ışık yaydığından çok filtreli aletlerde kullanılır. Ölçümlerin UV bölgesi yerine görünür bölgede yapıldığı durumlarda, tungsten lambası veya çeşitli lazerler de ışık kaynağı olarak kullanılabilir. Fotolüminesans ölçümlerinde kullanılan örnek kapları absorpsiyon ölçümleri için kullanılanların aynısıdır. 320 nm' den daha kısa dalgaboylu emisyon ölçümlerinde pireks kaplar yerine kuartz veya silika kaplar kullanılmalıdır. Fosforesans ölçümleri genellikle sıvı azot sıcaklığında (77 K) 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 bir tür dedektördür.

Lüminesansın ölçüldüğü dalgaboyu sabit tutulup, uyarma monokromatöründeki dalgaboyu ayarı değiştirildiğinde, bu lüminesansa yol açan uyarıcı ışının spektrumu elde edilir. Bu spektruma, uyarma spektrumu adı verilir. Uyarma spektrumu, spektroflorimetre ile elde edilmesine yani yayılan ışının ölçümüne dayanmasına

rağmen, molekülün absorpsiyon spektrumu ile aynı dalgaboyu aralığında elde edilir ve bir bakıma molekülün düzeltilmemiş absorpsiyon spektrumu gibidir

Uyarma dalgaboyu sabit tutulup emisyon monokromatöründeki dalgaboyu ayarı değiştirilirse, örnek için lüminesans spektrumu elde edilir. Lüminesans spektrumu, uyarma spektrumundan daha uzun dalgaboyu bölgesindedir. Hem uyarma hem de emisyon monokromatöründeki dalgaboyu ayarları aralarında belli bir dalga boyu farkı, $\Delta\lambda$, uygulanarak ve aynı hızda birlikte değiştirilerek lüminesans ölçümü yapılabilir. Bu tür spektrum elde etme yöntemine *senkron spektroflorimetri* yöntemi denir ve bu yöntem özellikle birden fazla floresant madde içeren karışımların kantitatif analizinde kullanılır. Uyarma, lüminesans ve senkron lüminesans spektrumlara ait örnekler Şekil 2.3. 'de görülmektedir.



Şekil 2.3. Antrasenin uyarma, lüminesans ve senkron lüminesans spektrumları

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

2.1.3. Spektroflorometrelerin ayarlanması

Bir spektrofotometre kullanmadan önce standart maddelerle ayarlanmalıdır. Bu amaçla çok çeşitli maddeler kullanılabilir. Bunlara florofor maddeler de denir. Florofor maddelerden en çok kullanılan kinin sülfattır. Kinin sülfat çözeltisi (1.10^{-5} M) dalga

boyu 350 nm olan bir ışınla uyarıldığı zaman dalga boyu 450 nm olan şiddetli bir ışın demeti verir. Salisilik asit de bu amaçla kullanılabilir. Salisilik asit çözeltisi 308 nm dalga boyunda bir ışınla uyarılırsa, o da 450 nm dalga boyunda, bir floresan ışın demeti verir. Bu amaçla çok kullanılan bir başka ayar maddesi de asetil salisilik asittir (ASA). Bu madde 278 nm dalga boyunda bir ışınla uyarıldığında 335 nm dalga boyunda şiddetli bir floresans ışını verir (Gündüz, 1995).

2.1.4. 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:

2.1.4.1 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, 1998 ve Gündüz, 2002).

$$\Phi = \frac{k_f}{k_f + k_s + k_{dd} + k_{id} + k_{öa} + k_a}$$

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.

2.1.4.2. Maddenin yapısının etkisi

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

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

Bunun nedeni; böyle bileşiklerde en düşük enerjili geçişin $n \longrightarrow \pi^*$ olmasıdır. Bu tip bir geçiş sonucu uyarılan maddeler kolaylıkla triplet hale geçerler ve sadece fosforesans özellik gösterirler. Buna karşılık bunlara bir benzen halkası kondense olursa, molar absorptiviteleri artar. Bilindiği üzere molar absorptivitesi artan bir maddenin uyarılmış ömrü çok kısalır. Ömrü böyle kısa olan maddeler de şiddetli floresans ışını yayarlar. Buna göre yukarıda verilen halkalardan meydana gelen kinolin, indol gibi maddeler oldukça şiddetli floresans özelliği gösterirler (Gündüz, 1995).

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

Çizelge 2.1. Benzenin floresans özelliğine sübstitüsyonların etkisi (etanol içinde)

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

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

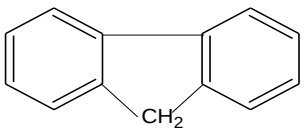
Çizelge 2.2. Emisyon dalga boyu ve ışın şiddetine birkaç sübstitüentlerin etkilerinin listesi

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

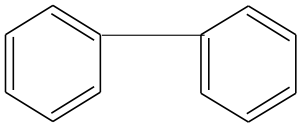
Molekülün bünyesinde veya molekülün çözündüğü çözücüde bulunan ağır bir atom (I veya Br gibi) molekülün floresans verimini azaltır, triplet oluşumu verimini arttırır ve bu nedenle genellikle fosforesans verimi artar.

2.1.4.3. Yapısal rijiditenin etkisi

Bir molekülün yapısının rijid (sabit, hareketsiz) olması onun floresans özelliğini arttırır. Örneğin, florenin floresansı bifenilden beş defa daha şiddetlidir.



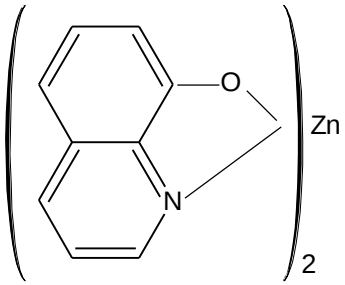
Floren



Bifenil

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

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



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

2.1.4.4. Sıcaklık ve çözücü etkisi

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

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

2.1.4.5. pH etkisi

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

2.1.4.6. Çözünmüş oksijen etkisi

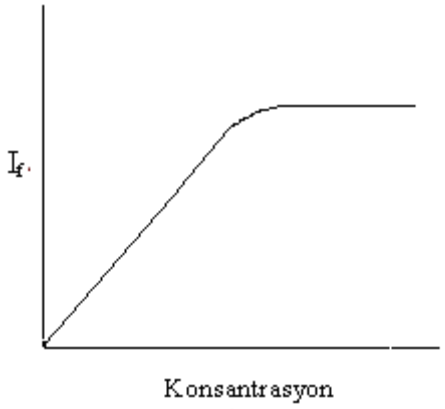
Çözücü ile hidrojen bağı yapabilen moleküllerde çözünmüş oksijen ile molekülün yaydığı ışını absorplayabilecek bir başka madde, lüminesans verimini önemli ölçüde azaltır. Özellikle fosforesans çalışmalarında çözünmüş oksijenin ortamdan uzaklaştırılması gerekir. Çözünmüş oksijen genellikle floresans ışımasının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

2.1.4.7. Gelen ışının dalga boyunun ve şiddetinin etkisi

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

2.1.4.8. Konsantrasyon etkisi

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



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

2.1.5. Floresans analizin avantaj ve dezavantajları

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

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

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

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

2.1.6. Anorganik bileşiklerin analizi

Anorganik maddeler arasında doğrudan doğruya floresans özelliği olan maddeler oldukça azdır. 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.

Florimetrik olarak tayini yapılan anorganik maddeler başlıca üç gruba ayrılırlar:

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

Çizelge 2.3. Nadir toprak elementlerinin doğrudan analiz duyarlılığı.

Element	Sembol	Alt tayin sınırı ($g.dm^{-3}$)
Proseodmiyum	Pr	$2,5 \times 10^{-10}$
Neodmiyum	Nd	5×10^{-7}
Samaryum	Sm	5×10^{-11}
Europiyum	Eu	$2,5 \times 10^{-10}$
Godolinyum	Gd	10^{-6}
Terbiyum	Tb	$2,5 \times 10^{-9}$
Disprosiyum	Dy	$2,5 \times 10^{-9}$
Erbiyum	Er	5×10^{-9}
Tuliyum	Tm	5×10^{-9}

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

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

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

2.1.7. 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 edilebilir.

Organik sorunlara uygulanan fluorometrik 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. Fluorometrik olarak analiz edilebilen 50 kadar tıbbi madde sayılabilir. Bunlardan bazıları adrenalin, alkilmorfin, kloroquin, digitalis prinsipıls, liserjik asit dietilamin (LSD), penisilin, fenobarbütal, prokain, ve reserpindir. Bu tablolarda on kadar steroid ve bir o kadar da enzim ve koenzim için de analiz yöntemleri bulunur. Bazı sanayi ürünlerinin analiz yöntemleri de verilmiştir; klorofil, ergot alkoloidler, rauwolfia alkaloidleri, lavanoidler, ve reten analizleri gibi.

Vitaminler ve vitamin ürünlerini içeren 18 kadar tablo bulunur; askorbik asit, folik asit, nikotinamid, pridoksal, ribovlavin, tiamin, vitamin A ve vitamin B_{12} bu tablolarda bulunan maddelerden bazılarıdır.

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

2.2. Anjiyotensin II Reseptör Antagonistleri

Günümüzde her geçen gün yeni ilaçlar üretilmekte ve bu ilaçlar çeşitli hastalıklar için kullanıma hazır hale getirilmektedir. İlaçların etkili olan kısımları ilaçların etken maddeleridir. İlaçların imalat ve piyasa kontrolleri sırasında ilaç etken maddelerin miktarlarının doğru olarak tayini ilaçların kullanımı için çok önemlidir. Eksik etken madde içeren ilaçlar hastalıklar için gerekli faydayı sağlamamakta, fazla etken madde içeren ilaçlar ise birçok yan etkiye sebep olmaktadır.

Anjiotensin reseptör antagonistleri (ARA) ise yeni bir *antihipetansif* ilaç grubudur.

Antihipertansif ilaçlar 4 grupta incelenir.

Diüretikler; Kan hacmini azaltırlar, damar genişletici etkileri vardır,

Sempatoplejikler; Periferik damarsal direnci düşürürler, kalp fonksiyonlarını inhibe ederler, periferik venlerde göllenmeyi arttırırlar,

Direkt vazodilatörler; Damar düz kasını gevşetirler,

Anjiyotensin antagonistleri; Anjiyotensin üretimini veya etkilerini bloke ederek periferik vasküler direnci ve dolaşan kan hacmini azaltırlar.

Sentez edilip denenmeye başlanan non-peptid anjiyotensin reseptör blokerleri ağızdan alınabilir ve *antihipertansif* ilaç olarak klinik kullanıma girmiştir. Bunlardan ilk çıkanı *losartan*dır. ARA, *renin anjiotensin* sistemi (RAS)'nin spesifik inhibitörleridirler. ARA-II'ler oral yolla alımından sonra hızlı bir şekilde absorplanır ve 0,5-4 saat sonra plazmadaki derişimi maksimum konsantrasyona ulaşabilir. Bununla birlikte, oral yolla alımından sonra bu ilaçların bazıları plazmada ng/ml seviyesindeki düşük derişimlerde oluşur ki bu da onların tayini ve/veya görüntülenmesi için problemler ortaya çıkarır. *Anjiotensin II Reseptör Antagonistleri* (ARA-II) hipertansiyon tedavisinde, yan etkileri diğer bir *antihipertansif* ilaç grubu olan ADE inhibitörlerine göre daha çok tercih

edilmektedir. Bunların en büyük seçicilikleri uzun süreli hareket ve iyi tolere edilebilir olmalarıdır (Cagigal, ve ark., 2001).

Anjiotensin reseptör antagonistleri ile diüretiklerin ikili ilaç kombinasyonları effektif ve iyi tolere edilebilir bulunmuştur**.** ARA II ler, ADE inhibitörlerine alternatif olarak, özellikle de bifenilimidazol yapısında olan Losartan ile klinik kullanıma başlanmış, daha sonra losartana valsartan, irbesartan, kandesartan ve telmisartan eklenmiştir.

İki tip anjiotensin II reseptörü vardır. Anjiotensin II tip 1 (AT1) reseptörleri damar daralması, kalp kasılabilirliği ve böbrek tübüler sodyum geri emiliminde artış, kalp ve damarlardaki hacim artışından sorumludurlar. Anjiotensin II tip 2 (AT2) reseptörleri hücre çoğalmasını engeller. ARA losartan, valsartan, irbesartan, telmisartan, candesartan, eprosartan ve olmesartan medoxomil'dir. Hepsi oral yoldan verilebilir ve günde tek doz uygulanırlar.

Losartan; Kullanıma ilk giren AII reseptör antagonistidir. AT1 reseptörlerini yarışmalı olarak bloke eder. Aktif metaboliti EXP3174 daha uzun etki süresine sahiptir ve daha potenttir**.** Her losartanın, hem de aktif metabolitinin antihipertansif etkisi vardır. Losartanın etkisi 1 saatte maksimuma ulaşır, yarılanma ömrü 2 saattir. EXP3174 ise 3-4 saatte maksimum konsantrasyona erişir, yarı ömrü 6-9 saattir. 50 mg dozda başlanması önerilir, doz aralığı ise 25-100 mg'dır.

Valsartan, aktif bir metabolitine çevrilmesi gerekmez. İlacın %80'i değişmeden atılır, %20'si metabolize edilir. AT_1 reseptörüne afinitesi AT_2 reseptörüne afinitesine oranla 20000 kez fazladır. Diğer AII reseptör antagonistlerinde bu oran daha azdır. Ancak reseptör afinitesinin klinik önemi henüz tam olarak bilinmemektedir**.** Etkisi 2-4 saatte maksimuma ulaşır, yarılanma ömrü 6 saattir. Önerilen başlangıç dozu 80 mg, doz aralığı 80-320 mg'dır.

İrbesartan, aktif bir metabolitine çevrilmesi gerekmez. Besinler emilimini etkilemez**.** 1.5-2 saatte etkisi maksimum noktaya erişir, yarılanma ömrü 11-15 saattir**.** Biyoyararlanımı diğer A IIantagonistlerine göre daha iyidir. Diğer ilaçların biyoyararlanımı %15-45 arasında iken irbesartanın biyoyararlanımı %60-80'dir. 150 mg ile tedaviye başlanması önerilir, doz aralığı 75-300 mg'dır (Kirk JK, 1999).

Kandesartan, Kandesartan cilexetil formunda kullanır. Gastrointestinal sistemde kısa sürede aktif madde kandesartan'a dönüşerek emilir**.** Besinler emilimini etkilemez**.**

Emiliminin kötü olması nedeniyle candesartan cilexetil formunda kullanılır. Kısa süre içinde aktif madde olan candesartana dönüşür. Reseptöre yarışmasız olarak bağlanma özelliği gösterir. Etkisi 3-4 saatte maksimuma çıkar, yarılanma süresi 9 saattir. Önerilen başlangıç dozu 16 mg, doz aralığı 8-32 mg'dır. (Sever R.,1997; Reif M. ve ark.,1998)

Telmisartan, besinler emilimini %6-20 azaltır. En uzun yarılanma ömrüne sahip olan AII reseptör antagonistidir. Etkisi 0.5-1 saat gibi kısa bir sürede maksimuma ulaşmasına karşın, yarılanma ömrü 24 saattir. Tedaviye 40 mg ile başlanması önerilir, doz aralığı 40-160 mg'dır (Maudlin RK, 1999).

ARA kan basıncını düşürücü etkiyle sahiptir. ARA, ACEİ 'ni tolere edemeyen kalp yetmezliği olan hastalar için uygun seçenektir. ARA ve ACEİ 'nin kombinasyonu maksimum RAS blokajı elde etmek için önerilmiştir.

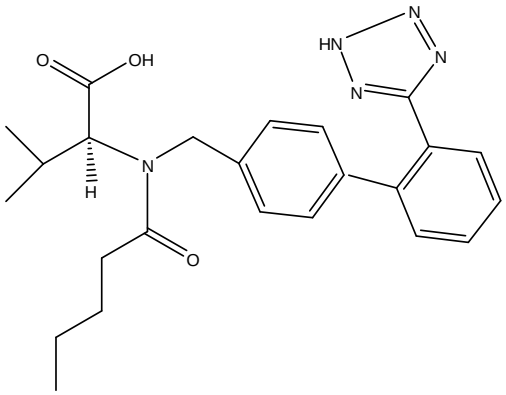
Bu ilaçlar uzun dönem kullanımda bile düşük yan etkilere sahiptirler. Anjiotensin reseptör blokerlerinin yan etkileri ACE inhibitörlerine benzer ancak öksürük ve anjioödem gözlenmez.

Kandesartan ve losartan ön ilaçtır ve metabolitleri resptörlerin nonkompetetif inhibitörüdür. Eprosartan, irbesartan ve valsartan ön ilaç değildir ve anjiotensin reseptölerini kompetetif olarak inhibe ederler.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda AT-II reseptör blokerlerinin *antiinflamatuar* etkilerinin de olduğu belirtilmiştir. Anjiotensin II Reseptör Antagonistleri amfoterik bileşiklerdir ve yapısal olarak bağlı bifenilkarboksilik asit kısmı içeren telmisartan dışında, aynı bifeniltetrazol kısmını sahiplerdir. Anti-hipertansif ilaçlar olarak ARA II'lerin iyonlaşma sabitlerinin birkaç uygun yöntem ile tam olarak tayini, etki mekanizmalarının anlaşılmasında ve biyoyararlanabilirlikleri açısından oldukça önemlidir.

2.2.1 Anjiotensin II Reseptör Antagonistlerinin Kimyasal Yapıları

2.2.1.1. Valsartan



Şekil 2.4. Valsartanın kimyasal yapısı

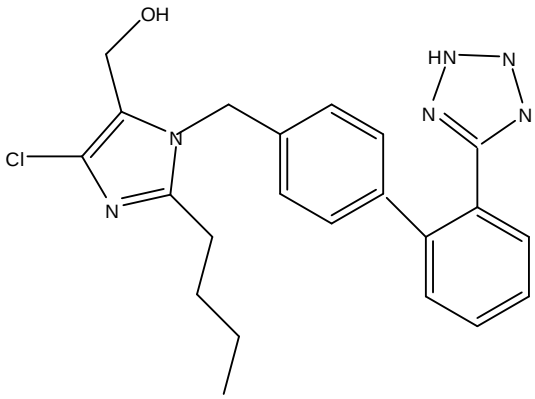
Molekül Formülü: $C_{24}H_{29}N_5O_3$

Mol ağırlıgı : 435.52

Açık Formülü: N-Pentanoyl-N-{[2'-(1H-tetrazol-5-yl)-4-biphenylyl]methyl}-L-valine

Erime Noktası: 116-117 ºC

2.2.1.2. Losartan



Şekil 2.5. Losartanın kimyasal yapısı

Molekül Formülü: $C_{22}H_{23}ClN_6O$

Mol ağırlıgı : 461.01

Açık Formülü:2-butyl-4-chloro-1-[2'-(2H-tetrazol-5-yl)-1,1'-biphenyl- 4-ylmethyl]- 1H-imidazole-5-methanol
Erime Noktası: 182-185 °C

2.3.Demir Minerali

2.3.1. Demirin Tanımı ve besinsel kaynakları

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

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

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

2.3.2. 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).

2.3.3. 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. Demir emilimi başlıca duodenum ve üst jejunum bölgesinde hem ya da ferro şeklinde olmaktadır, buranın asidik ortamı ferro (iki değerli) halindeki demirin emilimine yardımcıdır. Hidroklorik asit, askorbik asit gibi diğer indirgeyici maddeler de emilime yardımcı olurken; fosfatlar, fitatlar, tannat, antiasitler emilimi olumsuz etkiler. "Hem" şekli ise ne mide asiditesinden ne de gıdadaki içeriğinden etkilenmeden emilir (Munoz ve ark., 2009; Birsen, 2001; Frewin ve ark., 1997).

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

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

2.3.4. Demir Eksikliğinin Nedenleri

I. Alım eksikliği: Yenidoğanlar ağırlıklı olarak süt ile beslenirler. Anne sütü ve inek sütünün demir içeriği her 1000 kalori için 1.5 mg'dan düşüktür (0,5–1,5 mg/l). Anne sütü ve inek sütünün aynı derecede demirden fakir olmasına rağmen anne sütü alan süt çocuklarında bu demirin % 49'u, inek sütü alanlarda ise yaklaşık % 10'u emilir. Anne sütündeki demirin biyoyararlanımı inek sütünden çok daha fazladır (Lanzkowsky, 2005).

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

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

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

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

Postnatal nedenlerden gastrointestinal sisteme ait nedenler;

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

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

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

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

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

f. Henoch-Schönlein purpurası

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

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

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

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

2.3.5. 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.

2.4. Bakır ve Bakır Toksitesi

Bakır pek çok biyokimyasal ve fiziksel fonksiyon için gerekli bir besindir. Fe (III) ve Zn (II)' den sonra insanlarda en çok bulunan üçüncü eser elementtir (Barceloux, 1999). Çeşitli hücre ve dokularda küçük miktarlarda, karaciğerde yüksek konsantrasyonlarda bulunur (Turnlund, 1998). Bakır alımı büyük ölçüde besin seçimi ve alışkanlığa bağlıdır. Memeliler bakırı sudan çok yiyeceklerle alır. Bakırca zengin gıdalar istiridye, karaciğer, fındık, baklagiller, hububatların tümü ve kuru meyvelerdir (Sandstead, 1995). Günlük besinlerle alım miktarı 1.5-3.0 mg/gün, çocuklar için 0.7-2.5 mg/gün ve bebekler için 0.4-0.7mg/gün dür. Doğal sular organik maddelere bağlı bakır ile 4-10 µg $Cu.l^{-1}$ bakır içerir (Barceloux, 1999). İçme sularındaki bakır konsantrasyonu 2 $mg.l^{-1}$ den fazla olmamalıdır (World Health Organisation, 1993), ve içme suyuyla günlük bakır ihtiyacının %6-13 ü alınır (Fitzgerald, 1998). Topraktaki bakırın doğal konsantrasyonu yaklaşık 50 ppm'dir. Bakır toz, volkanlar, orman yangınları gibi doğal kaynaklı ve bakır tasfiye fırınları, demir ve çelik üretimi, belediye çöp yakma fırınları gibi insan üretimli olarak havada bulunur. Atmosferdeki bakırın bileşimi 5-20 ng Cu/m^3 aralığındadır (Barceloux, 1999).

İnsan vücudunda bakırın emilimi diğer besin maddelerinin varlığı ve kimyasal şeklini içeren pek çok faktöre bağlıdır. Vücuda alınan bakırın yaklaşık % 30-50' si ince bağırsakta emilirken çok az bir kısmı da midede emilir (Turnlund ve ark. 1997). Amino asitler, özellikle histidin, metiyonin, sistin amino asit iletim sistemine doğru absorpsiyonu sağlayan bakıra bağlanır. Sitrik, glukonik, laktik ve asetik asitler gibi organik asitler hızlı bir şekilde emilen bakırla şelatlar oluşturur. Diğer taraftan çinko, demir, kalsiyum, fosfor ve C vitamini bakır absorpsiyonunu azaltır (Jacop ve ark.,

1987). İnce bağırsakta emilen bakır kanda plazma albüminine bağlanarak karaciğere taşınır (Turnlund ve ark., 1998). Karaciğerde tutulan bakır safrada salgılanır. Karaciğer hücrelerinde tutulan bakır bakır bağlı proteinler ile bakır bağlı enzimlerin sentezinde kullanılır. Yetişkinlerin karaciğerinde 18-45 μg $Cu.g^{-1}$ aralığında bakır varken (Barceloux, 1999) kan 6 mg bakır içerir (Linder ve ark., 1998).

Bakır böbrekler, dalak, kalp, karaciğer, kas, mide, bağırsak, tırnak ve saç gibi dokularda bulunur Vücuttaki bakır cuprous Cu(I) ve cupric Cu(II) şekilleri arasında değişir ve genellikle Cu(II) şeklinde olmasına rağmen hücre içinde Cu(I) halinde bulunur (Linder ve Hazegh-Azam, 1996). Vücudumuzda nörolojik aktivite ve hücreler arası iletişim bakıra bağlıdır. Bakır kanda hemoglobin üretiminde katalizör etkisi gösterir (Seiler, 1988). Ayrıca metabolizmamızdaki kritik enzimlerin işleyişi için de gereklidir. *Lysil oksidase, cytochrome c oksidase, superoksidase dismutase, dopamine β-hydroxilase ve tyrosinase* gibi pek çok enzim için kofaktör olarak görev yapar (Linder, 1991).

2.2-7.8 $mgCu.L^{-1}$ bakır içeren içme sularının uzun süre kullanılması sonucu bakır toksitesi oluşur (Mueller-Hoecker ve ark., 1988). İnsanlarda bakır tuzlarının gram miktarlarda vücuda alınması karın ağrısı, kusma, ishal, hematuri, proteunuri, yüksek tansiyon, çarpıntı, koma gibi belirtilerle mide, bağırsak, karaciğer ve böbrek hastalıklarına sebep olabilir Bakırın toksik olarak yüksek seviyesi, örneğin Wilson hastalığındaki gibi, bakır metabolizmasının genetik bozukluğu yüzünden olabilir (Wilson, 1912). Wilson hastalığı, hücre içi bakır transferini sağlayan P-tipi ATPase'ın şifresini yazan ATP7B'deki mutasyon yüzünden karaciğerdeki bakır düzeninin otozomal resesif bozulmasıdır (Bull ve ark., 1993; Tanzi ve ark., 1993). Wilson hastalığının klinik göstergesi karaciğer sirozu, eritrositlrerin parçalanmasıyla oluşan anemi, nörolojik anormallikler ve korneada bulanıklıktır (Goyer, 1991). Bakır toksitesi Wilson hastalığının yanında siroz, Hint çocuk sirozu ve safra kanallarında tıkanıklık (cholestasis) gibi hastalıklara da sebep olur ve bu hastaların karaciğer, böbrekler, beyin, kemik ve kornealarında yüksek seviyelerde bakır bulunur .Ayrıca hayvansal deneylerde bakır sülfatın ağız yoluyla veya damar içine verilmesi durumunda bebek ölümlerinin ve gelişim anormalliklerinin arttığı gözlenmiştir (Lecyk, 1980). Çok düşük seviyelerde bakır alımında ise Menke's sendromu ve nörodejeneratif bozukluklar görülmüştür. Bakır eksikliği insanlarda demir miktarı yeterli alınsa dahi kansızlığa neden olur (Cohen, 1960).

Bakır yüksek elektriksel ve termal iletkenliği yüzünden yaygın olarak kullanılır ve yıllık tüketimde demire yakındır. Elektrik mühendisliği, iletişim (%50), makine yapımı (%25), inşaat, gıda ve kimyasal üretim (%25) gibi pek çok endüstride kullanılır (Narayana, 2000).

3. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Etcheverry ve arkadaşlarının 2007 yılında yapmış oldukları "Losartan ile Bakır(II) etkileşimi: Biyolojik etkiler" başlıklı çalışmada Losartanın, 2-n-butil-4-kloro-5-hidroksimetil-1-[(20-(1 H-tetrazol-5-il) bifenil-4-il) metil]-imidazol potasyum tuzunun, etkin bir antihipertansif ilaç olduğu ifade edilmiştir. Losartanın FTIR titreşim ve Raman spektrumları (anyonik ve protonlanmış formları) tartışılmıştır. Buna ek olarak, losartan bakır (II) kompleksi mikro kristal toz halinde elde edilmiş ve karakterize edilmiştir. Titreşim spektroskopisi ile metal merkezli tetrazolat parçasının azot atomu aracılığıyla liganda baglandığı tespit edilmiştir. Bileşik metal merkezi içeren bir dimer ortamında bozulmuş tetragonal yapıdadır fakat EPR spektroskopisi ile monomer cinsi bir safsızlık tespit edilmiştir. Antioksidan kompleksi (süperoksit dismutaz taklit etkinlik) özellikleri ve iki osteoblast (kemik ana hücresi) kültür benzeri hücrelerin çabuk çoğalması ve morfolojisi üzerindeki etkisi rapor edilmiştir. Yeni bileşik Losartan ve bakır(II) iyonu tümör hücreleri üzerinde daha fazla toksik etki yapmistır.

Etcheverry ve arkadaşlarının 2012 yılında yapmış oldukları "Valsartan ile iki çekirdekli bakır (II) kompleksleri. Sentezi, karakterizasyonu ve sitotoksisitesi" başlıklı çalışmada, antihipertansif ilaç valsartan ve bakır (II) iyonu içeren iki yeni dinükleer kompleks, su ve DMSO li ortamda hazırlanmıştır. Karmaşık bileşimler olarak belirlenmiştir: $[Cu(vals)(H_2O)_3]_2.6H_2O$ ve $[Cu(vals)(H_2O)_2DMSO]_2.2H_2O$. Maddeler element ve termal analiz, spektrofotometrik titrasyonlar, difüzyon refraktometrisi ve UV-görünür bölge, FTIR, Raman ve EPR spektroskopisi ile karakterize edilmiştir. Kültür içinde test edilmiş iki osteoblastik hücre çizgileri üzerinde ligand etkisi olmadığı 100 μM konsantrasyona kadar gözlenmiştir. Valsartanın daha yüksek konsantrasyonları her iki hücre çizgisinde sitotoksisite oluşturmak için gerekliliği, test edilen kompleksin ($[Cu(vals)(H_2O)_3]_2.6H_2O$) doz yanıtının antiproliferative (hücre büyümesini engelleyen) etkisi konsantrasyonu ≥100 μM de MC3T3E1 normal çizgisi daha UMR106 osteoblastik hücre hattının daha yüksek olduğu ve morfolojik değişiklikler proliferatif gözlemlerle uyumlu olduğu belirtilmiştir.

Denadai ve arkadaşlarının 2013 yılında yapmış olduğu "Losartan/Bakır (II) koordinasyon kompleksinin hidrofobik çökelti boyutunun kontrolü" başlıklı çalışmalarında, oldukça çözünür, oral olarak aktif, peptit olmayan antihipertansif bir ilaç

olan losartan ve bakır (II) iyonunun reaksiyonunun, nanometrik boyutlarda bir hidrofobik supramoleküler yapıda kendiliğinden oluşan, çok çözünmeyen 2:1 kovalent kompleksinin anlık oluşumuna sebep olmuştur. Termal analiz, Los/Cu(II) kompleksinin, başlatıcıları KLos ve $Cu(OAc)_2 \cdot H_2O$ ile karşılaştırıldığında orta derecede kararlılık sergilediğini göstermiştir. İzotermal titrasyon kalorimetrisi, entalpi ve entropi tarafından yönetilen basamaklı bir proses oluşturmak üzere kompleksleşme olduğunu göstermiştir. Zeta potansiyeli ve DLS ölçümleri, Los^- ve Cu (II)' nin bağıl konsantrasyonuna ayarlayarak nanoçökeltinin büyüklüğü ve yükünün kontrol edilmesinin mümkün olduğunu göstermiştir.

Islas ve arkadaşlarının 2013 yılında yapmış oldukları "SOD mimetik bakır (II) kompleksleri tarafından kandesartan ve tiritil Kandesartanın antihipertansif kapasitesinin geliştirilmesi" başlıklı çalışmalarında, iki yeni kompleks $[Cu(Cand)(H_2O)_4]$ [1] ve $[Cu_2(TCand)_4(H_2O)2] \cdot 4H_2O$ [2] (Cand=ckandesartan; TCand= trityl kandesartan)) sentez edilmiş ve bütün yönleriyle karakterize edilmiştir. FTIR, Raman EPR ve katı bileşiklerin diffüze reflektans spektrumları, bakır (II) asetatda bulunan tipte karboksilat köprüleri ile [2] için bir dimerik kompleksi göstermektedir. Hem element analiz hem de termal ölçümler her iki kompleksin toplam stokiyometrilerinin tayinine olanak sağlamıştır. Stabilite ölçümleri, çözelti içinde her iki tür için genel stokiyometrinin korunması spektrofotometrik titrasyonlarla tespit edilirken bileşiklerin en az 1 saat boyunca etanolik çözeltiler içinde kararlı olduğunu göstermektedir. Her iki sartanın antioksidan davranışının metal kompleksleşmesiyle yok olması düzeltilmiştir. Kompleks [1] ve [2] güçlü süperoksitdismutaz mimetik bileşiklerdir ve kompleks [2], aynı zamanda, bir peroksil radikali tutucu gibi davranır. Ayrıca, bu yüksek antioksidan aktivitesi anjiotensin II bağlı uyarılmiş insan mesangial hücrelerin üzerinde geniş aktivitenin gelişmesi ile paralel olarak çalışmaktadır. Bu yeni kompleksler anjiotensin II kontraktil etkileri engellemek için daha yüksek bir kapasiteyle ifade edilen, artan antioksidan yeteneği ile serbest olmayan ilaç kompleksi ile karşılaştırıldığında ilaç olarak daha yüksek bir verimlilik sergilemiştir. Bu çalışma, potansiyel ilaç olarak bakır (II) komplekslerinin geliştirilmesinde yeni bir bakış sağlamıştır.

De Oliveirave arkadaşlarının 2013 yılında yapmış oldukları "Katı geçiş metal losartanat kompleksleri içinde pozitronyum oluşumu" başlıklı çalışmada, moleküler çevrede pozitronyum oluşum mekanizması hakkında öngörüler oluşturmak için geçiş

metal losartanat komplekslerinde, $MT(Los)_2$, ve potasyum losartanatda, KLos, pozitron imha ömrü (PALS) ölçümleri yapılmıştır. I_3 ve kovalent komplekslerinin oluşum olasılığı arasında bir korelasyon elde edilmiş, dimetilformamitte (DMF) molar elektrik iletkenliğiyle değerlendirilmiştir. Ayrıca, indirgenme potansiyeli ve Pauling elektronegatifliği gibi bazı metalik iyon özellikleri de I_3 ile ilişkilidir. Bu sonuçlar,destek model ve son zamanlarda önerilen mekanizma açısından analiz edilmiş, pozitronyum oluşumunda moleküler uyarılmış hallar içeren sibotatik ilişkili sistem kinetik mekanizması (CCSKM) olarak adlandırılmıştır.

Abdellatef'in 2007 yılında yapmış olduğu "disopyramid ve irbesartanın ilaç formülasyonundaki ekstraktif spektrofotometrik tayini" isimli çalışmasında irbesartan ve disopyramidin tayininde Pikrik asit, Bromkrezol yeşili, Bromtimol mavisi, Kobalt tiyosiyanat, Molibden (V) tiyosiyanat reaktifleri spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir. Reaksiyon ortamı daha duyarlı ve daha kararlı, renkli kompleksler elde etmek için uygun hale getirilmiştir. Oluşan iyon çifti komplekslerinin absorbansı, irbesartan disopyramidin konsantrasyonu arttıkça absorbans doğruluğu artmıştır. İlaç formülasyonlarında disopyramid ve irbesartan tayininde yeni geliştirilen metotlar kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar t-testi ve F-testi ile kıyaslanmış ve geçerliliği değerlendirilmiştir. Sonuçlar resmi veya referans metotlarla istatistiksel olarak kıyaslanmış ve metotlar arası uygunluk gözlemlenmiştir.

González ve ark. 2002 yılında " insan plazmasındaki ARA II' nin hızlı tayininde florimetrik tespiti için HPLC kullanımı" isimli makaleyi yayınlamışlardır. Seçici, doğru ve kesin sonuçlar veren HPLC ile floresans dedeksiyon yöntemi bazı ARA II' lerin (Losartan, Irbesartan, Valsartan, Kandesartan sileksetil ve onun metabolit Kandesartan M1) tespiti için geliştirilmiştir. C kartuşu kullanılarak katı faz ekstraksiyonu ile asidik ortamda plazmadan analitler ve iç standart (bumetanide, güçlü diüretik) ekstrakte edilmiştir. Kandesartan sileksetil (70 %) hariç diğer bütün ilaçlarda %80 geri kazanım görülmüştür, Kandesartanın geri kazanım oranının düşük çıkmasının sebebi; plastik duvarlarda ve cam proseslerde absorpsiyon yapmış olmasıdır. Analitler ve potansiyel girişimler oda sıcaklığında, ters faz kolonda (mBondapak C) ayrıştırılmıştır. pH 4' de, çeşitli akış oranlarındaki (1,0-1,2 mL/min), 5 mM asetat tamponu ile asetonitril kullanılarak eğim ayrıma modunda ayrıştırma sağlanmıştır. Floresans dedektörü 250 nm ekzitasyon dalga boyuna, 375 nm emisyon dalga boyuna ayarlanmıştır. Losartan (%12) hariç tüm bileşiklerde gün içi ve günler arası bağıl standart sapma %8 den daha aşağı

bulunmuştur. Bu bileşiklerin kantitatif limitleri Kandesartan sileksetil ve M1 için 3 ng/mL, Losartan için 16ng/mL, Irbesartan ve Valsartan için 50 ng/mL değerlerinde olduğu üzere bunlar plazma konsantrasyon değerlerinden tayin edilebilir. Tedavi amacıyla ARA II bileşiklerini kullanan hiper tansiyon hastalarından elde edilen plazma örneklerinden bu maddelerin tespiti için bu yöntem başarıyla kullanılmıştır.

Literatür taraması sonucunda, ARA II bileşikleriyle özellikle metabolik öneme sahip bazı metaller arasında oluşturulan komplekslerin spektroflorimetrik yöntemle incelenmesi konusunda bir çalışmaya rastlanmamıştır

4. MATERYAL VE YÖNTEM

Sartanlar türü (valsartan ve losartan) antibiyotiklerin saf suda veya metanolde florimetrik parametrelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Florimetrik parametrelerin belirlenmesi için saf suda losartan ve metanolde valsartan uygun derişimlerdeki çözeltileri hazırlanarak, uyarma dalga boyları 10'ar nm aralıklarla değiştirilip emisyon spektrumları alınarak ve her bir sartanın, her bir çözücüde maksimum floresans şiddetine sahip oldukları uyarma ve emisyon dalga boyları belirlenmiştir. Daha sonra vücuttaki pek çok metabolik reaksiyonda önemli rol oynayan demir (II) ve bakır(II) ile sartanlardan oluşturulan komplekslerin çözücü ortamlarında kompleks oluşturacağı en uygun koşullar tayin edilmiştir. Bu amaçla pH, çözücü ortamı, kompleks oluşum süresi, sartan konsantrasyonu ve sıcaklık koşulları incelenmiş, çözelti ortamında oluşturulan kompleksin, belirlenen en uygun koşullar altında, uyarma ve emisyon spektrumları alınarak en yüksek floresans şiddetine sahip olduğu uyarma ve emisyon dalga boyları tesbit edilmiştir. Ayrıca sartan-metal komplekslerinin stokiyometrileri de en uygun koşullar altında spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir.

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

Geliştirilen florimetrik söndürme yöntemi, sartan türü tansiyon ilaçları ile vitamin-mineral kombinasyonu ilaçlarda bulunan demir ve bakırın etkileşimlerinin incelenmesinde uygulanmıştır.

4.1. Kullanılan Cihazlar

4.1.1. Spektroflorimetre

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

4.1.2. Spektrofotometre

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

4.1.3. pH metre

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. Sartanlar

Sartanlardan valsartan ve losartan ilaç etken madde standartları Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Sibel A. Özkan tarafından, valsartan, NOVARTİS İlaç firmasından (Diovan) ve losartan ise, MSD İlaç firmasından (Cozaar) temin edildi.

4.2.2. Çözücüler

Tüm deneysel çalışma boyunca çözeltilerin hazırlanmasında, saf su ve metanol kullanıldı.

4.2.3. Amonyum asetat çözeltisi

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

4.2.4. Hidroklorik asit ve sodyum hidroksit çözeltisi

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

4.2.5. Stok Bakır(II) ve Demir(II) Çözeltisi

Cu (II)'ün standart stok çözeltisi (1000 ppm), Merck firmasından temin edilen 1000 ppm'lik standart bakır çözeltisinden, metanol kullanılarak hazırlandı. Her gün, stok çözeltiden metanol ile seyreltilerek çalışma çözeltileri hazırlandı. Merck firmasından temin edilen $FeSO_4.7H_2O$ katısı ile 10^{-3} M Fe^{2+} çözeltisi ultra saf su ile 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 standart çözeltileri Merck firmasından ekstra saflıkta seçilerek temin edildi. Bunların uygun derişimlerdeki çözeltileri ultra saf su kullanılarak hazırlandı.

4.2.7. Sartan ve vitamin-mineral kombinasyonu tabletlerin çözeltileri

Kullanılan İlaçlar

Losartan için Cozaar (50mg) tablet, valsartan için Diovan (80mg) tablet ve Fe(II) ve Cu(II) için supradyn all day tablet eczaneden temin edildi.

Numune Çözeltilerinin Hazırlanışı:

On tane sartan tablet tartıldı ve ince toz haline getirildi. 500 mg'a (LOS) ve 800 mg'a(VAL) eşdeğer toz losartan ve valsartan tabletler tartıldı ve 100mL'lik balon jojede 5 dakika ultrasonik banyoda bekletilerek ultra saf suda ve metanolde çözüldü, çözünmeyen kısımlar süzülerek atıldı. Çalışma çözeltileri, bu çözelti uygun konsantrasyonlara ultra saf suyla (LOS) ve metanolle (VAL) seyreltilerek hazırlandı. Vitamin tabletlerinin çözeltileri de aynı işlemler uygulanarak hazırlandı.

4.3. Deneysel İşlem

Sartan türü tansiyon ilaçları, Fe(II)-LOS ve Cu(II)-VAL kompleks oluşumuna dayanan spektroflorimetrik tayini için kullanılan deneysel işlem şöyledir:

25 mL'lik bir ölçülü balona jojeye, demir ve bakır derişimleri 10^{-6} M-10^{-4} M olacak şekilde hazırlandı. Fe(II)'ün ve Cu(II)'ün stok çözeltisinden 2.5 mL hacimlerinde ilave edildi. Bunun üzerine LOS için 2,5 mL 1×10^{-3} M stok LOS çözeltisinden, VAL için 1×10^{-4} M 2.5 mL stok VAL çözeltisinden ilave edildi, 2,5 mL % 20'lik amonyum asetat çözeltisinde 1 mL eklendi. Daha sonra 1 M HCl ve 1 M NaOH çözeltileri kullanılarak pH 5.5'e ayarlandı. Çözeltilerin hacmi ultra saf suyla veya metanol ile 25 mL'ye tamamlandı. Kompleks oluşumu için Fe(II)-LOS 20 dakika ve Cu(II)-VAL 35 dakika en uygun sıcaklıkta bekletildi. Hazırlanan bu çözeltilerin uyarma ve emisyon spektrumları alındı ve floresans şiddetleri ölçüldü. Belirlenen en uygun uyarma ve emisyon dalga boylarında, VAL için bakır derişimleri 0.25-2.54 $\mu g.mL^{-1}$ ve LOS için demir derişimleri 0.26-2.09 $\mu g.mL^{-1}$ aralıklarında olan Stern-Volmer kalibrasyon grafikleri (F_0/F-$[Fe^{2+}]$ ve F_0/F-$[Cu^{2+}]$) çizildi ve titrasyon metodu ile doğrulandı. 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(II)'ün ve Cu(II)'ün tayini yapıldı. Geri kazanım, alt tayin sınırı (LOQ) ve gözlenebilme sınırı (LOD) değerleri hesaplandı.

4.4. En uygun Deney Koşullarının Belirlenmesi

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

4.4.1. Uyarma ve emisyon dalga boylarının belirlenmesi

Sartanların stok çözeltilerinden 2.5 mL alındı. Demirin ve bakırın stok çözeltisinden 2.5 mL alınarak 25 mL'lik bir behere ilave edildi. Üzerine 1 mL amonyum asetat eklenerek HCl ve NaOH ilave edilerek belirlenen pH'ya ayarlandı. Sartanlar demir ve bakır kompleksleri çoklu taramalar yapılarak uygun dalga boyları seçilmiştir. Fe(II)-LOS kompleksi ve Cu(II)-VAL kompleksi için uygun uyarma ve emisyon dalga boyları belirlendi. Daha sonraki sıcaklık, süre ve stokiyometri çalışmalarında belirlenen dalga boyları kullanılmıştır.

4.4.2.Sartanların uygun derişimlerinin belirlenmesi

Losartan için 1×10^{-3} M stok çözeltisi ultra saf su ile hazırlandı. Stok çözeltiden uygun hacimlerde seyreltilerek 1×10^{-4} M, 1×10^{-5} M, 1×10^{-6} M losartan çözeltileri hazırlandı. Valsartan için 1×10^{-3} M stok çözelti metonol ile hazırlandı. Stok çözeltiden uygun hacimlerde seyreltilerek 1×10^{-4} M, 1×10^{-5} M, 1×10^{-6} M valsartan 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 sartan derişimleri seçildi.

4.4.3. Uygun pH'nın belirlenmesi

Sartanlar, ortamın asidik ve bazik olmasına göre metal iyonlarıyla kompleks oluşturma özellikleri farklıdır. Bu yüzden kompleks oluşumunda pH önemli bir etkiye sahiptir. Belirlenen derişimlerdeki sartanların pH 4-7 arasında çoklu spektrum taraması yapılarak floresans şiddetleri ölçüldü. Daha sonra pH 4-7 arasında sartanlarla Fe(II)'ün ve Cu(II) 'ın farklı konsantrasyonlarıyla sırasıyla su ve metanol 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

Sartanların demir ve bakır komplekslerine sıcaklığın etkisinin belirlenmesi için, belirlenen pH'larda ve konsantrasyonlarda 20 ve 50˚C arası çözeltiler hazırlandı. Belirlenen dalga boylarında floresans şiddetleri ölçüldü. Elde edilen floresans şiddetleri sıcaklığa karşı grafiğe geçirilerek, Cu(II)-VAL ve Fe(II)-LOS kompleksleri için en uygun sıcaklıklar belirlenmiştir.

4.4.5. Kompleks oluşumuna sürenin etkisi

Sartanların demir ve bakır komplekslerinin çözeltileri belirlenen diğer en uygun koşullar altında hazırlandı ve kompleks oluşumu için 10-60 dakika sürelerle bekletildi. Elde edilen floresans şiddetleri süreye karşı grafiğe geçirilmiştir.Cu(II)-VAL ve Fe(II)-LOS kompleksi için uygun kompleks oluşum süresi belirlenmiştir.

4.4.6. Kalibrasyon grafiklerinin çizilmesi

Cu(II)-VAL ve Fe(II)-LOS komplekslerinin pH 5.5 'da, 0.25-2.54 $\mu g.mL^{-1}$ ve 0.26-2.09 $\mu g.mL^{-1}$ bakır ve 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 ve bakır konsantrasyonları da belirlendi.

4.4.7. Kompleks stokiyometrisinin belirlenmesi

Cu(II)-VAL kompleksinin stokiyometrisi, job yönteminin spektrofotometre uyarlanmasıyla belirlendi. Bu amaçla bakır 1×10^{-5} ve valsartan 1×10^{-5} M' lık çözeltileri hazırlanarak, valsartanın bakıra 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 35 dakika beklendi. Daha sonra çözeltilerin hacimleri metanol ile 25 mL'ye tamamlandı. Bu çözeltilerin floresans şiddetleri ve absorbans değerleri ölçülerek valsartan hacmine karşı grafiğe geçirildi. Fe(II)-LOS kompleksinin stokiyometrisi aynı şartlar altında (saf su ortamında,demir 1×10^{-5} losartan 1×10^{-4},pH 5.5 ve 20 dk) stokiyometrisi belirlenmiştir.

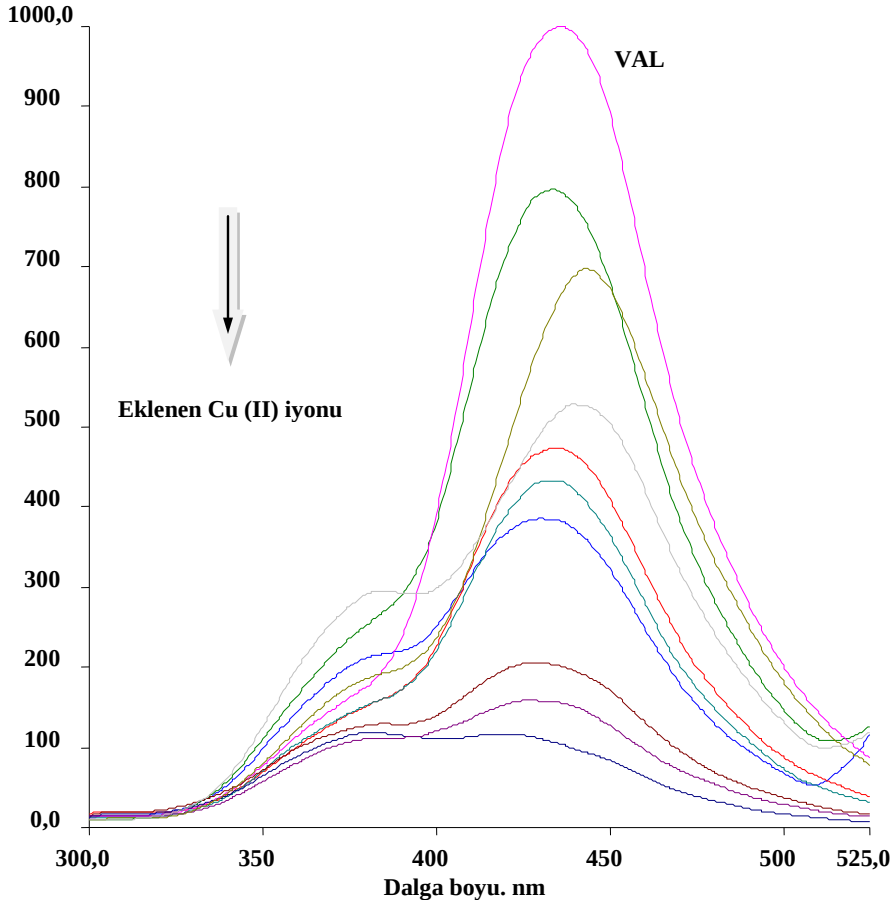
4.4.8. Demir ve bakır tayinine yabancı iyonların etkisi

Losartan ile demirin florimetrik tayinine, özellikle vitamin-mineral kombinasyonu ilaçlar içinde bulunan diğer anyon ve katyonların bozucu etkisini incelemek amacıyla, demir içeren çözeltiye, incelenen iyonun demire oranı sırasıyla 10, 1 ve 0,1 olacak şekilde incelenen iyonu içeren çözelti eklenerek belirlenen en uygun şartlarda çözeltiler hazırlandı. Valsartan ile bakırın florimetrik tayinine, benzer şekilde anyon ve katyonların bozucu etkisini incelemek amacıyla, bakır içeren çözeltiye, incelenen iyonun bakıra oranı sırasıyla 10, 1 ve 0,1 olacak şekilde incelenen iyonu içeren çözelti eklenerek belirlenen en uygun şartlarda çözeltiler hazırlandı. Her bir çözeltinin floresans şiddeti ölçülerek, Fe(II)-LOS ve Cu(II)-VAL komplekslerinin floresans şiddetinde meydana getirdikleri farklar belirlendi.

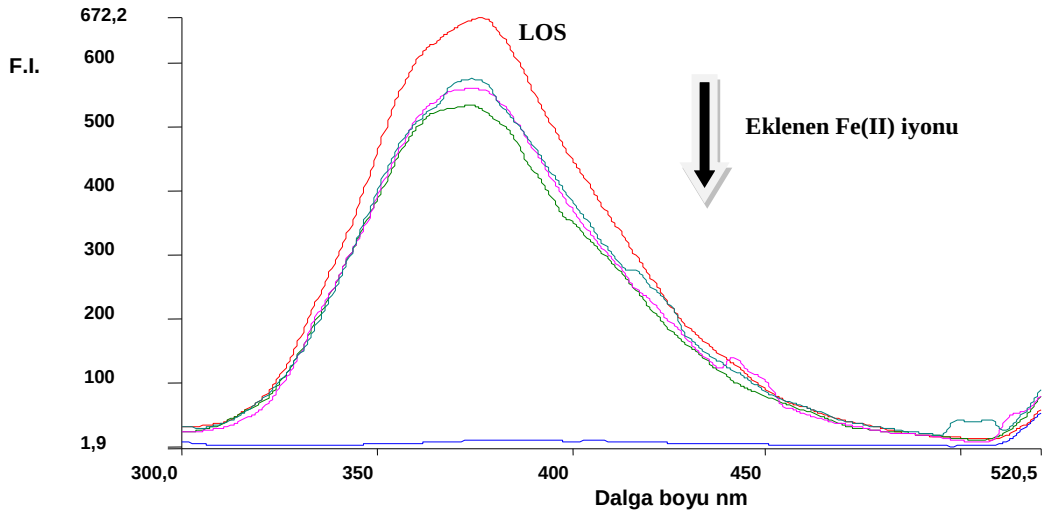
5. DENEY SONUÇLARI VE TARTIŞMA

5.1. Uygun Uyarma ve Emisyon Dalga Boylarının Belirlenmesi

Fe(II)-LOS ve Cu(II)-VAL 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. Valsartan 10^{-6}-10^{-4} M bakır içeren çözeltilerinin pH 5.5' da uyarma ve emisyon spektrumları kaydedildi (Şekil 5.1). Losartan ise 10^{-6}-10^{-4} M demir içeren çözeltilerinin pH 5.5' da uyarma ve emisyon spektrumları kaydedildi (Şekil 5.2). En uygun uyarma ve emisyon dalga boyları sırasıyla, Fe(II)-LOS kompleksi için 270 ve 371 nm, Cu(II)-VAL kompleksleri için 281 ve 436 nm olarak belirlenmiştir.



Şekil 5.1. Farklı bakır derişiminde Cu(II)-VAL kompleksinin emisyon spektrumları (pH=5.5, λ_{uy}= 281 nm, λ_{em}=436 nm, [VAL]=10^{-5} M, [Cu^{2+}]= 0.25-2.54 μg.mL^{-1}).



Şekil 5.2. Farklı demir derişiminde Fe(II)-LOS kompleksinin emisyon spektrumları (pH=5.5, λ_{uy} = 270 nm, λ_{em} = 371 nm, [LOS]=10^{-4} M, [Fe^{2+}]= 0,26-2,09 µg.mL^{-1})

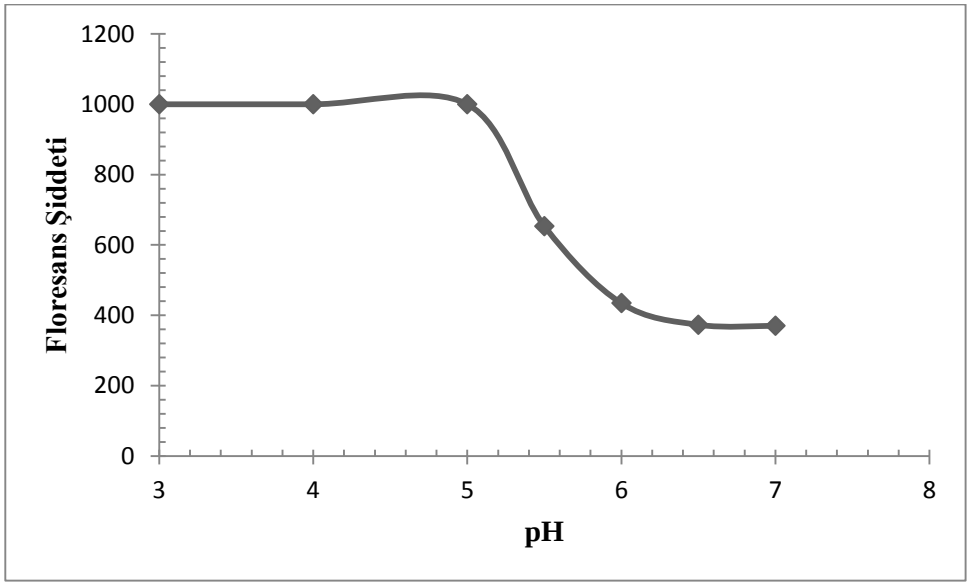
5.2. Sartanların Uygun Derişimlerinin Belirlenmesi

Fe(II)-LOS ve Cu(II)-VAL komplekslerinde ligand olarak kullanılan, LOS ve VAL'nin yüksek floresans özelliğe sahip olmalarından dolayı, bu reaktifin konsantrasyonunun çok iyi seçilmesi gerekmektedir. Bu nedenle, LOS ve VAL'nin derişimi 1×10^{-4}, 1×10^{-5} ve 1×10^{-6} 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 ve bakır kompleksleri sartanların floresans şiddetini düşürdükleri için, yüksek floresans şiddetini veren sartan derişimleri seçildi. Losartan için 1×10^{-4} M, valsartan için 1×10^{-5} M derişimleri seçildi.

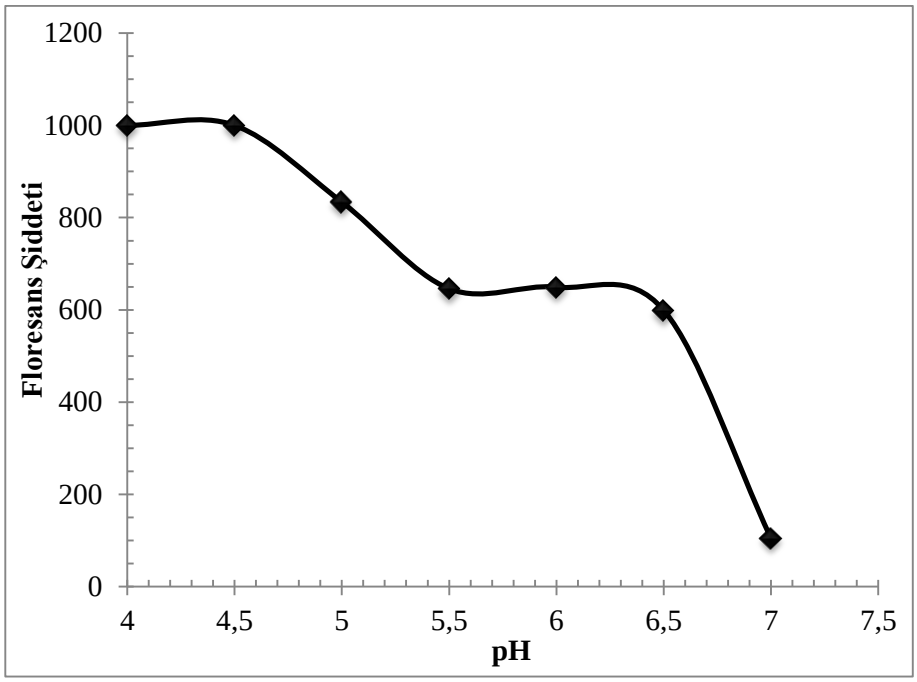
5.3. Uygun pH'ın Belirlenmesi

Kompleks oluşum reaksiyonlarında pH'nın önemli olduğu bilinmektedir. Çalışılan sartanlar, 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 veya metanol ortamında, her birinin pH'sı 4 ile 7 arasında olacak şekilde 10^{-4}-10^{-6} M demir ve bakır içeren Fe(II)-LOS ve Cu(II)-VAL kompleks çözeltileri hazırlanarak, her bir demir derişimi için floresans şiddetleri pH'ya karşı grafiğe geçirildi (Şekil 5.3 ve 5.4). Demir

derişiminin 10^{-4} M olduğu Fe(II)-LOS komplekslerinde floresans şiddeti çok düştüğü için ve pH 7'den sonra demirin oksit şeklinde çökmesinden dolayı, bu komplekslerin floresans şiddetleri sağlıklı olarak okunamamıştır. Fe(II)-LOS kompleksinde en uygun sonuçlar ise demir derişiminin 10^{-5} M olduğu zaman elde edilmiştir. Floresans şiddetleri pH ya karşı grafiğe geçirelerek uygun pH seçilmiştir ve floresans şiddetinin en düşük olduğu pH uygun olarak belirlenmiştir. Fe(II)-LOS ve Cu(II)-VAL kompleksleri için pH 5.5 olarak seçilmiştir.



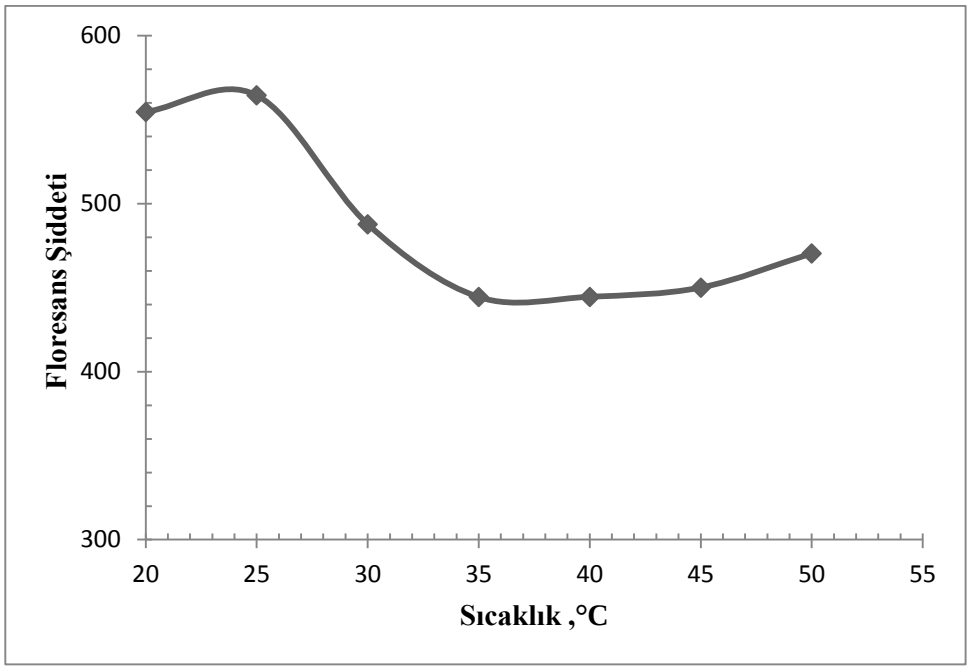
Şekil 5.3. Fe(II)-LOS kompleksinin floresans şiddetine pH'nın etkisi. Deney koşulları: [LOS] = 10^{-4} M, [Fe^{2+}] = 10^{-5} M, 35˚C, su ortamı, λ_{uy} = 270 nm, λ_{em} = 371 nm**.**



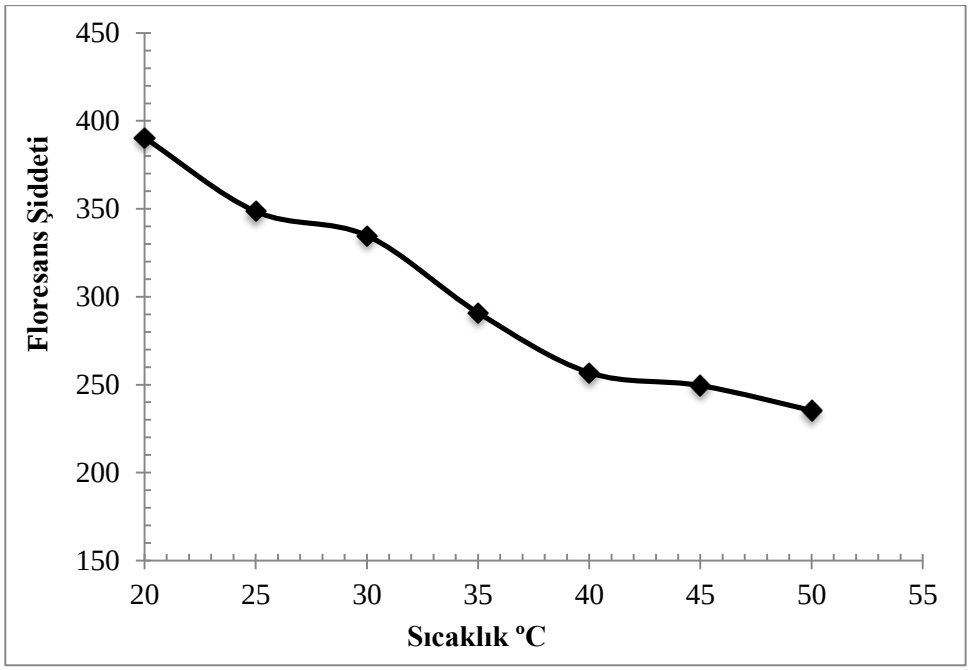
Şekil 5.4. Cu(II)-VAL kompleksinin floresans şiddetine pH'nın etkisi. Deney koşulları: [VAL] = 10^{-5} M, [Cu^{2+}] = 10^{-5} M, 40˚C, metanol ortamı, λ_{uy} = 281 nm, λ_{em} = 436 nm**.**

5.4 . Kompleks Oluşumuna Sıcaklığın Etkisinin Belirlenmesi

Kompleks oluşumu üzerine sıcaklığın etkisinin büyük olduğu belirtilmektedir. Sartanların demir ve bakır kompleksine sıcaklığın etkisinin belirlenmesi için belirlenen pH' larda ve konsantrasyonlarda 20-50˚C arasında çözeltiler hazırlandı. Belirlenen dalga boylarında floresans şiddetleri ölçüldü. Elde edilen floresans şiddetleri sıcaklığa karşı grafiğe geçirilmiştir (Şekil 5.5 ve 5.6).Fe(II)-LOS kompleksi için 35˚C ve Cu(II)-VAL kompleksi için 40˚C seçilmiştir.



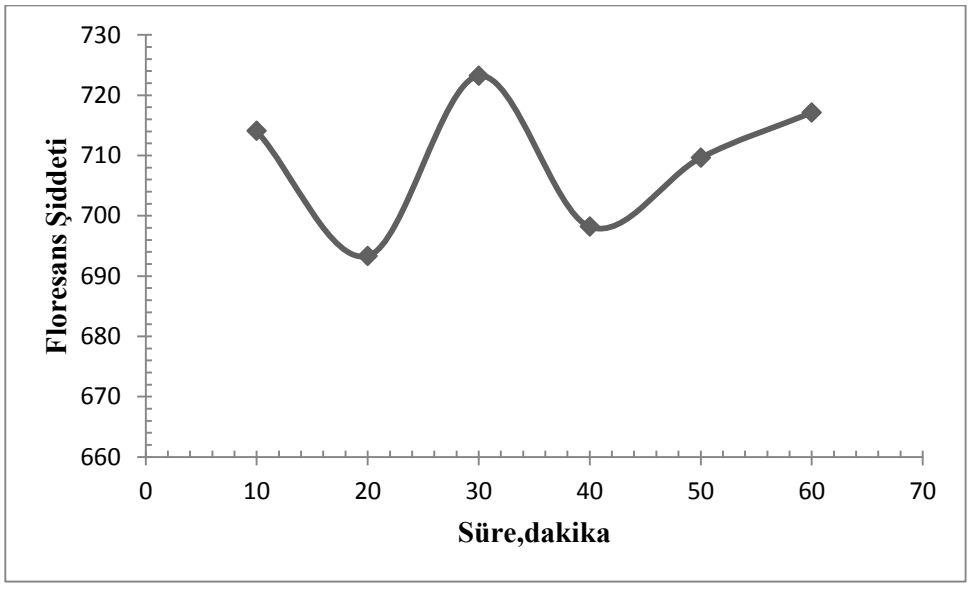
Şekil 5.5 Fe(II)-LOS kompleksinin floresans şiddetine sıcaklığın etkisi. Deney koşulları: [LOS] = 10^{-4} M, [Fe^{2+}] = 10^{-5} M, pH = 5.5, metanol ortamı, λ_{uy} = 270 nm, λ_{em} = 371 nm**.**



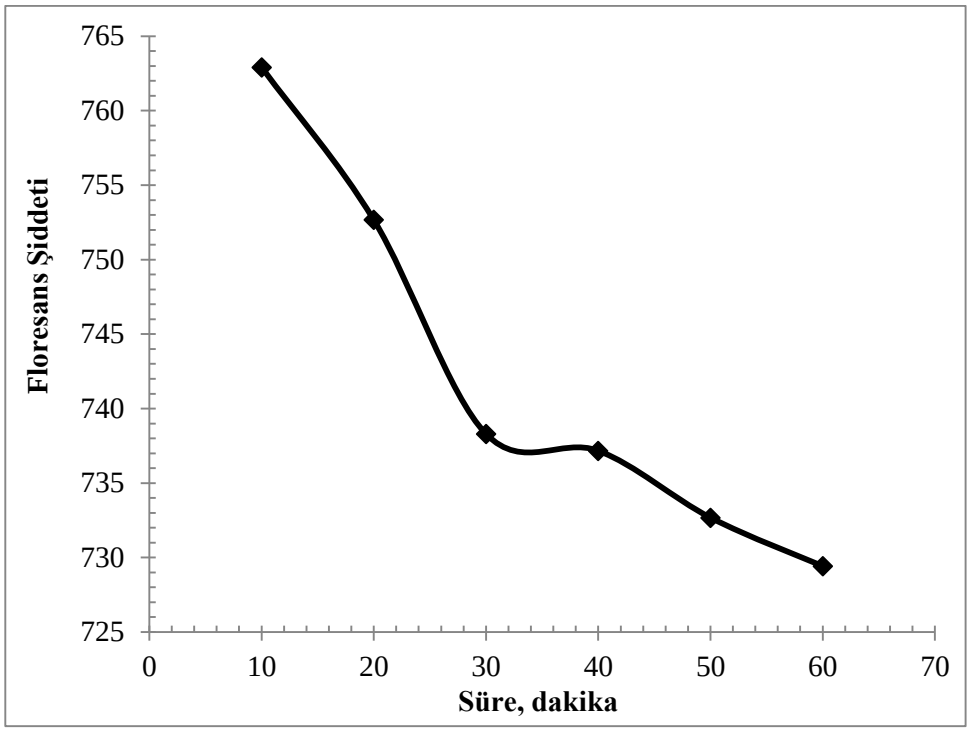
Şekil 5.6. Cu(II)-VAL kompleksinin floresans şiddetine sıcaklığın etkisi. Deney koşulları: [VAL] = 10^{-5} M, [Cu^{2+}] = 10^{-5} M, pH = 5.5, su ortamı, λ_{uy} = 281 nm, λ_{em} = 436 nm.

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} losartan ve metanol ortamında 1×10^{-5} M valsartan derişiminde demir ve bakır derişimleri sırasıyla 1×10^{-5} M olacak şekilde çözeltiler hazırlanarak, kompleks oluşumunun tamamlanması için her bir çözelti 10-60 dakika arasında 10'er dakika aralıklarla bekletildi. Daha sonra bu çözeltilerin, losartan ve valsartan için sırasıyla 270 nm, 281 nm uyarma dalga boyu ve 370 nm, 436 nm emisyon dalga boyunda floresans şiddetleri ölçülerek, zamana (dakika cinsinden) karşı grafiğe geçirildi (Şekil 5.7 ve 5.8). Losartan demir kompleksi için 20 dakika ve valsartan bakır kompleksi için 35 dakika seçilmiştir.



Şekil 5.7. Fe(II)-LOS kompleksinin floresans şiddetine kompleks oluşum süresinin etkisi. Deney koşulları: [LOS] = 10^{-4} M, [Fe^{2+}] = 10^{-5} M, pH = 5.5, su ortamı, λ_{uy} = 270 nm, λ_{em} = 371 nm**.**

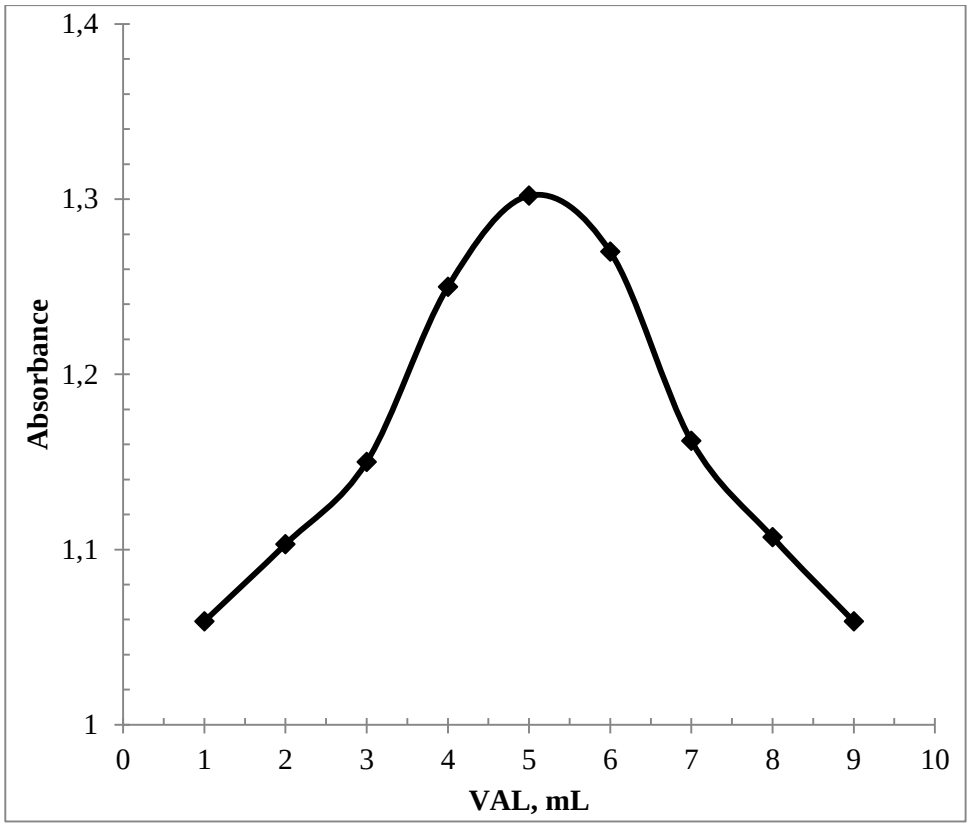


Şekil 5.8. Cu(II)-VAL kompleksinin floresans şiddetine kompleks oluşum süresinin etkisi. Deney koşulları: [VAL] = 10^{-5} M, [Cu^{2+}] = 10^{-5} M, pH = 5.5, su ortamı, λ_{uy} = 281 nm, λ_{em} = 436 nm.

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. Valsartan bakır kompleksi için bu amaçla, valsartan ve bakır derişimleri sırasıyla 1×10^{-5} ve 1×10^{-5} M olacak şekilde çözelti hazırlanarak, valsartan bakır 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 λ_{abs} =260 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülerek ligandın (VAL) hacmine karşı grafiğe geçirildi, Şekil 5.9. Elde edilen eğriden bakırın valsartana mol oranının (1:1) olduğu belirlendi. Buna göre metanol ortamında oluşan kompleksin Cu(VAL) şeklinde olduğu söylenebilir. Benzer şekilde, Fe(II)-LOS kompleksinin stokiyometrisi de Job metoduyla, belirlediğimiz şartlarda ve λ_{abs} =243 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülerek ligandın (LOS) hacmine karşı grafiğe geçirildi. Elde edilen eğriden Fe(II)

iyonunun losartana mol oranının (1:2) olduğu belirlendi. Buna göre su ortamında oluşan kompleksin $Fe(LOS)_2$ şeklinde olduğu söylenebilir.



Şekil 5.9. VAL ve Cu(II)'ün aynı derişimlerdeki Cu(II)-VAL kompleksinin stokiyometrisinin job yöntemiyle belirlenmesi (pH=5.5, λ_{abs} = 260 nm, $[Cu^{2+}] = 10^{-5}$ M, $[VAL]=1\times10^{-5}$ M)

5.7. Sartan floresansının Fe(II) ve Cu(II) kompleksleriyle sönme mekanizması

Floresans sönmesi, bir florofordan söndürücü molekülle, uyarıcı durum reaksiyonlarıyla, moleküler düzenlemeyle, enerji transferiyle, temel halde kompleks oluşumuyla ve çarpışmaya bağlı söndürme işlemleri gibi muhtelif moleküler etkileşimlerle floresansın miktarındaki azalmadır. Sönme dinamik veya statik olarak değişik mekanizmalarla sınıflandırılabilir. Dinamik sönme floroforla söndürücü arasındaki çarpışma sonucunda, statik sönme ise floroforla söndürücü arasında temel

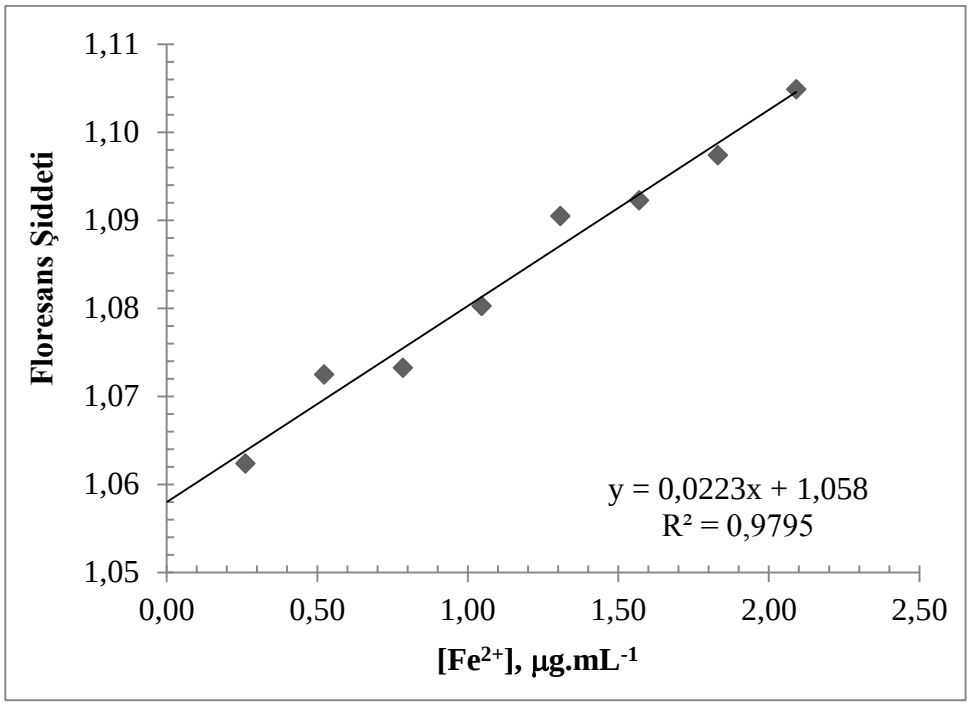
halde kompleks oluşması sonucunda oluşur. Genel olarak dinamik ve statik sönme, farklı sıcaklık ve viskozitedeki ilişkileri ile ayırt edilebilirler. Sönme oranı sabitleri statik sönmede sıcaklık artışı ile azalırken dinamik sönmede tam tersi olur [Lakowicz, 1999].

Komplekslerle oluşan sönme mekanizmasını daha açık hale getirmek için, Stern-Volmer eşitliklerinden oluşturulan, [Q]'ya karşı F_0/F grafikleri Şekil 5.10 ve 5.12'de görülmektedir. Eğriler, Stern-Volmer sönme eşitliklerine gore düzgün lineer ilişki göstermektedir (Eşitlik (1)) [Lehrer, 1971; Lakowicz, 1973]:

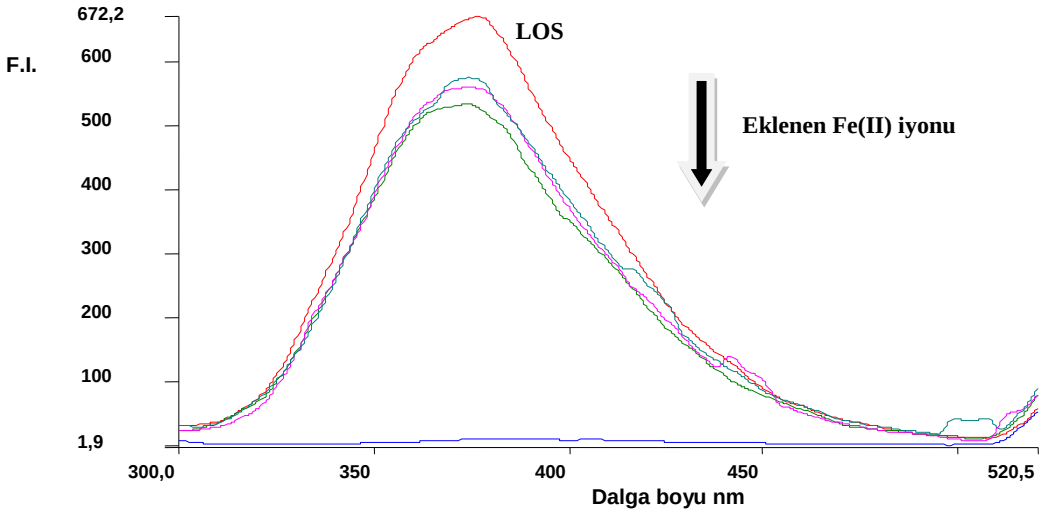
$$F_0/F = 1 + K_q \tau_0 [Q] = 1 + K_{sv} [Q] \quad (1)$$

Eşitlikte, F_0 ve F sırasıyla söndürücü varlığında ve yokluğunda floresans şiddetlerini, [Q] söndürücünün konsantrasyonunu, $\tau 0$ söndürücü yokluğunda ortalama ömrü, ve Kq diffüzyon katsayısı ve dolayısıyla çözücü sıcaklığıyla orantılı olması beklenen sönme oranı sabitini göstermektedir. Ksv Stern-Volmer sönme sabitidir. Sartanların floresans ömür süresi olarak ($\tau 0$) 10^{-8} s civarında alındığında [Lakowicz, 1999], dinamik sönme sabiti (K_{sv}, M^{-1}), ve buna bağlı olarak yaklaşık sönme sabiti (K_q, $M^{-1}s^{-1}$), F_0/F-$[Fe^{2+}]$ ve F_0/F-$[Cu^{2+}]$ diagramındaki eğriden saptanabilir (Şekil 5.10 ve 5.12). 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.

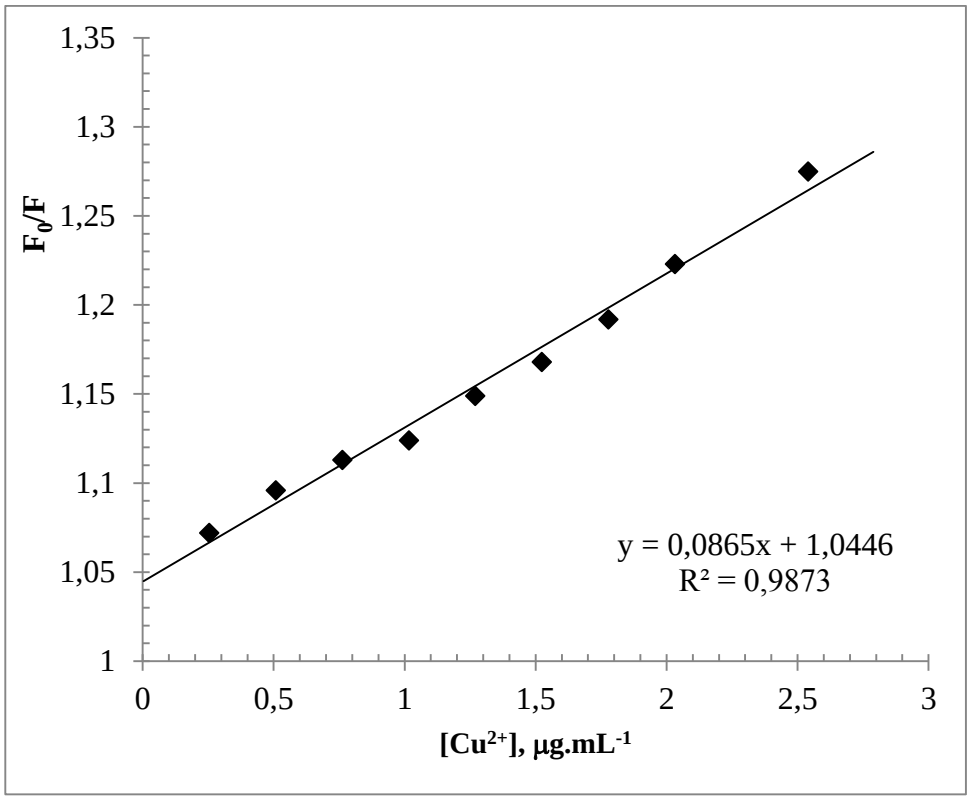
Sartanlar kullanılarak, demirin ve bakırın florimetrik tayininin yapılabilmesi amacıyla kalibrasyon grafiklerinin çizilmesi gerekir. Bu kalibrasyon grafiklerinden yararlanılarak demirin ve bakırın tayin edilebileceği, tayin aralığı ve tayin edilebilecek en düşük demir ve bakır derişimi belirlenebilir. Kalibrasyon grafikleri Stern-Volmer eşitlikleri kullanılarak çizilmiştir. Çünkü demir(II) ve bakır(II) iyonları, spektroflorimetrik olarak floresans sönümleme (quenching) metodu ile tayin edilmiştir. Fe(II)-LOS kompleksi için pH 5,5 da 0.26-2,09 μg/mL ve Cu(II)-VAL kompleksi için pH 5,5 da 0.25-2.54 μg/ml aralığında demir içeren ve en uygun koşullarda hazırlanan çözeltiler losartan ve valsartan için sırasıyla 270 nm, 281nm uyarma dalga boyu ve 370 nm, 436nm emisyon dalga boylarında floresans şiddetleri ölçülerek (Şekil 5.11 ve 5.13), F_0/F-$[Fe^{2+}]$ ve F_0/F-$[Cu^{2+}]$ Stern-Volmer kalibrasyon grafikleri çizilmiştir (Şekil 5.10 ve 5.12).



Şekil 5.10. Fe(II)-LOS kompleksi nin, 0.26-2.09 µg.mL^{-1} Fe(II) derişimi aralığında Stern-Volmer kalibrasyon grafiği (pH=5.5, λ_{uy}=270,0 nm ve λ_{em}=370 nm, [LOS]=1×10^{-4} M).

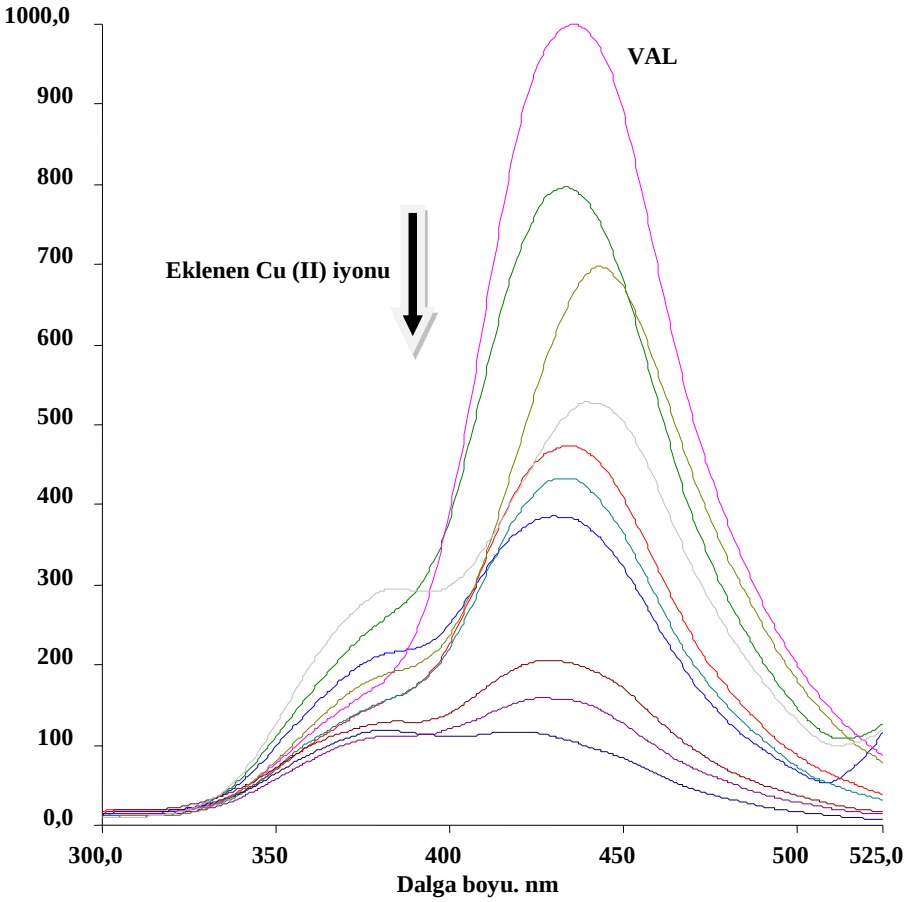


Şekil 5.11. Fe(II)-LOS kompleksi nin, 0.26-2.09 µg.mL^{-1} Fe(II) derişimi aralığında floresans spektrumları (pH=5.5, λuy=270,0 nm ve λem=370 nm, [LOS]=1×10^{-4} M)



Şekil 5.12. Cu(II)-VAL kompleksinin, 0.25-2.54 µg.mL^{-1} Cu(II) derişimi aralığında Stern-Volmer kalibrasyon grafiği (pH=5.5, λ_{uy}=281,0 nm ve λ_{em}=436 nm, [VAL]=1×10^{-5} M)

Kalibrasyon grafiklerinin, regresyon denklemlerinden belirlenen eğimleri, K_{sv}, Stern-Volmer söndürme sabitini vermektedir. Fe(II)-LOS kompleksi için K_{sv} sabiti, 0.0223 ve Cu(II)-VAL kompleksi için K_{sv} sabiti, 0.0865 olarak bulunmuştur. Bu değerler, Fe(II) iyonunun LOS'ın floresans şiddetini söndürme etkisinin, Cu(II) iyonunun VAL'ın floresans şiddetini söndürme etkisinden daha az olduğunu göstermektedir.



Şekil 5.13. Cu(II)-VAL kompleksinin, 0.25-2.54µg/mL Cu(II) derişimi aralığında floresans spektrumları (pH=5.5, λuy=281,0 nm ve λem=436 nm, [VAL]=1×10^{-5} M)

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

5.8. Bozucu Etki Yapan Türlerin Belirlenmesi

Sartanların pek çok metal iyonuyla (Se, Cu, Ca, Mg, Zn, Mn ve Cr) kompleks oluşturduğu, ayrıca demir ve bakırında da pek çok anyonla (I, Cl) etkileştiği bilinmektedir. Bu nedenle önerilen spektroflorimetrik demir ve bakır tayin yöntemine, özellikle vitamin-mineral kombinasyonu ilaçlar içinde bulunan diğer katyon ve anyonların etkisinin incelenmesi gerekmektedir. Ayrıca geliştirilen bu yöntemin, vitamin tabletlerinin çözeltilerinde demir ve bakır tayinine uygulanıp uygulanamayacağı

da araştırılacağından, vitamin tableti çözeltisinde bulunan iyonların da yönteme etkisi incelenmiştir. Çizelge 5.1 ve 5.2' de demir ve bakır tayinine etki eden yabancı iyonlar gösterilmiştir. Ca(II) ve Mg(II) iyonlarının, yabancı iyonun bakıra mol oranının >1000 olduğu durumda bile bakır(II) iyonunun tayinini etkilemediği, ancak Se(IV), Fe(II) ve Cr(III) iyonlarının ise yabancı iyonun demire mol oranının <0.1 olduğu durumda tayini büyük oranda bozduğu belirlenmiştir. Demir(II) iyonunun losartan ile tayininde ise, Kalsiyum ve magnezyum iyonları bakır tayinini etkilelememektir. Zn(II) iyonunun, yabancı iyonun demire mol oranının >100 olduğu durumda bile demir(II) iyonunun tayinini etkilemediği, ancak Mg(II), Mn(II) ve Cu(II) iyonlarının ise yabancı iyonun demire mol oranının <0.1 olduğu durumda tayini büyük oranda bozduğu belirlenmiştir.

Çizelge 5.1 Bakırın valsartan ile florimetrik tayininde çeşitli iyonların etkisi ([VAL]=1×10^{-5} M, [Cu^{2+}]= 10^{-5} M, pH=5.5)

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

Çizelge 4.2. Demirin losartan ile florimetrik tayininde çeşitli iyonların etkisi ([LOS]=1×10^{-4} M, [Fe^{2+}]= 10^{-5} M, pH=5.5)

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

5.9. Demirin ve Bakırın Florimetrik Tayini İçin Belirlenen En Uygun Koşullar

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

Çizelge 5.3. Losartan ile demirin tayini için belirlenen en uygun koşullar

Uyarma dalga boyu	270 nm
Emisyon dalga boyu	371 nm,
En uygun LOS konsantrasyonu	1×10^{-4} M
En uygun pH	5.5
En uygun çözücü ortamı	su ortamı
Kompleks oluşum sıcaklığı	35°C
Kompleks oluşum süresi	20 dakika

Çizelge 5.4. Valsartan ile bakırın tayini için belirlenen en uygun koşullar

Uyarma dalga boyu	281 nm
Emisyon dalga boyu	436 nm,
En uygun VAL konsantrasyonu	1×10^{-5} M
En uygun pH	5.5
En uygun çözücü ortamı	metanol ortamı
Kompleks oluşum sıcaklığı	40°C
Kompleks oluşum süresi	35 dakika

5.10. Methot Validation

5.10.1. Doğrusallık

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

$F_0/F = 0{,}0223C + 1{,}0580$, $R^2 = 0.9795$ (LOS için)

$F_0/F = 0{,}0865C + 1{,}0446$, $R^2 = 0.9873$ (VAL için)

F_0 ve F, Fe(II)'ün ve Cu(II) yokluğu ve varlığında sartanların floresans şiddetleri, C, $\mu g.mL^{-1}$ olarak Fe (II)'ün ve Cu(II)'ün konsantrasyonu, R^2 ise, korelasyon katsayısıdır. Doğrusallık, en uygun şartlar altında, Fe(II)-LOS kompleksi için 0.26-2.09 $\mu g.mL^{-1}$, Cu(II)-VAL kompleksi için 0.25-2.54 $\mu g.mL^{-1}$ olarak belirlenmiştir.

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

Fe(II)-LOS ve Cu(II)-VAL kompleksleri için geliştirilen yöntemin gözlenebilme sınırları (LOD) sırasıyla 9.30 $ng.mL^{-1}$ ve 4.96 $ng.mL^{-1}$ ve bu komplekslerin alt tayin sınırları (LOQ) sırasıyla 31.00 $ng.mL^{-1}$ ve 16.53 $ng.mL^{-1}$ olarak bulunmuştur. Sonuçlar Çizelge 5.5'de verilmiştir.

Çizelge 5.5. Geliştirilen floresans söndürme yönteminin istatistik parametreleri

Parametreler	Fe(II)-LOS Kompleksi	Cu(II)-VAL Kompleksi
Doğrusal aralık ($\mu g.mL^{-1}$)	0.26-2.09	0.25-2.54
LOD ($ng.mL^{-1}$)	9.30	4.96
LOQ ($ng.mL^{-1}$)	31.00	16.53
Eğim (b)	0.0223	0.0865
Kayma (a)	1.0580	1.0446
Korelasyon katsayısı (R^2)	0.9795	0.9873

5.10.3. Geri kazanım

Sonuçlar, geri kazanımların Fe(II)-LOS ve Cu(II)-VAL kompleksleri için sırasıyla %84.55–103.49 ve %94.26–103.06 aralığında olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar Çizelge 5.6'de verilmiştir.

Çizelge 5.6. Florimetrik söndürme yöntemiyle Fe(II)-LOS ve Cu(II)-VAL arasındaki etkileşimlerin tayini için geri kazanım çalışmaları.

Fe(II)-LOS Kompleksi için			
Eklenen Fe(II) iyonu ($\mu g.mL^{-1}$)	Bulunan Fe(II) iyonu ($\mu g.mL^{-1}$) ± SD [a]	Geri Kazanım (%)	RSD (%)
0.522	0.538±0.008	103.06	1.487
1.046	0.986±0.010	94.26	1.014
1.569	1.525±0.007	97.19	0.459
[a] Beş tayinin ortalaması ve standart sapması.			
Cu(II)-VAL Kompleksi için			
Eklenen Cu(II) iyonu ($\mu g.mL^{-1}$)	Bulunan Cu(II) iyonu ($\mu g.mL^{-1}$) ± SD [a]	Geri Kazanım (%)	RSD (%)
1.524	1.459±0.009	96.05	0.616
0.762	0.779±0.007	102.28	0.897
1.016	0.994±0.005	97.86	0.505
1.778	1.503±0.013	84.55	0.867
2.540	2.629±0.008	103.49	0.304
[a] Beş tayinin ortalaması ve standart sapması.			

5.10.4. Doğruluk ve kesinlik

Geliştirilen florimetrik yöntemin doğruluk ve kesinliği, numunelerin beş tekrarlı (n=5) analiziyle tayin edilmiştir. Bağıl ortalama hata olarak ifade edilen yöntemin doğruluğu, Fe(II)-LOS kompleksi için %0.459–1.487 ve Cu(II)-VAL kompleksi için %0.304–0.897 aralığındadır. Düşük değerlerdeki yüzde bağıl standart hata, sartanlar ile vitamin-mineral kombinasyonu tablet içindeki Fe(II) ve Cu(II) iyonu arasındaki

etkileşimin tayini için geliştirilen yöntemin iyi bir kesinliğinin ve tekrar yapılabilirliğinin olduğunu göstermektedir. Bu istatistik parametreler Çizelge 5.6'da verilmiştir.

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

Sartan türü tansiyon ilacı tabletler ve vitamin-mineral kombinasyonu tabletler, yüksek tansiyon hastalıklarında vücut direncini arttırmak için genellikle birlikte alınmaktadır. Bunun için, geliştirilen florimetrik söndürme yöntemi, vitamin-mineral kombinasyonu tablet içindeki Fe(II)-Cu(II) iyonu ile sartanlar arasındaki etkileşimi incelemek için, sartan tansiyon ilacı tablet (50 mg Losartan tablet and 80 mg valsartan tablet) ve vitamin-mineral kombinasyonu tablet (Supradyn all day tablet) karışımına uygulandı. Bu uygulamaların sonuçları Çizelge 5.7'de verilmiştir.

Çizelge 5.7. Sartan türü tansiyon ilacı tablet ve vitamin-mineral kombinasyonu tablet karışımı kullanılarak florimetrik söndürme yöntemi ile vitamin-mineral kombinasyonu tablet içindeki Fe(II) ve Cu(II) iyonunun tayini.

Tabletin Etiket adı	Etikette belirtilen Cu (II) miktarı, mg/tablet	Bulunan Cu(II) miktarı, Değer±SD[a]	Geri Kazanım (%)
Supradyn [Cu(II) için]	14.0	12.43±0.17 13.08±0.11 12.92±0.15	88.79 93.43 92.28

[a] Değerler 5 tayinin ortalamasıdır.

Tabletin Etiket adı	Etikette belirtilen Fe (II) miktarı, mg/tablet	Bulunan Fe(II) miktarı, Değer±SD[a]	Geri Kazanım (%)
Supradyn [Fe(II) için]	0.9	0.73±0.12 0.88±0.08 0.80±0.10	80.94 97.82 89.04

[a] Değerler 3 tayinin ortalamasıdır.

Bu sonuçlara bakıldığında, vitamin-mineral kombinasyonu (Supradyn) içinde bulunan Fe(II) ve Cu(II) iyonlarının losartan ve valsartan ile etkileşime girebileceği, kompleks oluşturabileceği görülmüştür.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez çalışması kapsamında, öncelikle sartanlardan LOS ve VAL'nın çözücü çalışması yapılarak, suda çok kısa sürede çözündüğü ve insan plazmasına da uygun olduğu için çözücü olarak LOS için su, VAL için ise suda çözünmediği için metonol seçilmiştir. Daha sonra LOS ve VAL'nın floresans özellikleri incelenerek, yüksek floresans özelliğe sahip maddeler oldukları tespit edilmiştir. Farklı derişimlerde (1×10^{-4} M, 1×10^{-5} M, 1×10^{-6} M) LOS ve VAL'nın çözeltileri hazırlanmış, en uygun floresans şiddetine sahip olduğu, 1×10^{-4} M LOS ve 1×10^{-5} M VAL derişiminde, en uygun uyarma dalga boyları, LOS için 270 nm ve VAL için 281 nm olarak seçilmiştir. Bu dalga boyunlarında emisyon dalga boyları ise LOS için 371 nm ve VAL için 436 nm olarak tespit edilmiştir. Daha sonra Cu(II) -VAL ve Fe(II)-LOS kompleks oluşturma özelliğine bakılmıştır. Cu(II) ve Fe(II) iyonlarının eklenmesi, sartanların floresans özelliğini azalttığından (quenching-söndürme) kompleks oluşturduğu sonucuna varılmıştır. Kompleksin 1×10^{-4} M, 1×10^{-5} M, 1×10^{-6} M demir derişimlerinde (bütün çözeltilerde TCN derişimi, 1×10^{-4} M'dır) alınan emisyon spektrumlarında en uygun demir derişimi 1×10^{-4} M olarak seçilmiştir. Kompleksin 1×10^{-4} M, 1×10^{-5} M, 1×10^{-6} M Cu(II) ve Fe(II) derişimlerinde tekli taramasını yaptığımızda en uygun Cu(II) ve Fe(II) derişimi 1×10^{-5} M seçilmiştir. Bundan sonra ise, kompleksin en uygun emisyon yaptığı optimum koşullar tespit edilmeye çalışılmış ve bu koşullar aşağıdaki gibi tespit edilmiştir.

Valsartan ile bakırın tayini için belirlenen en uygun koşullar

Uyarma dalga boyu	281 nm
Emisyon dalga boyu	436 nm,
En uygun VAL konsantrasyonu	1×10^{-5} M
En uygun pH	5.5
En uygun çözücü ortamı	metanol ortamı
Kompleks oluşum sıcaklığı	40°C
Kompleks oluşum süresi	35 dakika

Losartan ile demirin tayini için belirlenen en uygun koşullar

Uyarma dalga boyu	270 nm
Emisyon dalga boyu	371 nm,
En uygun LOS konsantrasyonu	1×10^{-4} M
En uygun pH	5.5
En uygun çözücü ortamı	su ortamı
Kompleks oluşum sıcaklığı	35°C
Kompleks oluşum süresi	20 dakika

ÖNERİLER

ARA II bileşiklerini (valsartan, losartan, kandesartan, telmisartan ve irbesartan gibi) içeren antihipertansif ilaçları sürekli kullanmak zorunda olan özellikle de ileri yaşlardaki hastalarda, vücutta ileri yaş sebebiyle gıdalardan vitamin ve minerallerin yeteri kadar alınamamasından dolayı vitamin-mineral kombinasyonu ilaçların alınması yaygındır. Bu nedenle antihipertansif ilaçlarla birlikte alınan vitamin-mineral kombinasyonu ilaçların içeriğinde makro miktarda bulunan demir ve eser (iz) oranda bulunan çinko, bakır, kobalt ve mangan gibi metallerin ARA II bileşikleriyle kompleks oluşturma ve her iki ilacın da etkinliklerinin azalmasına sebep olma olasılığının incelenmesi büyük önem taşımaktadır. Böylece literatüre de katkı sağlandığına inanılmaktadır.

Bütün deney sonuçları, vitamin-mineral kombinasyonuyla ARA II bileşiklerinin birlikte alınması durumunda, etkileşime girerek birbirlerinin özelliklerini zayıflatabileceğini göstermiştir. ARA II bileşiklerinin (losartan ve valsartan) tabletleriyle, vitamin mineral tabletlerinin aynı anda alınmamasının uygun olacağı söylenebilir. Birlikte kullanılması gerekiyorsa en az iki saat ara ile alınmalıdır.

KAYNAKLAR

Abdellatef, H. E., 2007,Extractive-spectrophotometric determination of disopyramide and irbesartan in their pharmaceutical formulation, *Spectrochimica Acta Part A* 66,1248–1254.

Barceloux, D.G.,1999, Copper. Clin, Toxical, 37, 217-23

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

Bull, P.C., Thomas, G.R., Rommens, J.M., Forbes, J.R., Cox, D.W., 1993, The Wilson disaese gene is putative copper transporting P-type ATPase similar to the Minkes gene, *Nat. Genet* 5, 327-337.

Cagigal, E., Gonza´lez, L., Alonso, R.M., Jime´nez, R.M., 2001, p*K*a determination of angiotensin II receptor antagonists (ARA II) by spectrofluorimetry, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 26, 477–486.

Cohen, J.M., 1960, Taste thieshold cocerretions of metals in drinking water, *Journal of the American Water Works Association* ,52: 660.

Etcheverry, S. B., Ferrer, E. G, Naso L., Barrio, D. A., Lezama, L., Rojoc T., Williams P. A.M., 2007,Losartan and its interaction with copper(II): Biological effects, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 15, 6418–6424.

Etcheverry, S. B., Di Virgilio, A. L., Nascimento, O. R., Williams, P. A.M., 2012, Dinuclear copper(II) complexes with valsartan. Synthesis, characterization and cytotoxicity, *Journal of Inorganic Biochemistry* 107, 25–33.

Fitzgerald, D.J., 1998, Safety guidelines for copper in water, *Am. J. Clin. Nutr.* 67, 1098-1102.

Denadai, Â. M. L., Da Silva, J. G., Guimarães, P. P.G., Gomes, L. B. S., Mangrich A. S., de Rezende, E. I. P., Daniel, I. M. P., Beraldo, H., Sinisterra R. D., 2013, Control of size in losartan/copper(II) coordination complex hydrophobic precipitate, *Materials Science and Engineering* C 33, 3916 –3922.

De Oliveira, F.C., Denadai A.M.L., Fulgêncio, F., J.G. da Silva, D. Windmöller, A. Marques-Netto, Frewin R, Henson A, Provan D., 1997, *ABC of Clinical haematology: Iron deficiency anemia, BMJ*, 314,360-3.

González, L., López J.A., Alonso R.M.,Jiménez, R.M., 2002 ,Fast screening method for the determination of angiotensin II receptor antagonists in human plasma by high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection, *Journal of Chromatography A,* 949, 49–60.

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

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

Goyer, R.A., 1991,Toxic effect of metals. Casarett and doull's Toxicology, 4th ed. *Pergamon pres, New York, N.Y.* , 653-655

Islas, M. S., Rojo T., Lezama L., Merino M. G. Cortes., M. A, Puyol, M. R., Ferrer E. G., Williams P. A. M., 2013,Improvement of the antihypertensive capacity of candesartan and trityl candesartan by their SOD mimetic copper(II) complexe, *Journal of Inorganic Biochemistry* 123,23–33.

Jacop, R., Skala, J., Omaye S., Turnlund, J., 1987. Effect of varying ascorbic acid intakes on copper absorption and ceruloplasmine levels of young man, *J. Nutr.* 117, 2109-2115.

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

Kirk, JK., Sloan, R.W., 1999,Angiotensin II receptor antagonists:Their place in therapy,

Am. Fam Physician, 59:3140-8.

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, 4th Ed., *Elsevier Academic Press*, 31–46.

Lecyk, M., 1980,Toxicity of cupric sulfate in mice embryonic development, *Zool. Pol.* 28, 101-105.

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*, vol. 10, no. 17, pp. 3254–3263.

Linder, M.C., Hazegh-Azam, M., 1996, Copper biochemistry and molecular biology,*Am. J. Clin. Nutr*., 63, 797-811.

Linder, M.C., Wooten, L., Cerveza, P., Cotton, S., Shulze, R., Lomeli, N., 1998, Copper transport, *Am. J. Clin. Nutr.* 67, 965-971.

Machado, J.C., Magalhães, W.F.,2013, Positronium formation in solid transition metal losartanates complexes, *Chemical Physics Letters* 585, 84–88.

Maudlin, R.K., 1999, New once-daily angiotensin II receptor blocker available, *Modern Medicine* 67, 59-60.

Mueller-Hoecker, J., Meyer, U., Wiebecke, B., 1988. Copper storage disease of the liver and chronic dietary copper intoxication in two further german infants mimicking Indian childhood cirrhosis,*Pathol. Red. Pract.* 183, 39-45.

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

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

Narayana, B., Bhat, N.G., Bhat, K.S., Nambiar, C.H., Ramachandra, B., Joseph, A., 2000, Selective complexometric determination of copper in ores and alloys using 2,2'-dipyridyl as masking agent, *Microchemical Journal*, 64, 221-225.

Reif, M., White WB, Fagan TC, et al 1998, Effects of candesartan cilexetil in patients with systemic hypertension, Candesartan Cilexetil Study Investigators, *Am J Cardiol* 82,961-5

Sandstead, H.H., 1995,Requirments and toxicity of essential trace elements illustrated by zinc and copper, *Am. J. Clin. Nutr.* 61, 621-624

Seiler, H.G.; Sigel, H. , Sigel, A., 1988; Handbook of Toxicity of Inorganic Compounds,*Marcel Dekker, Inc., New York*, , p 56.

Sever, R., 1997, Candesartan cilexetil,A new, long-acting, effective angiotensin II type 1 receptor blocker. *J Hum Hypertens*, 11(Suppl 2), 91-5.

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

Tanzi, R.E., Petrukhin, K., Chernov, I., Pellequer, J.L., Wasco, W., Ross, B., Romano, D.M., Parano, E., Pavone, L., Brzustowitcz, L.M., 1993. The Wilson disease gene is a copper transporting ATPase homology to the mankes disease gene. *Nat. Genet.* 5, 344-350.

Turnlund, J.R., 1998, Human whole-body copper metabolism. Am. J. Clin. Nutr., 67, 960-964.

Turnlund, J.R., Keyes, W.R., Peiffer, G.L., Schott, K.C., 1998. Copper absorption, excretion, and retention by young men consumung low dietary copper determined by using the stable isotope 65Cu. Am. J. Clin. Nutr. 67, 1219-1225.

Turnlund, J.R., Scgott, K., Peiffer, G., Jang, A., Keyes, W., Keen, C., Sakanashi, T., 1997. Copper status of young men consuming a low-copper diet. Am. J. Clin. Nutr. 65, 72-78.

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

Wilson, S.A.K., 1912, Progressive lenticular degeneration: a familial nerveus disease associated with cirrhosis of the liver,Brain 34, 295-507

World Health Organization, Guidelines for drinking water quality, Volume 1, Recommendations, second eddition. WHO, Geneva, 1993, p46-174.

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

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı	**:**	Ahmet DÖNERTAŞ
Uyruğu	**:**	T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi	**:**	KAYSERİ- 23/06/1988
Telefon	**:**	05072199094
Faks	**:**	
e-mail	**:**	a.donertas@hotmail.com.tr

EĞİTİM

Derece		**Adı, İlçe, İl**	**Bitirme Yılı**
Lise	:	Kayseri Lisesi, Kayseri	2006
Üniversite	:	Selçuk Üniversitesi, Selçuklu, Konya	2008
Yüksek Lisans	:	Selçuk Üniversitesi, Selçuklu, Konya	2014
Doktora	:		

UZMANLIK ALANI

İlaç Etken Maddelerinin Metal etkileşimlerinin Spektrofotometrik ve Florimetrik Yöntem ile Tayini

YAYINLAR

S. Beniz GÜNDÜZ, Ahmet DÖNERTAŞ, 2015, Investigation of The Metal Bonding Properties of Some ARA-II (Angiotensin II Receptor Antagonists) Compounds Using Spectrofluorimetric Method, Current Drug Theraphy (CDTH)-Special issue entitled "RECENT DEVELOPMENT ON PHARMACEUTICAL DOSAGE FORMS: DEVELOPMENT, APPLICABILITY, BIOEQUIVALANCE-BIOAVAILABILITY, NEW ASSAY METHODS AND THEIR VALIDATIONS" Bentham Science Publishers, baskıda.

BİLİMSEL ÇALİŞMALAR

1. S.B.Gündüz, H. N. Tatlı, N. Koçak, M. Şahin, A. Dönertaş, S. Çan, 6th Black Sea Basin Conference on Analytical Chemistry konferansı dahilinde "Book of Abstracts. 6th Black Sea Basin Conference on Analytical Chemistry" bildiri kitapçığındaki "Investigation of The Solvent Effect on The Fluorescence Properties of Some New Synthesized Schiff Bases", P-248, Trabzon, Turkey, 10-14 September 2013.

2. S. B. Gündüz, S. Çan, A. Dönertaş, "Siprofloksasinin Demir (III) İyonlarıyla Bağlama Özelliklerinin Florimetrik Yöntemle İncelenmesi", 7.Ulusal Analitik Kimya Kongresi, Kahramanmaraş,1-5 Eylül 2014.

3. S. B. Gündüz, A. Dönertaş, S. Çan, "Valsartanın Bakır (II) İyonlarıyla Bağlama Özelliklerinin Florimetrik Yöntemle İncelenmesi"-7. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, Kahramanmaraş, 1-5 Eylül 2014.

4. S. ÇAM, A. DÖNERTAŞ, M. İLHAN, Z. E. KOÇ, S. B. GÜNDÜZ, "2-Kloro-4,6-N,N′-Bis(3,4-Dihidroksibenziliden)-1,3,5-Triazin'in Çinko(II) komplek-sinin Floresans Özelliklerinin İncelenmesi"-7. Ulusal Analitik Kimya Kongresi Kahramanmaraş, 1-5 Eylül 2014.