

**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FİZYOLOJİK pH'DA Cd(II) VE Zn(II) İYONLARININ VARLIĞINDA VE
YOKLUĞUNDA LEVOFLOKSASİN'İN SİSTEİN İLE ETKİLEŞİMİNİN
VOLTAMETRİK İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Parouke NUERTAYI

Kimya Anabilim Dalı

**Temmuz 2016
SAMSUN**



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



KİMYA ANABİLİM DALI

**FİZYOLOJİK pH'DA Cd(II) VE Zn(II) İYONLARININ VARLIĞINDA VE
YOKLUĞUNDA LEVOFLOKSASİN'İN SİSTEİN İLE ETKİLEŞİMİNİN
VOLTAMETRİK İLE İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Parouke NUERTAYI
(13210320)**

Tezin Savuma Tarihi : 01 Temmuz 2016

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Ender BİCER

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalında

Parouke NUERTAYI Tarafından Hazırlanan

**FİZYOLOJİK pH'DA Cd(II) VE Zn(II) İYONLARININ VARLIĞINDA
VE YOKLUĞUNDA LEVOFLOKSASİN'İN SİSTEİN İLE
ETKİLEŞİMİNİN VOLTAMETRİK İNCELENMESİ**

başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından .../.../2016 tarihinde yapılan sınav ile
YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Ender BİÇER

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Ayşen AĞAR

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Doç. Dr. Murat SADIKOĞLU

Gaziosmanpaşa Üniversitesi

.../.../2016

Prof. Dr. Hüseyin DEMİR

Enstitü Müdürü





Sevgili anne-babama ve büyükanneme,



ÖNSÖZ

İyi bir öğretmen öğrencilerine açıklar, fakat en iyisi öğrencilerine ilham verir. Hiç bir söz hocam Prof. Dr. Ender Biçer'e olan saygımı, imrenmemi ve teşekkürümü ifade etmeye yetmez. Onun teşviki ve cesaretlendirmesi benim fen bilimlerini sevmemi sağlamıştır. Hocamın bilime karşı olan merakı, güveni, sabrı ve kendini adanması benim sorumlu bir öğrenci olmama neden olmuştur. O bana bilimi öğretmekle kalmadı, aynı zamanda nasıl bir insan olmayı da öğretti. Bu yüzden hocamın bana verdiği destek ve yardımları için kendisine tekrar teşekkürlerimi sunuyorum.

Yüksek Lisans öğrenimim süresince bana ders veren Prof. Dr. Ayşen Ağar, Prof. Dr. Müberra Andaç, Prof. Dr. Hasan Kocaokutgen, Prof. Dr. Ahmet Uyanık ve Doç. Dr. Emine Coşkun'a ayrı ayrı teşekkür ederim.

Her ihtiyacım olduğu zaman yanımda olan ve bana destek veren sınıf arkadaşlarım Ebru Yılmaz ve Elif Alaman'a teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim. Böyle iyi ve yardım sever arkadaşlarımı tanıdığım için kendimi mutlu hissediyorum.

Benim yabancı bir ülkede eğitimim sırasında bana maddi ve manevi yardımlarda bulunan, ilgilenen ve ailemi özleyip yalnızlık hissettiğim zaman moral desteği veren Aygul Ali ve Abduwali Mijit'e özel teşekkürlerimi sunarım.

Benim yokluğumda anne ve babama bakan, aynı zamanda mutlu bir çocukluk geçirmemi sağlayan iki ablama da teşekkür ederim.

Son olarak ve daha çok, anne ve babama en derin sevgi ve saygılarımı sunmak istiyorum. Onlar genç iken yeterli eğitim alamamalarına rağmen, beni ilkokuldan yüksek lisans eğitimime kadar daima desteklemişlerdir. Benim hayatımın yol göstericisi ve destekleyicisi olan ve hiç karar almadan hayatımı şekillendiren sevgili anneme teşekkür ediyorum. Beni her zaman anlayan, kıymetli yaşam dersleri ile eğiten, bana hayatta sorunlarla karşılaştığım zaman bunların nasıl çözüleceğini ve her durumda hayatta olumlu davranmayı öğreten babama teşekkür ediyorum.

Temmuz 2016

PAROUKE NUERTAYI



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ	vii
İÇİNDEKİLER	ix
ÇİZELGELER LİSTESİ	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiii
SEMBOLLER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	xvii
ÖZET	xix
ABSTRACT	xxi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	3
2.1. Antibiyotikler.....	3
2.2. LEVOF ve Özellikleri	5
2.3. LEVOF ile İlgili Literatür Araştırması	6
2.4. RSH ve Literatür Araştırması	9
2.5. Metaller ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri.....	13
2.6. Voltametri ve Voltametrik Teknikler	14
2.6.1. Kare-Dalga Voltametrisi (KDV).....	18
2.6.2. Dönüşümlü Voltametri (DV).....	20
3. MATERYAL VE YÖNTEM	23
3.1. Materyal.....	23
3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler.....	23
3.1.2. Tampon ve çözeltiler.....	23
a. Asetik asit çözeltisinin hazırlanışı	23
b. Fosforik asit çözeltisinin hazırlanışı	24
c. Borik asit çözeltisinin hazırlanışı	24
d. Sodyum hidroksit çözeltisinin hazırlanışı	24
e. Britton-Robinson (B-R) tampon çözeltisinin (destek elektrolit) hazırlanışı	24
f. LEVOF çözeltisinin hazırlanışı	24
g. RSH çözeltisinin hazırlanışı	24
h. Cd^{2+} ve Zn^{2+} iyonu çözeltilerinin hazırlanışı.....	24
3.2. Kullanılan Cihazlar	24
3.3. Yöntemler.....	25
3.3.1. Elektrokimyasal ölçümler	25
3.3.1.1. KDV çalışmaları	25
a. LEVOF'un RSH ile etkileşimi	25
b. LEVOF ve RSH'nın Cd^{2+} ve Zn^{2+} iyonları ile etkileşimleri.	26
c. Metal iyonları varlığında LEVOF'un RSH ile etkileşimi.....	26
3.3.1.2. DV çalışmaları.....	27
3.3.2. UV-GB spektroskopisi çalışmaları	27

3.3.3. Kızılötesi (IR) spektroskopisi çalışmaları	27
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	29
4.1. LEVOF, RSH ve Metal İyonlarının (Cd^{2+} ve Zn^{2+}) Voltametrik Davranışları	29
4.1.1. DV çalışmaları	29
4.1.2. KDV çalışmaları	31
4.2. LEVOF'un RSH ile Etkileşimi	36
4.2.1. KDV çalışmaları	36
4.3. UV-GB Spektroskopisi Çalışmaları	39
4.4. IR Spektroskopisi Çalışmaları	40
4.5. Biyokompleksin Bağlanma Sabitinin Hesaplanması.....	44
4.6. LEVOF'un Cd^{2+} ve Zn^{2+} İyonları ile Etkileşimlerinin Voltametrik davranışları.....	47
4.6.1. Cd^{2+} ve Zn^{2+} - LEVOF komplekslerinin koordinasyon sayıları ve kararlılık sabitleri.....	49
4.7. RSH'nın Cd^{2+} ve Zn^{2+} İyonları ile Etkileşimlerinin Voltametrik Davranışları.....	53
4.7.1. Cd^{2+} ve Zn^{2+} - RSH komplekslerinin koordinasyon sayıları ve kararlılık sabitleri.....	55
4.8. Cd^{2+} İyonu Varlığında LEVOF'un RSH ile Etkileşimi.....	58
4.9. Zn^{2+} İyonu Varlığında LEVOF'un RSH ile Etkileşimi.....	59
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	61
REFERANSLAR.....	63
ÖZGEÇMİŞ	71

ÇİZELGELER LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. Etki mekanizmalarına göre antibiyotik türleri	4
Çizelge 2.2. Voltametrinin en çok yaygın türleri	16
Çizelge 3.1. Deneylerde kullanılan kimyasallar	23
Çizelge 3.2. KDV için deneysel koşullar.....	25
Çizelge 3.3. DV için deneysel koşullar.....	27
Çizelge 4.1. Fizyolojik pH'da (7,4) LEVOF ve RSH arasındaki etkileşim için uygulanan elektrokimyasal ve spektroskopik prosedürlerin verileri	46
Çizelge 4.2. Cd(II)-LEVOF ve Zn(II)-LEVOF komplekslerinin kararlılık sabitleri	52
Çizelge 4.3. Cd(II)-RSH ve Zn(II)-RSH komplekslerinin kararlılık sabitleri....	57



ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1	Levofloksasin (LEVOF) Hemihidrat'ın kimyasal yapısı.....	5
Şekil 2.2.	Sistein (RSH)'in kimyasal yapısı.....	9
Şekil 2.3.	Voltametri için üç elektrotlu sistem. ÇE: çalışma elektrodu, RE: referans elektrot, KE: karşıt elektrot, V: potansiyometre, A: ampermetre.....	15
Şekil 2.4.	Voltametri için temel cihaz şeması	15
Şekil 2.5.	KDV'de uygulanan basamaklı potansiyel dalga şekli (A) ve örnek bir potansiyel dalgası (B).....	19
Şekil 2.6.	KDV'de ileri (anodik), geri (katodik) ve net bileşenden oluşan akım cevabı	20
Şekil 2.7.	DV'de uygulanan dalga şekli	21
Şekil 2.8.	Tersinir bir işlem için örnek dönüşümlü voltamogram	22
Şekil 4.1.	$1,96 \times 10^{-5}$ M LEVOF'un B-R tamponu pH 7,4'de alınan dönüşümlü voltamogramı. 1U, LEVOF molekülündeki karbonil grubunun indirgenme piki	29
Şekil 4.2.	$4,95 \times 10^{-6}$ M RSH'nin B-R tamponu pH 7,4'de alınan dönüşümlü voltamogramı. 1U, cıva(I) sistein tiyolat ($Hg_2(RS)_2$)'ın indirgenme piki	30
Şekil 4.3.	$3,96 \times 10^{-5}$ M Cd^{2+} 'nin B-R tamponu pH 7,4'de alınan dönüşümlü voltamogramı. 1U, Cd^{2+} 'nin $Cd(Hg)$ 'a indirgenme piki.....	31
Şekil 4.4.	$1,96 \times 10^{-5}$ M Zn^{2+} 'nin B-R tamponu pH 7,4'de alınan dönüşümlü voltamogramı. 1U, Zn^{2+} 'nin $Zn(Hg)$ 'a indirgenme piki	31
Şekil 4.5.	$9,9 \times 10^{-6}$ M LEVOF çözeltisinin B-R tamponu pH 7,4'de alınan kare-dalga voltamogramı. 1U, LEVOF molekülündeki karbonil grubunun indirgenme piki	32
Şekil 4.6.	Ofloksasin molekülündeki karbonil grubu için indirgenme tepkimesi.....	33
Şekil 4.7.	$4,95 \times 10^{-6}$ M RSH çözeltisinin B-R tamponu pH 7,4'de alınan kare-dalga voltamogramı. 1U, $Hg_2(RS)_2$ 'nin indirgenme piki	34
Şekil 4.8.	(a) $3,96 \times 10^{-5}$ M Cd^{2+} ve (b) $1,96 \times 10^{-5}$ M Zn^{2+} iyonlarının B-R tamponu pH 7,4'de alınan kare-dalga voltamogramları. 1U incelenilen metal iyonun amalgam'a indirgenme piki	35
Şekil 4.9.	LEVOF'un yokluğunda (a, 1U) ve varlığında ((b) $1,9 \times 10^{-5}$ M, (c) $2,90 \times 10^{-5}$ M, (d) $3,83 \times 10^{-5}$ M, (e) $4,74 \times 10^{-5}$ M, (f) $5,63 \times 10^{-5}$ M, (g) $7,37 \times 10^{-5}$ M, (h) $9,05 \times 10^{-5}$ M, (i) $1,22 \times 10^{-4}$ M, (j) $1,66 \times 10^{-4}$ M ve (k) $2,06 \times 10^{-4}$ M LEVOF) $4,95 \times 10^{-6}$ M RSH'nin B-R tamponu pH 7,4'de alınan kare-dalga voltamogramları. 1U, $Hg_2(RS)_2$ 'nin indirgenme piki.....	36

Şekil 4.10.	B-R tamponu pH 7,4'de LEVOF derişimine ([LEVOF]) karşı $Hg_2(SR)_2$ 'nin pik akımının değışimi	37
Şekil 4.11.	Hg elektrotta RSH'nın LEVOF ile etkileşimi	38
Şekil 4.12.	$4,95 \times 10^{-6}$ M RSH'nın varlığında (a) $1,96 \times 10^{-5}$ M, (b) $2,90 \times 10^{-5}$ M, (c) $3,83 \times 10^{-5}$ M, (d) $4,74 \times 10^{-5}$ M, (e) $5,63 \times 10^{-5}$ M, (f) $7,37 \times 10^{-5}$ M, (g) $9,05 \times 10^{-5}$ M, (h) $1,22 \times 10^{-4}$ M, (i) $1,66 \times 10^{-4}$ M ve (j) $2,06 \times 10^{-4}$ M LEVOF'un B-R tamponu pH 7,4'de alınan kare-dalga voltamogramları	38
Şekil 4.13.	(a) $2,5 \times 10^{-4}$ M RSH, (b) 1×10^{-4} M LEVOF, (c) 1×10^{-4} M RSH ve 1×10^{-4} M LEVOF içeren karışımın (1:1 molar oran) UV-GB spektrumları	39
Şekil 4.14.	Karbonilin tiyol ile etkileşimi.....	40
Şekil 4.15.	Michael katılması	40
Şekil 4.16.	(a) RSH, (b) LEVO ve (c) RSH-LEVO karışımının katı numeleri için IR spektrumları	42
Şekil 4.17.	LEVOF'un RSH ile etkileşimi için Micheal katılması	43
Şekil 4.18.	$1/[1 - (I/I_0)]$ 'e karşı $1/[LEVOF]$ 'un grafiğı	44
Şekil 4.19.	1×10^{-4} M LEVOF varlığında $[RSH]/[LEVOF]$ molar oranına karşı 284 nm 'deki bağıl absorpsiyon oranı (A/A_0)'nindeğişim grafiğı	45
Şekil 4.20.	B-R tamponunda (pH 7,4) RSH-LEVOF sistemi için Benesi-Hildebrand grafiğı	46
Şekil 4.21.	LEVOF'un yokluğunda (a) ve varlığında ((b) $5,16 \times 10^{-5}$ M, (c) $6,48 \times 10^{-5}$ M, (d) $7,7 \times 10^{-5}$ M, (e) $9,01 \times 10^{-5}$ M, (f) $1,06 \times 10^{-4}$ M LEVOF) $9,90 \times 10^{-6}$ M Cd^{2+} 'nin B-R tamponu pH 7,4'de alınan kare-dalga voltamogramları.....	48
Şekil 4.22.	LEVOF'un yokluğunda (a) ve varlığında ((b) $3,77 \times 10^{-5}$ M, (c) $4,67 \times 10^{-5}$ M, (d) $6,42 \times 10^{-5}$ M, (e) $7,27 \times 10^{-5}$ M LEVOF) $1,96 \times 10^{-5}$ M Zn^{2+} 'nin B-R tamponu pH 7,4'de alınan kare-dalga voltamogramları.....	48
Şekil 4.23.	$1/[LEVOF]$ 'a karşı $1/I_p$ 'nin grafiğı	50
Şekil 4.24.	$-\log[LEVOF]$ 'a karşı $-\log [I_p / (I_{p,max} - I_p)]$ 'nin grafiğı	50
Şekil 4.25.	Cd(II)-LEVOF kompleksi için önerilmiş yapı	51
Şekil 4.26.	Zn(II)-LEVOF kompleksi için önerilmiş yapı	52
Şekil 4.27.	RSH 'nın yokluğunda (a) ve varlığında ((b) $4,93 \times 10^{-6}$ M, (c) $9,8 \times 10^{-6}$ M, (d) $1,94 \times 10^{-5}$ M, (e) $3,81 \times 10^{-5}$ M, (f) $5,61 \times 10^{-5}$ M, (g) $7,34 \times 10^{-5}$ M RSH) $9,90 \times 10^{-6}$ M Cd^{2+} 'nin B-R tamponu pH 7,4'de alınan kare-dalga voltamogramları.....	53
Şekil 4.28.	RSH 'nın yokluğunda (a) ve varlığında ((b) $4,88 \times 10^{-6}$ M, (c) $1,45 \times 10^{-5}$ M, (d) $2,39 \times 10^{-5}$ M, (e) $3,32 \times 10^{-5}$ M, (f) $4,23 \times 10^{-5}$ M, (g) $5,99 \times 10^{-5}$ M, (h) $7,69 \times 10^{-5}$ M, (i) $1,09 \times 10^{-4}$ M, (g) $1,54 \times 10^{-4}$ M, (k) $2,06 \times 10^{-4}$ M RSH) $1,96 \times 10^{-5}$ M Zn^{2+} 'nin B-R tamponu pH 7,4'de alınan kare-dalga voltamogramları.....	54
Şekil 4.29.	$\log[RSH]$ 'a karşı $F(X)$ 'in grafiğı	55
Şekil 4.30.	$[RSH]^2$ 'a karşı I_0/I 'nin grafiğı	56
Şekil 4.31.	LEVOF'un yokluğunda (a) ve varlığında ((b) $8,47 \times 10^{-6}$ M, (c) $1,68 \times 10^{-5}$ M, (d) $2,5 \times 10^{-5}$ M, (e) $5,57 \times 10^{-5}$ M, (f) $6,4 \times 10^{-5}$ M , (g) $1,45 \times 10^{-4}$ M LEVOF) $8,55 \times 10^{-6}$ M Cd^{2+} ve $1,37 \times 10^{-4}$ M RSH karışımının B-R tamponu pH 7,4'de alınan kare-dalga voltamogramları. 1U, $Hg(RS)_2$ 'in $Hg_2(RS)_2$ 'a indirgenme piki.....	58

Şekil 4.32.	LEVOF'un varlığında Cd(II)-RSH sistemi için önerilmiş etkileşim planı	59
Şekil 4.33.	LEVOF ve Cd(II)-RSH sistemi arasında oluşan karışık ligand kompleksinin önerilmiş yapısı.....	59
Şekil 4.34.	LEVOF'un yokluğunda (a) ve varlığında ((b) $1,53 \times 10^{-5}$ M, (c) $3,74 \times 10^{-5}$ M, (d) $6,54 \times 10^{-5}$ M, (e) $1,28 \times 10^{-4}$ M, (f) $1,74 \times 10^{-4}$ M LEVOF) $1,56 \times 10^{-5}$ M Zn^{2+} ve $2,06 \times 10^{-4}$ M RSH karışımının B-R tamponu pH 7,4'de alınan kare-dalga voltamogramları.....	60
Şekil 4.35.	Aşırı LEVOF'un varlığında Zn(II)-RSH sistemi için önerilmiş etkileşim planı.....	60





SEMBOLLER VE KISALTMALAR LİSTESİ

KDV	:	Kare-dalga voltametrisi
DV	:	Dönüşümlü voltametri
LEVOF	:	Levofloksasin
RSH	:	Sistein
UV-GB	:	Ultraviolet-görünür bölge
B-R	:	Britton-Robinson
BFM	:	Bromfenol mavisi
BKY	:	Bromkrezol yeşili
HKTZ	:	Hidroklorotiyazid
KSV	:	Katodik sıyırma voltametrisi
DKE	:	Doygun kalomel elektrot
F	:	Faraday sabiti
IR	:	Kızıl ötesi
ACDE	:	Asılı cıva damla elektrodu
nA	:	Nanoamper
V	:	Volt
Hz	:	Hertz
<i>I</i>	:	Akım
<i>E</i>	:	Potansiyel
DCE	:	Damlayan cıva elektrodu
PTX	:	Pentoksiflin
DCDE	:	Durgun cıva damla elektrodu
BQ	:	Benzokinon
<i>E_{pa}</i>	:	Anodik pik potansiyeli
<i>E_{pk}</i>	:	Katodik pik potansiyeli
DTV	:	Doğrusal taramalı voltametri



FİZYOLOJİK pH'DA Cd(II) VE Zn(II) İYONLARININ VARLIĞINDA VE YOKLUĞUNDA LEVOFLOKSASİN'İN SİSTEİN İLE ETKİLEŞİMİNİN VOLTAMETRİK İNCELENMESİ

ÖZET

Bu tez çalışmasında, öncelikle, Cd^{2+} ve Zn^{2+} yokluğunda bir antibiyotik ilaç olan Levofloksasin (LEVOF)'un Sistein (RSH) aminoasidi ile etkileşimi Britton-Robinson tamponu (pH 7,4) 'nda kare-dalga ve dönüşümlü voltametri (KDV ve DV) teknikleri ile incelenmiştir. RSH'nın üzerine LEVOF eklenmesiyle RSH'nın cıva elektrottaki ana pik akımında (yani cıva(I) sistein tiyolat' ın pik akımında) azalma gözlenmiştir. Akımdaki bu azalma sulu ortamda LEVOF ile RSH arasında bir etkileşimin olduğunu belirtmiştir. LEVOF'un RSH ile etkileşimi UV-GB ve IR spektroskopisi metotları ile de desteklenmiştir. Daha sonra LEVOF, RSH ve incelenilen metal iyonları (Cd^{2+} , Zn^{2+}) arasındaki etkileşimler aynı deneysel koşullarda KDV metodu ile test edilmiştir.

Son olarak, Cd^{2+} ve Zn^{2+} iyonlarının varlığında, LEVOF'un RSH ile etkileşimin voltametrik incelenmesi gerçekleştirilmiştir. Biyomoleküler ve metal iyon komplekslerinin bağlanma sabitleri ve stokiyometrilere hesaplanmıştır. Etkileşim işlemleri için muhtemel mekanizmalar önerilmiş ve açıklanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Levofloksasin, Sistein, Etkileşim, Voltametri, Spektroskopi, Metal İyon, Bağlanma Sabiti, Stokiyometri



VOLTAMMETRIC INVESTIGATION OF THE INTERACTION OF LEVOFLOXACIN WITH CYSTEINE IN THE PRESENCE AND ABSENCE OF Cd(II) AND Zn(II) IONS AT PHYSIOLOGICAL pH

ABSTRACT

In this study, firstly, the interaction of an antibiotic drug levofloxacin (LEVOF) with cysteine (RSH) was investigated in the absence of Cd^{2+} and Zn^{2+} ions by using square wave voltammetry (SWV), cyclic voltammetry (CV) in Britton–Robinson (B–R) buffer of pH 7.4. Addition of the LEVOF into RSH solution resulted in the drop of the main reduction peak current of RSH (the current of mercurous cysteine thiolate, $\text{Hg}_2(\text{RS})_2$). The vary in the peak current of $\text{Hg}_2(\text{RS})_2$, after the addition of the LEVOF indicated an interaction between RSH and LEVOF molecules in aqueous medium. Interaction of LEVOF with RSH also confirmed with UV-Vis. and IR spectroscopic methods. Then, the interactions between LEVOF, RSH and metal ions (Cd^{2+} , Zn^{2+}) tested with SWV measurements under the same experimental conditions.

Finally, voltammetric behaviors of LEVOF interaction with RSH in the presence of Cd^{2+} and Zn^{2+} ions have been observed. Binding constants and ratios of metal ion complexes and biocomplex were calculated. Plausible interaction mechanisms for interaction processes were proposed and explained.

Keywords: Levofloxacin, Cysteine, Interaction, Voltammetry, Spectroscopy, Metal Ions, Binding Constant, Binding Ratio

1. GİRİŞ

Tarih boyunca, bulaşıcı hastalıklar insan topluluklarını çok etkilemiştir. Tıp alanında elde edilen büyük başarılarla rağmen, bulaşıcı hastalıklar dünyanın birçok yerinde günümüze kadar etkilerini sürdürmektedirler. Antibakteriyel özellikleriyle, antibiyotikler çok uzun süreden günümüze kadar bulaşıcı hastalıkların tedavisi konusunda çok önemli rol oynamışlardır. Yapısal ve etki mekanizmaları farkına göre, antibiyotikler birçok tipte sınıflandırılmaktadırlar [1-7].

Levofloksasin[(-)-(S)-9-fluoro-2,3-dihidro-3-metil-10-(4-metil-1-piperazinil)-7-okso-7H-pirido[1,2,3-de]-1,4-benzoksazin-6-karboksilik asit hemihidrat] (LEVOF) birçok gram-pozitif ve gram-negatif aerob bakterilere karşı etki gösteren geniş spektrumlu bir antimikrobiyal ajandır. Aynı zamanda LEVOF ofloksasin'in saf (-)-(S)-enantiyomeridir [1-7].

LEVOF fluorokinolonlar olarak adlandırılan antibiyotikler sınıfında yer alır. Bu sınıf ayrıca siprofloksasin, norfloksasin, ofloksasin, trovafloksasin ve lomefloksasin antibiyotiklerini de içermektedir. Fluorokinolonların antibakteriyel aktivitesi bakterilerin DNA sentezini engellemek ve böylece bakterilerin çoğalmasını durdurma yoluyla gerçekleşmektedir. Tüm kinolonlar gibi LEVOF'un antibakteriyel aktivitesi de bakteri hücrelerin bölünmesinde gerekli olan DNA *gyrase* ve topoizomeraz IV gibi iki türlü enzimi kendisine hedef seçmesiyle gerçekleşmektedir [1-7].

LEVOF'un sentezi, kantitatif tayini, kimyasal yapısı ve antibakteriyel işlevi ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır [8-14]. Üstelik, LEVOF'un camısı karbon elektrot ve asılı cıva elektrodu (ACDE) kullanılarak insan idrarında ve gıda örneklerinde tespiti ile birlikte camısı karbon elektrot üzerinde DNA ile etkileşimi ve metal kompleksleri ile ilgili çalışmalar da yapılmıştır [15-20].

Sistein (RSH) yapısında kükürt içeren bir amino asittir. İnsan vücudunda metabolizma sırasında az miktarda üretilmektedir [21]. Elektroaktif özelliğinden dolayı, RSH birçok voltammetrik ve polarografik çalışmalara konu olmuştur [22-34].

Son yıllarda, bazı ilaç etken maddeleri ve amino asitler arasındaki etkileşim mekanizması hakkında daha detaylı bilgileri elde edebilmek için, voltametrik çalışmalar da yapılmıştır [35-37].

Ancak, fizyolojik pH'da ACDE üzerinde Cd^{2+} ve Zn^{2+} iyonlarının varlığında ve yokluğunda LEVOF'un RSH ile etkileşimi üzerine voltametrik ve spektroskopik çalışmalar bulunmamaktadır. Bu tez çalışmasında, fizyolojik pH'da Britton-Robinson (B-R) tamponunda Cd^{2+} ve Zn^{2+} iyonlarının varlığında ve yokluğunda LEVOF'un RSH ile etkileşimi dönüşümlü (DV) ve kare-dalga voltametri (KDV) voltametri teknikleri kullanılarak incelenmiş ve hem elektrot yüzeyinde hem de çözelti fazında moleküller arasında oluşan etkileşimler için mekanizmalar önerilmiştir.

2. GENEL BİLGİ

2.1. Antibiyotikler

Bakterilerin neden olduğu bulaşıcı hastalıkların tedavisinde kullanılan maddelere *antibiyotikler* denir. Ancak, bazı antibiyotikler belirli bir miktarda alındığı zaman insanlar ve hayvanlar için zararlı etkiler gösterebilmektedirler. Antibiyotikler grip gibi bazı virüsler için etkili değildirler. Antibiyotikler yanlış kullandığında zehirli de olabilmektedirler [38].

1928 yılında Nobel ödülü sahibi Alexander Fleming tarafından penisilin'in bulunması antibiyotik dönemin başlangıcı olarak bilinmektedir. Antibiyotiklerin keşfi tıp biliminde büyük bir atılım olmasına rağmen, ancak İkinci Dünya Savaşı'na kadar popüler olamamıştır. Keşiften önce, yaraların bakteriyel enfeksiyonundan dolayı çok sayıda kişi ölüyordu, ancak, ikinci dünya savaşı zamanında yaralı askeri personelin hızlıca iyileşmesi antibiyotikleri o zamanın en popüler ve en güçlü ilacı haline getirmiştir. Daha sonraki yıllarda, penisilin'in bulunmasından sonra, birçok penisilin türevi antibiyotikler bulundu, sentezlendi ve enfeksiyonların tedavisi için kullanıldı [39].

Antibiyotikleri ve onların etki mekanizmalarını daha iyi anlayabilmek için antibiyotiklerle ilgili bazı temel terim ve kavramları bilmek gereklidir. Antibiyotiklerin engellediği ya da öldürebildiği mikroorganizma aralığına *spektrum* denir. Antibiyotikler hedef özelliğine dayalı olarak dar ya da geniş spektrumlu antibiyotikler diye ikiye ayrılırlar. Kombinasyon, iki ya da daha fazla anti-bakteriyal ajanların aynı zamanda kullanılmasıdır ve bir mikroorganizmanın bir antimikrobiyal ilaca karşı direncine “antimikrobiyal direnç” denir. Antibiyotiklerin birlikte aynı anda kullanımı (kombinasyonu) antibiyotiklerin etkinliklerini kuvvetlendireceği gibi onların spektrumlarını da genişletecektir [40].

İlk önce, antibiyotikler bakterilerin yapısını hedef alır, daha sonra hedef noktasına bağlanır. Bağlandıktan sonra, bakterilerin canlılığı için gerekli olan metabolik aktiviteyi inhibe eder. Sonuç olarak, bakteri ölür veya çoğalamaz [40].

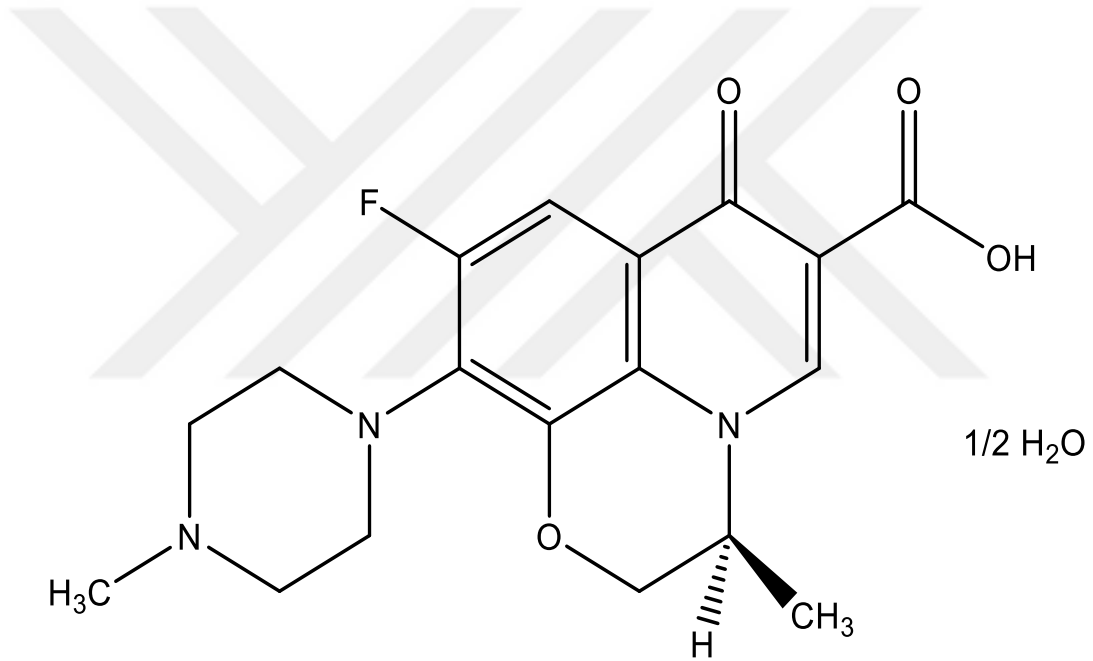
Mekanizması ve hedefine göre, antibiyotikler birkaç gruba ayrılmaktadır. Antibiyotiklerin etki mekanizmalarına göre sınıflandırılması Çizelge 2.1.'de verilmiştir [40].

Çizelge 2.1. Etki mekanizmalarına göre antibiyotik türleri

<i>Etki mekanizması</i>	<i>Antibiyotik</i>
Hücre duvarı sentezinin engellenmesi veya ortadan kaldırılması	Penisilinler Glikopeptidler Gefaloprinler Monobaktamlar
Sitoplazmik membranın imha edilmesi	Polimiksinler Polien antifungallar
Nükleik asit sentezini veya metabolizmasını engelleyerek görevini yerine getirme	Kinolonlar Rifampin Nitrofurantoinler
Hedef protein biyosentezini engelleme	Tetrasiklinler Kloramfenikol Makrolidler Linkozamidler Aminoglikozidler
Enerji metabolizmasını etkileme	Sulfonamidler Trimetoprim Dapson

2.2. LEVOF ve Özellikleri

LEVOF (Şekil 2.1.) Japon kaynaklı sentetik geniş spektrumlu bir antibakteriyel ajandır [8]. Bu ajan özellikle solunum patojenleri, üriner sistem, gastrointestinal ve abdominal enfeksiyonların tedavisinde kullanılır [41]. LEVOF ilk kez 1987 yılında patentlenmiştir ve yapısında karboksilik asit içermektedir [8]. Metal iyonları ve bazı proteinler ile kompleksler oluşturmaktadır [19, 42, 43].



Şekil 2.1. Levofloksasin (LEVOF) Hemihidrat'ın kimyasal yapısı

Molekül Formülü; $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{FN}_3\text{O}_4$ (Hidratsız)

Ortalama molekül kütlesi: 361,367 g/mol

2.3. LEVOF ile İlgili Literatür Araştırması

LEVOF ile ilgili olarak, analitik kimya, farmakoloji, biyokimya, biyoteknoloji, mikrobiyoloji, ilaç kimyası, genetik ve moleküler biyoloji vb açısından birçok çalışma yapılmıştır.

Ashour ve Al-Khalil bromfenol mavisi (BPB) ve bromkresol yeşili (BCG)'nin iki farklı yöntemini kullanarak tabletlerde LEVOF'u tespit etmiştir. Onlar bu tespit yöntemlerinin büyük doğruluk ve hassasiyeti yanı sıra hızlı ve basit olması gibi pek çok avantajlara sahip olduğunu da belirtmişlerdir. Hatta bu yeni yöntemler $1,85 \mu\text{g ml}^{-1}$ 'e kadar oldukça düşük miktarlarda tayine müsaade etmişlerdir [5].

Bir grup Japon bilim adamları kolayca LEVOF'ye dönüşebilen LEVOF ara maddesinin sentezi için yeni bir yöntem geliştirmiştir. Bunlar, kendi sentezleri sırasında iridyum(I)-kiral bifosfin ve bizmut (III) iyodür'den oluşan yeni bir katalitik sistemi kullanmışlardır. Bu yeni sentez yolunun en büyük avantajı iyi saflık (% 90) ve % 96'lık verim olmuştur [9].

ABD'den iki bilim adamı Fish ve Chow, LEVOF'un klinik farmakokinetik etkisini test etmişlerdir. Onlar, bazı özel nüfus grupları örneğin yaş, cinsiyet ve ırk etkileri üzerine araştırmalarını yapmışlardır. Aynı zamanda, onlar diğer ilaçlar ile LEVOF'un etkileşimi hakkında bazı verileri de toplamışlardır. LEVOF'un teofilin ve arfarin gibi diğer ilaçlar ile önemli etkileşimleri için küçük bir potansiyele sahip olduğunu bulmuşlardır. Ancak, florokinolonlar ailesinin diğer üyelerine benzer şekilde, LEVOF'un bazı metal-ihativa eden antasitler ve demir sülfat ile önemli ilaç etkileşime sahip olduğunu belirtmişlerdir [13].

Liang ve arkadaşları LEVOF, siprofloksasin, gatifloksasin, moksifloksasin, trovafloksasin ve sinoksasinleri birbirinden ayırmak için yüksek-performans sıvı kromatografisini uygulamışlar ve daha sonra aynı yöntemi insan plazmasında LEVOF'un miktar tayini için kullanmışlardır [44].

Sultana ve araştırma ekibi bazı kimyasal yöntemler aracılığıyla LEVOF'un metal komplekslerini incelemişlerdir. Onlar çalışmalarında, ilk önce, LEVOF'un çift geçiş metali komplekslerini sentezlemişler ve daha sonra fizikokimyasal ve spektroskopik tekniklerle bu komplekslerin karakterizasyonu gerçekleştirmişlerdir. Son olarak, komplekslerin bağışıklık aktivitesi de test edilmiştir [19].

Seedher ve Agarwal beş adet metal katyonu Mg(II), Fe(III), Zn(II), Cu(II), Al(III) ile dört adet florokinolon, LEVOF, sparfloksasin, siprofloksasin hidroklorür, enrofloksasin ve insan serumu albümini (HSA)'nin kompleksleşmesini floresans ve ultraviyole absorpsiyon teknikleri ile incelenmişlerdir. Çalışmanın ana amacı, ilaçların metaller ve proteinlerle etkileşme sırasındaki biyoyararlanımını incelemek olmuştur. Ayrıca, metal-florokinolonlar ve metal-HSA komplekslerinin bağlanma sabitlerini hesaplanmışlardır. Üstelik florokinolonların HSA ile etkileşimi üzerine metal katyonlarının etkisi de araştırılmıştır. Sonuç olarak, metal iyonları varlığının HSA-florokinolon etkileşiminin bağlanma ilgisini değiştirebildiği gibi, metal şelat oluşumunun florokinolon antibiyotiklerin antimikrobiyal aktivitesinde önemli derecede azalmaya neden olabildiğini bulmuşlardır [45].

Seedher ve Agarwal floresans ve dairesel dikroizm spektroskopisi tekniklerini kullanarak florokinolon antibiyotiklerin ve diğer bazı ilaçların HSA'ya yarışmalı bağlanmasını incelemiştir. Sonuç olarak, sistemde bulunan rakip ilaçların florokinolonların HSA'ya bağlama ilgisini düşüreceği, fakat bu rekabetçi bağlanmanın HSA moleküllerinde herhangi bir büyük yapısal değişiklikler getirmeyeceği belirlenmiştir [46].

Uivarosi kinolon antibiyotiklerin metal komplekslerini ve kullanımlarını incelemiştir. Sonuç olarak metal iyonları ile kinolonların etkileşiminin kinolonların farmakokinetiği, biyo-sağlanabilirliği ve çözünürlüğü açısından pek çok değişikliklere neden olduğunu ve aynı zamanda bunun antibakteriyel maddelerin etki mekanizmasına bağlı olduğu ortaya çıkarmıştır. Üstelik, metal iyonlarıyla kinolon kompleksleşmesinin kinolon veya metal iyonlarının tespiti gibi birçok analitik uygulamalara sahip olduğunu da belirlemiştir [47].

Djurdjevic ve arkadaşları, bazı florokinolon antibiyotiklerin insan plazmasındaki Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} iyonlarının biyo-türlemesi üzerine etkisini incelemiştir. Çalışma sonucu Cu^{2+} plazma kompleksine göre florokinolon antibiyotiklerin Ni^{2+} , Zn^{2+} plazma kompleksleri üzerine daha çok etkileri olduğunu ve gerekli metal iyonları hareketliliklerinin fizyolojik kuşullarda ilaç çalışması için herhangi bir sorun getirmeyeceğini de göstermiştir [48].

Akinremi ve arkadaşları, bazı metal-florokinolon komplekslerinin biyolojik aktivitelerini araştırmışlardır. Sonuç olarak, metal komplekslerinin çoğunun test edilen organizmalara karşı hemen hemen aynı, fakat bir kaçının daha büyük bir aktivite gösterdiğini bulmuşlardır. Diğer taraftan, vücut dokuları çalışması sırasında,

onların ana ilaçlarına göre bazıları daha az yan etki göstermiştir. Bu sonuçlar florokinolon metal komplekslerinin ilaç olarak kullanılabilmeye potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir [49].

Turel kinolon antibakteriyel ajanlar ile metal iyonlarının etkileşimlerini incelemiştir. Sonuç olarak bu araştırmacı kinolon ilaçlarının magnezyum veya alüminyum antasitlerle aynı zamanda alındığında absorpsiyonlarının azaldığını gözlemlemiştir. Çalışmaya göre, elde edilen sonucun kinolon'un metale şelat bağlanmasından olabileceği belirtilmiştir [50].

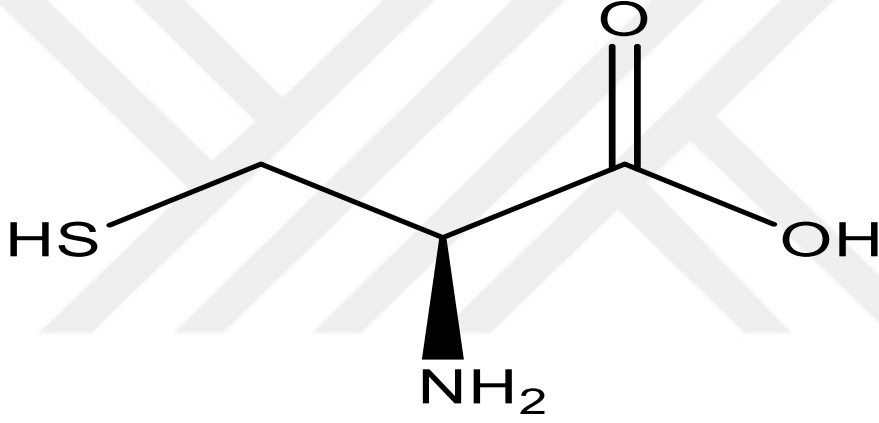
Kawai ve arkadaşları, sulu çözeltide bazı metal iyonları ile kinolon etkileşimini pH titrasyonu, NMR ve spektrofotometri teknikleri ile test etmişlerdir. Onlar metal-kinolon komplekslerinin bağlanma sabitleri arasında fazla farklılıklar olmadığını bulmuşlardır. Üstelik, sulu çözeltide metal kompleksinin miktara bağlı çalışmalarının sonucu kompleks oluşumunun vücutta kinolon absorpsiyonunu etkileyen önemli bir faktör olduğu göstermiştir [51].

Mohd ve arkadaşları, LEVOF'un iki değerlilik toksik metal iyonları ile etkileşimini ve floresans davranışlarını incelemiştir. Çalışmanın sonuçları LEVOF ile bazı metal iyonları karıştırıldığı zaman, metal-LEVOF komplekslerinin oluşumundan dolayı LEVOF'un floresans şiddetinin kaybolduğunu göstermiştir. Etkileşim işleminin kendiliğinden yürüyen ve aslında sürücü kuvvetin entropi olduğu belirlenmiştir [52].

En önemlisi, B-R tamponunda (pH 7,96), ACDE üzerinde diferansiyel puls anodik sıyırma voltametri (DPASV) kullanılarak LEVOF tespiti ile ilgili bir çalışma bulunmaktadır. Yong ve ekibi 2,38 ng / ml belirleme sınırı ile LEVOF'u tayin etmişlerdir [17].

2.4. RSH ve Literatür Araştırması

RSH molekül formülü $\text{HO}_2\text{CCH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{SH}$ olan ve yapısında kükürt içeren bir amino asittir. RSH yapısındaki tiyol (HS) grubu daima bazı enzimler ve enzimatik tepkimelerin katalitik süreçlerine katılmaktadır ve tiyol oksidasyonundan ortaya çıkan disülfid türevi, birçok proteinlerde önemli yapısal rol oynamaktadır. RSH organizma için gerekli olmayan bir amino asit olmasına rağmen bazı özel grup insanların örneğin bebekler, yaşlılar ve metabolik hastalığı olan bireyler için gerekmektedir. RSH et, yumurta, süt ve bazı özel bitkiler gibi bazı yüksek proteinli gıdalardan elde edilebilir [21].



Şekil 2.2. Sistein (RSH)'in kimyasal yapısı

Molekül formülü; $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S}$

Molekül ağırlığı: 121,16 g/mol

Novotný gümüş ve bakır katı amalgam elektrotlar kullanarak katodik sıyırma voltametri tekniğiyle RSH tespiti yapılmıştır ve tayin sınırı 3×10^{-9} M olarak belirlenmiştir [24].

Biçer ve Özdemir tarafından B-R tamponunda (pH 5, 7 ve 9) UV-GB spektroskopisi ve KDV teknikleri kullanarak ACDE üzerinde RSH ile hidroklorotiyazid (HCTZ) arasındaki etkileşimi incelenmiştir. HCTZ'nin eklenmesiyle, cıva(I) sistein tiyolat ($\text{Hg}_2(\text{RS})_2$)'ın pik akımının azaldığını ve pik potansiyelinin daha az negatif değerlere kaydığını gözlemlemişlerdir. Bu sonucun amino asit ve ilaç arasındaki etkileşimden kaynaklandığını belirtmişlerdir [35].

Biçer ve Tatlıdil B-R tamponunda (pH 7,4) KDV ve DV tekniklerini kullanarak ACDE üzerinde RSH ile piridin mono-karboksilik asit izomerleri (PKAI'leri) arasındaki etkileşimi incelenmiştir. Onlar PKAI'ler ve RSH arasındaki etkileşimin daha iyi tanımlanması için UV-GB ve kızılötesi spektroskopisi tekniklerini de kullanmışlardır. Sonuç olarak, PKAI'ler ve RSH arasında yeni elektroaktif kompleksler oluştuğunu ve durumun serbest RSH derişimi ile cıva(I) sistein tiyolat ($\text{Hg}_2(\text{RS})_2$)'ın pik akımında azalmaya neden olduğunu rapor etmişlerdir [36].

Çakır ve Biçer KDV ve DV tekniklerini uygulayarak sulu ortamda tip I-kollajen ile RSH'nin etkileşimini incelemişlerdir. RSH varlığında tip I-kollajenin pik akımının azalması bu iki molekül arasında bir etkileşim olduğunu göstermiştir [53].

Çakır ve arkadaşları RSH ve sakkarin'in yeni Schiff-baz bileşimini sentezlemişler ve bu yeni bileşiğin B-R tamponunda (pH 5,0–9,0) durgun cıva damla elektrodu (DCDE) üzerindeki voltametrik davranışlarını DV ve KDV tekniklerini kullanarak incelemişlerdir. Onlara göre bu çalışmanın önemi biyolojik sistemlerde sakarin'in davranışları hakkında daha fazla bilgi temin etmektir [54].

Biçer ve Coşkun nötral pH'da ve Mn(II) iyonu varlığında ve yokluğunda, yarı sentetik penisilin antibiyotik ilaç olan okzasilin sodyum (OXA) ve RSH arasındaki etkileşimin voltametrik davranışını incelemişlerdir. Onlar OXA ve RSH arasındaki kompleks oluşumunun RSH'nin pik akımının azalmasına neden olduğunu, üstelik OXA'nın bir katalizör olarak, Mn(II)'nin indirgenme işlemini hızlandırdığı ve buna zıt olarak, sistemde bu üç tür birarada bulunduğu zaman RSH'nin OXA ile kendi bileşimini oluşturarak OXA'nın katalizör rolünü engellediği sonuçlarını elde etmişlerdir [55].

Biçer ve Çınar tarafından bazı spektroskopik ve voltametrik yöntemleri kullanarak UV ışınlaması varlığında ve yokluğunda RSH ile pentoksifilin (PTX)'in etkileşimini incelenmiştir. Sonuç olarak, uzun süre UV ışınlaması altında, tiyol radikalinin oluşumundan dolayı, RSH sırasıyla sülfonil radikali (-0,056 V), disülfidik anyon (S_2^{2-} ; -0,684 V) ve serbest sistin (RSSR; -0,800 V) gibi üç farklı indirgenme piki göstermiştir. Ancak, UV ile ışınlanmış RSH üzerine PTX'in eklenmesiyle tiyol radikali ($RS\cdot$) oluşumu ve PTX-RSH kompleksinin oluşması vasıtasıyla onun daha ileri oksidasyonu engellenmiştir [56].

Çakır ve Biçer pH 7,4'te, Cu(II) iyonu varlığında DCDE üzerinde KDV tekniğini kullanarak RSH ve sakarin'in voltametrik davranışını araştırmışlardır. Cu(II) iyonu varlığında RSH üç tane indirgenme piki vermiştir ve Cu(II)-sakkarinat ile de karışık ligand kompleksi oluşturmuştur. Çalışmanın sonucu karışık ligand kompleksinin bağlama sabitinin, Cu(I)SR ve Cu(II)-sakkarinat komplekslerinin bağlama sabitlerinden daha büyük olduğunu göstermiştir [57].

Çakır ve Biçer fizyolojik pH'da RSH'nın ve onun monosakkaritlerle olan etkileşiminin kare-dalga adsorptif sıyırma voltametrik davranışlarını incelemişlerdir. Biriktirme potansiyeli, biriktirme zamanı, tarama hızı ve damla boyutu ile optimize etme yoluyla bu çalışmayı gerçekleştirilmişlerdir. Araştırmacılar bu çalışmanın monosakkaritler ile RSH etkileşimi üzerine voltametrik tekniklerin bir uygulaması olduğunu rapor etmişlerdir [58].

Hignett ve arkadaşları tiyolün bir kinon ile tepkimesini kullanarak RSH'nın belirlenmesi için KDV tekniğini uygulamışlardır. Onlar kinon-RSH katılma ürünü ve tepkimeye girmemiş kinon arasında net fark olduğunu, kinon-RSH katılma ürününün 5 ile 47 μ M arasında doğrusal bir cevap verdiğini gözlemlemişlerdir. Bu yeni yaklaşımın pratik kullanımını idrarda RSH'ye karşı cevabı inceleyerek de gözlemişlerdir [59].

White ve arkadaşları kinon ara ürünlerinin elektrokimyasal üretimleri ve onların sülfidril tiyoller (RSH) ile müteakip tepkimesini inceleyerek sülfidril tiyollerin miktar belirlemeleri için yenilikçi bir yol tasarlamışlardır. Tiyol türlerinin elektrokimyasal olarak üretilmiş kinoid yapıya nükleofilik eklenmesiyle oluşan katılma ürününün oksidasyonundan dolayı oksidatif akımın büyüdüğü ve bu durumun sistemdeki tiyol derişimine bağlı olduğu belirlenmiştir [60].

Heyrovský ve Prokopova voltametrik tekniklerle folatların tiyollerle etkileşimini incelemişlerdir. Çalışma sonucu sulu ortamda folatların tiyollere

etkileşmediğini, fakat elektrot yüzeyinde katılma ürünlerini oluşturarak disülfidlerin voltametrik tersinir indirgenme piklerinin kaymasına neden olduğunu göstermiştir. Bu araştırmadaki molekül arasındaki bu etkileşimin canlı organizmadaki folatlar ve proteinler arasındaki etkileşim için model olabileceğini düşünmüşlerdir [37, 61].

Biçer ve Çınar RSH'nın varlığında ve yokluğunda, pentoksifilin (PTX)'in Zn(II) ile etkileşimin voltametrik davranışını incelemişlerdir. Sonuç olarak, PTX'in Zn(II) ile inert kompleks oluşturduğu ve sistemde RSH'nın varlığının Zn(II) iyonunun PTX'den ayrılarak Zn(II)-RSH kompleksinin oluşumuna neden olduğu gözlenmiştir [62].

Forsman ACDE üzerinde katodik sıyırma voltametrisi (KSV)'ni kullanarak RSH'nın ve onun komplekslerinin analizi için yeni bir yöntem geliştirmiştir. Deney sırasında, RSH bir Cu(I) kompleksi oluşturmuştur. Aşırı Cu(II) durumunda ise RSH bakır-amalgam da meydana getirmiştir. RSH için doğrusal kalibrasyon eğrileri 2×10^{-9} M - 1×10^{-7} M derişim aralığı için elde edilmiştir. RSH'nın KSV davranışı, Cu(II) iyonları yokluğunda bile incelenmiştir [28].

Nekrassova ve araştırma ekibi, ferri siyanür tarafından RSH'nın oksidasyonunu incelemişlerdir. Bu tepkimenin kinetiğini ve mekanizma çalışmalarını bor katkılanmış elmas elektrodun kullanıldığı DV ve doğrusal-taramalı voltametri (DTV) teknikleri ile araştırmışlardır. RSH'ın hem protonlanmış hem de protonlanmamış molekül biçimlerinin ferri siyanür kullanılmasıyla yükseltgendiklerini gözlemişlerdir. Diğer taraftan, ferri siyanürün RSH tarafından elektrokatalitik indirgenmesi için farklı pH değerlerinde hız sabitini de belirlemişlerdir. Bu hız sabitinin artan pH ile arttığını bulmuşlardır [29].

2.5. Metaller ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri

Metaller genellikle insan sağlığı için çok küçük miktarlarda gerekli veya vazgeçilmez olarak kabul edilmiştir. Metaller insan vücudundaki birçok enzimin yapısında bulunmaktadır ve bir katalizör olarak biyokimyasal veya metabolik süreçlere katılmaktadırlar [63]. Örneğin, alkol dehidrojenaz, karbonik anhidraz, karboksipeptidaz gibi enzimlerin bazı grupları kataliz sırasında çinkoyu kofaktör olarak kullanmaktadırlar [64]. Metallerin çoğuna kolayca erişilebilmektedir. Özellikle toprak ve maden yataklarında bulunmaktadır, çoğu zaman, insanlar besin zinciri ile bu metallere erişmektedirler. İnsan sağlığına yararlı olmasına rağmen, sodyum ve kalsiyum gibi bazı metaller ise beslenme uzmanları (diyetisyenler) tarafından metal olarak görülmemektedir [63].

Çinko, demir, kobalt, bakır, mangan ve molibden gibi bazı ağır metaller de değişen miktarlarda canlılar için gereklidir. Fakat bütün ağır metaller yüksek derişimlerde zararlıdır. Cıva, plütonyum, kadmiyum ve kurşun gibi bazı ağır metallerin eser miktarları bile canlı organizmalar için zararlıdır. En önemlisi, bu metallerin canlı organizmanların organlarında birikiminin ciddi hastalıklara neden olmasıdır. Kadmiyum memelilerin vücudunda böbrek ve karaciğerde birikir. Vanadyum ve tungsten gibi bazı metal elementleri normalde sadece belirli organizmalar için zehirlidir ya da belirli koşullar altında yararlıdır [65-68].

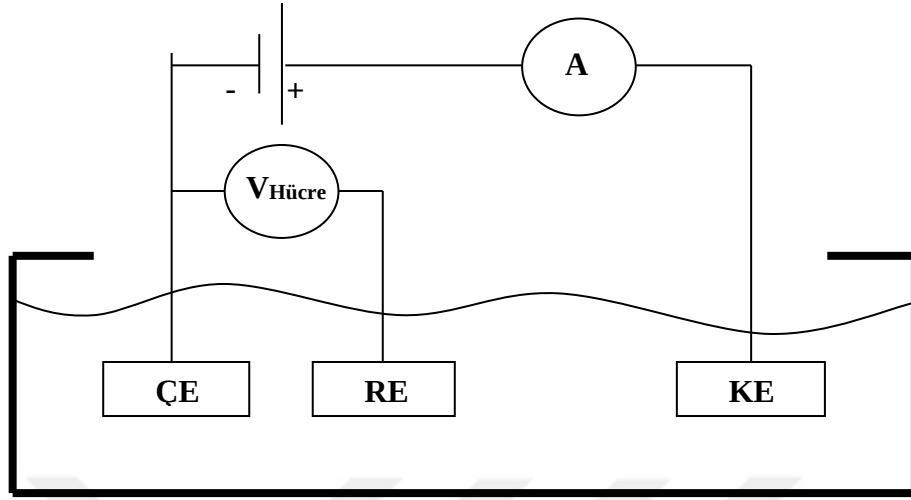
Çinko ve kadmiyum arasındaki ilişkileri tartışırken, çalışmalar temel esansiyel metal olan çinkonun esansiyel olmayan kadmiyumun toksik etkilerini düşerebileceğini göstermektedir. Bunun dışında, kadmiyum, çinko bağımlı enzimlerin aktivitesini düşürebilmektedir ve kadmiyum toksisitesi, çinko gerektiren enzimlerin kofaktör bağlanma yerlerinde iki metal arasındaki rekabetten kaynaklanmaktadır [69].

2.6. Voltametri ve Voltametrik Teknikler

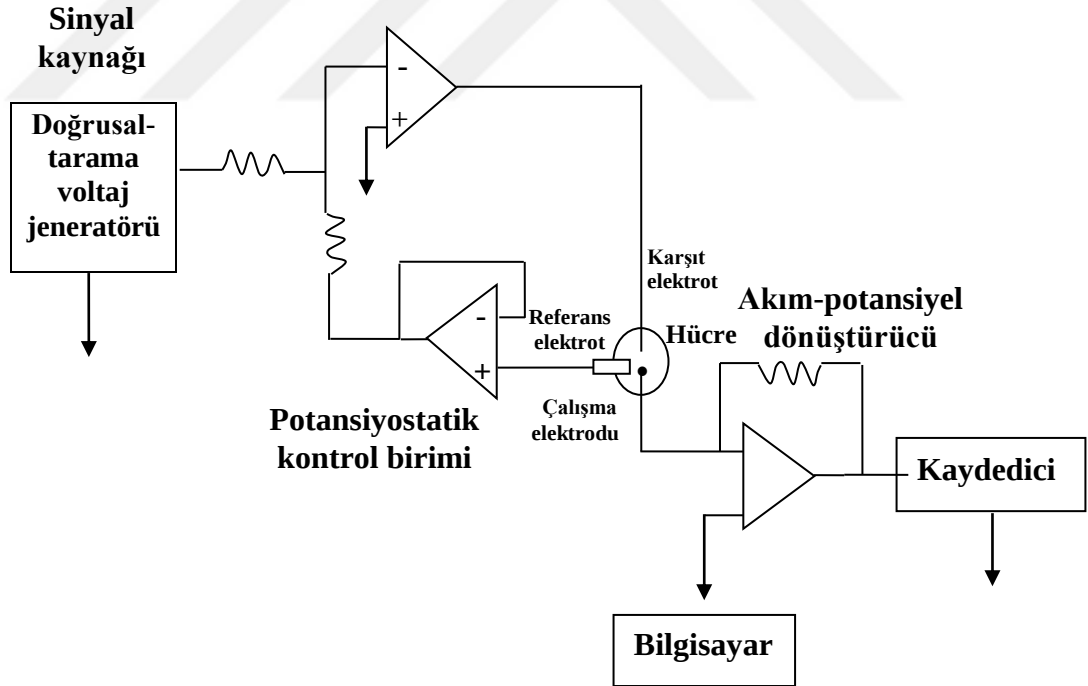
Voltametri analitik amaçlar ve çeşitli endüstriyel işlemler için kullanılan elektrokimyasal yöntemlerin bir türüdür. Voltametrde, analiz edilen bir madde hakkındaki bilgi değiştirilerek uygulanan potansiyele karşı akımın kaydedilmesiyle elde edilir [70, 71]. Voltamogram uygulanan potansiyele karşı akım grafiği olarak tanımlanır ve redoks tepkimesinde yer alan madde hakkında bilgi verir [72].

İlk voltammetrik teknikler kimyada günlük kullanım için uygulanabilirliklerini kısıtlayan olumsuzluklara sahip olmuşlardır [73]. 1960'lardan 1970'lere kadar, voltametri bilgisayar ve bilgisayar kontrollü sistemlerin dahil edilmesiyle, hem teori ve hem de enstrümantasyon açısından çok ilerlemiştir. Yapılan bu ilerlemeler yeni tekniğin hassasiyet ve doğruluğunu geliştirmiştir. Sanayi ucuz potansiyostat, elektrotlar ve hücrelerin tasarımı ile bu teknolojin yaygın ve etkili olarak günlük analitik çalışmalarda kullanmasına da yardımcı olmuştur [74, 75].

İlk voltammetrik teknikler sadece iki elektrottan oluşurken, günümüzdeki modern potansiyostat üç elektrotan oluşmaktadır (Şekil 2.3.). Voltametrde çalışma elektroduna zamana-bağımlı ve referans elektrodun sabit potansiyeline bağlı olarak değişen bir potansiyel uygulanırken, çalışma ve karşıt (yardımcı) elektrotlar arasındaki akım ölçülür (Şekil 2.4.). Genellikle, cıva ve platin tel sırasıyla çalışma ve yardımcı elektrot olarak kullanılırken, doygun kalomel elektrot (DKE) veya Ag/AgCl elektrodu referans elektrot olarak kullanılmaktadır [76].



Şekil 2.3. Voltametri için üç elektrotlu sistem. ÇE: çalışma elektrodu, RE: referans elektrot, KE: karşıt elektrot, V: potansiyometre, A: ampermetre



Şekil 2.4. Voltametri için temel cihaz şeması

Günümüzde, voltametrik tekniklerin farklı türleri vardır. En yaygın voltametrik teknikler Çizelge 2.2.'de verilmiştir [77].

Çizelge 2.2. Voltametrinin en yaygın türleri

<i>Tür</i>	<i>Kısa açıklama</i>
DTV	Tüm deney sırasında bir referans elektroda karşı çalışma elektroduna zamanla doğrusal olarak artan bir potansiyel uygulanır.
KDV	Sadece bir cıva damlası aranan elektrokimyasal verilerin toplanması için yeterlidir.
DV	Temelde bir tepkimenin tersinirliğini test etmek için kullanılır.
Anodik sıyırma voltametrisi	İki aşamalı olarak gerçekleştirilir ve akım sıyırma aşamasında kaydediler.
Katodik sıyırma voltametrisi	Cıva elektrodu oksitlenir ve anyonların çözünmeyen çökeltileri oluşur. Daha sonra negatif bir potansiyel uygulanarak elektrotta birikmiş film tabakası çözelti fazına geçirilir (sıyırılır).
Adsorptif sıyırma voltametrisi	Analiz edilecek madde indirgenme için adsorpsiyon yoluyla elektroda ulaşır.
Polarografi	Geniş katodik aralığa ve yenilenebilir elektrot yüzeyine sahiptir.
Türevsel puls voltametrisi	Akım değil, akım farkı potansiyelin bir fonksiyonu olarak çizilir.

Voltametrizde Nernst (2.1) veya Butler-Volmer (2.2) gibi bazı tanınmış denklemler elektrot yüzeyinde analiz edilen maddenin redoks davranışlarını analiz etmek için kullanılır. Uygulanan potansiyel redoks türlerinin (C_O ve C_R) derişimlerini kontrol eder ve K_O tepkime hız sabitidir [78].

$$E = E_0 - \frac{RT}{nF} \ln \frac{C_R}{C_O} \quad (2.1)$$

$$i = nFAK_0 \left\{ C_O \exp \left[-\frac{\alpha nF}{RT} (E - E_0) \right] - C_R \exp \left[\frac{(1 - \alpha)nF}{RT} (E - E_0) \right] \right\} \quad (2.2)$$

Yukarıda verilen eşitliklerde E_0 (V) redoks tepkimenin standart potansiyeli, E (V) uygulanan potansiyel, R ideal gaz sabiti (8,314 J/K mol), F Faraday sabiti (96485 C/mol), T (K) termodinamik sıcaklık, n ise elektron sayısı, A elektrot yüzey alanı ve α ise yük transfer katsayısıdır (burada $\alpha=0,5$).

Voltametrik teknikler hem endüstriyel ve hem de bilimsel araştırmalar dahil geniş bir uygulama alanına sahiptir. Voltametrik yöntemlerin farmakoloji ve diğer sağlık sistemleri üzerine uygulanması yenilikçi ve hızlı bir araştırma aracı olarak bu alanlarda önemli değişiklikler getirmiştir. Ayrıca, gıda sanayi ve çevre kirliliği gibi alanlarda çeşitli organik ve inorganik maddelerin değişik duyarlılıklarda belirlenmesi için çok sayıda voltametrik sistemler (sensörler) de üretilmiştir [79-83].

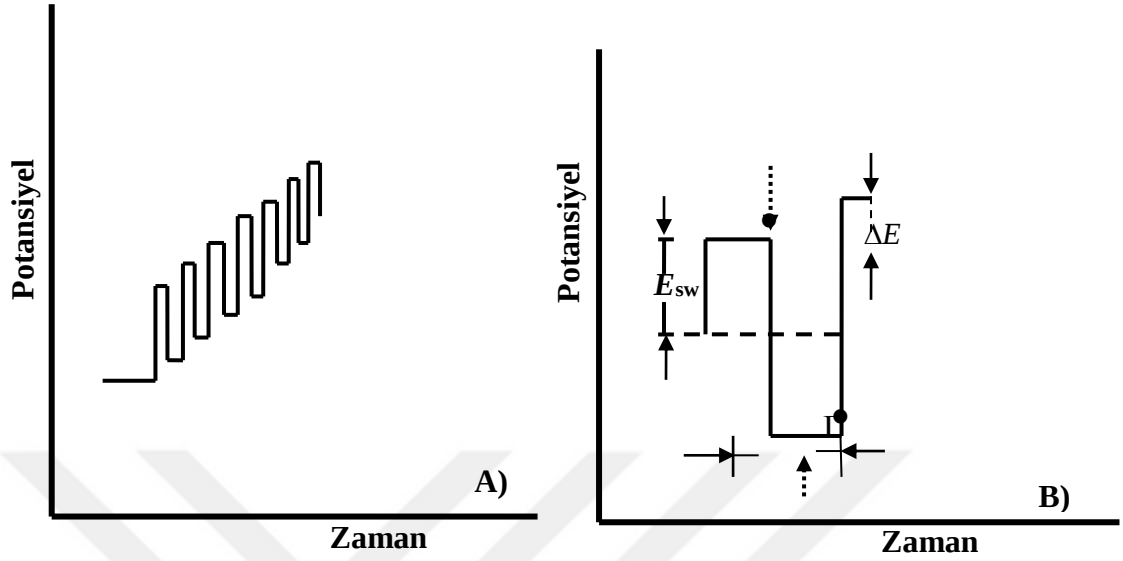
Bu çalışmada kullanılan özel voltametrik teknikler olan KDV ve DV'nin çalışma mekanizması ile ilgili daha detaylı bilgiler sırasıyla aşağıda ele alınmıştır.

2.6.1. Kare-dalga voltametrisi (KDV)

KDV iyi hassasiyet ve kısa analiz süresi gibi özellikleriyle önemli bir elektrokimyasal teknik olarak kabul edilmiştir [84].

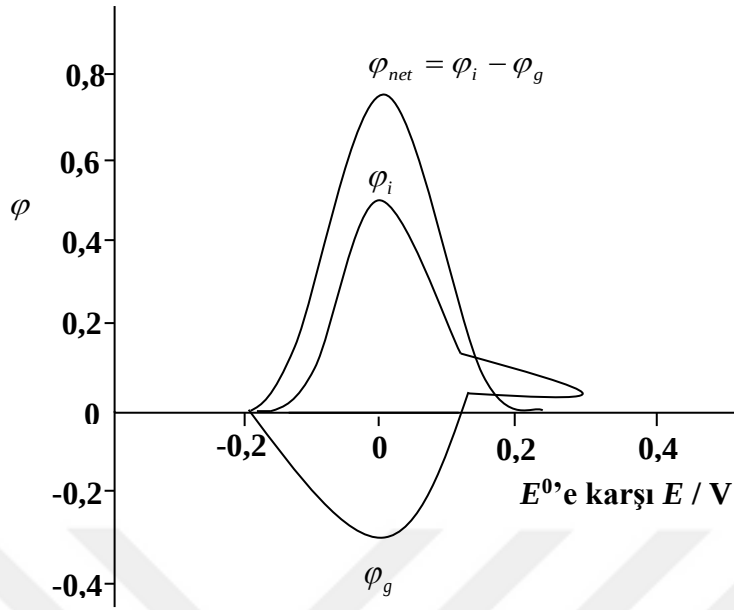
KDV 1957'de ilk rapor edildiğinde damlayan cıva elektrodu (DCE) çalışma elektrodu olarak kullanılmıştır. Bu yeni tekniğin en büyük sınırlaması tüm deney esnasında cıva damlasının yüzey alanının sürekli değişmesi nedeniyle toplanan elektrokimyasal verileri analiz etmek için karmaşık matematiksel modellemeye gereksinim duyması olmuştur. Ancak, daha sonraki yıllarda teknoloji üzerine yapılan gelişmeler, özellikle PAR Model 303A durgun cıva damla elektrodunun (DCDE) kullanımı bu sorunu çözmüştür ve bir cıva damlası üzerinde elektrokimyasal verilerin toplanmasını mümkün hale gelmiştir. Böylece çalışma elektrodu yüzey alanının değişmesi artık olmamıştır ve hem güvenilir hem de tekrarlanabilir elektrokimyasal verilerin kolayca toplanması mümkün hale gelmiştir [85, 86].

KDV'de potansiyel dalga şekli merdiven şeklindedir (Şekil 2.5.(A)). Potansiyel rampasının her adımı, yüksekliği eşit ve zıt yönlendirilmiş iki potansiyel pulstundan oluşmaktadır. KDV'de iki potansiyel pulsu tek potansiyel döngüsünü inşa eder (Şekil 2.5.(B)) ve bu potansiyel döngüsü voltametrik deney esnasında bu merdiven rampasının her adımında tekrarlanır. Tek bir potansiyel pulsunun yüksekliği kare-dalga genliği (E_{sw}) olarak tanımlanır. Merdiven şeklindeki potansiyel rampasının yönüne ilişkin olarak ileri ve geri potansiyel pulsları tanımlanmaktadır. Tek bir potansiyel döngüsünde, elektrot tepkimesi, aynı zamanda anodik ve katodik her iki yönde gerçekleştirilmektedir. Voltametrik deneyin kritik zamanı tek bir potansiyel döngüsünün süresi (Γ), ya da tek bir potansiyel pulsunun süresi ($S_p = \Gamma/2$) ile ifade edilir. Voltametrik veriler t , S_p ya da potansiyel modülasyon frekansı $f=1/t$ cinsinden ifade edilmektedir [86].



Şekil 2.5. KDV’de uygulanan basamaklı potansiyel dalga şekli (A) ve örnek bir potansiyel dalgası (B)

KDV’de akım örnekleme her bir potansiyel pulsunun sonunda gerçekleşir. Net akım sırasıyla ileri (i) ve geri (g) akımlardan oluşur. Hem ileri ve hem de geri bileşenler merdiven rampalı potansiyele karşı çizilir ve bir potansiyel döngüsü her potansiyel adımı için tahsis edilen iki akım değeri ve iki komşu pulsun potansiyelinden oluşur. Net akım değeri tek bir potansiyel pulsunun ileri ve geri akımlarının çıkarılmasıyla hesaplanır. Her potansiyel döngüsüne karşılık gelen net akımlar KDV voltamogramının net bileşenini oluşturur (Şekil 2.6.). Ancak, KDV analizlerinde potansiyel döngüleri arasında difüzyon tabakası yenilenemediğinden her bir döngüyü ayrı-ayrı gözlemlemek mümkün değildir [84, 86].



Şekil 2.6. KDV’de ileri (anodik), geri (katodik) ve net bileşenden oluşan akım cevabı

Birçok elektrot tepkimesinde net kare-dalga bileşeninin çan şeklindeki eğrisi onun yerinin ve yüksekliğinin hassas belirlenmesine müsaade etmektedir. Bu arada, ileri ve geri akımların çıkarılması yaklaşımı kalan yüklenme akımının bertaraf edilmesine katkıda bulunur ve deneysel toplanmış net kare-dalga voltamogramının geliştirilmiş hassasiyeti ve doğruluğunun nedenlerinden biri olduğu kabul edilir [85].

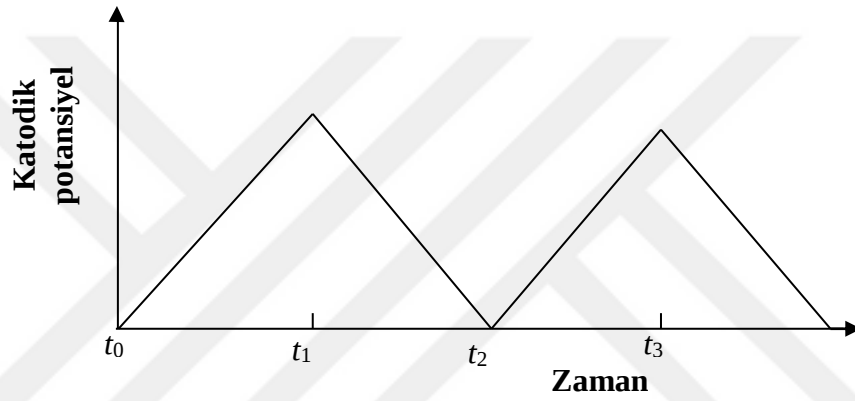
KDV’de kullanılan frekanslar alışlageldik biçimde yaklaşık 1 ile 120 Hz arasında değişir. Bu frekans aralığı kare-dalga deneylerinin diğer puls tekniklerine göre 100 kat daha hızlı olmasını sağlar [86].

2.6.2. Dönüşümlü voltametri (DV)

DV elektrokimyasal tepkimeler hakkında nitel bilgi elde etmek için yaygın kullanılan tekniklerden birisidir. DV bir çalışma elektrodu potansiyelinin döngü yapılmasıyla ve elde edilen akımın ölçülmesiyle gerçekleştirilir [76].

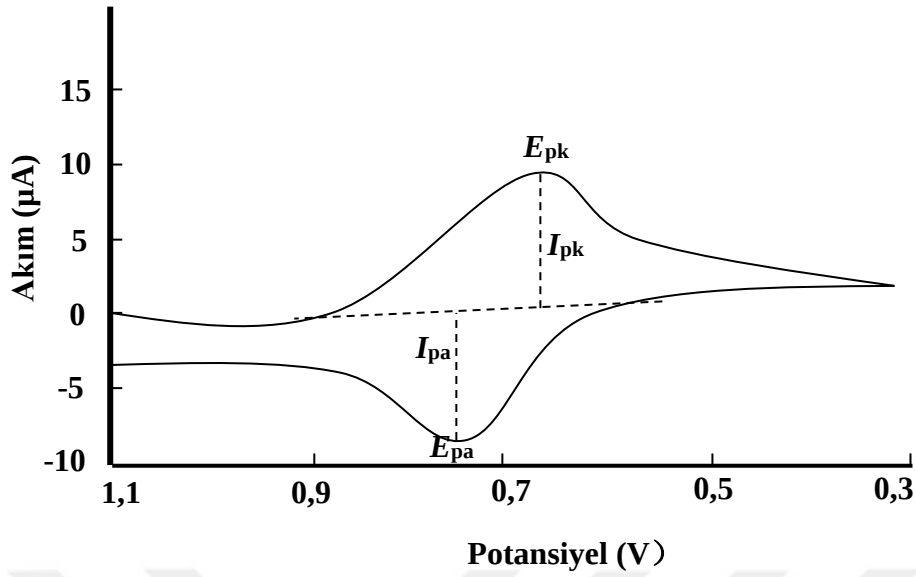
DV’de elektrot potansiyeli rampaları döngüsel aşamalarda zamana karşı doğrusaldır (Şekil 2.7.). DV’de tarama hızı (V/s) uygulanan potansiyele karşı akım grafiğinin çizilmesini sağlayan verilerin toplandığı bu aşamaların herbirinde zamana

karşı potansiyel değişim oranı olarak tanımlanır. Şekil 2.7.'de görüldüğü gibi, başlangıç ileri yönlü taramada esnasında (t_0 'dan t_1 'e) giderek artan bir indirgeme potansiyeli uygulanır. Böylece indirgenebilir maddelerin olduğunu gösteren katodik akım da zaman periyodu içinde artar. Eğer indirgenebilir madde tersinir (geri-dönüşümlü) ise indirgenmiş madde ters (zıt) taramada (t_1 'den t_2 'ye) tekrar yükseltgenmeye başlayacak ve zıt kutuplu bir akımın (anodik akımın) oluşmasına neden olacaktır. İndirgenme ve yükseltgenme piklerinin benzerliği redoks ajanının tersinirliğine bağlıdır. Bu durum DV verilerinin elektrokimyasal tepkime hızları ve redoks potansiyelleri hakkında bilgi sayılabılmesinin nedenidir [78].



Şekil 2.7. DV'de uygulanan dalga şekli

Tersinir bir elektrot tepkimesi için CV dalgası Şekil 2.8.'de gösterilmiştir. Kutuplaşma (polarizasyon) ve difüzyon etkileri dikkate alındığı zaman tersinir işlemlerin dalga şekilleri daha karmaşık olmaktadır. Şekil 2.8.'de I_{pa} ve I_{pk} sırasıyla anodik ve katodik pik akımlarıdır. E_{pa} ve E_{pk} ise sırasıyla anodik ve katodik pik potansiyelleri olarak tanımlanır. Bu iki pik potansiyeli arasındaki fark olan ΔE_p ise $\Delta E_p = E_{pk} - E_{pa}$ şeklinde hesaplanır [78].



Şekil 2.8. Tersinir bir işlem için örnek dönüşümlü voltamogram

İki pik potansiyeli arasındaki bu değişim analiz edilen maddenin difüzyon hızları etkilerinden kaynaklanmaktadır. Örneğin, tersinir ajanların ideal durumunda, ΔE_p değeri 59 mV'tur. Ancak, deneysel değerler genelde ideal değerden daha büyük olup 70 veya 80 mV'a yaklaşır. Üstelik, elektron transferi CV'de dalga biçimini etkileyen diğer bir ana faktör olarak da kabul edilmiştir. İdeal bir sistemde n elektronlu bir işlem için ΔE_p arasındaki bağıntısı $E_{pa} - E_{pk} = \frac{56,5mV}{n}$ şeklinde yazılabilir.

Akım değerleri olarak, tersinir çift $I_{pa}/I_{pk} = 1$ eşitliği ile karakterize edilir [87]. Ancak, tersinmez işlem için $I_{pa}/I_{pk} \neq 1$ 'dir. Burada en büyük sebep elektron transferinin tersinir olmamasıdır. Böylece, tersinmez işlemler tersinir karşılıklarına göre oldukça farklı davranış sergilemektedirler [88].

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Bu tez çalışmasının deneylerinde kullanılan kimyasal maddeler Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler

<i>Kimyasal madde</i>	<i>Üretici Firma</i>
LEVOF (Hemihidrat)	Nealand
L-RSH (C ₃ H ₇ NO ₂ S)	Merck
Çinko sülfat (ZnSO ₄ ·5H ₂ O)	Merck
Kadmiyum nitrat (Cd(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O)	Merck
Asetik asit (CH ₃ COOH)	Merck
Borik asit (H ₃ BO ₃)	Merck
Fosforik asit (H ₃ PO ₄)	Merck
Sodyum hidroksit (NaOH)	Merck
Nitrik asit (HNO ₃)	Merck

3.1.2. Tampon ve çözeltiler

a. Asetik asit çözeltisinin hazırlanışı

0,5 M Asetik asit: 7 mL CH₃COOH (99,8% a/a; 1 L=1,05 kg) alınarak ultra saf su ile toplam hacim 250 mL’ye tamamlanmıştır.

b. Fosforik asit çözeltisinin hazırlanışı

0,5 M Fosforik asit: 8,4 mL H_3PO_4 (85% a/a; 1 L = 1,71 kg) alınarak ultra saf su ile toplam hacim 250 mL'ye tamamlanmıştır.

c. Borik asit çözeltisinin hazırlanışı

0,5 M Borik asit: 7,73 g H_3BO_3 alınıp ultra saf su ile çözünmesi sağlanarak toplam hacim 250 mL'ye tamamlanmıştır.

d. Sodyum hidroksit çözeltisinin hazırlanışı

0,5 M Sodyum hidroksit: 5 g NaOH ultra saf su ile çözülerek toplam hacim 250 mL'ye tamamlanmıştır.

e. Britton-Robinson (B-R) tampon çözeltisinin (destek elektrolit) hazırlanışı

0,5 M asetik asit, 0,5 M fosforik asit ve 0,5 M borik asit çözeltilerinin herbirinden 20 mL alınmış ve ultra saf su eklenerek toplam hacim 250 mL'ye tamamlanmıştır. İstenilen pH değeri ise bu karışıma uygun hacimlerde 0,5 M NaOH çözeltisi eklenerek elde edilmiştir.

f. LEVOF çözeltisinin hazırlanışı

1×10^{-3} M LEVOF çözeltisi: 0,037 g LEVOF ultra saf su ile çözülerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlanmıştır.

g. RSH çözeltisinin hazırlanışı

1×10^{-3} M RSH çözeltisi: 0,012 g RSH ultra saf su ile çözülerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlanmıştır.

h. Cd^{2+} ve Zn^{2+} iyonu çözeltilerinin hazırlanışı

1×10^{-3} M Cd^{2+} ve 1×10^{-3} M Zn^{2+} iyonu çözeltileri $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ ve $ZnSO_4 \cdot 5H_2O$ katılarından uygun miktarlarda tartılıp alınan maddelerin ultra saf su da çözülerek toplam hacim 100 mL'ye tamamlanmıştır.

3.2. Kullanılan Cihazlar

Voltametrik ölçümler ECDSOFT programı [89] ihtiva eden bir dizüstü bilgisayar tarafından kontrol edilen ve aynı zamanda EG&G PARC Model 303A SMDE üç elektrotlu elektrokimyasal sistem ile bağlantılı EG&GPAR Model 384B polarografik analizörü kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Üç elektrotlu sistemde referans (karşılaştırma) elektrot olarak $Ag|AgCl|KCl_{doygun}$, karşıt (yardımcı) elektrot olarak pilatin tel ve çalışma elektrodu olarak asılı cıva damla elektrodu (ACDE) kullanılmıştır. Voltamogramlar polarografik analizöre bağlı olan bilgisayarda ECDSOFT programı ile görüntülenmiştir. UV-GB spektrumları Thermo Scientific

Evolution Array EA-1301005 UV-Vis spektrofotometresinde kuartz hücreler (1 cm) kullanılarak alınmıştır. IR spektrumları ise Bruker Vertex 80v FT-IR spektrometresi ile alınmıştır. pH ölçümleri Jenway 3010 pH-metresi ile gerçekleştirilmiştir. Ultra saf su (öz direnci = 18,2 MΩ cm) MP MINIPURE Dest Up su saflaştırma sisteminden elde edilmiştir.

3.3. Yöntemler

3.3.1. Elektrokimyasal ölçümler

3.3.1.1. KDV çalışmaları

KDV deneyleri için deneysel koşullar Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. KDV için deneysel koşullar

Denge süresi	5 s
Damla büyüklüğü	orta (0,0154 cm ²)
Potansiyel tarama artışı	2 mV
Puls yüksekliği	20 mV
Potansiyel tarama hızı	200 mV/s
Frekans	100 Hz
Damla modu	Asılı cıva damla elektrodu (ACDE)

Tüm kare-dalga voltametrisi deneyleri oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

a. LEVOF’un RSH ile etkileşimi

Bu voltametrik ölçümde, B-R tampon çözeltisinin (pH 7,4) 10 mL’si elektrokimyasal hücreye konularak içerisinden 5 dk saf N₂ gazı geçirilmiştir. Böylece destek elektrolit çözeltisi içindeki çözünmüş olan oksijen uzaklaştırılmıştır. Sonra destek elektrolit çözeltisinin kare-dalga voltamogramı Çizelge 3.2.’deki deneysel şartlarda ve -0,05 V ile -1,80 V aralığında potansiyel taraması yapılarak alınmıştır. Bu işlem sonrası RSH ve LEVOF stok çözeltilerinin uygun miktarları bir mikropipet yardımıyla destek elektrolit çözeltisine eklenerek bu maddelerin ayrı ayrı kare-dalga

voltamogramları kaydedilmiştir. Son olarak, farklı derişimlerde LEVOF içeren elektrokimyasal hücrede aynı şartlarda RSH'ın kare-dalga voltamogramları elde edilmiştir. Artan LEVOF derişimi ile cıva elektrotta RSH'ın ana pik akımı ve potansiyeli takip edilmiştir.

b. LEVOF ve RSH'nın Cd^{2+} ve Zn^{2+} iyonları ile etkileşimleri

LEVOF'un RSH ile etkileşimi için uygulanan yaklaşım (Bölüm 3.3.1.1.a) LEVOF ve RSH'nın Cd^{2+} ve Zn^{2+} iyonları ile etkileşimlerini incelemek için de uygulanmıştır. Aynı deneysel şartlar altında destek elektrolitin kare-dalga voltamogramı alındıktan sonra, elektrokimyasal hücreye Cd^{2+} veya Zn^{2+} stok çözeltilerinden mikropipet yardımıyla belirli miktarlarda eklenerek bu metal iyonlarının voltamogramları azot atmosferi altında alınmıştır. Daha sonra aynı destek elektrolitte ve aynı şartlar altında farklı LEVOF ve/veya RSH derişimlerinin varlığında belirli bir miktardaki Cd^{2+} veya Zn^{2+} 'nin voltamogramları elde edilmiştir. Artan LEVOF veya RSH derişimi ile cıva elektrotta Cd^{2+} veya Zn^{2+} 'nin pik akımları ve potansiyelleri takip edilmiştir.

c. Metal iyonları varlığında LEVOF'un RSH ile etkileşimi

Bölüm 3.3.1.1.b'de anlatıldığı gibi azot atmosferi altında incelenilen metal iyonları ile RSH komplekslerinin voltamogramları kaydedildikten sonra, metal iyonu (Cd^{2+} veya Zn^{2+}) içeren RSH karışımına LEVOF çözeltisi eklenerek elde edilen yeni karışımların voltamogramları alınarak yeni değişikliklerin olup olmadığı gözlenmiştir.

3.3.1.2. DV çalışmaları

DV ölçümleri B-R tamponu çözeltisinde (pH 7,4) incelenilen maddelerin (LEVOF, RSH, Zn^{2+} ve Cd^{2+}) elektrot işlemlerinin tersinirlik testleri için gerçekleştirilmiştir.

DV deneyleri için deneysel koşullar ise Çizelge 3.2’de belirtilmiştir.

Çizelge 3.3. DV için deneysel koşullar

Denge süresi	5 s
Damla büyüklüğü	orta (0,0154 cm ²)
Potansiyel tarama artışı	4 mV
Potansiyel tarama hızı	500 mV/s
Damla modu	ACDE

Tüm dönüşümlü voltametri deneyleri oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

3.3.2. UV-GB spektroskopisi çalışmaları

İlk önce, RSH ve LEVOF’un B-R tamponu çözeltisinde (pH 7,4) elektronik spektrumları birbirinden bağımsız olarak kaydedilmiştir. Daha sonra, LEVOF derişiminin 1×10^{-4} M’da sabit tutulduğu LEVOF çözeltisine $2,5 \times 10^{-5}$ - $1,5 \times 10^{-4}$ M aralığında değişen derişimlerde RSH eklenerek UV-GB spektrumundaki değişiklikler özellikle 284 nm’de LEVOF’un absorbansındaki derişimler izlenmiştir. Spektroskopik ölçümlerin öncesinde tüm karışımlar homojenliği sağlamak için çalkanmış ve oda sıcaklığında 15 dk bekletilmiştir. B-R tamponu çözelti (pH 7,4) blank olarak kullanılmıştır.

3.3.3. Kızıl ötesi (IR) spektroskopisi çalışmaları

Sırasıyla RSH, LEVOF ve uygun miktarlarda RSH ve LEVOF’nin (1:1 molar oranda) denge karışımını içeren üç örnek çözelti B-R tamponunda (pH 7,4) hazırlanmıştır. Bu üç çözeltideki çözücü buharlaşma ile uzaklaştırılmasından elde edilen katılar (konsantre örnekler) IR spektroskopisi ölçümleri için kullanılmıştır.



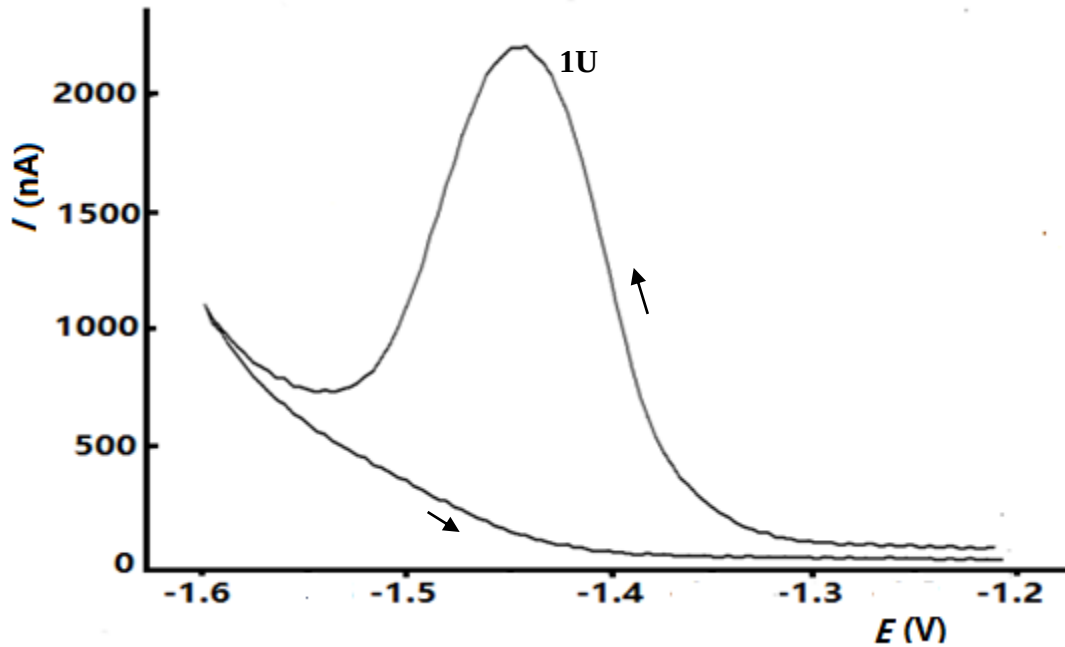
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Cd^{2+} ve Zn^{2+} iyonlarının varlığında ve yokluğunda LEVOF'nin RSH ile etkileşiminin voltametrik ve spektroskopik davranışları voltametrik ve spektroskopik teknikler (KDV, DV, UV-GB ve IR) kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen deneysel sonuçlar aşağıda verilen başlıklar altında tartışılmıştır.

4.1. LEVOF, RSH ve Metal İyonlarının (Cd^{2+} , Zn^{2+}) Voltametrik Davranışları

4.1.1. DV çalışmaları

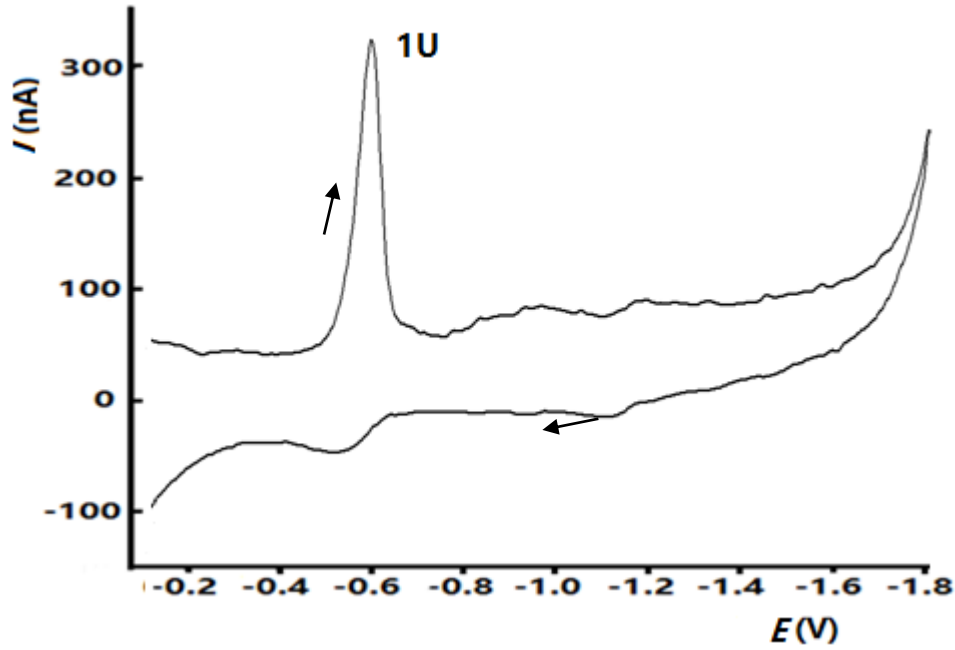
Bölüm 3.3.1.2.'de belirtildiği gibi B-R tamponunda (pH 7,4) uygun derişimlerde LEVOF, RSH, Cd^{2+} ve Zn^{2+} çözeltilerinin dönüşümlü voltamogramları alınmıştır. Elde edilen voltamogramlar sırasıyla Şekil 4.1., Şekil 4. 2., Şekil 4.3. ve Şekil 4.4.'de verilmiştir.



Şekil 4.1. $1,96 \times 10^{-5}$ M LEVOF'un B-R tamponu pH 7,4'de alınan dönüşümlü voltamogramı. 1U, LEVOF molekülündeki karbonil grubunun indirgenme piki

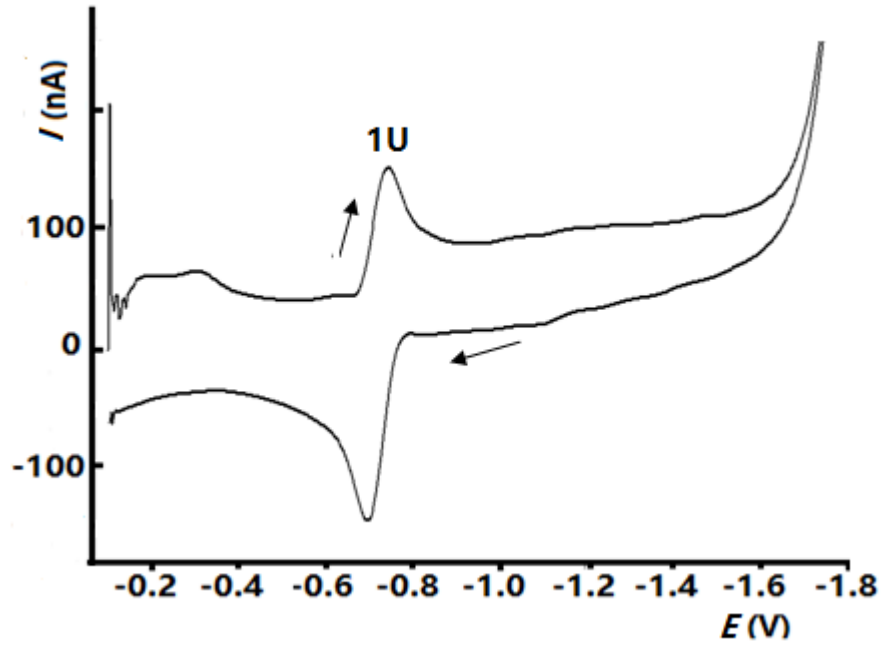
LEVOF aynı zamanda kimyasal molekül yapısına göre cıva elektrotta indirgenebilir bir karbonil grubu ihtiva eden elektrokimyasal olarak aktif bir antibiyotiktir. Bu deneysel şartlar altında, $1,96 \times 10^{-5}$ M LEVOF tersinmez (anodik piki yok) ve iyi belirlenmiş bir katodik pike sahiptir (Şekil 4.1.).

Diğer taraftan, $4,95 \times 10^{-6}$ M RSH'nın fizyolojik pH (7,4)'a sahip B-R tamponundaki voltamogramı zayıf adsorpsiyon özelliğine sahip iyi belirlenmiş yarı-tersinir bir elektrot işlemi göstermiştir (Şekil 4.2). Şekil 4.2.'den elde edilen bilgilere göre cıva(I)-sistein tiyolat ($\text{Hg}_2(\text{RS})_2$)'ın elektrot tepkimi için $E_{\text{pa}} - E_{\text{pc}} = 68$ mV ve $I_{\text{pa}} / I_{\text{pc}} = 0,084$ 'dür.

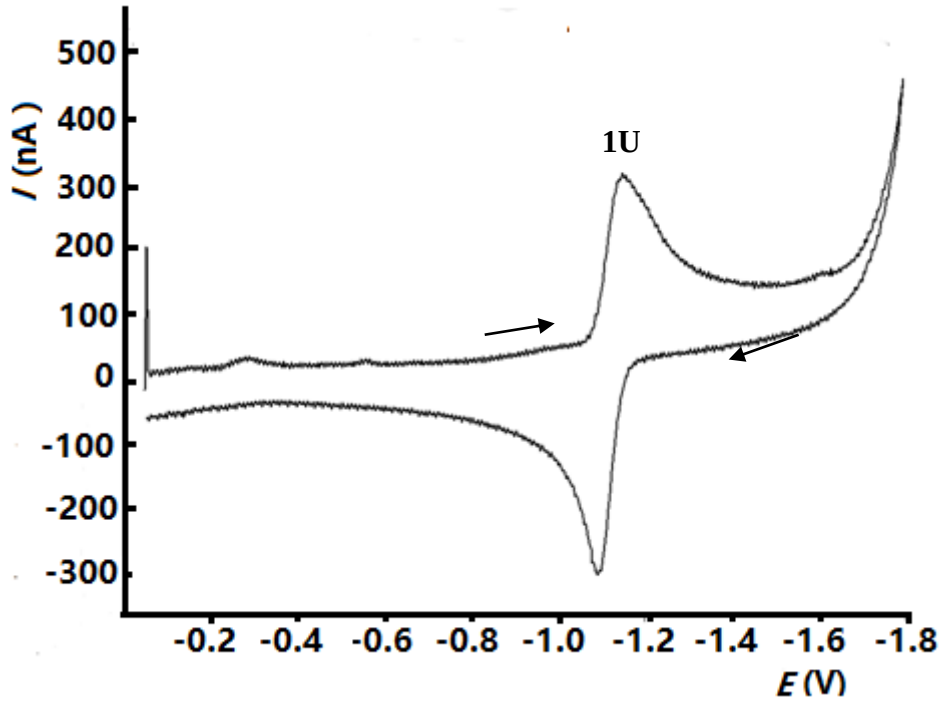


Şekil 4.2. $4,95 \times 10^{-6}$ M RSH'nın B-R tamponu pH 7,4'de alınan dönüşümlü voltamogramı. 1U, cıva(I) sistein tiyolat ($\text{Hg}_2(\text{RS})_2$)'ın indirgenme piki

Sırasıyla $3,96 \times 10^{-5}$ M Cd^{2+} ve $1,96 \times 10^{-5}$ M Zn^{2+} metal iyonları ise incelenilen potansiyel aralığında tersinir birer indirgenme tepkimesine sahiptirler (Şekil 4.3. ve Şekil 4.4.). Cd(II) için Şekil 4.3.'deki verilerden $E_{\text{pa}} - E_{\text{pk}} = 27$ mV ve $I_{\text{pa}} / I_{\text{pc}} = 1,53$ değerleri elde edilmiştir. Zn(II) için Şekil 4.4.'deki verilerden $E_{\text{pa}} - E_{\text{pk}} = 31$ mV ve $I_{\text{pa}} / I_{\text{pk}} = 1,31$ değerleri elde edilmiştir. $E_{\text{pa}} - E_{\text{pk}}$ değerleri metal iyonlarının tersinir $2e^-$ ile indirgenmesine karşılık gelen teorik değer (25 °C'ta 29,6 mV) ile uyumdur.



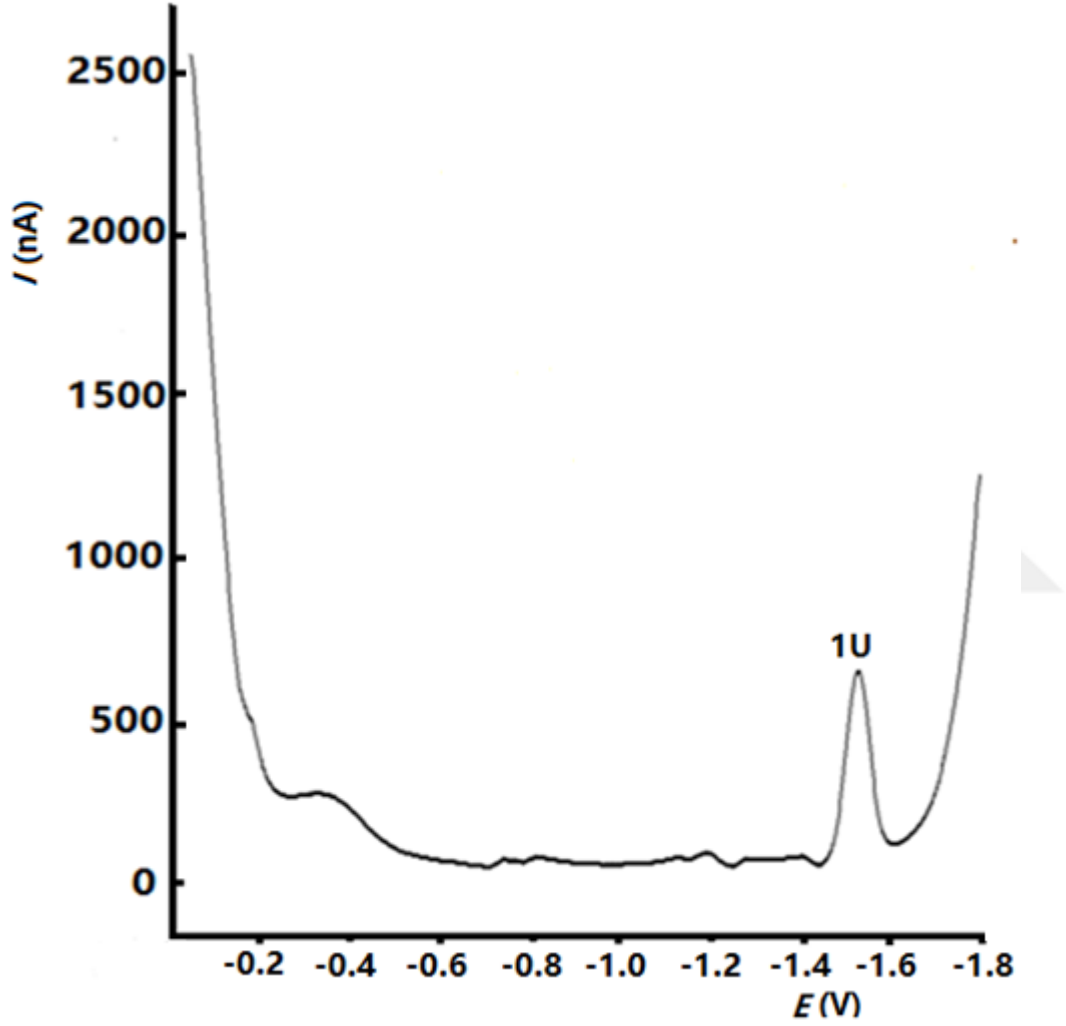
Şekil 4.3. $3,96 \times 10^{-5}$ M Cd^{2+} 'nin B-R tamponu pH 7,4'de alınan dönüşümlü voltamogramı. 1U, Cd^{2+} 'nin $\text{Cd}(\text{Hg})$ 'a indirgenme piki



Şekil 4.4. $1,96 \times 10^{-5}$ M Zn^{2+} 'nin B-R tamponu pH 7,4'de alınan dönüşümlü voltamogramı. 1U, Zn^{2+} 'nin $\text{Zn}(\text{Hg})$ 'a indirgenme piki

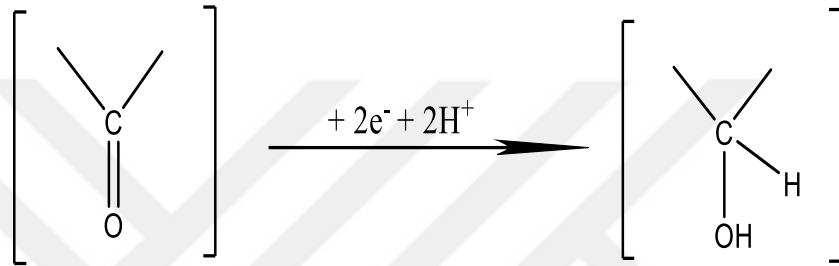
4.1.2. KDV çalışmaları

Yukarıda bahsedildiği gibi, LEVOF'nin voltametrik davranışı KDV tekniği ile de incelenmiştir. LEVOF'nin B-R tamponunda (pH 7,4) elde edilen kare-dalga voltamogramı Şekil 4.5.'de verilmiştir.



Şekil 4.5. $9,9 \times 10^{-6}$ M LEVOF çözeltisinin B-R tamponu pH 7,4'de alınan kare-dalga voltamogramı. 1U, LEVOF molekülündeki karbonil grubunun indirgenme piki

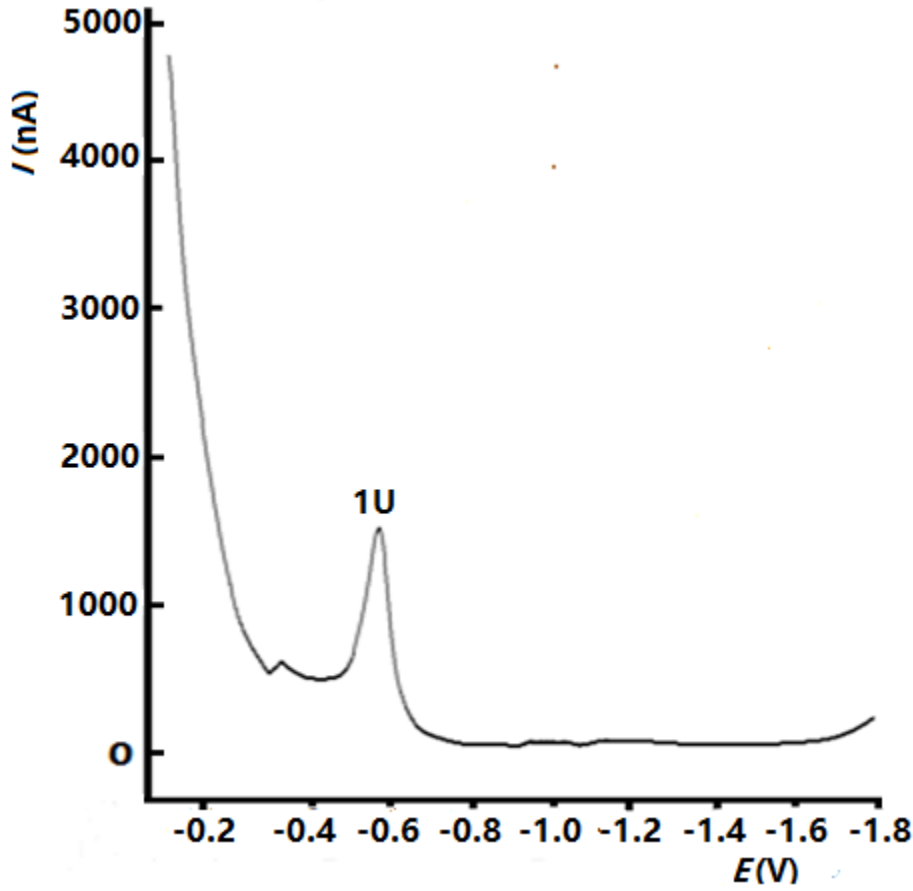
Şekil 4.5.’deki voltamogram LEVOF’un -1,528 V’ta temel bir indirgenme pikine sahip olduğunu göstermektedir. Literatürde LEVOF hakkında birçok elektrokimyasal araştırma bulunmasına rağmen, onun ACDE’deki elektrokimyasal davranışının henüz tam anlamıyla açıklığı kavuşmuş olduğu söylenemez. Geçen yıllarda, onun atası olarak tabir edilen ofloksasin (% 50 LEVOF’dan meydana gelen)’in elektrokimyasal davranışı hakkında bazı önemli çalışmalar türevsel puls polarografisi yardımıyla rapor edilmiştir [90]. Rapor edilen bu çalışmada [90], ofloksasin’in elektrokimyasal aktivitesinin karbonil grubunun indirgenmesinden (Şekil 4.6.) kaynaklandığı bulunmuştur.



Şekil 4.6. Ofloksasin molekülündeki karbonil grubu için indirgenme tepkimesi

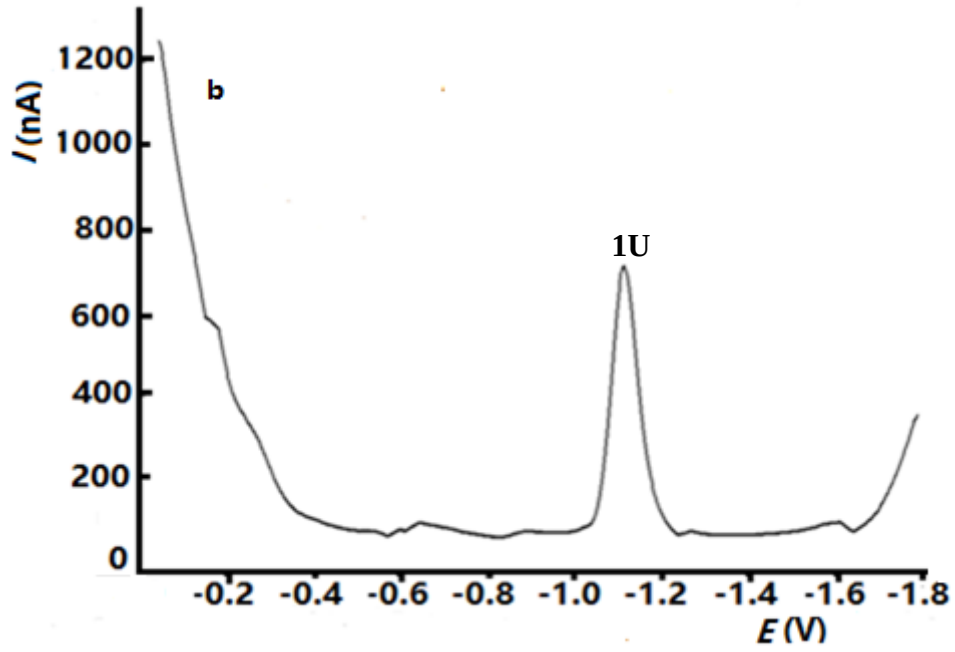
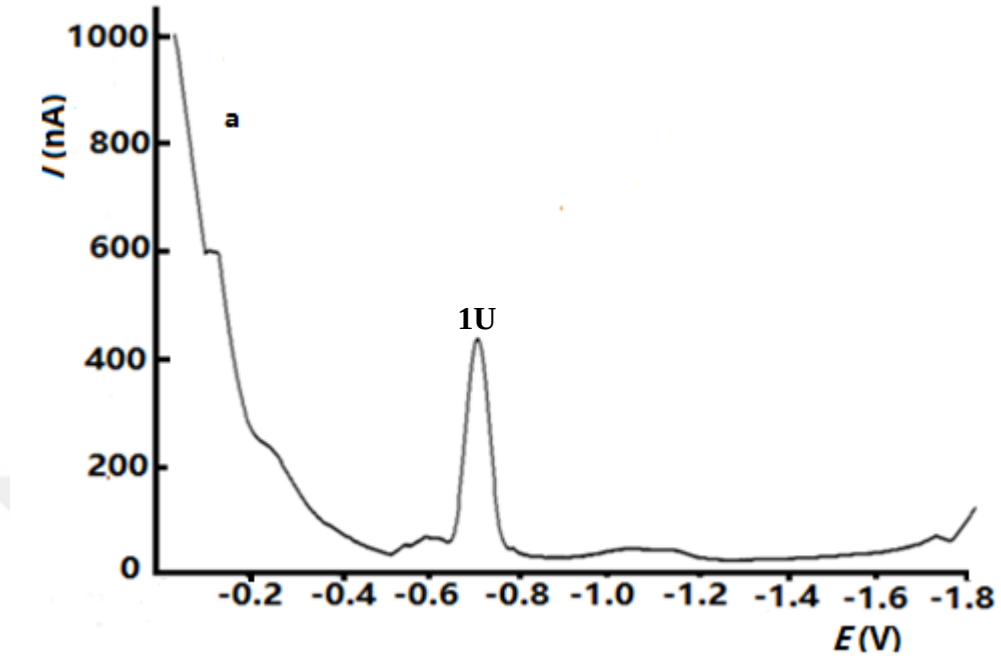
LEVOF ve ofloksasin molekülleri arasındaki çok yakın benzerlikten dolayı, LEVOF’un indirgenme işleminin ofloksasine benzer bir işlem (Şekil 4.6.) izlediği söylenebilir.

LEVOF’un yokluğunda RSH’nın kare-dalga voltamogramı aşağıda Şekil 4.7.’de verilmiştir. $4,95 \times 10^{-6}$ M RSH’nın B-R tamponu pH 7,4’deki kare-dalga voltamogramı $-0,572$ V’ta göze çarpan bir katodik pik (cıva elektrotta her zaman görünen ana pik) sergilemiştir. Zaten, cıva elektrotta RSH’nın anodik tepkimelerinin mekanizması Heyrovský ve ark. [91] tarafından rapor edilmiştir. Bu nedenle, $-0,572$ V’taki pik $\text{Hg}_2(\text{SR})_2$ ’nin indirgenmesine atfedilebilir.



Şekil 4.7. $4,95 \times 10^{-6}$ M RSH çözeltisinin B-R tamponu pH 7,4’de alınan kare-dalga voltamogramı. 1U, $\text{Hg}_2(\text{RS})_2$ ’nin indirgenme piki

$3,96 \times 10^{-5}$ M Cd^{2+} ve $1,96 \times 10^{-5}$ M Zn^{2+} iyonlarının B-R tamponu pH 7,4’de alınan kare-dalga voltamogramları Şekil 4.8.’de verilmiştir. Şekil 4.8.’den görüldüğü gibi, iyonların her ikisi de toplam potansiyel alanı içerisinde birer katodik pik göstermişlerdir. Bu pikler söz konusu metal iyonlarının (M^{2+}) amalgama ($\text{M}(\text{Hg})$) indirgenmesine karşılık gelmektedirler.

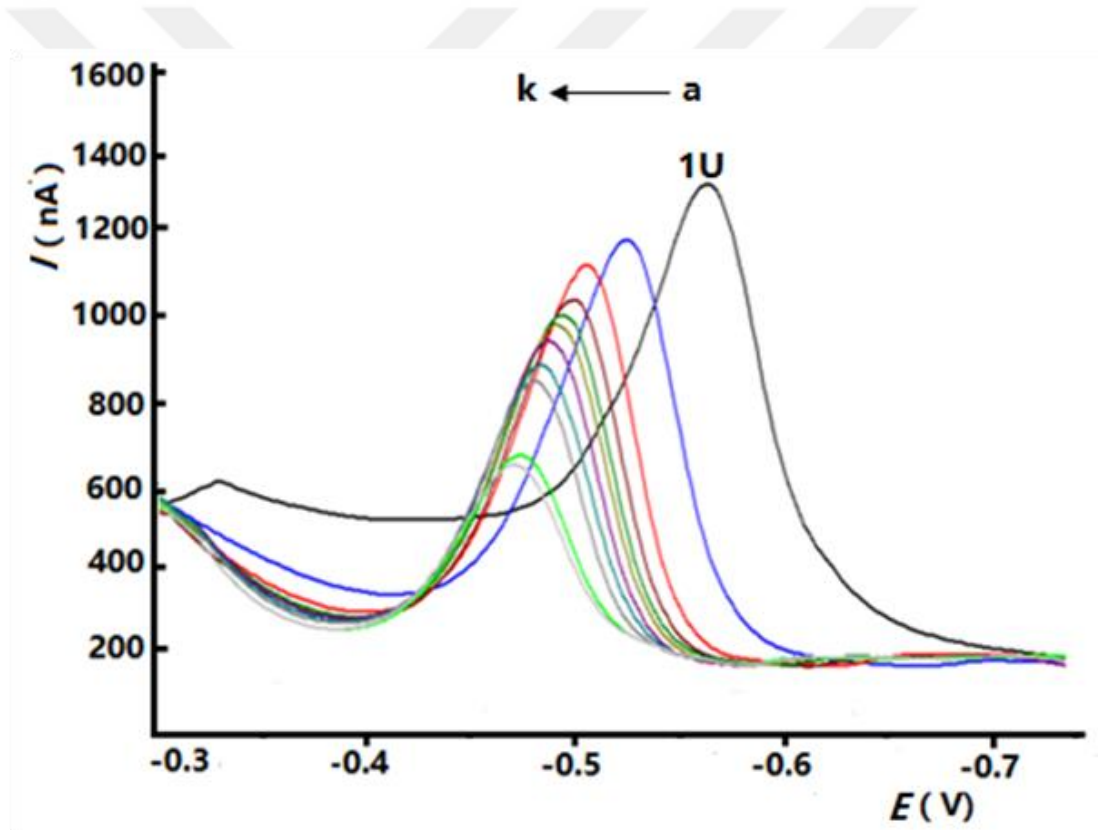


Şekil 4.8. (a) $3,96 \times 10^{-5}$ M Cd^{2+} ve (b) $1,96 \times 10^{-5}$ M Zn^{2+} iyonlarının B-R tamponu pH 7,4’de alınan kare-dalga voltamogramları. 1U incelenilen metal iyonun amalgam’a indirgenme piki

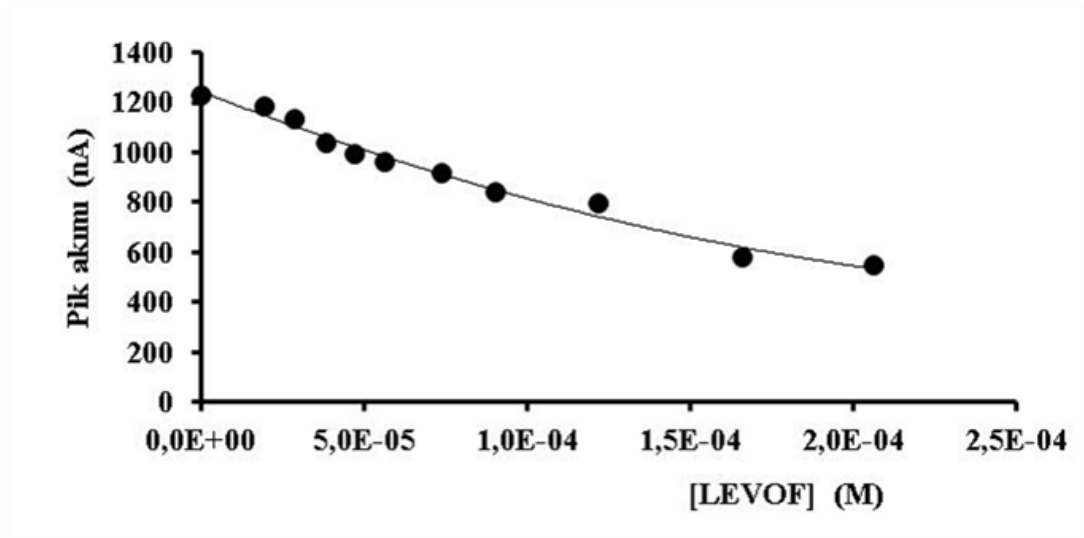
4.2. LEVOF'un RSH ile Etkileşimi

4.2.1. KDV çalışmaları

Bölüm 3.3.1.1.a'da belirtilen yöntemle göre voltametrik çalışmalar gerçekleştirilmiştir. RSH çözeltisine LEVOF eklenmesi $\text{Hg}_2(\text{SR})_2$ 'nin pik akımının azalmasına ve potansiyelinin daha az negatif potansiyellere hafifçe kaydığı gözlenmiştir (Şekil 4.10. 1U). LEVOF derişiminin artması ile $\text{Hg}_2(\text{SR})_2$ 'nin pik akımı sürekli olarak azalmış ve sonunda minumum değere ulaşmıştır (Şekil 4.9 ve Şekil 4.10.).



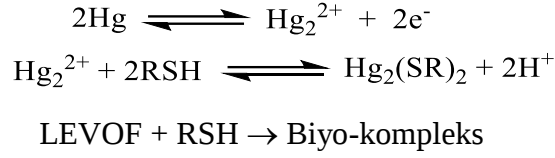
Şekil 4.9. LEVOF'un yokluğunda (a, 1U) ve varlığında ((b) $1,9 \times 10^{-5}$ M, (c) $2,90 \times 10^{-5}$ M, (d) $3,83 \times 10^{-5}$ M, (e) $4,74 \times 10^{-5}$ M, (f) $5,63 \times 10^{-5}$ M, (g) $7,37 \times 10^{-5}$ M, (h) $9,05 \times 10^{-5}$ M, (i) $1,22 \times 10^{-4}$ M, (j) $1,66 \times 10^{-4}$ M ve (k) $2,06 \times 10^{-4}$ M LEVOF, $4,95 \times 10^{-6}$ M RSH'ın B-R tamponu pH 7,4'de alınan kare-dalga voltamogramları. 1U, $\text{Hg}_2(\text{RS})_2$ 'nin indirgenme piki



Şekil 4.10. B-R tamponu pH 7,4’de LEVOF derişimine ([LEVOF]) karşı $Hg_2(SR)_2$ ’nin pik akımının değışimi

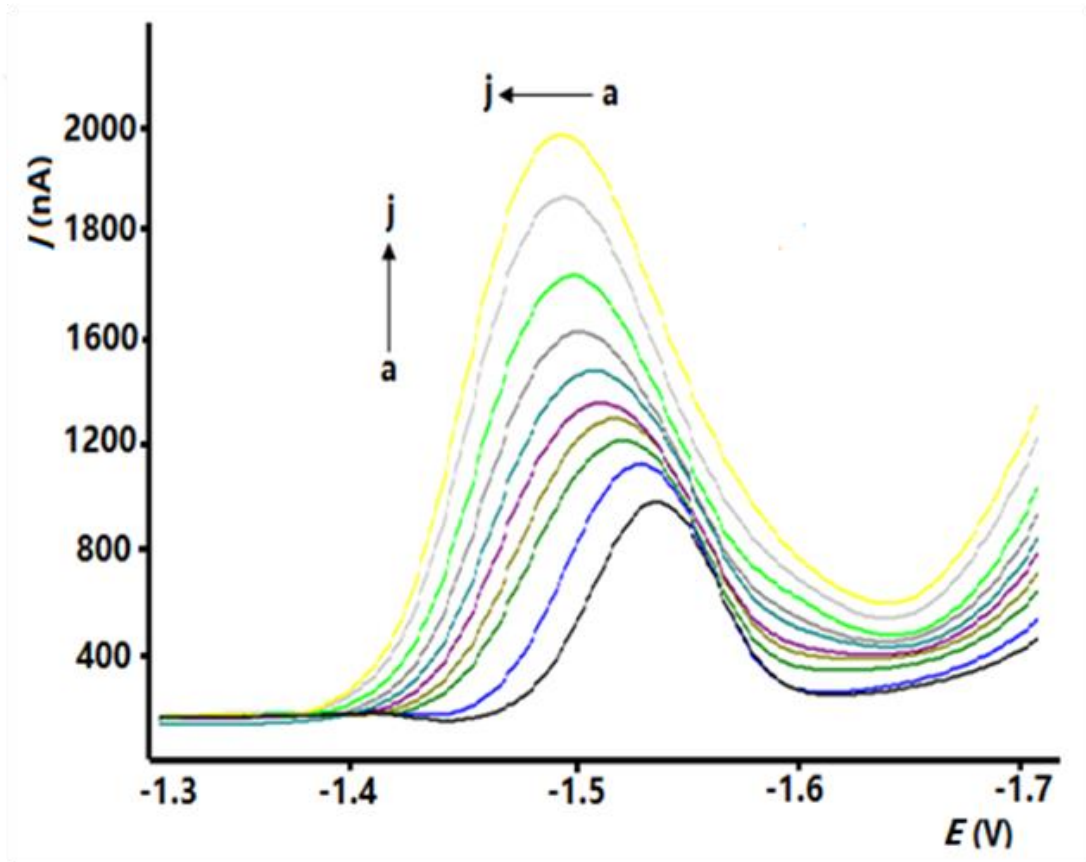
LEVOF’un varlığında $Hg_2(SR)_2$ ’nin voltametrik davranışını novobiyosin [92] ve okzasilin [55] gibi diğer antibiyotiklerin varlığında ki elektrokimyasal davranışa çok benzerdir. LEVOF’un varlığında $Hg_2(SR)_2$ ’nin indirgenme potansiyelindeki pozitif kaymanın yaklaşık 96 mV olduğu tespit edilmiştir. Bu potansiyel kayması çok hızlı takip tepkimeleri için sabit bir tarama hızında beklenen değere (120 mV [61]) oldukça yakındır. Kimyasal tepkime ne kadar hızlı ise, katodik pik potansiyeli de o kadar pozitif olacaktır [37]. Ayrıca, bir tersinir elektron transferini takip eden bir kimyasal tepkime etkisi redoks işlemini kolaylaştırmaktır [61]. Böylece, elektrokimyasal indirgenme pozitif potansiyellere doğru okayar [61]. Ancak, adsorplanabilir bir madde genellikle tersinir bir elektrot tepkimesinin bir inhibitörü olarak davranır ve indirgenme işlemini negatif potansiyellere doğru kaydırır [93].

LEVOF’un varlığında $Hg_2(SR)_2$ ’nin pik akımındaki azalma ve indirgenme potansiyelindeki pozitif kaymaya göre, RSH’nın LEVOF ile bağlanmasını takip eden bir tepkimeden kaynaklanabildiği sonucuna varılabilir. Buna ek olarak, RSH ve LEVOF arasında yeni oluşmuş biyokompleksin sistemdeki serbest RSH miktarının azalmasına neden olduğu sonucu da çıkarılabilir. Bu durumda, Le Chatelier prensibine göre Şekil 4. 11’deki ikinci denge sola doğru hareket eder ve $Hg_2(SR)_2$ ’nin pik akımı azalır.



Şekil 4.11. Hg elektrotta RSH'nın LEVOF ile etkileşimi

Diğer taraftan, RSH'nın varlığında LEVOF'nin temel indirgenme piki de daha az negatif potansiyelde (-1,482 V) görülmüştür. Halbuki, LEVOF derişiminin artması ile LEVOF'un temel pik akımının arttığı belirlenmiştir (Şekil 4.12.).



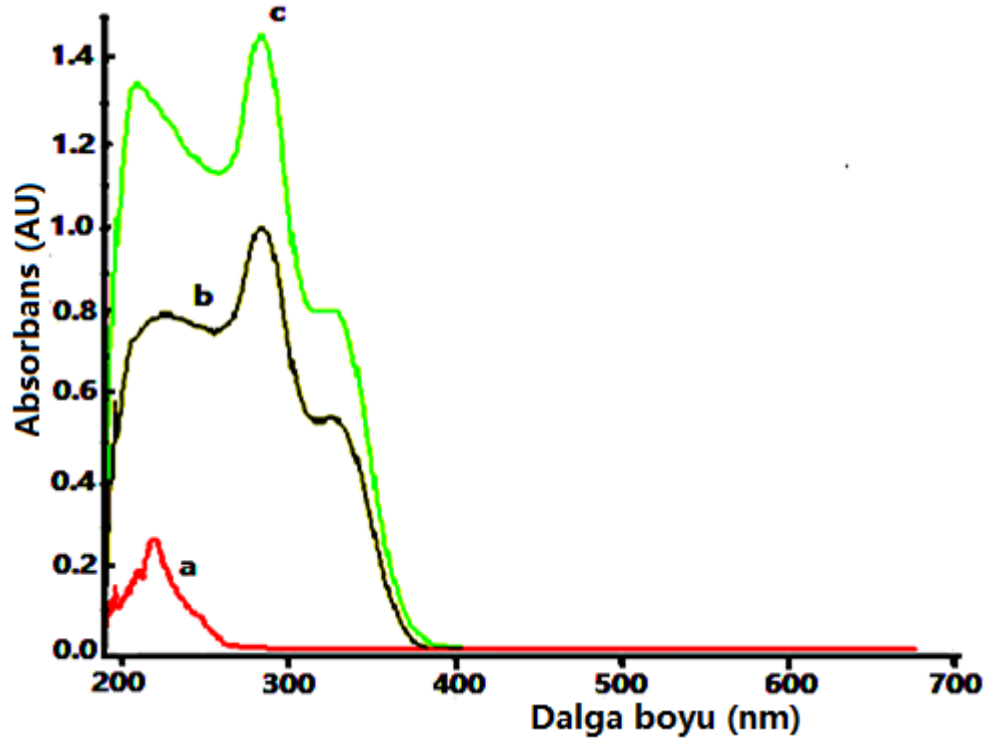
Şekil 4.12. $4,95 \times 10^{-6}$ M RSH'nın varlığında (a) $1,96 \times 10^{-5}$ M, (b) $2,90 \times 10^{-5}$ M, (c) $3,83 \times 10^{-5}$ M, (d) $4,74 \times 10^{-5}$ M, (e) $5,63 \times 10^{-5}$ M, (f) $7,37 \times 10^{-5}$ M, (g) $9,05 \times 10^{-5}$ M, (h) $1,22 \times 10^{-4}$ M, (i) $1,66 \times 10^{-4}$ M ve (j) $2,06 \times 10^{-4}$ M LEVOF'un B-R tamponu pH 7,4'de alınan kare-dalga voltamogramları

Camsı karbon çalışma elektrodu kullanılarak, benzer sonuçlar pH'ı 3 olan sitrik asit çözeltisinde RSH'nın varlığında benzokinon (BQ)'un voltametrik davranışı için gözlenmiştir [59]. BQ-RSH katılma ürünün serbest BQ'nun indirgenme

potansiyelinden (+0,02 V) daha pozitif potansiyelde (+0,24 V) indirgendiği belirtilmiştir [59].

4.3. UV-GB Spektroskopisi Çalışmaları

RSH, LEVOF ve RSH-LEVOF karışımının B-R tamponu pH 7,4’de alınan UV-GB spektrumları Şekil 4.13.’de verilmiştir.



Şekil 4.13. (a) $2,5 \times 10^{-4}$ M RSH, (b) 1×10^{-4} M LEVOF, (c) 1×10^{-4} M RSH ve 1×10^{-4} M LEVOF içeren karışımın (1:1) UV-GB spektrumları

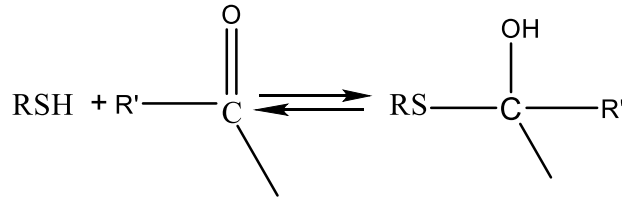
Bu deneysel şartlar altında RSH 220 nm ($\lambda_{\max}$)’de bir maksimum absorpsiyon bandı göstermiştir (Şekil 4.13.a). LEVOF ise 227 ve 330 nm’de iki absorpsiyon bandları ile birlikte 284 nm ($\lambda_{\max}$)’de güçlü bir absorpsiyon sergilemiştir (Şekil 4.13.b). LEVOF’un RSH ile karıştırılması durumunda yeni bir spektrumun (Şekil 4.13.c) ortaya çıkmasıyla birlikte, LEVOF için gözlenen 227, 330 ve 284 nm’deki absorbanslar önemli ölçüde artmıştır (hiperkromik etki). Aynı zamanda, sadece 227 nm’deki absorpsiyon bandı RSH varlığında daha kısa dalga boyuna (202 nm) kaymıştır. Böylece 227 nm’deki absorpsiyon bandı için hiperkromik etki ile birlikte bir hipsokromik kayma (maviye kayma) gözlenmiştir. Yeni spektrumun absorpsiyon

şiddetleri LEVOF ve RSH'nın 190–400 nm aralığındaki absorpsiyon şiddetlerinden çok farklı olması LEVOF ve RSH arasındaki etkileşimden dolayı oluşmuş yeni bir yapının var olduğunu kuvvletlice belirtmektedir. Üstelik, bu çalışmalar LEVOF ve RSH arasındaki etkileşimin sadece cıva elektrot yüzeyinde değil aynı zamanda sulu fazda (çözelti fazında) da oluştuğunu göstermiştir. Benzer sonuçlar RSH'nın novobiyosin antibiyotiği ile etkileşiminde de gözlenmiştir [92].

4.4. IR Spektroskopisi Çalışmaları

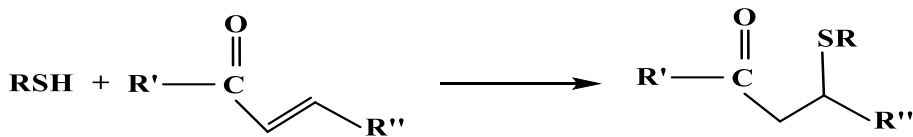
Bu iki molekülün özel bağlanma veya tepkime verme grupları göz önüne alındığında, iki ihtimal olabilir. Bunlardan biri karbonil etkileşimi, diğeri ise Michael-türü katılımadır.

Gustav ve ark. asetaldehit ve diğerkarbonil bileşiklerinin karşılık gelen hemitiyoasetaller ve hemitiyoketaller oluşturmak üzere tiyol katılmasını incelemişlerdir. Bu araştırmacılar katılma tepkimelerinin spesifik baz katalizi ve genel asit katalizi yollarıyla oluştuğunu ve hidrate olmamış karbonil grubunun tepkime veren (reaktif) tür olduğunu rapor etmişlerdir [94]. Bu katılma Şekil 4.14.'de görülmektedir.



Şekil 4.14. Karbonilin tiyol ile etkileşimi

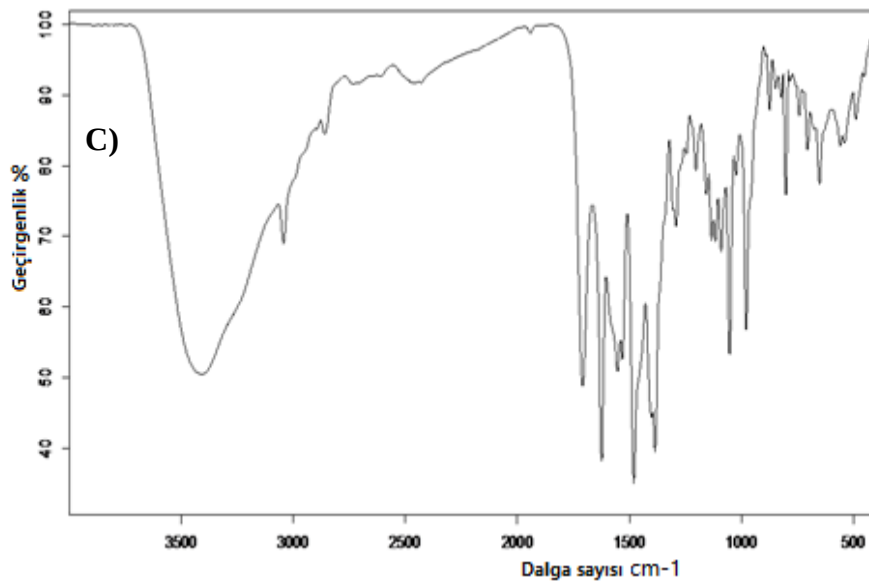
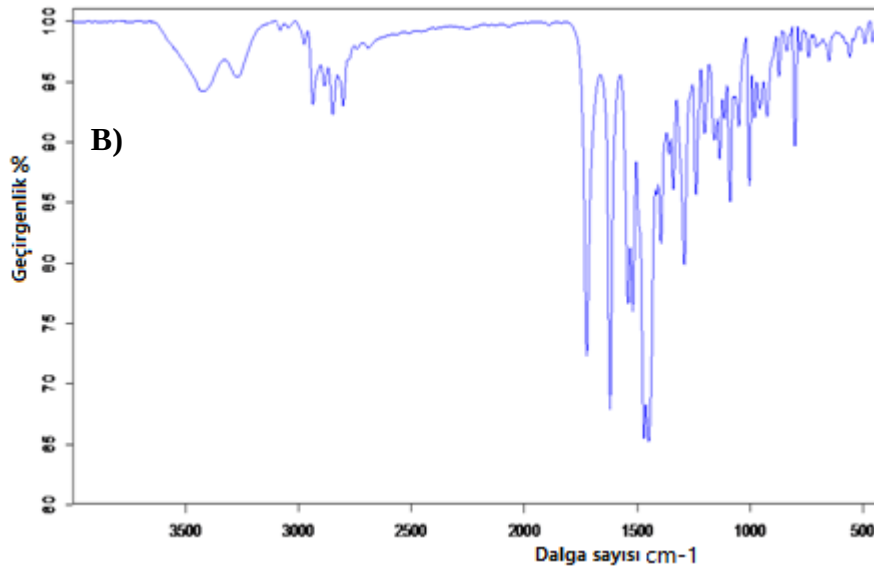
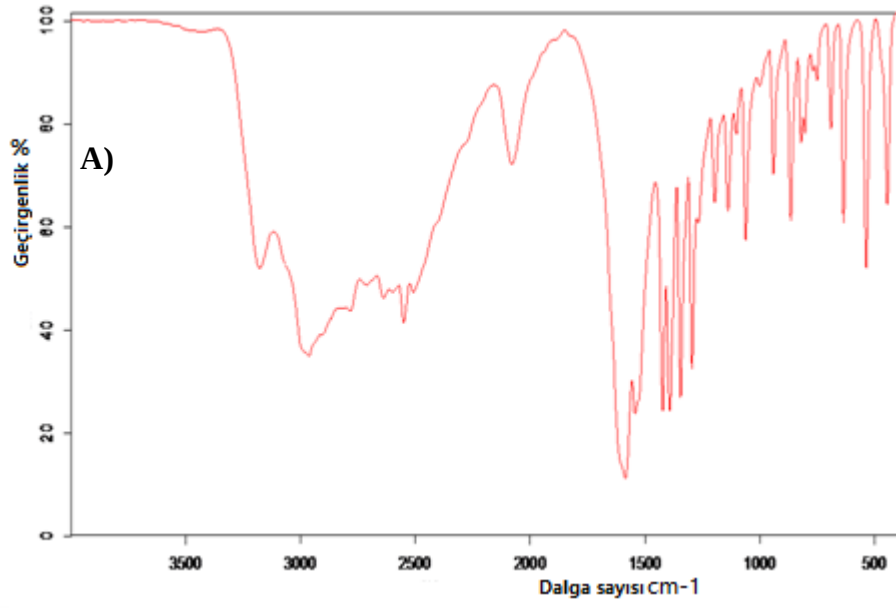
α,β -doymamış karbonil bileşiklerine tiyollerin Michael katılması literatürde rapor edilmiştir [95]. Nükleofillerin elektronca fakirleşmiş alkenlere Michael katılması organik kimyada en önemli tepkimelerinden birisidir [95, 96]. Bu nükleofilik katılma (tiyollerin bir karbon-kükürt bağı oluşturmak üzere tepkimesi) biyolojik aktif maddelerin sentezinde olduğu kadar, biyosentezde de önemli bir tepkime oluşturur [95, 97-99]. Bu katılma Şekil 4.15.'de verilmiştir.



Şekil 4.15. Michael katılması

Şekil 4.12.'den görüldüğü gibi, RSH'nın varlığında daha pozitif potansiyelde (-1,482V) karbonil grubu indirgenmesinin görülmesi RSH'nın LEVOF molekülündeki karbonil grubuna saldırmadığını kanıtlamıştır. Yinede Bölüm 3.3.3.'de anlatıldığı gibi hazırlanan RSH, LEVOF ve LEVOF-RSH (1:1 mol oranında katılması) katılarının IR spektrumları alınmış ve elde edilen bu spektrumlar Şekil 4.16.'da sunulmuştur.



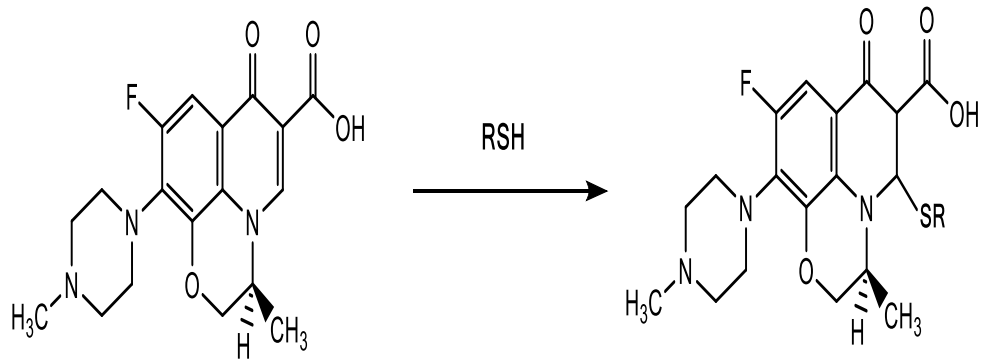


Şekil 4.16. (a) RSH, (b) LEVO ve (c) RSH-LEVO karışımının katı numeleri için IR spektrumları

RSH'nın IR spektrumunda (Şekil 4.16.a), bazı önemli pikler ve onların hangi titreşimlere karşılık geldikleri şöyle verilebilir: 1586 ve 1393 cm^{-1} (asimetrik ve simetrik (COO^-) titreşimleri), 2550 cm^{-1} (S-H gerilmesi), 3177 ve 2963 cm^{-1} (amino grubunun asimetrik ve simetrik titreşimleri) [100]. 3177 ve 2963 cm^{-1} 'deki kuvvetli ve geniş sinyaller RSH molekülünün $-\text{OH}$ ve $-\text{NH}_2$ grupları arasındaki hidrojen bağının kollektif etkisinden kaynaklanabilir [101]. 3428 cm^{-1} 'deki zayıf ve geniş band ise yapıdaki hidrate olmuş su molekülünün varlığını göstermektedir.

LEVOF'un IR spektrumunda (Şekil 4.16.b), gözlenmiş bazı önemli pikler ve onların hangi titreşimlere karşılık geldikleri ise şöyle verilebilir: 1620 ve 1724 cm^{-1} (7-okso- grubunun karbonil gerilmesi ve asit grubunun $\text{C}=\text{O}$ bandı) [102], 2802, 2848 ve 2935 cm^{-1} (alkil gurupları ($-\text{CH}_3$), CH_2 ve aromatik $\text{C}-\text{H}$ asimetrik gerilmesi), 3271 ve 3420 cm^{-1} (karboksil ($-\text{COOH}$) kısmının $\text{O}-\text{H}$ grubu ve $\text{O}-\text{H}$ gerilme titreşimi, moleküllerarası $\text{O}-\text{H}$ bağı) [103, 104], 1292 cm^{-1} ($\text{C}-\text{N}$ gerilmesi) ve 1090 cm^{-1} (flor grubunun $\text{C}-\text{F}$ gerilmesi) [105].

Sulu fazda RSH ve LEVO karışımından (1:1 molar oranda) elde edilen katının IR spektrumunda (Şekil 4.16.c), serbest RSH'nın 2550 cm^{-1} 'deki (Şekil 4.16.a) SH gerilme titreşimi bandı ortadan kaybolmuştur. Bu durum açıkça RSH'nın tiyol bağının bozulduğunu belirtmiştir. Fakat, LEVOF'un 7-okso- grubunun karbonil gerilmesi ve asit grubunun $\text{C}=\text{O}$ bandı küçük kaymalar hariç karışımın IR spektrumunda yine gözlenmiştir. Tepkimenin karbonil grubu vasıtasıyla oluştuğunu gösterebilen önemli ve nitelikli değişiklikler gözlenmemiştir. Karışımın IR spektrumunda 3400 cm^{-1} 'de görünen yeni geniş bir pik numunenin neminden kaynaklanmaktadır. Elde edilen bulguların sonucu olarak RSH'ın LEVOF ile LEVOF'un karbonil gubu vasıtasıyla değil, Michael-türü katılmaya (Şekil 4.17.) göre etkileştiği söylenebilir



Şekil 4.17. LEVOF'un RSH ile etkileşimi için Micheal katılması

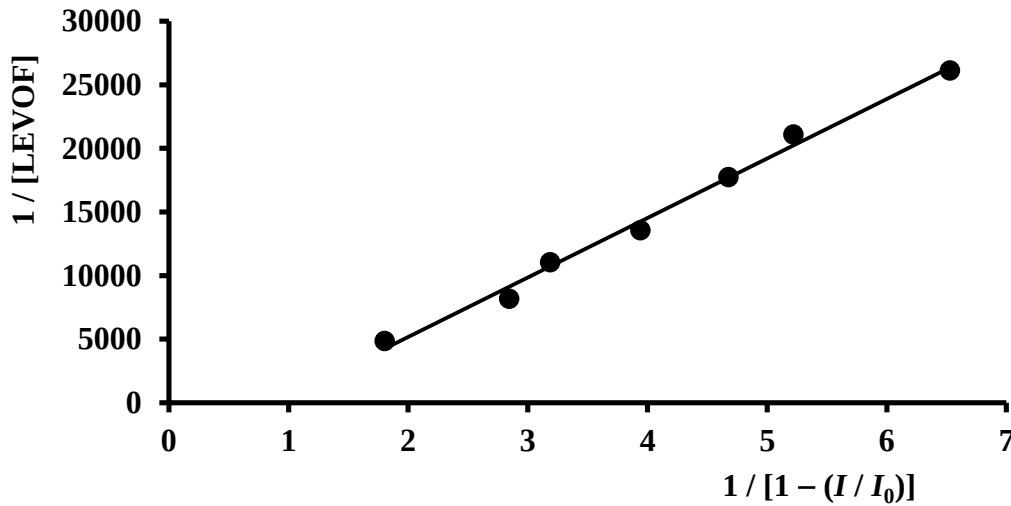
4.5. Biyokompleksin Bağlanma Sabitinin Hesaplanması

RSH ve LEVOF 'un moleküler yapıları göz önünde tutulursa, RSH'nın LEVOF ile sadece RSH-LEVOF şeklinde tek bir kompleks oluşturarak etkileştiği farzedilebilir. Böylece, bu iki molekül arasındaki bağlanma sabiti aşağıda tanımlanmış amperometrik titrasyon eşitliğinden (4.1.) elde edilebilir [106].

$$\frac{1}{[LEVOF]} = K_o \frac{(1 - A)}{(1 - I / I_0)} - K_o \quad (4.1)$$

Eşitlik 4.1.'de K_o kompleks oluşum sabitidir. I ve I_0 sırasıyla LEVOF'un varlığındaki ve yokluğundaki pik akımlarıdır. $[LEVOF]$ LEVOF'un molar derişimi olup, A ise bir sabittir. Eşitlik 4.1.'in kullanımı için koşul, bir 1:1 birleşme kompleksinin oluşması ve LEVOF derişimlerinin RSH'nın toplam derişiminden daha büyük olmasıdır.

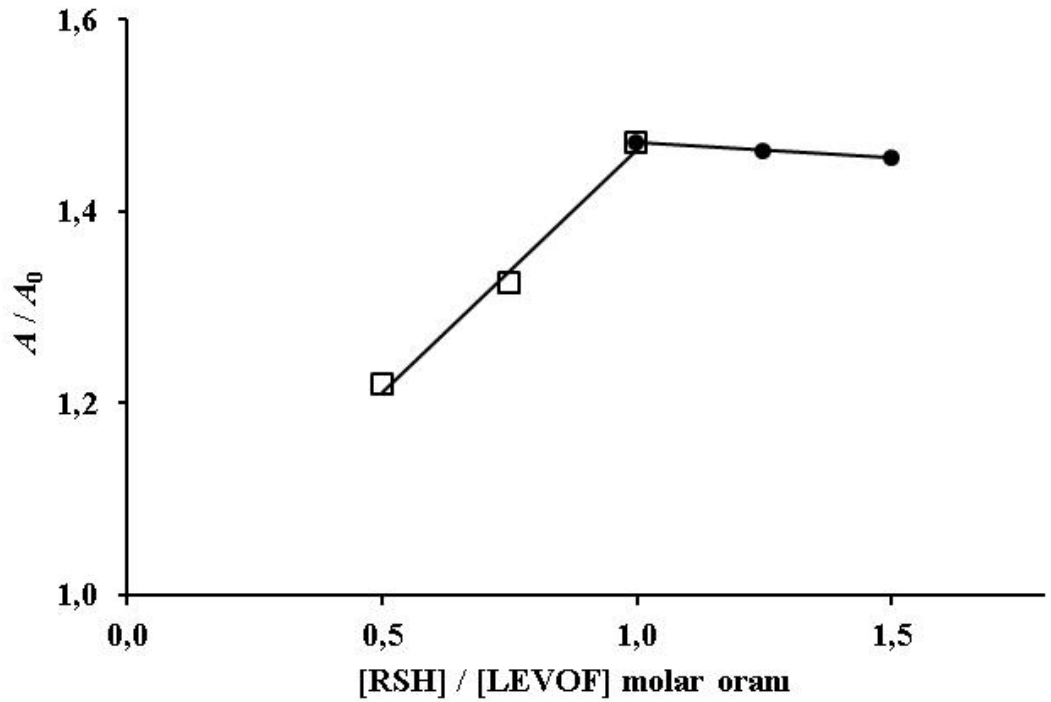
Elde edilen deneysel veriler kullanılarak $1/[1 - (I/I_0)]$ 'a karşı çizilen $1/[LEVOF]$ grafiğinin (Şekil 4. 18.) bir doğrusal bağıntı vermesi LEVOF ve RSH arasında 1:1 birleşme kompleksinin oluştuğunu göstermiştir. Bu doğrusal bağıntının eşitliği ve kompleks oluşum sabiti Çizelge 4.1.'de verilmiştir.



Şekil 4.18. $1/[1 - (I/I_0)]$ 'e karşı $1/[LEVOF]$ 'un grafiği

Diğer taraftan, RSH-LEVOF kompleksinin stokiyometrisi ve bağlanma sabiti bu sistemin elektronik spektroskopi verilerinden de belirlenmiştir. Bağlanma sabitinin belirlenmesi için 284 nm’deki band ($\lambda_{\max}$, Şekil 4. 13.) seçilmiştir.

Artan RSH miktarı ile 284 nm’deki bağıl absorbans oranı (A/A_0) 1,0’lık molar orana kadar artmıştır ve sonra hemen hemen değişmemiştir (Şekil 4.19.). Şekil 4.19.’a göre, oluşmuş moleküler kompleksin stokiyometrisinin 1:1 olduğu da söylenebilir.



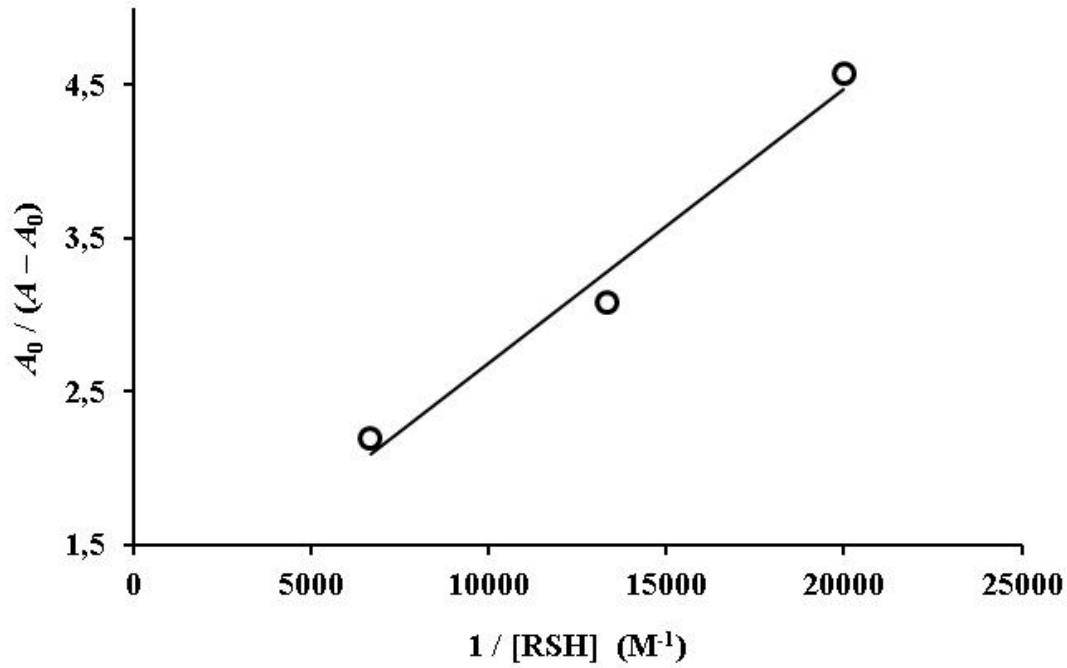
Şekil 4.19. 1×10^{-4} M LEVOF varlığında [RSH]/[LEVOF] molar oranına karşı 284 nm ‘deki bağıl absorbans oranı (A/A_0)’nın değişim grafiği

RSH-LEVOF kompleksinin bağlanma sabitinin belirlenmesi için Benesi-Hildebrand eşitliği (4.2) aşağıda verildiği gibi kullanılmıştır [107].

$$\frac{A_0}{A - A_0} = \frac{\varepsilon_G}{\varepsilon_{H-G} - \varepsilon_G} + \frac{\varepsilon_G}{\varepsilon_{H-G} - \varepsilon_G} \frac{1}{K_b [RSH]} \quad (4.2)$$

Eşitlik 4.2.’de A_0 ve A sırasıyla serbest ve bağlanmış LEVOF moleküllerinin absorbans değerleridir. ε_G ve ε_{H-G} ise sırasıyla onların molar absortivite katsayılarıdır.

$1/[RSH]$ 'a karşı $A_0/(A-A_0)$ 'ın grafiği (Şekil 4.20.) LEVOF ve RSH arasında 1:1 birleşme kompleksinin oluştuğunu gösteren bir doğrusal bağıntı sergilemektedir. Elde edilen doğrusal eşitlikteki kesim ve eğim değerlerinden bağlanma sabiti $4,544 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.1). Çizelge 4.1.'den görüldüğü gibi spektroskopik olarak hesaplanmış bağlanma sabiti değeri elektrokimyasal verilerden belirlenmiş değer ile uyumludur.



Şekil 4.20. B-R tamponunda (pH 7,4) RSH-LEVOF sistemi için Benesi-Hildebrand grafiği

Çizelge 4.1. Fizyolojik pH'da (7,4) LEVOF ve RSH arasındaki etkileşim için uygulanan elektrokimyasal ve spektroskopik prosedürlerin verileri

Prosedür	Doğrusal Eşitlik	Regresyon katsayısı (R^2)	K_0 veya K_b (M^{-1})
Titrasyon (elektrokimyasal)	$1/[\text{LEVOF}] \text{ (M}^{-1}\text{)} = 4681/[(1 - (I/I_0))] - 4198,4$	0,99	4198,4
UV-GB	$A_0/(A-A_0) = 0,0002 (1/[RSH]) \text{ (M}^{-1}\text{)} + 0,9088$	0,98	4544,0

LEVOF-RSH sisteminin bağlanma sabiti (Çizelge 4.1.) nötral pH'da novobiyosin-RSH için belirlenmiş bağlanma sabitinden ($K_0 = 1,54 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ [92]) daha küçüktür. Bu iki sistemin bağlanma sabitleri karşılaştırıldığı zaman LEVOF ve

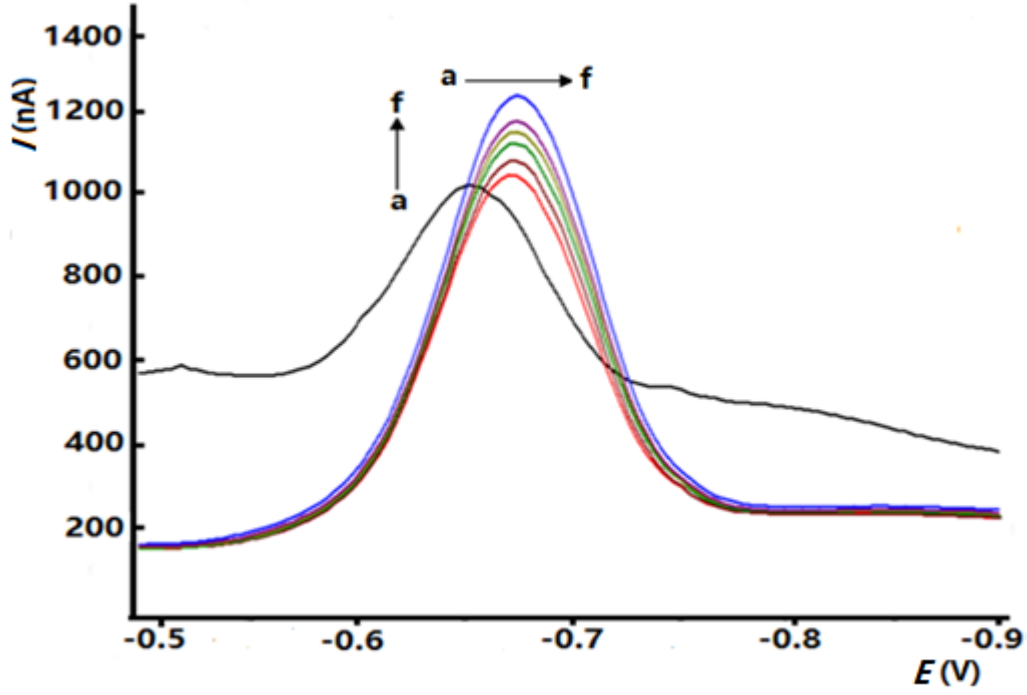
RSH arasındaki bağlanma kuvvetinin hemen hemen benzer şartlarda novobiyosin'in RSH ile bağlanma kuvvetinden daha zayıf olduğu söylenebilir.

Daha küçük bağlanma sabitinin benzer durumları florokinolonların bazı hedefler (örneğin DNA [108] ve cyclodextrin [109]) ile etkileşimleri incelendiği zaman da rapor edilmiştir ve bağlanma sabitlerinin değerleri 10^2 M^{-1} mertebesinde belirlenmiştir. Ancak, florokinolonların insan serum albümini (HSA) [46] ve sığır serum albümini (BSA) [110] gibi proteinler ile etkileşimleri incelendiğinde daha büyük bağlanma sabiti değerleri sırasıyla $9,64 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ (27 °C ve pH 7,4'de) ve $3,19 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ (20 °C ve pH 7,4'de) olarak rapor edilmiştir. Çünkü albümin çok sayıda ligand bağlanma yeri içeren doğal bir taşıyıcı proteindir [111]. Bu nedenle RSH aminoasidine kıyasla HSA ve BSA, LEVOF ile daha büyük bağlanma sabitlerine sahip daha kararlı kompleksler oluşturabilir. Zaten bu beklenen bir durumdur.

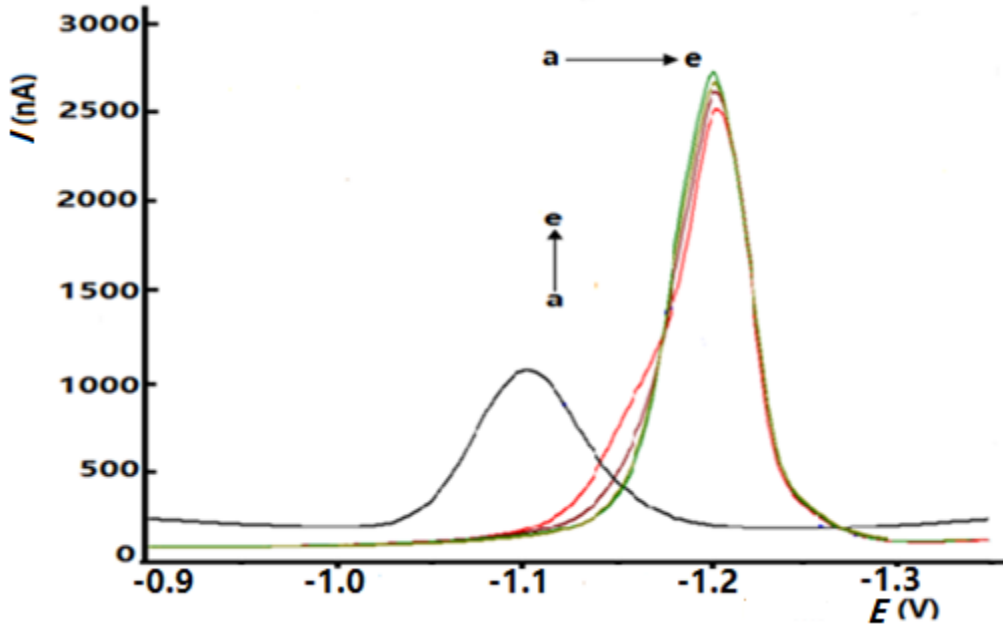
Sonuç olarak, hem LEVOF'un hem de RSH'nın bağlanma ilgileri hedef moleküllerin kimyasal yapılarına bağlıdır.

4.6. LEVOF'nin Cd^{2+} ve Zn^{2+} İyonları ile Etkileşimlerinin Voltametrik davranışları

B-R tamponunda (pH 7,4) ayrı ayrı Cd^{2+} ve Zn^{2+} iyonları içeren elektrokimyasal hücrelere LEVOF eklenmesi serbest Cd^{2+} ve Zn^{2+} 'nin kare-dalga voltamogramlarını büyük ölçüde değiştirmiş ve sırasıyla $-0,672 \text{ V}$ ve $-1,204 \text{ V}$ 'ta bazı yeni pikler görünmeye başlamıştır (Şekil 4.21. ve Şekil 4.22). Bu pikler aynı şartlar altında, fakat LEVOF'un yokluğunda Cd(II) ve Zn(II) iyonları için alınan voltamogramlardan elde edilen piklerden (yani serbest iyonların indirgenme sinyallerinden) daha negatif potansiyellerde ortaya çıkmışlardır (Şekil 4.21 ve Şekil 4.22.). Bu sonuç Cd(II) ve Zn(II) iyonları ile LEVOF arasındaki etkileşimin bir göstergesidir. Artan LEVOF derişimi ile yeni oluşan piklerin potansiyelleri daha negatif yöne doğru kayarken, akımları sürekli artmış ve sonunda bir maksimum değere ulaşmıştır. LEVOF eklenmesiyle daha negatif potansiyellerde daha büyük akıma sahip piklere dönüşen Cd(II) ve Zn(II) iyonlarının katodik pikleri oluşmuş komplekslerin (metal-ligand) ACDE'de indirgenmeleriyle açıklabilir.



Şekil 4.21. LEVOF'un yokluğunda (a) ve varlığında ((b) $5,16 \times 10^{-5}$ M, (c) $6,48 \times 10^{-5}$ M, (d) $7,7 \times 10^{-5}$ M, (e) $9,01 \times 10^{-5}$ M, (f) $1,06 \times 10^{-4}$ M LEVOF) $9,90 \times 10^{-6}$ M Cd^{2+} 'nin B-R tamponu pH 7,4'de alınan kare-dalga voltamogramları



Şekil 4.22. LEVOF'un yokluğunda (a) ve varlığında ((b) $3,77 \times 10^{-5}$ M, (c) $4,67 \times 10^{-5}$ M, (d) $6,42 \times 10^{-5}$ M, (e) $7,27 \times 10^{-5}$ M LEVOF) $1,96 \times 10^{-5}$ M Zn^{2+} 'nin B-R tamponu pH 7,4'de alınan kare-dalga voltamogramları

Cd(II)-LEVOF ve Zn(II)-LEVOF komplekslerinin gözlenmiş voltametrik davranışları beklenen bir durumdur. Çünkü eğer kompleksler elektroaktif ise serbest metal iyonunun sinyalinin daha negatif potansiyellerde yeni sinyallerin oluştuğu ve aynı zamanda pik akımlarının karşılık gelen kompleksin ortamdaki miktarının artmasıyla doğru orantılı olduğu iyi bilinmektedir [112].

4.6.1. Cd²⁺ ve Zn²⁺- LEVOF komplekslerinin koordinasyon sayıları ve kararlılık sabitleri

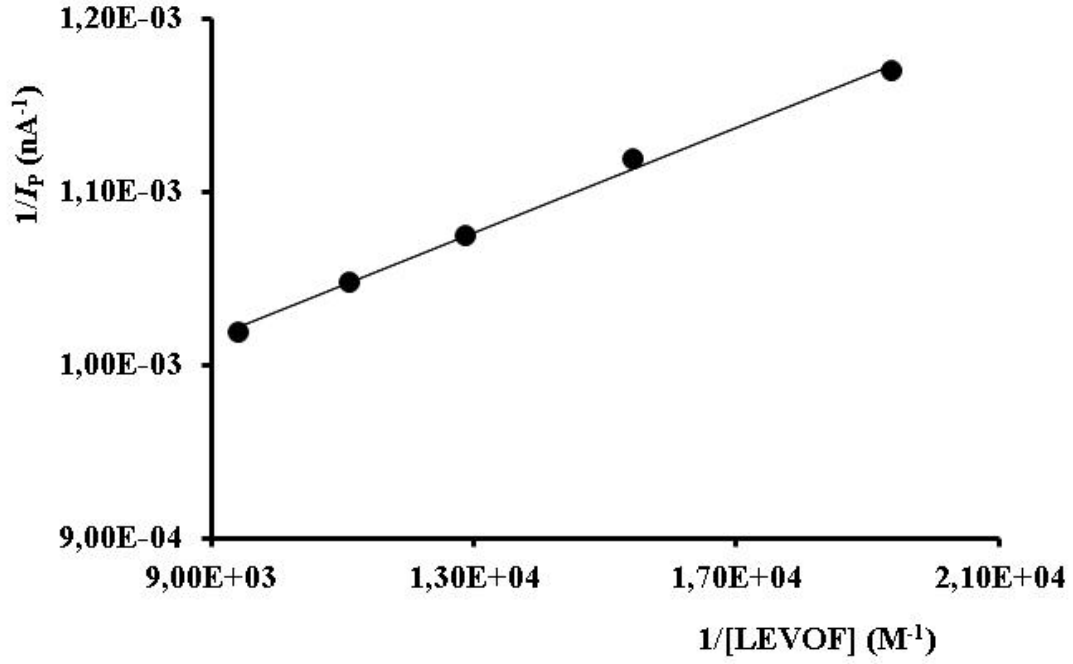
Oluşmuş metal-ligand komplekslerinin (M(II)-(LEVOF)_m) koordinasyon sayıları (m) ve kararlılık sabitleri (β) aşağıda verilen eşitlik (4.3) yardımıyla belirlenmiştir [113].

$$\frac{1}{I_p} = \frac{1}{I_{p,\max}} + \frac{1}{\beta \cdot I_{p,\max} \cdot C_L^m} \quad (4.3)$$

Eşitlik 4.3.'ün yeniden düzenlenmesiyle aşağıda gösterilen eşitlik 4.4. elde edilebilir.

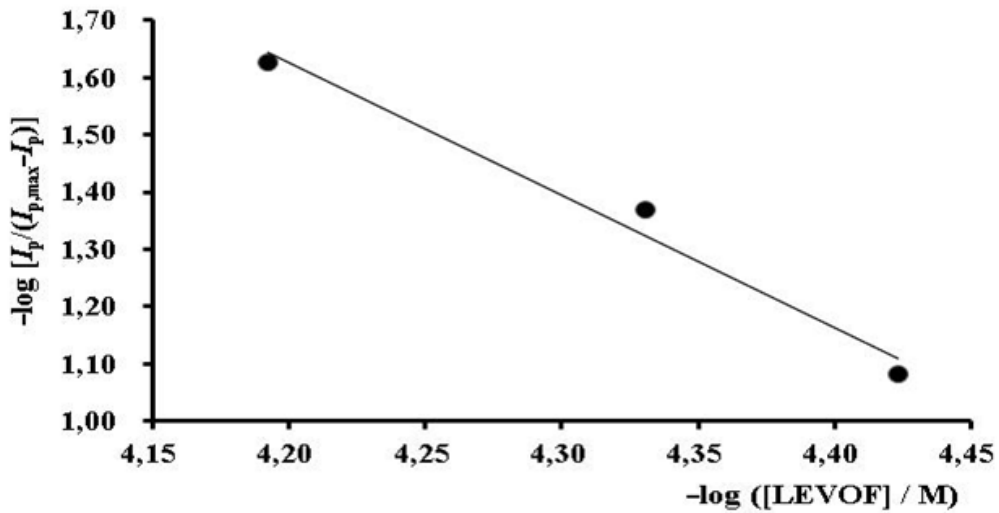
$$-\log\left(\frac{I_p}{I_{p,\max} - I_p}\right) = -\log \beta - m \log C_L \quad (4.4)$$

Yukarıda verilen eşitliklerde, I_p kompleksin pik akımı; $I_{p,\max}$ metal kompleksleşmesinin tamamlanması durumundaki pik akımı ve C_L ise LEVOF'un derişimi. Cd(II)-LEVOF kompleksinin koordinasyon sayısını belirlemek için, eşitlik 4.3.'e göre farklı m değerleri için (m=1, 2, 3,.....) 1/[LEVOF]'a karşı $1/I_p$ 'nin grafikleri çizilmiştir. Ancak, en çok ideal doğrusal bağıntı (R=0,996) m=1 olduğu zaman elde edilmiştir (Şekil 4.23.).



Şekil 4.23. $1/[LEVOF]$ 'a karşı $1/I_p$ 'nin grafiği

Aynı şekilde, eşitlik 4.4.'e göre Zn(II)-LEVOF kompleksinin koordinasyon sayısının ve kararlılık sabitinin belirlenmesi için $-\log [LEVOF]$ 'a karşı $-\log [I_p/(I_{p,max} - I_p)]$ 'nin grafiğinin (Şekil 4.24.) çizimiyle elde edilen doğrunun eğim ve kesim değerleri bulunmuştur.



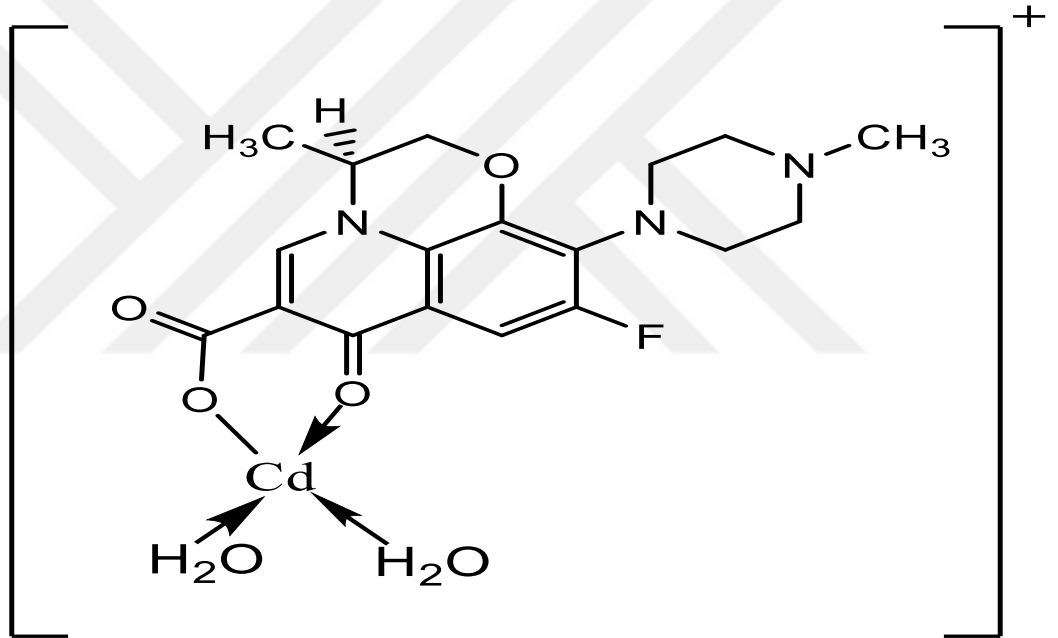
Şekil 4.24. $-\log[LEVOF]$ 'a karşı $-\log [I_p / (I_{p,max} - I_p)]$ 'nin grafiği

Şekil 4.23. ve Şekil 4.24.'den elde edilen verilerden Cd(II)-LEVOF ve Zn(II)-LEVOF komplekslerinin m ve β değerlerinin sırasıyla $m=1$, $\beta_{1:1}= 4,5 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ve $m = 2$, $\beta_{1:2}= 2,4 \times 10^{11} \text{ M}^{-2}$ olduğu belirlenmiştir.

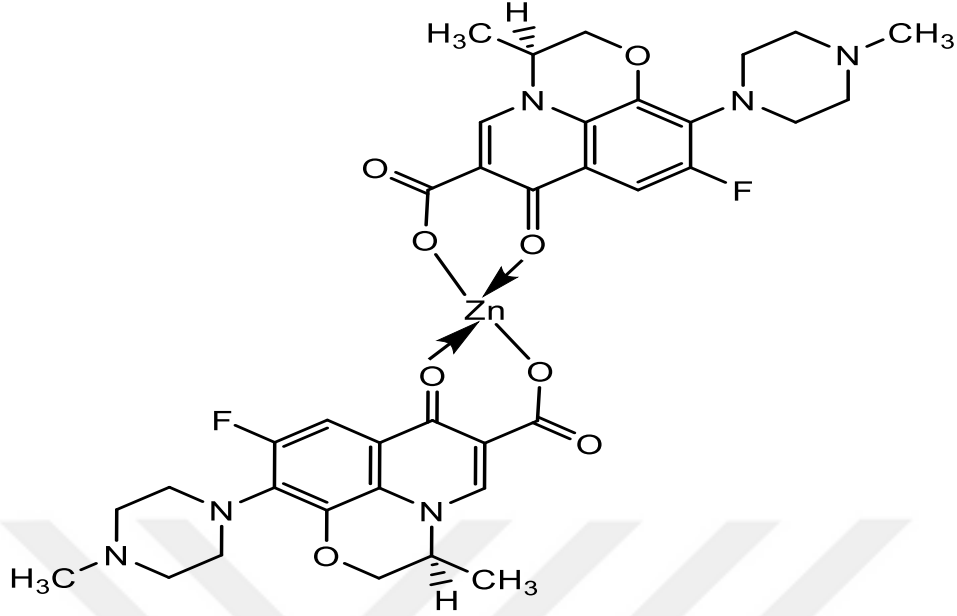
Kinolonlar ve metal katyonları arasındaki etkileşimin genel mekanizmasının keton ve karboksilik gruplarındaki oksijen atomları ve metal arasındaki şelatlaşmanın olduğu iyi bilinmektedir [49].

Cd(II)-LEVOF ve Zn(II)-LEVOF komplekslerinin kimyasal yapıları Şekil 4.25 ve Şekil 4.26.'da gösterilmiştir.

Benzer yapılar bazı metal-florokinolonlar komplekslerinin biyolojik aktiviteleri test edildiği zaman da rapor edilmiştir [50].



Şekil 4.25. Cd(II)-LEVOF kompleksi için önerilmiş yapı



Şekil 4.26. Zn(II)-LEVOF kompleksi için önerilmiş yapı

Bu çalışmada Cd(II)-LEVOF ve Zn(II)-LEVOF kompleksleri için belirlenmiş kararlılık sabitlerinin literatür verileri ile karşılaştırılması amacıyla aşağıdaki Çizelge 4.2. hazırlanmıştır.

Çizelge 4.2. Cd(II)-LEVOF ve Zn(II)-LEVOF komplekslerinin kararlılık sabitleri

<i>Kompleks</i>	<i>Bu çalışma</i>	<i>Literatür</i>
Cd(II)-LEVOF	$\log (\beta_{1:1}/M^{-1}) = 4,653$	$\log K = 9,399$ [52] ^a
Zn(II)-LEVOF	$\beta_{1:2}(M^{-2}) = 2,4 \times 10^{11}$ veya $\log (\beta_{1:2}/M^{-2}) = 11,38$	$K (M^{-1}) = 5,924 \times 10^3$ [45] ^b $\log \beta_{1:2} = 9,53$ [114] ^c $\log \beta_{1:2} = 9,68$ [48] ^d

^a 25 °C'da Job metodu kullanılmış ve metal:LEVOF oranı 1:2'dir.

^b 25 °C'da 1:1 kompleksi için UV spektroskopisi tekniği ile belirlenmiştir.

^c 22 °C ve 0,1 M NaCl'de UV spektroskopisi titrasyon metodu kullanılmıştır.

^d 37 °C ve 0,15 M NaCl'de potansiyometrik ve spektroskopik ölçümler kullanılmıştır.

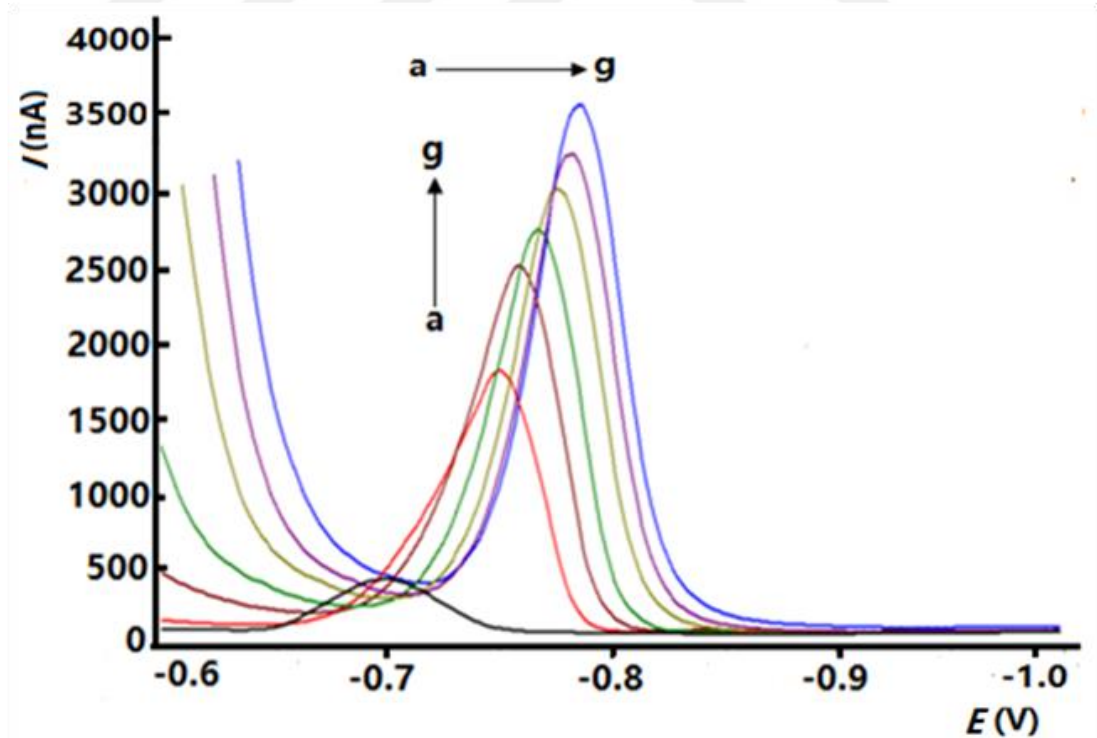
Çizelge 4.2.'ye göre, komplekslerin kararlılık (oluşma) sabitleri arasındaki fark onların m değerlerinden kaynaklanabilir. Yani, m değeri ne kadar düşükse

kararlılık sabitinin de o kadar düşük olduğu söylenebilir. Üstelik Çizelge 4.2.'de aynı m değerine sahip Zn(II)-LEVOF kompleksi için belirlenmiş kararlılık sabitlerinin (β) birbirine yakın olduğu da görülmüş olup, sunulan bu çalışma ve literatürdeki β değerleri arasındaki farkın ise uygulanan yöntemlerden kaynaklabileceği düşünülmüştür.

4.7. RSH'nın Cd^{2+} ve Zn^{2+} iyonları ile etkileşimlerinin voltametrik davranışları

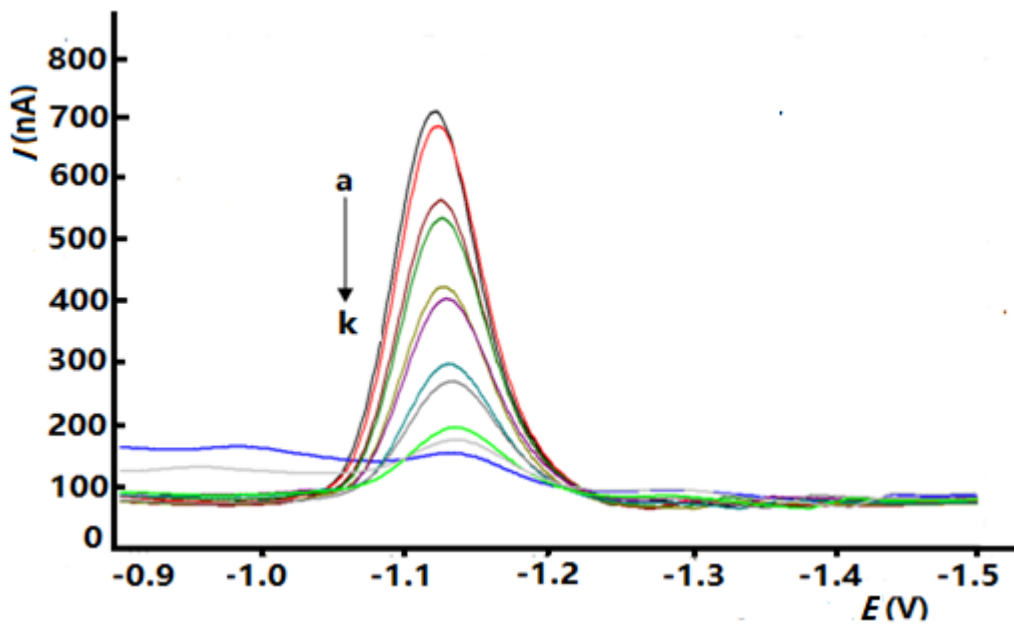
Fizyolojik pH (7,4) değerine sahip B-R tamponunda RSH ve Cd(II), Zn(II) metal iyonları arasındaki etkileşimlerin kare-dalga voltametrik davranışları da incelenmiştir.

Cd^{2+} iyonu içeren elektrokimyasal hücrede RSH derişiminin gittikçe artırılması RSH'nın yokluğunda Cd^{2+} iyonunun (yani serbest Cd^{2+} 'nin) kendi pikinden daha negatif potansiyele sahip yeni bir pikin görünmesine neden olmuştur (Şekil 4.27.). Bu sonuç yeni bir Cd(II)-RSH kompleksinin oluştuğunu göstermiştir. Bu yeni pikin akımı RSH derişiminin artırılmasıyla artmıştır ve nihayetinde maksimum bir düzeye ulaşmıştır.



Şekil 4.27. RSH'nın yokluğunda (a) ve varlığında ((b) $4,93 \times 10^{-6}$ M, (c) $9,8 \times 10^{-6}$ M, (d) $1,94 \times 10^{-5}$ M, (e) $3,81 \times 10^{-5}$ M, (f) $5,61 \times 10^{-5}$ M, (g) $7,34 \times 10^{-5}$ M RSH) $9,90 \times 10^{-6}$ M Cd^{2+} 'nin B-R tamponu pH 7,4'de alınan kare-dalga voltamogramları

Ancak, Cd^{2+} 'nin aksine, RSH'nın Zn^{2+} iyonları ile etkileşiminin kare-dalga voltametrik davranışının tamamen farklı olduğu tespit edilmiştir. Zn(II) iyonu içeren elektrokimyasal hücreye RSH'nın eklenmesiyle, Zn(II) iyonunun pik akımı pik potansiyelinde kayma olmaksızın belirgin bir şekilde azalmıştır (Şekil 4.28.). RSH'nın artan derişimi ile sürekli olarak azalma eğilimi gösteren serbest Zn(II) iyonunun pik akımı sonunda bir minumum değere ulaşmıştır. Bu davranış RSH'nın Zn(II) iyonları ile elektroinaktif inert kompleks oluşturmasından dolayı gözlenmiştir.



Şekil 4.28. RSH 'ın yokluğunda (a) ve varlığında ((b) $4,88 \times 10^{-6}$ M, (c) $1,45 \times 10^{-5}$ M, (d) $2,39 \times 10^{-5}$ M, (e) $3,32 \times 10^{-5}$ M, (f) $4,23 \times 10^{-5}$ M, (g) $5,99 \times 10^{-5}$ M, (h) $7,69 \times 10^{-5}$ M, (i) $1,09 \times 10^{-4}$ M, (g) $1,54 \times 10^{-4}$ M, (k) $2,06 \times 10^{-4}$ M RSH) $1,96 \times 10^{-5}$ M Zn^{2+} 'nin B-R tamponu pH 7,4'de alınan kare-dalga voltamogramları

Zaten, elektroinaktif kompleks oluşumu durumunda, ortamdaki serbest metal iyonunun derişimi ile doğru orantılı olan pik akımı ile birlikte serbest metalin sinyalinin her zaman sabit bir pik potansiyelde ortaya çıktığı rapor edilmiştir [112]. Ek olarak, "inert kompleks" kavramı ayrışma kinetiği voltametrik ölçümlerin zamana göre çok yavaş olan metal-ligand kompleksini ifade etmektedir [115].

Literatürde benzer sonuçlar, Zn(II) iyonunun etilen diamin [115] ve nitrilo triasetik asit [116] ile voltametrik titrasyonlarından elde edilmiştir.

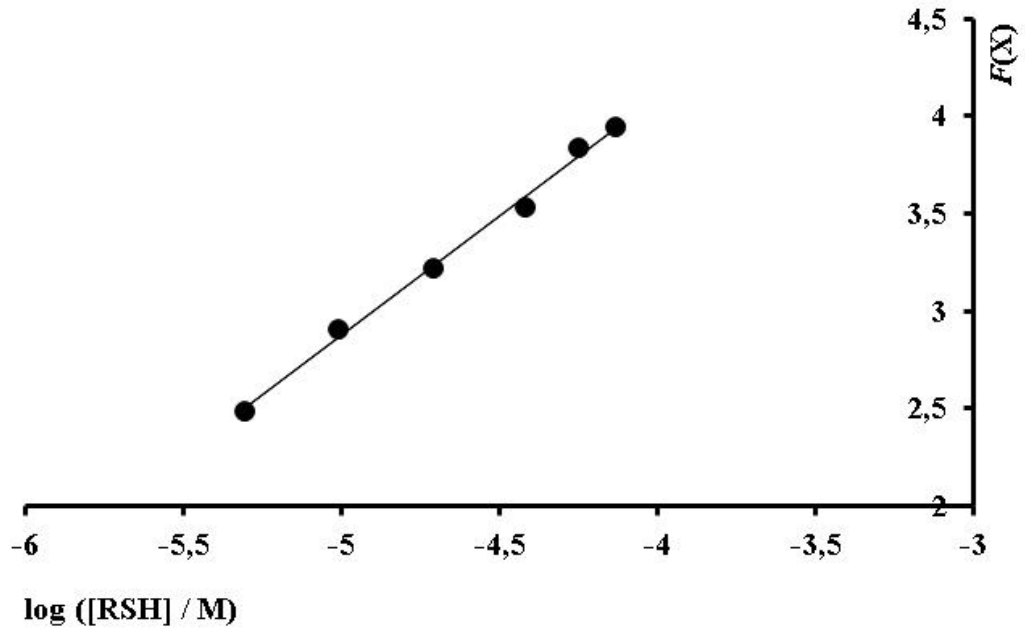
4.7.1. Cd²⁺ ve Zn²⁺-RSH komplekslerinin koordinasyon sayıları ve kararlılık sabitleri

Cd(II)-RSH kompleksinin kararlılık sabiti eşitlik 4.5 ile temsil edilen DeFord ve Hume metodu [117] kullanılarak hesaplanmıştır.

$$F(X) = [(0,4343nF / RT)\Delta E + \log(I_C / I_M)] = \log \beta_{MX_j} + j \log C_X \quad (4.5)$$

Eşitlik 4.5.'de C_X ligandın analitik derişimi, ΔE pik potansiyeli kayması, I_M ve I_C sırasıyla serbest ve kompleksleşmiş metal iyonlarının akımları, β_{MX_j} kompleksin kararlılık sabiti ve j kompleksin stokiyometrisi olup diğer semboller ise onların olağan kendi anlamlarına sahiptirler.

Eşitlik 4.5.'e göre, $\log [RSH]$ 'a karşı $F(X)$ 'in grafiğı (Şekil 4.29.) bir doğrusal bağıntı vermiştir. Şekil 4.29.'daki doğrusal bağıntıdan $j=1$ ve $\log \beta_{1:1} = 9,00$ değerleri elde edilmiştir.



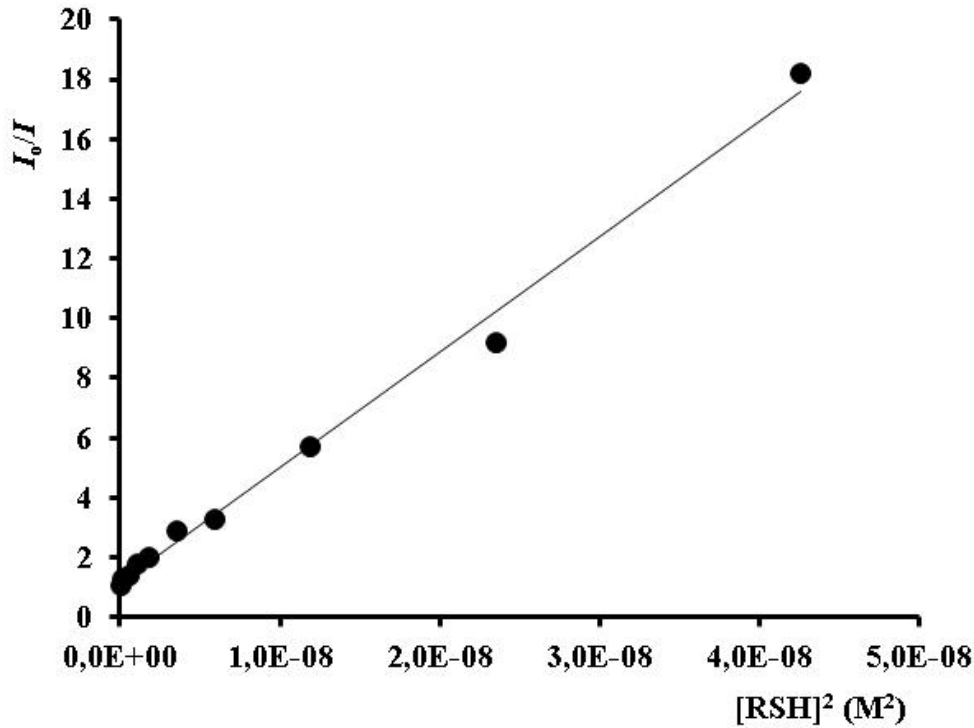
Şekil 4.29. $\log[RSH]$ 'a karşı $F(X)$ 'in grafiğı

Zn(II)'nin RSH ile etkileşiminin elektroaktif inert bir kompleks oluşturması nedeniyle Zn(II)-(RSH)_m kompleksinin toplam kararlılık sabitini hesaplamak için sırfıncı-derece Leden eşitliği (4.6) [118] uygulanmıştır.

$$F_{o,inert} = \frac{I_0}{I} = 1 + \sum_{i,m}^{inert} \beta_m [C_{Li}^*]^m \quad (4.6)$$

Eşitlik 4.6.'da I ve I_0 sırasıyla ligandın varlığında ve yokluğunda metal iyonunun pik akımlarıdır. C_{Li}^* ligandın ortamdaki derişimi ve β_m ise kompleksinin toplam kararlılık sabiti anlamına gelmektedir.

Eşitlik 4.6.'ya göre farklı m değerleri ($m=1, 2, 3, \dots$) için $[RSH]^m$ 'e karşı I_0/I 'ın grafikleri çizildiğinde en ideal doğrusal bağıntı ($R=0,993$) $m=2$ için elde edilmiştir (Şekil 4.30.). Böylece, Şekil 4.30.'da görülen grafikteki doğrunun eğim değerinden $\beta_{1:2}$ değeri elde edilmiştir. Sonuç olarak Zn(II)-(RSH)₂ kompleksi için $\log \beta_{1:2} = 8,60$ değeri elde edilmiştir.



Şekil 4.30. $[RSH]^2$ 'a karşı I_0/I 'nın grafiği

Bu çalışmada Cd(II)-RSH ve Zn(II)-RSH kompleksleri için belirlenmiş kararlılık sabiti değerlerini literatür verileri ile karşılaştırmak amacıyla aşağıda verilen Çizelge 4.3. oluşturulmuştur.

Çizelge 4.3. Cd(II)-RSH ve Zn(II)-RSH komplekslerinin kararlılık sabitleri

<i>Kompleks</i>	<i>Bu çalışma</i>	<i>Literatür</i>
Cd(II)-RSH	$\log \beta_{1:1} = 9,00$	$\log (K/M) = 8,27 [119]^a$
Zn(II)-RSH	$\log \beta_{1:2} = 8,60$	$\log \beta_{1:2} = 9,94 [62]^b$ $\log K_2' = 8,40 [120]^c$

^a 0,59 M NaNO₃, pH ~9 ve 23 °C'ta (1:1 kompleksleşmesi) Cd²⁺'nin RSH ile doğrudan titrasyonundan elde edilmiştir.

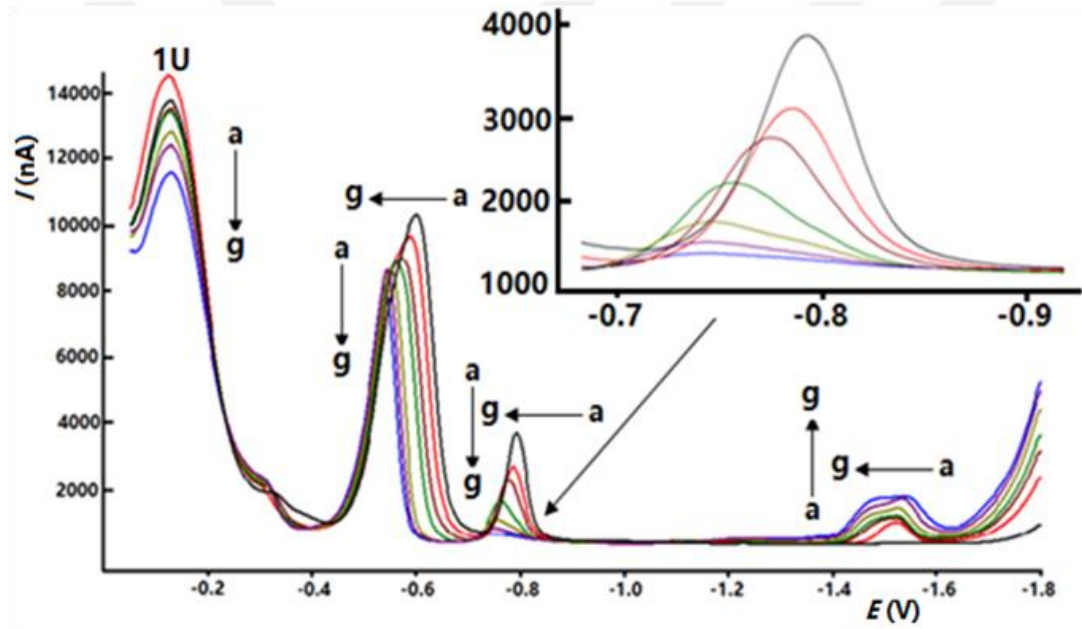
^b 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,40) kare-dalga voltametrik verilerinden elde edilmiştir.

^c 25 °C'ta Zn(II)'nin RSH ile kompleksi için floresans ölçümlerinden elde edilmiştir.

Çizelge 4.3.'den görüldüğü gibi, sunulan çalışmada elde edilen metal-RSH komplekslerinin kararlılık sabiti değerleri literatür değerleri ile uyum içindedir.

4.8. Cd^{2+} İyonu Varlığında LEVOF'un RSH ile Etkileşimi

Bölüm 3.3.1.1.c'de bahsedildiği gibi, Cd(II) ve RSH içeren elektrokimyasal sisteme (yani Cd(II) -RSH kompleks sistemine) LEVOF'un eklenmesiyle Cd(II) -RSH kompleksinin daha az negatif potansiyele ($-0,794 \text{ V}$ 'tan $-0,752 \text{ V}$ 'a) kaydığı ve artan LEVOF derişimi ile Cd -RSH kompleksinin pik akımının sürekli olarak azaldığı gözlenmiştir (Şekil 4.31.). Aynı zamanda, RSH'dan kaynaklanan $\text{Hg}_2(\text{SR})_2$ 'nin pik akımı da bir ölçüde düşerken, aksine, LEVOF'un pik akımı artan LEVOF derişimi ile artmıştır (Şekil 4.31.).

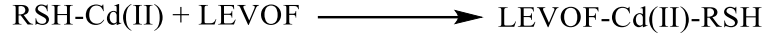


Şekil 4.31. LEVOF'un yokluğunda (a) ve varlığında ((b) $8,47 \times 10^{-6} \text{ M}$, (c) $1,68 \times 10^{-5} \text{ M}$, (d) $2,5 \times 10^{-5} \text{ M}$, (e) $5,57 \times 10^{-5} \text{ M}$, (f) $6,4 \times 10^{-5} \text{ M}$, (g) $1,45 \times 10^{-4} \text{ M}$ LEVOF) $8,55 \times 10^{-6} \text{ M}$ Cd^{2+} ve $1,37 \times 10^{-4} \text{ M}$ RSH karışımının B-R tamponu pH 7,4'de alınan kare-dalg voltamogramları. 1U, Hg(RS)_2 'nin $\text{Hg}_2(\text{RS})_2$ 'a indirgenme piki

Bu sonuçlara ek olarak, serbest Cd(II) 'nin indirgenme piki gözlenmemiştir. Şayet gözlenseydi, serbest Cd(II) elektrokimyasal hücredeki LEVOF ile etkileşecek ve oluşan Cd(II) -LEVOF kompleksinin pik akımı Şekil 4.21.'deki gibi artardı.

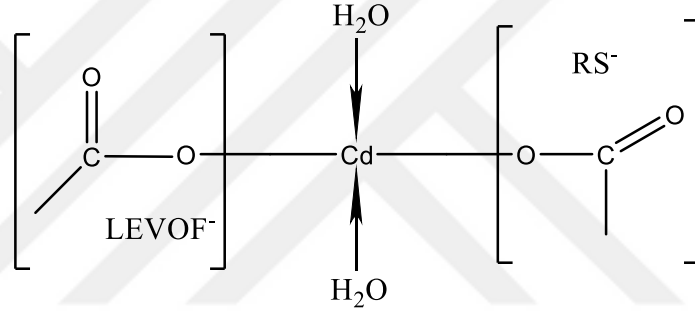
Tüm bu gözlemlere göre, LEVOF varlığında Cd(II) -RSH kompleksinin pik akımındaki azalmaya Cd(II) -RSH'nın LEVOF ile etkileşiminin neden olduğu söylenebilir. Bu durumda Cd(II) -RSH kompleksinin difüzyon katsayısı azalır ve

böylece ACDE yüzeyine taşınması daha zor olan, fakat kolay indirgenebilen bir karışık ligand kompleksinin oluştuğu söylenebilir. Bu durum için etkileşim planı Şekil 4.32.'de verilmiştir.



Şekil 4.32. LEVOF'un varlığında Cd(II)-RSH sistemi için önerilmiş etkileşim planı

Cd(II)-RSH kompleksinin LEVOF ile elektrostatik bağlanma yoluyla etkileşebileceği düşünülerek oluşan karışık ligand kompleksinin önerilmiş yapısı Şekil 4.33.'de gösterilmiştir.

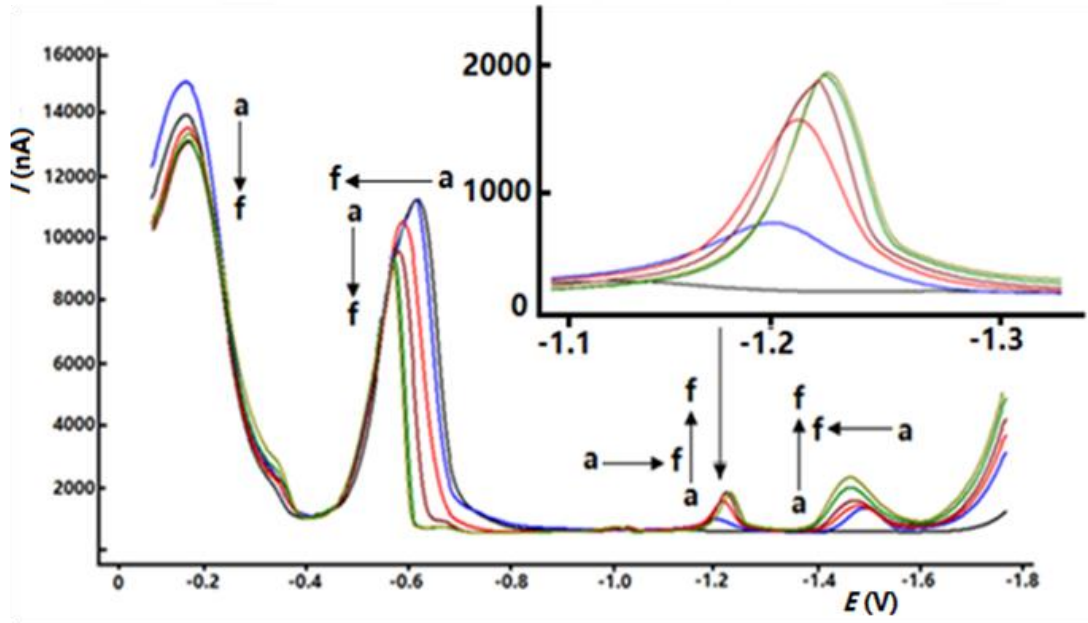


Şekil 4.33. LEVOF ve Cd(II)-RSH sistemi arasında oluşan karışık ligand kompleksinin önerilmiş yapısı

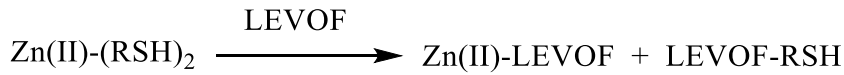
4.9. Zn^{2+} İyonu Varlığında LEVOF'un RSH ile Etkileşimi

Bölüm 4.7.'de belirtildiği gibi, Zn(II)-RSH kompleksi bir elektroaktif kompleksdir ve onun kararlılık sabiti ($\log \beta_{1:2} = 8,60$, bakınız çizelge 4.3.) Zn(II)-LEVOF 'un kararlılık sabitinden ($\beta_{1:2} = 2,4 \times 10^{11} \text{ M}^{-2}$, bakınız Bölüm 4.6.1.) daha küçüktür. İçerisinde Zn(II) ve RSH ihtiva eden elektrokimyasal hücreye (yani Zn(II)-RSH kompleks sistemine) LEVOF'un eklenmesiyle, LEVOF'un Zn(II)-RSH inert kompleksinden Zn(II) 'yi uzaklaştırdığı ve Şekil 4.22.'dekine benzer potansiyelde (yaklaşık -1,2 V civarında) kendi Zn(II)-LEVOF elektroaktif kompleksini oluşturduğu gözlenmiştir (Şekil 4.34.). Şekil. 4.34.'den de görüldüğü gibi Zn(II)-LEVOF sisteminin katodik sinyali yine artan LEVOF miktarı ile hafifçe daha negatif potansiyellere doğru kayarken, pik akımı da artar ve sonunda maksimum seviyesine ulaşır. Elde edilen bu deneysel bulgu Bölüm 4.6.'da (Şekil 4.22.) tartışılan Zn(II)-

LEVOF kompleksinin voltametrik davranışı ile uyum içindedir. Diğer taraftan, LEVOF'un eklenmesiyle bu sistemde $\text{Hg}_2(\text{RS})_2$ 'nin pik potansiyelinin daha az negatif potansiyellere kayması ile birlikte pik akımı da sürekli olarak azalmıştır (Şekil 4.34.). Bu davranış Zn(II) iyonlarını kaybeden serbest RSH'nin sistemde tek başına hareket etmediği anlamına gelir. Şöyleki RSH ortamda fazla olan LEVOF'a bağlanır ve o da kendi biyokompleksini oluşturur. Bu durum Bölüm 4.2.'de tartışılan (ayrıca bakınız Şekil 4.10.) LEVOF varlığında RSH'nin voltametrik davranışı ile uyum içindedir. Nihayetinde iki kompleks sisteminin (RSH-LEVOF ve Zn(II) -LEVOF) dengeye ulaştığı gözlenmiştir. Aşırı LEVOF varlığında Zn(II) -RSH sisteminin spesifik voltametrik davranışları ve bu sistem için önerilmiş mekanizma sırasıyla Şekil 4.34. ve Şekil 4.35.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.34. LEVOF'un yokluğunda (a) ve varlığında ((b) $1,53 \times 10^{-5}$ M, (c) $3,74 \times 10^{-5}$ M, (d) $6,54 \times 10^{-5}$ M, (e) $1,28 \times 10^{-4}$ M, (f) $1,74 \times 10^{-4}$ M LEVOF) $1,56 \times 10^{-5}$ M Zn^{2+} ve $2,06 \times 10^{-4}$ M RSH karışımının B-R tamponu pH 7,4'de alınan kare-dalga voltamogramları



Şekil 4.35. Aşırı LEVOF'un varlığında Zn(II) -RSH sistemi için önerilmiş etkileşim planı

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, Cd^{2+} , Zn^{2+} iyonlarının varlığında ve yokluğunda LEVOF'un RSH ile etkileşimi fizyolojik pH'da bazı voltametrik ve spektroskopik yöntemler ile incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar maddeler halinde aşağıda sunulmuştur.

- LEVOF'un RSH ile etkileşimi ACDE üzerinde RSH'nın temel sinyalinde ($\text{Hg}_2(\text{RS})_2$ 'nin katodik pikinde) pozitifte doğru kayma ile birlikte akım değerinin azalmasına neden olacak şekilde bir biyo-kompleks oluşturmuştur. Dahası, spektroskopik çalışmaların sonuçları bu etkileşimin sadece ACDE üzerinde değil, aynı zamanda çözelti fazında (sulu fazda) da oluştuğunu göstermiştir. LEVOF-RSH kompleksinin hesaplanmış oluşum sabitinin nötral pH'da Novobiyosin-RSH kompleksinin oluşum sabitine göre daha küçük olduğu görülmüştür. Bundan başka, diğer florokinolon grubu antibiyotiklerin ve LEVOF'un bazı moleküller (DNA, siklodekstrin, HSA ve BSA) ile olan etkileşimleri için literatürden elde edilen bağlanma sabiti değerleri de dikkate alındığında LEVOF ve RSH'nın bağlanma ilgilerinin hedef moleküllerin yapılarına bağlı olarak değiştiği sonucu da çıkarılmıştır.

- LEVOF ve RSH'nın Cd^{2+} ve Zn^{2+} metal iyonları ile etkileştikleri ve farklı bağlanma stokiyometrilere sahip metal-ligand komplekslerini meydana getirdikleri belirlenmiştir. Cd(II)-(LEVOF)_m ve Cd(II)-(RSH)_m komplekslerinin bağlanma sabitleri ve oranları (m) için sırasıyla $m=1$, $\beta_{1:1}= 4,5 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ (Cd(II)-(LEVOF)_m için) ve $m=1$, $\log \beta_{1:1}=9,00$ (Cd(II)-(RSH)_m için) değerleri elde edilmiştir. Ayrıca, Zn(II)-(LEVOF)_m ve Zn(II)-(RSH)_m komplekslerinin bağlanma sabitleri ve bağlanma oranları (m) için ise sırasıyla $m=2$, $\beta_{1:2}= 2,4 \times 10^{11} \text{ M}^{-2}$ ve $m=2$, $\log \beta_{1:2}= 8,60$ değerleri elde edilmiştir. Bu metal-ligand kompleksleri için elde edilen verilerin literatür verileri ile karşılaştırılmasından, bağlanma oranının (m) kompleks bağlanma sabitini çoğunlukla etkileyen önemli bir faktör olarak davrandığı, yani daha küçük m değerine sahip belli bir kompleks için daha düşük bağlanma sabitinin elde edildiği sonucuna varılmıştır.

- Metal(II)-RSH sistemlerine LEVOF'un eklenmesi voltamogramlarda bazı önemli değişikliklere neden olmuştur. Şöyleki, Cd(II)-RSH sisteminde LEVOF ve Cd(II)-RSH arasında karışık ligand kompleksinin oluşumu Cd(II)-RSH'nin difüzyonunda farkedilir derecede azalmaya neden olmasından dolayı pik akımında azalma gözlenmiştir. Zn(II)-RSH sisteminde ise, LEVOF'un elektroaktif Zn(II)-RSH kompleksinden Zn(II) iyonlarını kopararak elektroaktif Zn(II)-LEVOF kompleksini oluşturmuştur.

- Voltametrik teknikler LEVOF'un RSH'ya bağlanmasında olduğu gibi ilaç ve elektroaktif aminoasitler arasındaki etkileşimlerin etkili ve hızlı bir şekilde karakterize edilmesini sağlayabilir.

Elde edilen bulgulara dayanılarak, LEVOF-RSH, metal-LEVOF, metal-RSH ve LEVOF-metal-RSH komplekslerinin oluşumuna pH etkisini incelemek için farklı pH değerlerinde bazı voltametrik ve spektroskopik çalışmaların da yapılması önerilmektedir. Ayrıca, bazı bilgisayar programları kullanılarak LEVOF-RSH etkileşiminin moleküler optimizasyonu incelenerek moleküler bağlanma geometrisine ait teorik bulguların elde edilmesi de önerilmektedir.

REFERANSLAR

- [1] Rita R., 1996. Global climate and infectious disease: the cholera paradigm, *Science*, 274, 2225-2030.
- [2] Appelbaum P.C., Hunter P.A., 2000. The fluoroquinolone antibacterials: past, present and future perspectives, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 16, 5-15.
- [3] Drlica K., 1999. Mechanism of fluoroquinolone action, *Current Opinion in Microbiology*, 2, 504-508.
- [4] Blondeau J., 2004. Fluoroquinolones: mechanism of action, classification and development of resistance, *Survey of Ophthalmology*, 4, 73-78.
- [5] Ashour S., Al-Khalil R., 2005. Simple extractive colorimetric determination of levofloxacin by acid-dye complexation methods in pharmaceutical preparations, *Farmaco*, 60, 771-775.
- [6] Tanaka M., Kurata T., Fujisawa C., Oshima Y., Aoki H., Okazaki O., Hakusui H., 1993. Mechanistic study of inhibition of levofloxacin absorption by aluminum hydroxide, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 37, 2173-2178.
- [7] Davis R., Bryson H. M., 1994. Levofloxacin, *Drug Evaluation*, 47, 677-700.
- [8] Soon B.K., Park S., Yong H.K., Kim Y., 1997. An improved synthesis of levofloxacin, *Heterocycles*, 45, 137-145.
- [9] Satoh K., Inenaga M., Kazuaki., 1998. Synthesis of a key intermediate of levofloxacin via enantioselective hydrogenation catalyzed by iridium(I) complexes, *Tetrahedron: Asymmetry*, 9, 2657-2662.
- [10] Foroumadian A., Emami M., Mansouri S., Javidnia A., Saeid-Adeli N., Shirazid F. H., Shafiee A., 2007. Synthesis and antibacterial activity of levofloxacin derivatives with certain bulky residues on piperazine ring, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 42, 985-992.
- [11] Altiocka G., Atkosar Z., Can N.O., 2002. The determination of levofloxacin by flow injection analysis using UV detection, potentiometry and conductometry in pharmaceutical preparations, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 30, 881-885.
- [12] Santoro M., Kassab N.M., Singh A.K., Erika R.M., Hackmam K., 2006. Quantitative determination of gatifloxacin, levofloxacin, lomefloxacin and pefloxacin fluoroquinolonic antibiotics in pharmaceutical preparations by high-performance liquid chromatography, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 40, 179-184.
- [13] Fish D.N., Chow A.T., 1997. The clinical pharmacokinetics of levofloxacin, *Clinical Pharmacokinetics*, 32, 101-119.

- [14] Lambert A., Regnouf-de-Vains J.B., Ruiz-López M.F., 2007. Structure of levofloxacin in hydrophilic and hydrophobic media: Relationship to its antibacterial properties, *Chemical Physics Letters*, 442, 281-284.
- [15] Radi A., El Ries M.A., Kandil S., 2003. Electrochemical study of the interaction of levofloxacin with DNA, *Analytica Chimica Acta*, 495, 61-67.
- [16] Radi A., El-Sherif Z., 2002, Determination of levofloxacin in human urine by adsorptive square-wave anodic stripping voltammetry on a glassy carbon electrode, *Talanta*, 58, 319–324.
- [17] Yong S.Z., Yong N.N., Kokot S., 2012. Application of differential pulse stripping voltammetry and chemometrics for the determination of three antibiotic drugs in food samples, *Chinese Chemical Letters*, 23, 339-342.
- [18] Sousa I., Claro V., Pereira J.L., Amaral A. L., Cunha-Silva L., Castro B., Pereira M., Gameiro P., 2012. Synthesis, characterization and antibacterial studies of a copper(II) levofloxacin ternary complex, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 110, 64-71.
- [19] Sultana N., Araynei M.S., Rizvi S.B.S., Haroon U., Mesaik M. A., 2013. Synthesis, spectroscopic, and biological evaluation of some levofloxacin metal complexes, *Medical Chemistry Research*, 22, 1371-1377.
- [20] Awaiy K., Matsubayashi K., Hakusui H., 1996. Interaction of quinolones with metal cations in aqueous solution, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 44, 1225-1230.
- [21] <http://aminoacidguru.org/cysteine/> (Ziyaret tarihi: Ekim 2015)
- [22] Spătaru N., E., Donald A.T., Fujishima A., 2001. Voltammetric determination of L-cysteine at conductive diamond electrodes, *Analytical Chemistry*, 73, 514-519.
- [23] Mohammad K.A., Khorasani J.H., Khaloo S.S., Tangestaninejad S., 2003. Cobalt(II) salophen-modified carbon-paste electrode for potentiometric and voltammetric determination of cysteine, *Analytical Chemistry*, 320, 32–38.
- [24] Novotný B.Y.L., 2002. Cathodic stripping voltammetry of cysteine using silver and copper solid amalgam electrodes, *Talanta*, 56, 971-976.
- [25] Shahrokhian M., Karimi M., 2004. Voltammetric studies of a cobalt(II)-4-methylsalophen modified carbon-paste electrode and its application for the simultaneous determination of cysteine and ascorbic acid, *Electrochimica Acta*, 50, 77-84.
- [26] Raoof J.B., Ojani R., Beitollahi H., 2007. L-cysteine voltammetry at carbon paste electrode bulk-modified with ferrocenedicarboxylic acid, *Electroanalysis*, 19, 1822–1830.
- [27] Banica F.G., Moreira J.C., Fogg A.G., 1994. Application of catalytic stripping voltammetry for the determination of organic sulfur compounds at a hanging mercury drop electrode: behaviour of cysteine, cystine and N-acetylcysteine in the presence of nickel ion, *Analyst*, 119, 309-318.
- [28] Forsman U., 1981. Cathodic stripping voltammetric behaviour of cysteine and cystine in the presence of cupric ions, *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 122, 215-231.

- [29] Nekrassova O., Allen G.D., Lawrence N.S., Jiang L., Jones T.G.J., Compton R.G., 2002. The oxidation of cysteine by aqueous ferricyanide: a kinetic study using boron doped diamond electrode voltammetry, *Electroanalysis*, 44, 1464-1469.
- [30] Wang S.F., Dan Du., 2004. Differential pulse voltammetry determination of ascorbic acid with ferrocene-l-cysteine self-assembled supramolecular film modified electrode, *Sensor and Actuators B*, 97, 373-378.
- [31] Baldrianova L., Agraftiotou P., Svancara I., Vytras K., Sotiropoulos S., 2008. Determination of cysteine at bi-powder carbon paste electrodes by cathodic stripping voltammetry, *Electrochemistry Communications*, 10, 918-921.
- [32] Stricks W., Kolthoff I. M., 1951. Polarographic investigations of reactions in aqueous solutions containing copper and cysteine (cystine). I. Cuprous copper and cysteine in ammoniacal medium. The dissociation constant of cuprous cysteinate, *Journal of the American Chemical Society*, 73, 1723-1727.
- [33] Heyrovský M., Vavříčka S., 1997. Adsorption effects of electroactive species in polarography demonstrated in the case of the anodic waves of cysteine, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 423, 125-130.
- [34] Issa I.M., El SamahyA., Issa R.M., Temerik Y.M., 1972. The polarographic behaviour of cystine in solutions of varying pH at the dropping mercury electrode and effect of surface-active substances, *Electrochimica Acta*, 17, 1615-1623.
- [35] Biçer E., Özdemir N., 2013. In vitro study of the interaction of cysteine with a thiazide diuretic (hydrochlorothiazide) at different pH by voltammetric and spectroscopic techniques, *Russian Journal of Electrochemistry*, 49, 1060-1066.
- [36] Biçer E., Tatlıdil D., 2014. Voltammetric and spectroscopic analysis of interactions of pyridine mono-carboxylic acid isomers with cysteine at physiological pH, *Russian Journal of Electrochemistry*, 50, 496-504.
- [37] Prokopová B., Heyrovský M., 1996. Voltammetric evidence of interfacial interactions between folates and thiols, *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 41, 209-212.
- [38] <http://www.medicalnewstoday.com/articles/10278.php> (Ziyaret tarihi: Kasım 2015)
- [39] Mohammadi Z., Abbott P.V., 2009. On the local applications of antibiotics and antibiotic-based agents in endodontics and dental traumatology, *International Endodontic Journal*, 42, 555-567.
- [40] <https://en.wikipedia.org/wiki/Antibiotics> (Ziyaret tarihi: Eylül 2015)
- [41] Kohanski M.A., Dwyer D.J., Collins J.J., 2010. How antibiotics kill bacteria: from targets to networks, *Nature Reviews Microbiology*, 8, 423-435.
- [42] Li W.Z., Wang K., Zhang X.X., 2007. Study of the interactions between fluoroquinolones and human serum albumin by affinity capillary electrophoresis and fluorescence method, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 603, 101-110.
- [43] Sultana N., Sharif M., 2004. Levofloxacin interactions with essential and trace elements, *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 17, 67-76.

- [44] Liang H., Kays M.B., Sowinski K.M., 2002. Separation of levofloxacin, ciprofloxacin, gatifloxacin, moxifloxacin, trovafloxacin and cinoxacin by high-performance liquid chromatography: application to levofloxacin determination in human plasma, *Journal of Chromatography*, 772, 53-63.
- [45] Seedher N., Agarwal P., 2010. Effect of metal ions on some pharmacologically relevant interactions involving fluoroquinolone antibiotics, *Drug Metabolism and Drug Interactions*, 25, 17-24.
- [46] Seedher N., Agarwal P., 2013. Competitive binding of fluoroquinolone antibiotics and some other drugs to human serum albumin: a luminescence spectroscopic study, *Luminescence*, 28, 562–568.
- [47] Uivarosi V., 2013. Metal complexes of quinolone antibiotics and their applications: an update, *Molecules*, 18, 11153-11197.
- [48] Djurdjevic P., Jakovljevic I., Joksovic L., Ivanovic N., Milena J.S., 2014. The effect of some fluoroquinolone family members on biospeciation of copper(II), nickel(II) and zinc(II) ions in human plasma, *Molecules*, 19, 12194-12223.
- [49] Akinremi C.A., Obaleye J.A., Amolegbe S.A., Adediji J.F., Bamigboye M.O., 2012. Biological activities of some fluoroquinolones-metal complexes, *International Journal of Medicine and Biomedical Research*, 1, 24-34.
- [50] Turel I., 2002. The interactions of metal ions with quinolone antibacterial agents, *Coordination Chemistry Reviews*, 232, 27-47.
- [51] Kawai Y., Matsubayashi K., Hakasui H., 1996. Interaction of quinolones with metal cations in aqueous solution, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 44, 1425-1430.
- [52] Mohd A., Khan A.A.P., Bano S., Siddiqi K.S., 2010. Interaction and fluorescence quenching study of levofloxacin with divalent toxic metal ions, *Eurasian Journal of Analytical Chemistry*, 5, 177-186.
- [53] Çakır S., Biçer E., 2011. Voltammetric study on interaction of cysteine with type I-collagen in the aqueous medium, *Russian Journal of Electrochemistry*, 47, 805-810.
- [54] Çakır S., Odabaşoğlu M., Biçer E., 2009. Synthesis, spectroscopic and voltammetric studies of a novel schiff-base of cysteine and saccharin, *Journal of Molecular Structure*, 918, 81-87.
- [55] Biçer E., Coşkun E., 2007. Voltammetric study of the interaction between oxacillin sodium and cysteine in the presence and absence of Mn(II) ions in neutral buffer solution, *Journal of the Serbian Chemical Society*, 72, 1003-1013.
- [56] Biçer E., Çınar E., 2005. Voltammetric and spectroscopic studies on the interaction of pentoxifylline with cysteine in the presence and absence of UV irradiation, *International Journal of Research in Physical Chemistry & Chemical Physics*, 219, 817-830.
- [57] Çakır S., Biçer E., Çakır O., 2000. Binary and ternary complex of Cu(II) ions with saccharin and cysteine, *Electrochemistry Communication*, 2, 124-129.
- [58] Çakır S., Biçer E., Çakır O., 1999. Application of square-wave adsorptive stripping voltammetry to the study of cysteine and its interaction with some monosaccharides, *Glycoconjugate Journal*, 16, 579-584.

- [59] Hignett G., Threlfell S., Wain A.J., Lawrence N.S., Wilkins S.J., Davis J., Compton R.G., Cardosi M.F., 2001. Electroanalytical exploitation of quinone-thiol interactions: application to the selective determination of cysteine, *The Analyst*, 126, 353-357.
- [60] White P.C., Nathan S.L., James D., Richard G.C., 2001. Electrochemically initiated 1,4 additions: a versatile route to the determination of thiols, *Analytica Chimica Acta*, 447, 1-100.
- [61] Heyrovský M., Prokopova B., 1997. Heterogeneous physicochemical interactions following electrode-reaction-interaction of folates with thiols, *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, 62, 172-184.
- [62] Biçer, E., Çınar E., 2005. Voltammetric study of the interaction of pentoxifylline (PTX) with Zn(II) in the presence and absence of cysteine, *Journal of Coordination Chemistry*, 62, 172-184.
- [63] Goyer R., Golub M., 2003. Issue paper on the human health effects of metals, U.S. Environmental Protection Agency Risk Assessment Forum, Washington, 98, 1-45.
- [64] Keith A., Call M., Huang C., Carol A., 2000. Function and mechanism of zinc metalloenzymes, *Journal of Nutrition*, 130, 1437-1446.
- [65] Chronopoulos J., Haidouti C., Chronopoulou A., Massas I., 1997. Variations in plant and soil lead and cadmium content in urban parks in Athens, Greece, *Science of Total Environment*, 196, 91-98.
- [66] Järup L., 2003. Hazards of heavy metal contamination, *British Medical Bulletin*, 68, 167-182.
- [67] Berg J.M., Shi Y.G., 1996. The galvanization of biology: A growing appreciation for the roles of zinc, *Science*, 271, 1081-1085.
- [68] <http://www.portmoodyhealth.com> (Ziyaret tarihi: Ekim2015)
- [69] Elinder C.-G., Piscator M., 1978. Cadmium, zinc relationships, *Environmental Health Perspectives*, 25, 129-132.
- [70] Peter K., Heineman W.R., 1996. Laboratory techniques in electroanalytical chemistry, Second Edition, Elsevier, London.
- [71] Zoski C.G, 2007. Handbook of electrochemistry, *Elsevier, London*.
- [72] <http://chemwiki.ucdavis.edu> (Ziyaret tarihi: Eylül 2015)
- [73] Hickling A., 1942. Studies in electrode polarization, Part IV-The automatic control of the potential of a working electrode, *Transactions of the Faraday Society*, 38, 27-33.
- [74] Farghaly O.A., Abd-Alhakeem H., 2014. Analytical application using modern electrochemical techniques, *International Journal of Electrochemical Science*, 9, 3287 -3318.
- [75] Barek J., Zima J., 2013. Eighty years of polarography, history and future, *Electroanalysis*, 15, 5-6.
- [76] Bard A.J., Faulkner L.R., 1980. Electrochemical methods – fundamental and applications, 2nd edition, John Wiley and Sons, New York.

- [77] Bond A.M., Stephen F., 1998. Analysis of simulated reversible cyclic voltammetric responses for a charged redox species in the absence of added electrolyte, *Journal of Physical Chemistry*, 102, 9966-9974.
- [78] Nicholson R.S., Shain I., 1964. Theory of stationary electrode polarography, single scan and cyclic methods applied to reversible, irreversible and kinetic systems, *Analytical Chemistry*, 36, 706-723.
- [79] Saito Y., Kikuch T., 2013. *Voltammetry: theory, types and applications*, Nova Science Pub. Inc., New York.
- [80] Bankim S, Ashwini S., 2010. Simultaneous voltammetric determination of acetaminophen, aspirin and caffeine using an in situ surfactant-modified multiwalled carbon nanotube paste electrode, *Electrochimica Acta.*, 55, 8638–8648.
- [81] Bankim S., Shaik M.M., Mahtur P., Gountam K.L., Sirivastava A., 2010. Biomimetic sensor for certain catecholamines employing copper(II) complex and silver nanoparticle modified glassy carbon paste electrode, *Biosensors and Bioelectronics*, 39, 124-132.
- [82] Shaikh M., Bankim S., Ashwini S., Pradeep M., Goutam L., 2010. Biomimetic sensor for certain phenols employing a copper(II) complex, *Analytical Chemistry*, 82, 5983–5992.
- [83] Sanghavi J.U., Ashwini B.S., 2011. Adsorptive stripping differential pulse voltammetric determination of desvenlafaxine employing nafion–carbon nanotube composite glassy carbon electrode, *Electrochimica Acta*, 56, 4188-4196.
- [84] www.princetonappliedresearch.com (Ziyaret tarihi: Nisan 2016)
- [85] Fritz S., 2009. *Electroanalytical methods: guide to experiments and applications*, Springer Science & Business Media, Second Edition, London.
- [86] Mirceski V., Gulaboski R., Lovric M., Bogeski I., Kappl R., Hoth M., 2013. Square-wave voltammetry: a review on the recent progress, *Electroanalysis*, 25, 2411–2422.
- [87] Heinze J., 1984. Cyclic-voltammetry: electrochemical spectroscopy, new analytical methods, *Angewandte Chemie*, 23, 831–847.
- [88] https://www.basinc.com/manuals/EC_epsilon/Techniques/CycVolt/cv_analysis (Ziyaret tarihi: 17 Nisan 2016)
- [89] Omanovic M., Branica M., 1998. Automation of voltammetric measurements by polarographic analyzer PAR 384B, *Croatica Chemica Acta*, 71, 421-433.
- [90] Ahmadi F., Ebrahimi-Dishabi N., Mansouri K., Salimi F., 2014. Molecular aspect on the interaction of zinc-ofloxacin complex with deoxyribonucleic acid, proposed model cytotoxicity evaluation, *Research in Pharmaceutical Sciences*, 9, 367-383.
- [91] Heyrovský M., Mader P., Vavříčka S., Veselá V., Fedurco M., 1997. The anodic reactions at mercury electrodes due to cysteine, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 430, 103-117.

- [92] Biçer E., Çetinkaya P., 2009. Voltammetric study on the interaction of novobiocin with cysteine: pH EFFECT, Journal of The Chilean Chemical Society, 54, 46-50.
- [93] Heyrovský J., Kuřta, J., 1966. Principles of polarography, Academic Press, Kindle Edition, New York.
- [94] Gustav E., Lienhard B., William P., 1966. Thiol addition to the carbonyl group, equilibria and kinetics, Journal of American Chemical Society, 88, 3982–3995.
- [95] Movassagh B., Shaygan P., 2006. Michael addition of thiols to α,β -unsaturated carbonyl compounds under solvent-free conditions, ARKIVOC, xii, 130-137.
- [96] Perlmutter, P., 1992. Conjugate addition reactions in organic synthesis; tetrahedron organic chemistry, Pergamon Press, 9 th ed., U.K.
- [97] Clark J. H., 1980. Fluoride ion as a base in organic synthesis, Chem. Rev., 80, 429-452.
- [98] Trost B. M., Keeley D.E., 1975. New synthetic methods, secoalkylative approach to grandisol, Journal of Organic Chemistry, 40, 2013-2017.
- [99] Nishimura K., Ono M., Nagaoka Y., Tomioka K. J., 1997. Steric tuning of reactivity and enantioselectivity in addition of thiophenol to enoates catalyzed by an external chiral ligand, American Chemical Society, 119, 12974-12975.
- [100] Quyoorn S, 2014. Studies of some mixed ligand ternary metal complexes of N-acetyl cysteine with zinc(II) and nickel(II) metal ions, Research Journal of Chemical Sciences, 4, 32-35.
- [101] Kalwar N.H., Hussain S.S, Khaskheli A.R., Soomro R.A., Shah A., 2013. Reduction of hexavalent chromium using L-cysteine capped nickel nanocatalysts, Pakistan Journal of Analytical & Environmental Chemistry, 14, 54–60.
- [102] Manjanath B.P., Sharanappa T., Shivamurti A., 2015. Spectroscopic investigations of the oxidation of levofloxacin by hexacyanoferrate(III) in aqueous alkaline medium—A kinetic and mechanistic approach, Cogent Chemistry, 1, 1088-1098.
- [103] Gunasekaran S., Rajalakshmi K., Kumaresan S., 2013. Molecular structure, vibrational spectroscopic analysis of levofloxacin density functional method, Journal of Environmental Nanotechnology, 2, 6-9.
- [104] Shah S.H., Patel J.K., Patel N.V., 2010. Formulation and evaluation of effervescent floating tablet of levofloxacin against *H.pylori* infection, Der Pharmacia Sinica, 1, 232-244.
- [105] Baby B., Nagaraja S.H., Korlakunta N.J., Abraham A., 2012. Research and reviews: formulation and evaluation of levofloxacin nanoparticles by ionic gelation method, Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 1, 7-15.
- [106] Yáñez C., Cañete-Rosales P., Castillo J.P., Catalán N., Undabeytia T., Morillo E., 2012. Cyclodextrin inclusion complex to improve physicochemical properties of herbicide bentazon: Exploring better formulations, PLoS ONE, 7, e41072.

- [107] Zhao N.A., Wang M.X., Niu X.L., Sun W., Jiao K., 2013. Spectrophotometric studies on the interaction of yeast RNA with crystal violet and its analytical application, *Journal Chilean Chemical Society*, 53, 1594-1598.
- [108] Abu-Shqair I., Diab N., Salim R., Al-Subu M., 2013. Spectroscopic studies on the binding of some fluoroquinolones with DNA, *Asian Journal of Applied Sciences*, 1, 179-184.
- [109] Jelić R., Tomović M., Stojanović S., Joksović L., Jakovljević I., Djurdjević P., 2015. Study of inclusion complex of β -cyclodextrin and levofloxacin and its effect on the solution equilibria between gadolinium(III) ion and levofloxacin, *Monatshefte Fur Chemie*, 146, 1621-1630.
- [110] Liu, S., Zhang, L.-W., Zhang, X.-X., 2006. Interaction between fluoroquinolones and bovine serum albumin studied by affinity capillary electrophoresis, *Analytical Sciences*, 22, 1515-1518.
- [111] Larsen, M.T., Kuhlmann, M., Hvam, M.L., Howard, K.A., 2016. Albumin-based drug delivery: harnessing nature to cure disease, *Molecular and Cellular Therapies*, 4, 1-12.
- [112] Díaz-Cruz M.S., Díaz-Cruz J.M., Mendieta J.R., Esteban T.M., 2000. Soft and hard-modeling approaches for the determination of stability constants of metal-peptide systems by voltammetry, *Analytical Biochemistry*, 279, 189-201.
- [113] Zhang N., Zhang X., Zhao Y., 2004. Voltammetric study of the interaction of ciprofloxacin copper with nucleic acids and the determination of the acids, *Talanta*, 62, 1041-1045.
- [114] Urbaniak B., Kokot Z.J., 2013. Spectroscopic investigations of fluoroquinolones metal ion complexes, *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*, 70, 621-629.
- [115] Nahar N., 2013. Differential pulse anodic stripping voltammetric study of zinc-ethylenediamine complex, *Research Journal of Chemical Science*, 3, 5-9.
- [116] Berbel F., Diazcruz J.M., Ariño C., Esteban M., 1998. Voltammetry of metal-ions in mixtures of ligands, application to systems including inert complexes, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 453, 151-159.
- [117] DeFord D. D., Hume D. N., 1953. Determination of consecutive formation constants of complex ions from polarographic data, *Journal of American Chemical Society*, 75, 5321-5323.
- [118] Torres M., Díaz-Cruz J.M., Ariño C., Grabaric B.S., Estaban M., 1999. Three-dimensional voltammetric study on the applicability of Leden functions to the analysis nonlabile complexes, the Cd(II)-NTA system, *Electroanalysis*, 11, 93-100.
- [119] Ramani S., Raspor B., Arbneshi T., 2013. Electrochemical study of cadmium (II) complexation with cysteine, *American Journal of Analytical Chemistry*, 4, 577-587.
- [120] Michael J.W., Beth A.A., 2013. Determination of stability constant of Cu(II), Cd(II), Zn(II) complex with thiols fluorescent probes, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 128, 112-123.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve soyadı: Parouke NUERTAYI

Doğum yeri: XinJiang, Çin

Doğum tarihi: 2 Ağustos 1988

Adres: Parlak Street No.52, Korgas, Ili, XinJiang, China

E-posta: faruk13210320@gmail.com

Lisans (2007-2012) : XinJiang Üniversitesi, Urumqi, Çin

Yüksek Lisans (2014 -): Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye