



**T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI ADE İNHİBİTÖRLERİNİN METAL
BAĞLAMA ÖZELLİKLERİNİN
SPEKTROFLORİMETRİK YÖNTEMLE
İNCELENMESİ**

**GÖKHAN BAŞ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kimya Anabilim Dalı**

**Temmuz-2019
KONYA
Her Hakkı Saklıdır**

TEZ KABUL VE ONAYI

...Gökhan BAŞ.... tarafından hazırlanan “Bazı Ade İnhibitörlerinin Metal Bağlama Özelliklerinin Spektroflorimetrik Yöntemle İncelenmesi” adlı tez çalışması 20/08/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / ~~oy çokluğu~~ ile Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü ...KİMYA... Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan

Prof. Dr. Zafer YAZICIGİL

Danışman

Prof. Dr. S. Beniz GÜNDÜZ

Üye

Doç. Dr. Ecir YILMAZ

İmza

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Mustafa YILMAZ
FBE Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

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

DECLARATION PAGE

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

İmza



Gökhan BAŞ

Tarih: 20.08.2019

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI ADE İNHİBİTÖRLERİNİN METAL BAĞLAMA ÖZELLİKLERİNİN SPEKTROFLORİMETRİK YÖNTEMLE İNCELENMESİ

GÖKHAN BAŞ

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
KİMYA Anabilim Dalı

Danışman: Prof.Dr. S. Beniz GÜNDÜZ

2019, 80 Sayfa

Jüri

Prof.Dr. S. Beniz GÜNDÜZ
Prof.Dr. Zafer YAZICIGİL
Doç.Dr. Ecir YILMAZ

ADE inhibitörlerini içeren antihipertansif ilaçları sürekli kullanmak zorunda olan özellikle de ileri yaşlardaki hastalarda, vücutta ileri yaş sebebiyle gıdalardan vitamin ve minerallerin yeteri kadar alınamamasından dolayı vitamin-mineral kombinasyonu ilaçların alınması yaygındır. Bu nedenle antihipertansif ilaçlarla birlikte alınan vitamin-mineral kombinasyonu ilaçların içeriğinde makro miktarda bulunan demir ve eser (iz) oranda bulunan çinko, bakır, kobalt ve mangan gibi metallerin ADE inhibitörleriyle kompleks oluşturma ve her iki ilacın da etkinliklerinin azalmasına sebep olma olasılığının incelenmesi büyük önem taşımaktadır. ADE inhibitörleri, Ramipril (RMP) ve Enalapril (ENP) bileşiklerinin metal bağlama özellikleri spektrofotometrik metot kullanarak incelenmiştir. Zn(II) iyonunun, Ramipril (RMP) ve Enalapril (ENP) ile farklı çözücü ortamlarında etkileşimleri, bu maddelerin floresans özelliklerine etkileri ve en uygun deney koşulları tayin edilmiştir. Uyarma ve emisyon dalga boyları, pH 3.0 ve metanol ortamında RMP-Zn (II) kompleksi için sırasıyla λ_{ex} = 252 nm ve λ_{em} = 284 nm olarak belirlenmiştir. Kompleks oluşumu için çözeltiler 25 dakika bekletildikten sonra emisyon spektrumları alınarak floresans şiddeti değerleri ölçülmüştür. Belirlenen deney şartlarında, kalibrasyon grafikleri ($[Zn^{2+}]$ -F grafiği) çizilmiştir ve en uygun koşullar altında RMP-Zn (II) kompleksi için çalışma aralığı 0.1-1.0 μ M aralığında doğrusaldır. Gözlenebilirlik sınırı (LOD) ve alt tayin sınırı (LOQ) sırasıyla 0.04 ve 0.13 μ M olarak belirlenmiştir. RMP'in Zn(II) iyonlarıyla oluşturduğu komplekse dayalı florimetrik yöntem, çinko içeren bir ilaca (Redoxon) uygulanmış, ancak uygun ve başarılı sonuçlar elde edilememiştir.

Anahtar Kelimeler: Antihipertansif, ADE inhibitörleri, Enalapril, Ramipril, florimetri, çinko

ABSTRACT

MS. THESIS

INVESTIGATION OF THE METAL BONDING PROPERTIES OF SOME ACE INHIBITORS COMPOUNDS USING SPECTROFLUORIMETRIC METHOD

GÖKHAN BAŞ

**SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN CHEMISTRY**

Advisor: Prof.Dr. S. Beniz GÜNDÜZ

2019, 80 Pages

**Jury
Advisor Prof. Dr. S. Beniz. GÜNDÜZ
Prof.Dr. Zafer YAZICIGİL
Doç.Dr. Ecir YILMAZ**

It is common to take vitamin-mineral combination drugs because of inadequate intake of vitamins and minerals in the body due to advanced age, especially in older patients who have to use antihypertensive drugs containing ACE inhibitors. For this reason, it is of great importance to investigate the possibility of the combination of vitamin-mineral combination with antihypertensive drugs in combination with ACE inhibitors of iron, trace amounts of zinc, copper, cobalt and manganese, which are present in macro amounts, and to decrease the effectiveness of both drugs. Metal binding properties of ACE inhibitors, Ramipril (RMP) and Enalapril (ENP) compounds were investigated using spectrofluorimetric method. Interactions of Zn (II) ion with Ramipril (RMP) and Enalapril (ENP) in different solvent media, effects of these substances on fluorescence properties and optimum conditions were determined. Excitation and emission wavelengths were determined as $\lambda_{ex} = 252$ nm and $\lambda_{em} = 284$ nm for RMP-Zn (II) complex in pH 3.0 and methanol medium, respectively. Fluorescence intensity values were measured by taking emission spectra after 25 minutes of solutions for complex formation. Under the specified experimental conditions, calibration graphs ($[Zn^{2+}] - F$ graph) are plotted and under optimal conditions the study range for the RMP-Zn (II) complex is linear in the range 0.1-1.0 μM . Limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) were determined as 0.04 and 0.13 μM , respectively. The complex-based fluorimetric method of RMP with Zn (II) ions was applied to a zinc-containing drug (Redoxon), but no suitable and successful results were obtained.

Keywords: Antihypertensive, ACE inhibitors, Enalapril, Ramipril, fluorimetry, zinc

ÖNSÖZ

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi öğretim üyelerinden Prof. Dr. S. Beniz GÜNDÜZ danışmanlığında, Gökhan BAŞ tarafından hazırlanmış bir Yüksek Lisans Bitirme Tezidir.

Öncelikle Yüksek lisans eğitimimiz boyunca hoşgörölü tavrıyla bizi her zaman destekleyen, bilgi ve birikimleriyle bizi aydınlatan, bu tez çalışmamızda da yardımlarını esirgemeyen, bize sunduğu laboratuvar imkânlarıyla gelişmemize ve tecrübe kazanmamıza yardımcı olan, değerli danışman hocamız Sayın Prof. Dr. S.Beniz GÜNDÜZ'e teşekkür ve saygılarımı sunarım. Kimya Yüksek Lisans eğitimimiz süresince engin bilgilerle bizi geliştiren tüm Selçuk Üniversitesi Kimya Bölümü Öğretim Üyelerine teşekkürü borç bilirim.

Bugünlere kadar gelmemizde emekleri sonsuz olan, hayatımızın her aşamasında sevgi ve desteklerini bizden esirgemeyen sevgili ailelerimize sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

GÖKHAN BAŞ
KONYA-2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
ÇİZELGELER LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. TEORİK KISIM	3
2.1. Spektroflorimetri	3
2.1.1. Moleküler lüminesans spektroskopisi	3
2.1.2. Floresans ve fosforesans spektroskopisi yöntemleri	4
2.1.3. Lüminesans spektrofotometreleri	5
2.1.4. Spektroflorimetrelerin ayarlanması	8
2.1.5. Fotolüminesans kuantum verimi ve floresansı etkileyen faktörler	8
2.1.5.1. Molekül yapısının etkisi	9
2.1.5.2. Konjügasyon etkisi	11
2.1.5.3. Molekülün rijitliğinin ve düzlemselliğinin etkisi	12
2.1.5.4. Moleküldeki süstitüentlerin etkisi	13
2.1.5.5. Sıcaklık	15
2.1.5.6. Çözücü etkisi	15
2.1.5.7. pH etkisi	16
2.1.5.8. Konsantrasyonun etkisi	17
2.1.5.9. Viskozite etkisi	17
2.1.5.10. Çözünmüş oksijen ve paramagnetikler	18
2.1.5.11. Gelen ışının dalga boyunun ve şiddetinin etkisi	18
2.1.6. Floresans analizin avantaj ve dezavantajları	19
2.1.7. Florimetri ve uygulama alanları	19
2.1.8. İnorganik Bileşiklerin Analizi	20
2.2. Antihipertansifler	25
2.2.1. Anjiotensin Dönüştürücü Enzim (ADE) İnhibitörleri	26
2.2.2. ADE İnhibitörlerinin Etki Mekanizmaları	28
2.2.3. Diüretiklerin Antihipertansif Amaçla Kullanımı	31
2.2.4. Birlikte Bulunan Çeşitli Durumlara Göre İlaç Seçimi	31
2.2.5. ADE İnhibitörlerinin Kimyasal yapıları ve Özellikleri	35
3. KAYNAK ARAŞTIRMASI	45

4. MATERYAL VE YÖNTEM.....	48
4.1. Kullanılan cihazlar	48
4.1.1. Spektroflorimetre	48
4.1.2. Analitik Terazı ve pH Metre	48
4.1.3. Su Banyosu, Saf Su Cihazı ve Karıştırıcı	49
4.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	49
4.2.1. ADE inhibitörleri (Enalapril, Ramipril).....	49
4.2.2. Çözücüler	49
4.2.3. Amonyum asetat çözeltisi	49
4.2.4. Hidroklorik asit ve sodyum hidroksit çözeltisi	50
4.2.5. Stok çinko çözeltisi	50
4.2.6. Çinko içerikli tabletlerin çözeltisi	50
4.3. Deneysel İşlem.....	50
4.4. Deney Koşullarının Belirlenmesi.....	51
4.4.1. Uyarma ve emisyon dalga boylarının belirlenmesi	51
4.4.2. En uygun ENP ve RMP derişiminin belirlenmesi	51
4.4.3. En uygun pH değerin belirlenmesi	52
4.4.4. En uygun ortam sıcaklığının belirlenmesi	52
4.4.5. Kompleks oluşum süresinin belirlenmesi	52
4.4.6. Kalibrasyon grafiğı ve analitik parametrelerin belirlenmesi	53
5. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	54
5.1. Uyarma ve Emisyon Dalga Boylarının Belirlenmesi	54
5.2. En Uygun ENP ve RMP Ligand Derişimlerinin Belirlenmesi	66
5.3. En Uygun pH Değerin Belirlenmesi	66
5.4. En Uygun Sıcaklığın Belirlenmesi	71
5.5. Kompleks Oluşum Süresinin Belirlenmesi	71
5.6. Kompleksin Floresans Şiddetine Zn(II) Derişiminin Etkisinin Belirlenmesi.....	73
5.7. RMP-Zn(II) Kompleksi İçin Belirlenen En Uygun Koşullar	74
5.8. Yöntem Validasyonu	75
5.8.1. Doğrusallık.....	75
5.8.2. Gözlenebilme sınırı (LOD) ve alt tayin sınırı (LOQ)	75
5.8.3. Doğruluk ve Kesinlik.....	76
5.9. RMP'in Çinko İçerikli Tabletlerle Kompleks Oluşturması	76
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	78
6.1. Sonuçlar	78
6.2. Öneriler	78
KAYNAKLAR	79
ÖZGEÇMİŞ	80

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

A:	Absorbans
g:	Gram
K:	Kelvin
L:	Litre
M:	Molarite
mg:	Miligram
nm:	Nanometre
s:	Saniye
Zn:	Çinko
µg:	Mikrogram
µM:	Mikromolar
ε:	Molar absorptive katsayısı(L / mol.cm)
λ:	Dalgaboyu
π:	Pi
φ:	Fotoluminesans Kuantum Verimi

Kısaltmalar

ACN:	Asetonitril
ADE:	Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
ASA:	Asetil Salisilik Asit
AT-II:	Anjiyotensin-II
DMF:	Dimetilformamid
ENP:	Enalapril
EtOH:	Etanol
F:	Floresans şiddeti
FDA:	
I:	Soğurulup gecen fotonun şiddeti
I₀:	Gelen fotonun şiddeti
JNC:	Joint National Committee
KAH:	Koroner Arter Hastalığı
LOD:	Gözlenebilme Sınırı
LOQ:	Alt Tayin Sınırı
MeOH:	Metanol
NEP:	Nötral Endopeptidaz Peptid
RAAS:	Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi
RAS:	Renin Anjiyotensin Sistemi
RMP:	Ramipril
SEM:	Taramalı Elektron Mikroskobu
TG:	Termal Analiz
UV:	Ultraviyole
XRD:	X- Işını Toz Difraksiyonu

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Bir moleküldeki ışımalı ve ışımasız geçişler.....	5
Şekil 2.2. Fotolüminesans ölçümleri için kullanılan cihaz.....	6
Şekil 2.3. Fotolüminesans ölçümleri için kullanılan cihaz.....	6
Şekil 2.4. Antrasenin uyarma, lüminesans ve senkron lüminesans spektrumları.....	8
Şekil 2.5. Florimetrik reaktif olarak kullanılan bazı genel kompleksleştirici maddeler.	23
Şekil 2.6. ADE İnhibitörlerinin Etki Mekanizması	29
Şekil 2.7. Çinko (Zn)	43
Şekil 5.1. Enalaprilin EtOH' de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumları (λ_{ex} = 250 nm, [ENP] = 10^{-3} M). 54	54
Şekil 5.2. Enalaprilin MeOH' de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumları (λ_{ex} = 250 nm, [ENP] = 10^{-3} M).	55
Şekil 5.3. Enalaprilin ACN' de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumları (λ_{ex} = 250 nm, [ENP] = 10^{-3} M).....	56
Şekil 5.4. Enalaprilin DMF' de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumları (λ_{ex} = 340 nm, [ENP] = 10^{-3} M).....	57
Şekil 5.5. Enalaprilin suda pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumları (λ_{ex} = 250 nm, [ENP] = 10^{-3} M).....	59
Şekil 5.6. Ramiprilin EtOH' de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumları (λ_{ex} = 250 nm, [RMP] = 10^{-3} M).....	60
Şekil 5.7. Ramiprilin MeOH' de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumları (λ_{ex} = 250 nm, [RMP] = 10^{-3} M).....	61
Şekil 5.8. Ramiprilin ACN' de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumları (λ_{ex} = 250 nm, [RMP] = 10^{-3} M).....	62
Şekil 5.9. Ramiprilin DMF' de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumları (λ_{ex} = 344 nm, [RMP] = 10^{-3} M).....	63
Şekil 5.10. Ramiprilin suda pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumları (λ_{ex} = 249 nm, [RMP] = 10^{-3} M).....	65
Şekil 5.11. Enalaprilin farklı çözücülerdeki pH-F.I. grafikleri, [ENP]= 10^{-3} M, λ_{ex} =250 nm, λ_{em} =287 nm (ACN, EtOH ve MeOH), 358 nm (su)	67
Şekil 5.12. Ramiprilin farklı çözücülerdeki pH-F.I. grafikleri, [RMP]= 10^{-3} M, λ_{ex} =250 nm, λ_{em} =286 nm.	67
Şekil 5.13. RMP-Zn (II) kompleksinin metanol ortamında pH=2-9 aralığındaki emisyon spektrumları, ([RMP]= 10^{-4} M, $[Zn^{2+}]$ = 10^{-4} M).	68
Şekil 5.14. RMP-Zn (II) kompleksinin metanol ortamında pH=2-9 aralığındaki pH-F.I. grafiği.....	69
Şekil 5.15. RMP-Zn (II) kompleksinin metanol ortamında pH=2-9 aralığındaki pH-F.I. grafiği.....	70
Şekil 5.16. RMP-Zn (II) kompleksinin metanol ortamında pH=2-9 aralığındaki pH-F.I. grafiği.....	70
Şekil 5.17. RMP-Zn(II) kompleksinin metanol ortamında Süre, dk - F.I. grafiği.....	72
Şekil 5.18. RMP-Zn(II) kompleksinin metanol ortamında Süre, dk - F.I. grafiği.....	72
Şekil 5.19. RMP-Zn(II) kompleksinin kalibrasyon grafiği (Deney koşulları: [RMP] = 10^{-4} M, $[Zn^{2+}]$ = 0.1-1.0 μ M, dk = 25, pH=3.0, MeOH ortamı, λ_{uy} = 252 nm, λ_{em} = 284 nm).....	74

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 2.1. Benzenin floresans özelliğine süstitüsyonların etkisi(etanol içinde)	14
Çizelge 2.2. Emisyon dalga boyu ve floresans şiddetine süstitüentlerin etkisi	14
Çizelge 2.3. Nadir toprak elementlerinin doğrudan analiz duyarlılığı	21
Çizelge 2.4. Florimetrik reaktifler (ayırıştırıcılar) kullanılarak tayin edilebilen çeşitli metal iyonları	24
Çizelge 2.5. Bazı durumlarda yararı kanıtlanmış olan ilaç grupları	32
Çizelge 2.6. Hipertansiyon tedavisinde eşlik eden duruma da yararlı olabileceği düşünülen ilaç grupları.....	33
Çizelge 5.1. Enalaprilin EtOH' de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumlarına ait floresans şiddeti değerleri ($\lambda_{ex} = 250$ nm, $[ENP] = 10^{-3}$ M).	55
Çizelge 5.2. Enalaprilin MeOH' de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumlarına ait floresans şiddeti değerleri ($\lambda_{ex} = 250$ nm, $[ENP] = 10^{-3}$ M).....	56
Çizelge 5.3. Enalaprilin ACN' de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumlarına ait floresans şiddeti değerleri ($\lambda_{ex} = 250$ nm, $[ENP] = 10^{-3}$ M).....	57
Çizelge 5.4. Enalaprilin DMF' de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumlarına ait floresans şiddeti değerleri ($\lambda_{ex} = 340$ nm, $[ENP] = 10^{-3}$ M).....	58
Çizelge 5.5. Enalaprilin suda pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumlarına ait floresans şiddeti değerleri ($\lambda_{ex} = 250$ nm, $\lambda_{ex} = 275$ nm (su piki), $[ENP] = 10^{-3}$ M).....	59
Çizelge 5.6. Ramiprilin EtOH' de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumlarına ait floresans şiddeti değerleri ($\lambda_{ex} = 250$ nm, $[RMP] = 10^{-3}$ M).....	61
Çizelge 5.7. Ramiprilin MeOH' de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumlarına ait floresans şiddeti değerleri ($\lambda_{ex} = 250$ nm, $[RMP] = 10^{-3}$ M).....	62
Çizelge 5.8. Ramiprilin ACN' de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumlarına ait floresans şiddeti değerleri ($\lambda_{ex} = 250$ nm, $[RMP] = 10^{-3}$ M).....	63
Çizelge 5.9. Ramiprilin DMF' de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumlarına ait floresans şiddeti değerleri ($\lambda_{ex} = 346$ nm, $[ENP] = 10^{-3}$ M).....	64
Çizelge 5.10. Ramiprilin suda pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumlarına ait floresans şiddeti değerleri ($\lambda_{ex} = 249$ nm, $[RMP] = 10^{-3}$ M).....	65
Çizelge 5.11. RMP-Zn (II) kompleksinin MeOH' de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumlarına ait floresans şiddeti değerleri ($\lambda_{ex} = 250$ nm, $[RMP] = 10^{-4}$ M, $[Zn^{2+}] = 10^{-4}$ M).	69
Çizelge 5.12. RMP-Zn(II) kompleksi için belirlenen en uygun koşullar	74
Çizelge 5.13. RMP ile Zn(II) etkileşiminin incelendiği florimetrik yöntemin istatistik parametreleri	75
Çizelge 5.14. Florimetrik yöntemle RMP ve Zn(II) iyonu arasındaki etkileşimin tayini	76

1. GİRİŞ

Kalp yetersizliği, kalbin yapısal veya fonksiyonel bozukluğundan kaynaklanan dolum veya pompa fonksiyonlarında bozulmanın izlendiği; yorgunluk, efor ile gelen nefes darlığı (ileri evrelerde dinlenme halinde), ortopne, paroksizmal nokturnal dispne, nokturi, mental durum değişiklikleri, anoreksi ve abdominal ağrı ile karakterize olabilen kompleks bir klinik sendromdur (Kepez ve Kabakçı, 2004).

Anjiyotensin II (AT-II) ve aldosteronun kardiyevasküler hastalıkların patofizyolojisindeki rolü çok iyi bilinmektedir. Kalp, vasküler sistem ve böbrekte meydana gelen fonksiyonel ve yapısal değişiklikler renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin (RAAS) endokrin fonksiyonundan ziyade doku aktivitesindeki artıştan kaynaklanmaktadır (Dzau ve Re, 1994). Kardiyevasküler hastalığın başlangıcı ve ilerleyişi birbirini takip eden olaylar zinciri olarak kabul edilir. Buna göre hipertansiyon, dislipidemi veya diyabet esmellitüs gibi risk faktörlerinin başlattığı ateroskleroz ve/veya sol ventrikül hipertrofisi koroner arter hastalığına (KAH) yol açar, KAH'da kalp yetersizliği ve terminal kalp hastalığına kadar ilerleyebilir. Bu olaylar zincirinin her kademesinde AT-II önemli rol oynar.

Uygun dozda verilen ADE inhibitörleri genellikle, kronik kalp yetmezliğinin tedavisinde semptomların giderilmesi, egzersiz toleransının artırılması, akut alevlenme insidansının düşürülmesi ve mortalitenin azaltılması hedeflerine ulaşılmasını sağlar. ADE inhibitörleri anjiyotensin I'in anjiyotensin II'e dönüşmesini inhibe eder. Yeterli etkinlik gösterir ve genel olarak iyi tolere edilirler. Hipertansiyonda ADE inhibitörleri, tiazidler ve beta blokerlerin kontrendike olduğu, tolere edilemediği veya kan basıncını kontrol altına alamadıkları durumlarda düşünülmelidir. Özellikle insüline bağımlı diyabetlilerdeki nefropati gelişmiş hipertansiyonda ve olasılıkla bütün diyabetlilerde hipertansiyonda endikedir.

Silazapril, enalapril, kinapril, ramipril ve lisinopril gibi anjiyotensin-dönüştürücü enzim (ADE) inhibitörleri (antihipertansif ajanlar), hipertansiyon ve kalp yetmezliği hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan ilaçlardır. ADE inhibitörleri, esas olarak esansiyel hipertansiyon, konjestif kalp yetmezliği, sol ventrikülerde diyastolik disfonksiyon, bazı aritmiler ve diyabetik nefropatinin tedavisi gibi endikasyon alanlarında kullanılmaktadır. Ayrıca miyokard infarktüsü sonrası ortaya çıkan sol ventrikül yetmezliğinin önlenmesinde bu ilaçların yararlı olduğu anlaşılmıştır. Bu

ilaçlar özellikle de insüline bağımlı diyabetiklerdeki nefropati gelişmiş hipertansiyonun tedavisinde kullanılmaktadır.

İnsan vücudunda yaklaşık toplam 150 element bulunup bunun yaklaşık 12'si: O, C, H, N, Ca, P, K, S, Na, Cl, Mg ve Fe toplam elementlerin %99,5'ini, bu 12'nin ilk 6'sı da %99'unu oluşturur. Kalan diğer elementler toplamın yaklaşık %0,5'i kadardır. Bu 12 elemente makro veya nicel elementler (O, C, H, N, Ca, P, K, S, Na, Cl, Mg ve Fe gibi), kalanına mikro veya iz (eser) elementler (Mn, Cu, Co, I, Zn, F ve Si gibi) denir. Mikro elementler insan vücudunda ve besinlerde %0,005 kadar veya daha az miktarda bulunan elementlerdir. Biyolojik değerlendirmeye göre elementler yaşam için gerekli olanlar asal veya esas elementler ve istenmeyen veya son derece zararlı olan elementler olarak ayırt edilebilir. Asal elementler enzim, vitamin ve hormonların bileşenleri olarak emilme, sindirim ve metabolizmada önemli rol oynarlar veya belirli vücut maddelerinin (kemikler, dişler) tamamlayıcı parçalarıdır. Vücutta bulunan iz (eser) elementlerden bakır, demirin kullanılmasını katalizler ve kan oluşumunda kobalt her ikisini de etkiler.

ADE inhibitörlerini (Ramipril, Silazapril, Kinapril, Lisinopril ve Enalapril gibi) içeren antihipertansif ilaçları sürekli kullanmak zorunda olan özellikle de ileri yaşlardaki hastalarda, vücutta ileri yaş sebebiyle gıdalardan vitamin ve minerallerin yeteri kadar alınamamasından dolayı vitamin-mineral kombinasyonu ilaçların alınması yaygındır. Bu nedenle antihipertansif ilaçlarla birlikte alınan vitamin-mineral kombinasyonu ilaçların içeriğinde makro miktarda bulunan demir ve eser (iz) oranda bulunan çinko, bakır, kobalt ve mangan gibi metallerin ADE inhibitörleriyle kompleks oluşturma ve her iki ilacın da etkinliklerinin azalmasına sebep olma olasılığının incelenmesi büyük önem taşımaktadır.

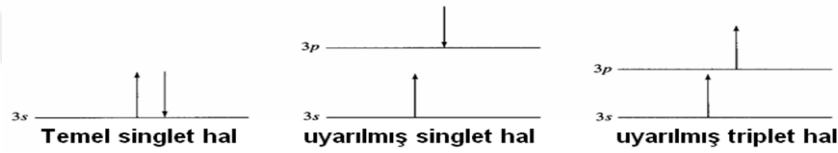
Bu tez çalışmasında pekçok metabolik reaksiyonda önemli rol oynayan ve vücutta az miktarlarda bulunan mikro element çinko mineraliyle ADE inhibitörlerinin kompleks oluşturabilme özelliklerinin spektrofotometrik yöntem ile incelenmesi amaçlanmaktadır.

2. TEORİK KISIM

2.1.Spektroflorimetri

2.1.1. Moleküler lüminesans spektroskopisi

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



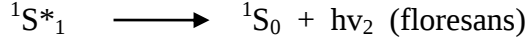
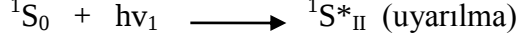
Floresans ve fosforesansın ortak özellikleri, ışın enerjisini absorblaması suretiyle uyarılmış hale geçen atom, iyon veya molekül tarafından ışın enerjisinin ışın yayması şeklinde açığa çıkan fotolüminesans çeşitlerindendir. Uyarılmış halde olan molekül veya atom kararsız haldedir. Fazla enerjisini atarak temel hale dönmek ister. Atom veya molekül temel enerji düzeyine dönerken fazla enerjisinin tümünü veya bir kısmını ışık şeklinde atabilir ve böylece sistemden bir ışık yayılması (ışık emisyonu) gözlenir. Bu ışık yayılması olayına genel olarak lüminesans denir (Gündüz, 2002a).

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

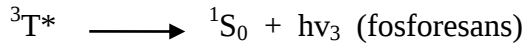
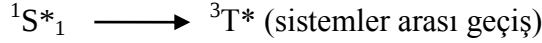
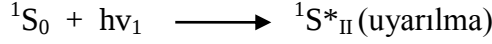
Maddelerin floresans özelliğinden faydalanılarak yapılan tayin metoduna florimetri veya floresans spektroskopisi adı verilir. Birkaç yönüyle absorpsiyon spektroskopisine benzese de özellikleri ondan daha yüksektir. Florimetrik metotların seçicilik özelliği ve duyarlılığı da yüksektir.

2.1.2. Floresans ve fosforesans spektroskopisi yöntemleri

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



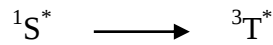
Uyarılmış bir triplet sistemden temel haldeki singlet bir sisteme geçiş sırasında yayılan ışığa ise fosforesans ($h\nu_3$) adı verilir.



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



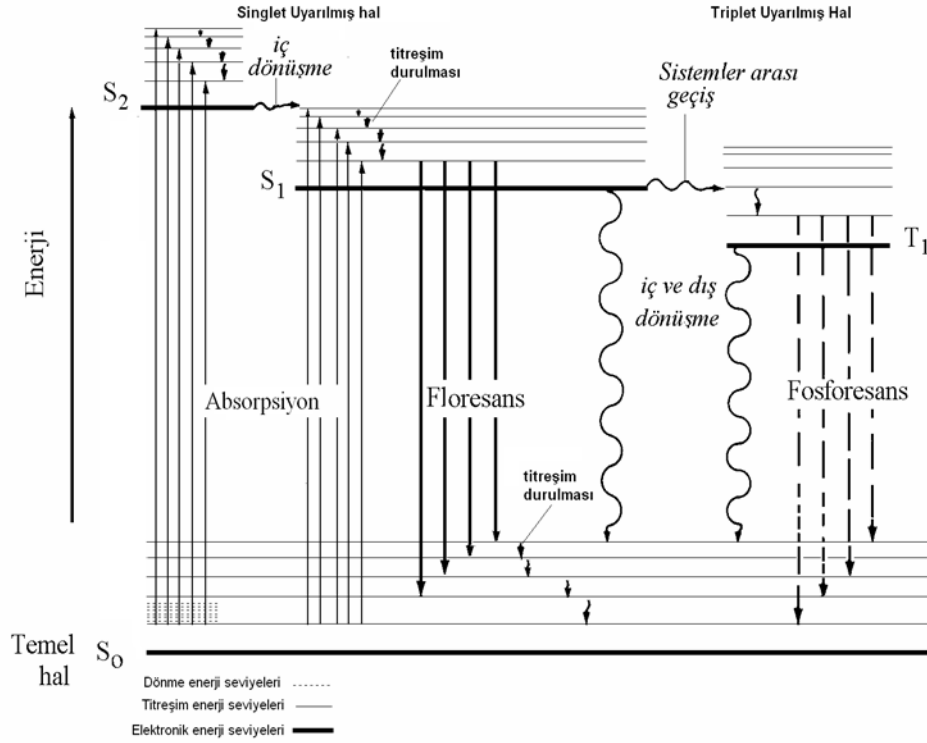
3. Sistemler arası geçiş: Uyarılmış singlet türü bir molekülden yine ışımasız yoldan daha düşük enerjili triplet türü uyarılmış bir molekül oluşabilir. Olasılığı oldukça az olan ve bu nedenle yavaş bir biçimde gerçekleşen bu olayda üst orbitaldeki elektronun spini terse çevrilir. Bu olaya sistemlerarası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



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

10^2 s kadar daha devam eder. Temel hale dönme süresi maddenin molar absorplama katsayısının artmasıyla azalır.

Oda sıcaklığında S_1 düzeyine uyarılmış bir türün, fazla enerjisini kaybederek S_1 düzeyinden S_0 düzeyine dört farklı şekilde dönmesi söz konusudur (Gündüz, 1995). Şekil 2.1’de bir moleküldeki ışımalı ve ışımasız geçişler Jablonski diyagramıyla verilmiştir.



Şekil 2.1. Bir moleküldeki ışımalı ve ışımasız geçişler

2.1.3. Lüminesans spektrofotometreleri

Fotolüminesans ölçüm cihazı Şekil 2.2’de ve buna ait basit bir şema Şekil 2.3’de verilmiştir (Skoog ve ark., 1998)

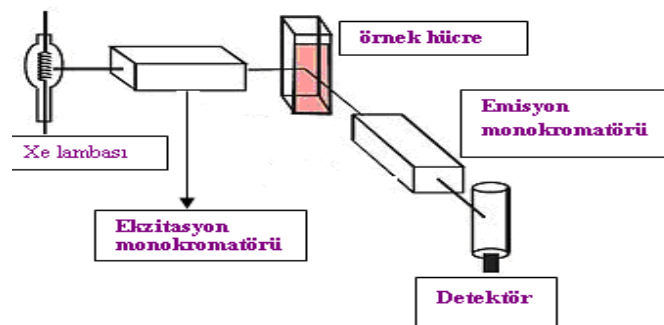
Ultraviyole (UV) ve görünür bölgede ışın yayan bir ışık kaynağından gelen ışın bir monokromatörden (uyarma monokromatörü) geçtikten sonra örneğe gönderilir. Örnekten kaynaklanan lüminesans genellikle uyaran ışığa göre 90° lik bir açıdan toplanarak dedektöre ulaşır. Böylece numuneyi uyaran ışının dedektöre ulaşması önlenir. Lüminesans spektrumunun elde edilmesi için ikinci bir monokromatörün (emisyon monokromatörü) örnek ile dedektör arasına yerleştirilmesi gerekir. Daha basit aletlerle monokromatörler yerine uygun filtreler kullanılır. Filtreli aletlere, kullanıldığı

amaca göre florimetre veya fosforimetre, monokromatörlü aletlere ise spektroflorimetre veya spektrofosforimetre adı verilir. Lüminesans ölçümü yapan aletlerin tek kanallısı olduğu gibi, çift kanallı türleri de vardır.



Şekil 2.2. Fotolüminesans ölçümleri için kullanılan cihaz.

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



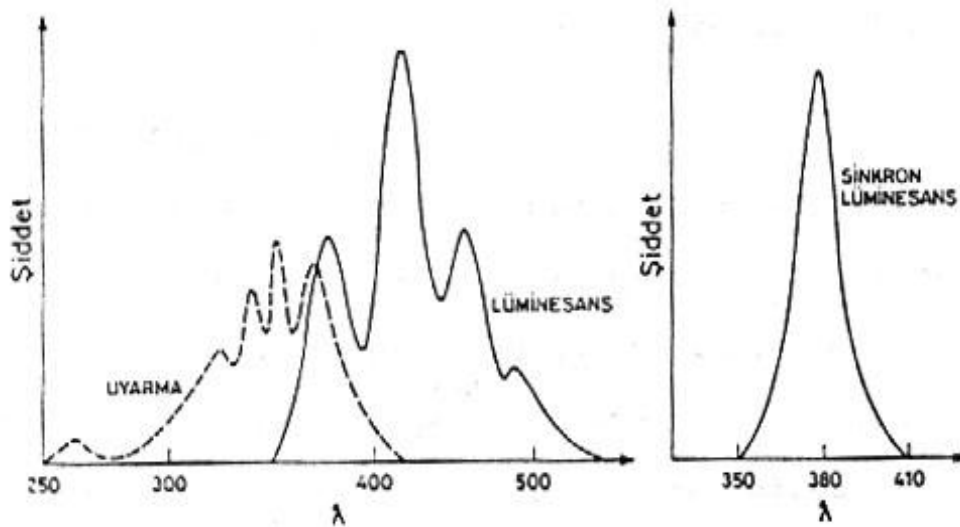
Şekil 2.3. Fotolüminesans ölçümleri için kullanılan cihaz

Ölçülecek floresans ışınının şiddeti, floresan maddeyi uyarmak için kullanılan ışının P_0 şiddetiyle orantılı olduğundan, ışın kaynağının güçlü olması gerekir. Bu amaçla fotometre ve spektrofotometrelerde kullanılan hidrojen, döteryum ve tungsten ışın kaynaklarından daha güçlü olan düşük basınçlı cıva ark lâmbaları ve yüksek basınçlı ksenon ark lâmbaları kullanılır. Filtreli florimetreler için en yaygın kullanılan kaynak, erimiş silika pencere, düşük basınçlı Cıva buhar lambasıdır. Bu kaynak, 254, 302, 313, 546, 578, 691 ve 773 dalga boylarında şiddetli ışınlar yayar. Bu ışınlar kesikli olduklarından, bir absorpsiyon filtresinden veya bir interferans filtresinden geçirilerek ayrı ayrı dalga boyunda ışın demetleri haline getirilir. Bu nedenle, yüksek basınçlı ksenon ark lâmbalarının kullanıldığı cihazlara spektroflorimetreler denir.

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

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

Uyarma dalga boyu sabit tutulup emisyon monokromatöründeki dalga boyu ayarı değiştirilirse, örnek için lüminesans spektrumu elde edilir. Lüminesans spektrumu, uyarma spektrumundan daha uzun dalga boyu bölgesindedir. Hem uyarma hem de emisyon monokromatöründeki dalga boyu ayarları aralarında belli bir dalga boyu farkı, $\Delta\lambda$, uygulanarak ve aynı hızda birlikte değiştirilerek lüminesans ölçümü yapılabilir. Bu tür spektrum elde etme yöntemine *senkron spektrofotometri* yöntemi denir ve bu yöntem özellikle birden fazla floresant madde içeren karışımların kantitatif analizinde kullanılır. Uyarma, lüminesans ve senkron lüminesans spektrumlarına ait örnekler Şekil 2.4.'de görülmektedir.



Şekil 2.4. Antrasenin uyarma, lüminesans ve senkron lüminesans spektrumları

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

2.1.4. Spektroflorimetrelerin ayarlanması

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

2.1.5. Fotolüminesans kuantum verimi ve floresansı etkileyen faktörler

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

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

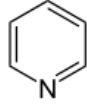
- 1- Molekül yapısının floresansa etkisi,
 - a) Çift bağ konjugasyonunun geniş bir şekilde delokalize olmasına,
 - b) Molekülün rijitliğine, düzlemsel olmasına ve
 - c) Bağlı bulunan süstitüentlere bağlıdır.
- 2- Sıcaklık,
- 3- Çözücü etkisi,
- 4- pH etkisi,
- 5- Konsantrasyonun etkisi,
- 6- Viskozite etkisi,
7. Çözünmüş oksijen ve paramagnetiklerin etkisi,
8. Gelen ışının dalga boyunun ve şiddetinin etkisi.

2.1.5.1. Molekül yapısının etkisi

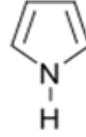
Moleküllerde düzlemsellik, dönmenin engellenmiş olması, konjugasyon ve halka sayısının artması genellikle floresans verimini artırır. En şiddetli floresans ışınlarını, yapısında düşük enerjili $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişine imkân veren aromatik halka ihtiva eden bileşikler verir. Ayrıca yapısında çok sayıda konjüge çifte bağ ihtiva eden alifatik ve alisiklik aromatik halkalar da floresans özellik gösterirler. Ancak, bunların sayısı aromatik bileşiklerin sayısına göre çok azdır. Bunlardan başka karbonil grubu içeren alifatik ve alisiklik bileşiklerle çok sayıda çifte bağ içeren konjüge sistemler de floresans özelliği gösterirler. Bu özellikleri aromatik halkaların kondensasyonu ile daha da artar. Bir çok süstitüe olmamış aromatik bileşik floresans özellik gösterir. Bunların kuantum verimleri halka sayısı ile ve bu halkaların kondanse olma dereceleriyle orantılı olarak artar. Ancak, aromatik olmalarına rağmen, floresans özelliği göstermeyen bileşikler de vardır.

Piridin, tiyofen, pirol, furan gibi heterosiklik halkalar floresans özelliği göstermezler. Bunun nedeni, böyle bileşiklerde en düşük enerjili geçişin $n \rightarrow \pi^*$

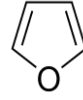
olmasıdır. Bu tip bir geçiş sonucu uyarılan maddeler kolaylıkla triplet hale geçerler ve sadece fosforesans özelliği gösterirler.



Piridin

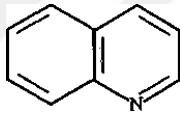


Furan

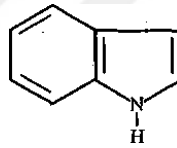


Piröl

Buna karşılık bunlara bir benzen halkası kondense olursa, molar absorptiveleri artar. Daha önce de söylendiği gibi molar absorptivitesi artan bir maddenin uyarılmış halinin ortalama ömrü çok kısalmır. Ömrü böyle kısa olan maddeler de şiddetli floresans ışını yayarlar. Buna göre yukarıda verilen heterosiklik aromatik halkalardan meydana gelen **kinolin**, **indol** gibi maddeler oldukça şiddetli floresans özelliği gösterirler.



Kinolin



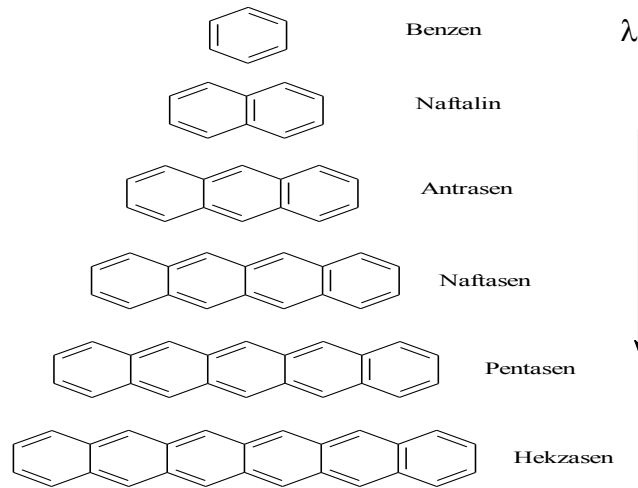
İndol

Azot içeren basit heterosiklik halkalarda $n \rightarrow \pi^*$ düşük enerjili elektronik geçişleri olduğundan, bunlarda haller arası geçiş daha kolay olur ve uyarılmış singlet hal kolayca uyarılmış triplet hale dönüşür. Triplet halden temel hale dönüş ise fosforesans yayma yoluyla olur ve fosforesansın olduğu yerde de floresans azalır veya yok olur. Buna karşılık azotlu bir aromatik halka olan piridin, aromatik bir halkaya kondense olursa, kinolinde görüldüğü gibi floresans özelliği görülür. İndol, izokinolin gibi azot içeren kondense bileşikler de floresans özelliği gösterirler.

2.1.5.2. Konjügasyon etkisi

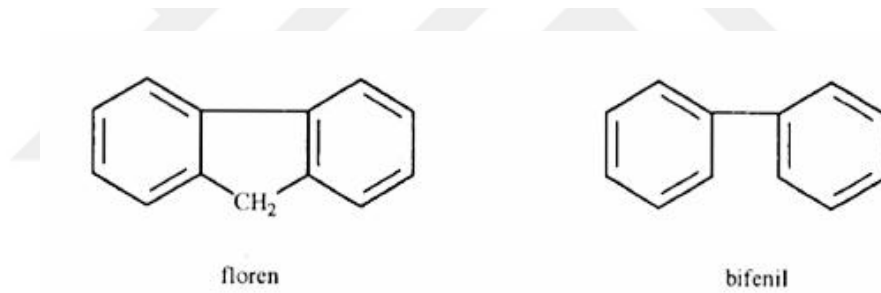
Konjügasyon etkisi içerisinde hem aromatik hem de alifatik bileşikleri görmek mümkündür. Bu bileşikleri karşılaştıracak olursak, aromatik bileşiklerin konjügasyonu π elektronları delokalize olduğunda, alifatik bileşiklerin konjügasyonu ise lokalize olduğunda gözlenir. π elektronları aromatik bileşiklerde düşük enerji seviyesinde uyarılırken alifatik bileşikler için yüksek enerji seviyesi gerekir. Bileşiklerin molekül yapısında bulunan bağlar molekül yapısını bozmadan uyarılacak kadar zayıf değildir. Sadece alifatik karbonil bileşikleri floresans verimi çok düşük olacak şekilde floresans özellik gösterebilir. Bunun sebebi karbonil bileşiklerindeki oksijen üzerinde bulunan bağ yapmamış elektron çiftini π^* orbitaline düşük enerji ile uyarılabilirler. Belirtmiş olduğumuz gibi aromatik bileşikler konjüge durumda olduğunda bulunan çift bağlarındaki π elektronları delokalize haldedir. Halka sayısı ile delokalizasyon doğru orantılıdır. Bu sebeple halka sayısı arttıkça floresans şiddeti de artacaktır.

Benzendeki floresans şiddeti yüksek enerji düzeyindeki fonda gerçekleşirken pentasen için bu durum düşük enerjili fotonlarda gerçekleşmektedir. Benzendeki floresans şiddeti UV bölgede görülürken pentasen için floresans şiddeti görünür bölgede yer alır.

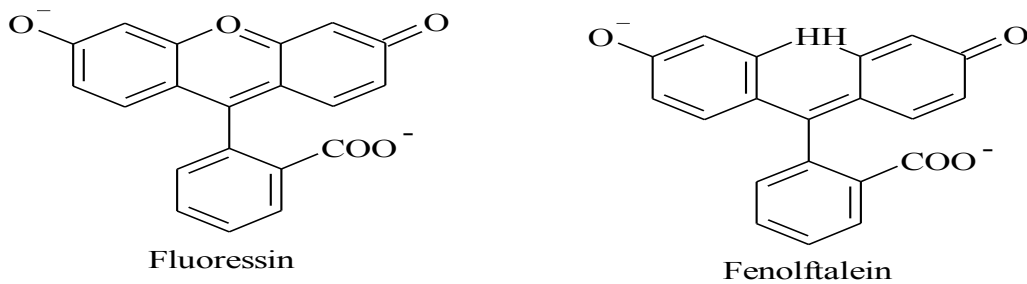


2.1.5.3. Molekölün rijitliğinin ve düzlemselliğinin etkisi

Rijitlik, molekülün hareketsiz kalması yani esnek olmayışı anlamına gelir. Rijit olan molekül üzerine gelen bir fotonun enerjisi titreşim enerjisine dönüşmez. Yapısal rijitlik (yapısal esnemezlik) floresansı artıran bir faktördür. Rijid olmayan moleküllerde iç dönüşme daha kolay olduğundan, ışımasız enerji kaybı olasılığı çok daha fazladır. Bu hal, bilindiği gibi floresans şiddetini azaltır. Bundan başka rijid olmayan bir molekülün bir tarafı, öteki tarafına göre daha zayıf enerjiyle uyarılmış olabilir. Bu da floresans emisyonunu azaltan bir etkidir. Bu, florenle bifenilin kuantum verimleri karşılaştırılarak gösterilebilir. Aynı şartlarda florenin kuantum verimi yaklaşık %100 iken, bifenilinki 0,2 dir. Florenle, bifenil arasındaki başlıca fark florendeki fazladan bir metilen grubudur. Bu grubun kendisinin floresans özelliği hiç yoktur. Görevi sadece iki fenil grubunun birbirine göre durumlarını tespit etmek ve molekülü daha rijit hale getirmektir.

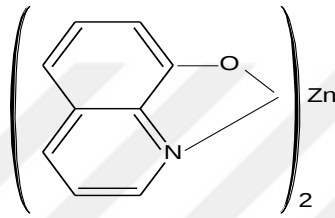


Rijitliğin floresans özelliklere etkisine bir diğer örnek olarak, yapıları birbirine çok benzeyen fluoressin ve fenolftalein molekülleri verilebilir. Fluoressinin alkol-su karışımındaki çözeltisi çok kuvvetli floresansa sahip olduğu halde, fenolftaleinin çözeltisi floresans özellik göstermez.



Fluoressein molekülü rijit bir yapıya sahip olduğu halde fenolftalein molekülü rijit değildir. Bu nedenle fenolftalein uyarıldığında zaman temel hale, ışımasız olarak dönüş söz konusudur.

Yapısal rijitliğe bir başka örnek de şelatlaştırma özelliği olan ligantlardır. Şelat kompleksi veren bir ligant bir katyonla kompleks oluşturduğunda rijiditesi artar ve dolayısıyla floresans emisyonu artar. Örneğin, 8-hidroksi kinolinin floresans özelliği, çinko iyonu ile kompleks verdiği zaman şiddetle artar. Çünkü, kompleks içinde 8-hidroksi kinolin daha rijit bir hale gelir.



2.1.5.4. Moleküldeki sübstitüentlerin etkisi

Lüminesent bir bileşikteki, bileşiğin pi (π) elektronlarını delokalize edebilen sübstitüentler genellikle, uyarılmış singlet hal ve temel hal arasında oluşan muhtemel bir ışık geçişini artırır. Bu sonuç floresansı da artırır. Genellikle orto- ve para-pozisyonundaki sübstitüentler halkaya elektron verirler ve muhtemelen oluşacak floresansı arttırırlar. Meta-pozisyonundaki sübstitüentler halkadan elektron çekerler ve muhtemel floresansı azaltırlar. Halkalı bir organik molekülde halkanın elektron yoğunluğunu arttıran sübstitüentler de molekülün floresans veriminin artmasını sağlar.

$-\text{NO}_2$ gibi π elektronunu delokalize eden (gevşeten) sübstitüentler, floresansı ya azaltırlar ya da tamamen yok ederler. Örneğin, benzen UV bölgede floresans yapar. Bu moleküle ($-\text{NH}_2$) grubu sübstitüe edilirse floresansı artar ve yüksek dalga boyuna kayar. ($-\text{NO}_2$) ile sübstitüe edilirse floresans özelliği tamamen kaybolur. Bunun nedeni, anilinde ($\text{C}_6\text{H}_5\text{-NH}_2$) bağ yapmamış elektron çifti bulunması, nitrobenzende ($\text{C}_6\text{H}_5\text{-NO}_2$) bu halin görülmemesidir. Bağ yapmamış elektron çiftleri düşük enerjili ışık fotonlarıyla molekül yapısını bozmadan bir üst enerji seviyesine uyarılabilirler. Floresans verimine sübstitüentlerin etkisi benzen halkası ve benzen halkasına bağlı bazı

sübstitüentler üzerinde incelenecek olursa, benzen halkasının sübstitüsyona uğradığı hem absorpsiyon, hem de floresans bandında bir değişimin olduğu ve floresans şiddetinin de çoğu kez değiştiği görülür (Çizelge 2.1). Benzen halkasına bir karboksilik asit grubu sübstitüe olursa, halkanın floresans emisyonu azalır. Çünkü böyle bir sistemde daha düşük enerjili $n \rightarrow \pi^*$ geçişi vardır. Bu geçişin floresans özelliği ise $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişininkine göre çok daha zayıftır.

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

Madde	Floresans Dalga Boyu(nm)	Bağlı floresans şiddeti	Formülü
Benzen	270-310	10	C_6H_6
Toluen	270-320	17	$C_6H_5CH_3$
Propilbenzen	270-320	17	$C_6H_5C_3H_7$
Florobenzen	270-320	10	C_6H_5F
Klorobenzen	275-345	7	C_6H_5Cl
Bromobenzen	290-380	5	C_6H_5Br
İyodobenzen	-----	0	C_6H_5I
Fenol	285-365	18	C_6H_5OH
Fenolat	310-400	10	$C_6H_5O^-$
Anisol	285-345	20	$C_6H_5NH_2$
Anilin	310-405	20	$C_6H_5NH_2^-$
Anilinyum iyonu	-----	0	$C_6H_5NH_3^+$
Benzoik asit	310-390	3	C_6H_5COOH
Benzonitril	280-360	20	C_6H_5CN

Aromatik bileşiklerin floresansına bilinen bazı sübstitüentlerin etkileri Çizelge 2.2’de verilmiştir (Gündüz, 1995).

Çizelge 2.2. Emisyon dalga boyu ve floresans şiddetine sübstitüentlerin etkisi

Sübstitüent	Dalga Boyuna Etkisi	Işın şiddetine etkisi
Alkil	Etkilemez	Önemsiz ölçüde artar
COOH,CHO,COOR,CRO	Artar	Azalır
OH,OMe,Oet	Artar	Artar
CN	Etkilemez	Artar
NH ₂ ,NHR,NR ₂	Artar	Artar
NO ₂ ,NO	Büyük ölçüde artar	Büyük ölçüde artar veya tam söndürme (quenching)
SH	Artar	Azalır
SO ₃ H	Etkilemez	Etkilemez
F,Cl,Br,I	Artar	Azalır

Süstitüentler arasında halojenlerin farklı bir yeri vardır. Halojenlerin süstitüsyonunda, halojenin atom numarasının artmasıyla maddenin floresans şiddeti azalır. Örneğin, benzenin floresans şiddeti 10 kabul edilirse, florobenzenin de 10 dur. Buna karşılık klorobenzenin 7, bromobenzenin 5 ve iyodobenzenin sıfırdır. Buna **ağır atom etkisi** denir. Ağır atom etkisinde kalan bir madde kolayca triplet hale geçer ve floresansı azalır veya sıfır olur. İyodun floresans üzerine etkisi kısmen de olsa **predissosyasyonla** açıklanabilir. Başka bir deyişle iyodobenzende kolayca kopacak bir bağ bulunur. Kısaca molekülün bünyesinde veya molekülün çözündüğü çözücünde bulunan bir ağır atom (I veya Br gibi) molekülün floresans verimini azaltır, triplet oluşumu verimini arttırır ve bu nedenle genellikle fosforesans verimi artar.

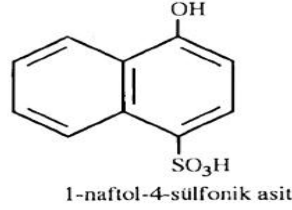
2.1.5.5. Sıcaklık

Sıcaklığın yükselmesi çarpışmayı artırdığı ve iç dönüşümü kolaylaştırdığı için floresans ışıması azalır. Çözücünün viskozitesinin düşmesi de çarpışmayı kolaylaştırdığından floresans ışımasını düşürür.

2.1.5.6. Çözücü etkisi

Kullanılan çözücüler floresans şiddetinin veya floresansın görüldüğü dalga boyunun değişmesine neden olabilir. Çözücünün genellikle uyarılmış durumdaki moleküller ile H bağı oluşturmaları temel hale ışımasız dönüşüm hızını arttırdığından floresansın şiddetinde azalma olur. Çözücünün polarlığının artması da floresansı etkiler. Uyarılmış molekül, temel haline oranla daha polar ise, çözücünün polaritesinin artması ile uyarılmış enerji düzeyi daha kararlı hale geleceği için, uyarılmış ve temel enerji düzeyleri arasındaki enerji farkı azalır ve floresans dalga boyu artar. Bu durum, uyarılma ve emisyon olaylarının π ve π^* orbitalleri arasında gerçekleştiğinde ortaya çıkar. $n \rightarrow \pi^*$ türü bir uyarılma için ise, çözücünün polaritesinin artması ile n orbitalinin daha kararlı hale gelmesi, yani enerjisinin azalması söz konusudur. Çünkü bu tür moleküllerde çözücü polaritesi arttıkça uyarılmış ve temel enerji düzeyleri arasındaki

karşılık fenolat halinin (fenol protonu da verilmiş) floresansı gözle görülebilir. Bu değişme çok küçük bir pH aralığında gerçekleşir. Bu özelliğinden yararlanılarak madde ayarlı bir hızla titre edilebilir.



Bazla maddenin sülfonik asit grubunun titrasyonu sona erip de fenol grubu titre edilmeye başlanınca, floresans görülür ve bu anda titrasyona son verilir. Bu titrasyonun en ilginç yönü, bu değişimin fenol protonundan beklenenden daha aşağı bir pH da gerçekleşmesidir. Bunun nedeni uyarılmış halin asit sabitinin, temel halin asit sabitinden daha büyük olmasıdır. Bu titrasyonun dönüm noktasıdır. Ancak, bu şekilde bulunan dönüm noktasının pH'sı, maddenin asitlik sabitinden hesaplanandan farklıdır. Bunun nedeni maddenin uyarılmış halinin asitlik sabitinin temel halinin asitlik sabitinden farklı olmasıdır. Maddelerin uyarılmış hallerinin asit ve baz sabitleriyle uyarılmamış hallerinin asit ve baz sabitleri arasında büyüklük bakımından 4-5 mertebesinde (10^4 - 10^5 katı) farklılıklar görülür. Bu nedenle floresanstan analitik amaçlarla yararlanmak gerekiyorsa, çok iyi pH ayarlaması yapmak gerekir. Uyarmayla asit ve baz sabitinin değişmesi çok rastlanan bir olaydır.

2.1.5.8. Konsantrasyonun etkisi

Floresans radyasyonunun şiddeti, maddenin konsantrasyonu ile orantılıdır. Floresans, konsantrasyon arttıkça artar, ancak belli bir noktada konsantrasyon çok fazla artırıldığında artık konsantrasyonla orantılı olarak artmaz ve hemen hemen sabit kalır.

2.1.5.9. Viskozite etkisi

Sıcaklığın artması ve çözücünün viskozitesinin azalması, uyarılmış molekül ile diğer moleküllerin çarpışması ve ayrıca sistemler arası geçişlerin olasılığını

arttırmaktadır. Düşük sıcaklıkta ve yüksek viskoziteli ortamda ise ışımalı durulma zamanı, uyarılmış durumun ömründen daha uzun olmakta ve floresans artmaktadır.

2.1.5.10. Çözünmüş oksijen ve paramagnetikler

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

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

2.1.5.11. Gelen ışının dalga boyunun ve şiddetinin etkisi

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

Floresans ışıması meydana getiren dalga boylarının alt sınırı 250 nm kadardır. Bu nedenle $\sigma^* \rightarrow \sigma$ geçişine tekabül eden floresanslara pek rastlanmaz. Anılan dalga boyuna kadar olan ışınlar ancak $\pi \rightarrow \pi^*$ ve $n \rightarrow \pi^*$ geçişleri meydana getirebilirler. 200 nm'lik bir ışının enerjisi 140 kcal/mol kadardır. Bu büyüklükteki enerji floresans ışıması yapan molekülün bağlarından bir kısmını koparır.

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

2.1.6. Floresans analizin avantaj ve dezavantajları

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

Floresans analizde dezavantajlar, istenmeyen uyarılmış düzey etkileşmeleriyle meydana gelmektedir. Bu olay, quenching yani söndürme şeklinde ortaya çıkar. Birçok floresant olmayan molekülden dolayı, hatta eser miktarlarda, S_1 düzeyindeki floresant bir molekülü söndürebilir, bu nedenle de bir ayırma işlemi yapmaksızın kompleks karışımının doğrudan analizi nadiren yapılabilir. İkinci olarak, ultraviyole ışınla uyarıldığı zaman, organik bileşiklerin çoğunda fotokimyasal reaksiyonlar olur. Özellikle şiddetli kaynaklarla kantitatif analitik ölçümler yaparken fotoparçalanmadan kaçınılmalıdır. Pek çok numune için, günümüzde yüksek duyarlılık, seçicilik ve doğruluğa sahip florimetrik analiz yöntemleri geliştirilmektedir.

2.1.7. Florimetri ve uygulama alanları

Florimetri tayinleri çok düşük derişimlerdeki numuneler için de tayin imkanı sağladığı için tarım maddelerinde, birçok organik ve inorganik bileşikte, besin ve ilaç endüstrisinde, klinik numunelerde, biyokimyasal bileşiklerin tayininde, hava ve çevre kirliliği analizlerinde kullanılan enstrümental bir yöntemdir.

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

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

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

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

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

2.1.8. İnorganik Bileşiklerin Analizi

İnorganik maddeler arasında doğrudan doğruya floresans özelliği olan maddeler oldukça azdır. Katyonlar uygun şelatlaştırıcı maddelerle florescent kompleksler verebilir. Bu şekilde florescent kompleksler veren katyonlar renksiz katyonlardır ve bunların kompleksleri genellikle renksizlerdir. Renkli kompleksler bilindiği gibi absorpsiyon yaparlar. Renksiz kompleksleri de tayin etme olanağı vermesi nedeniyle florimetreye spektrofotometrenin tamamlayıcısı da denebilir (Gündüz, 1995).

Florimetrik olarak tayini yapılan inorganik maddeler başlıca üç gruba ayrılırlar:

1) Doğal olarak floresans özelliğe sahip olan inorganik tuzlar ki bunların doğrudan doğruya uygun bir çözeltisi hazırlanarak (çözücü olarak HCl veya HBr gibi inorganik çözücüler kullanılır) tayini yapılabilir. Çözeltilerinde doğal olarak floresans özellik gösteren türlere en önemli örnek lantanitler (nadir toprak elementleri) ve

aktinitlerdir (trans uranyum elementleri). Bunların ortak özellikleri UV ışığının absorpsiyonuyla daha yüksek enerjili orbitale yükseltilebilen “f” elektronlarının dolmamış enerji seviyesinin varlığıdır. Oda sıcaklığında mangan halojenürler, tungstat ve molibdat luminesans verirken, düşük sıcaklıklarda saf AgI, HgI₂, PbI₂, CdS, ZnS floresansları daha karakteristiktir. Lantanit ve aktinitlerin normal olarak sulu çözeltide rastlanan şekli M⁺³’dür. Bu elementlerin çoğu katı hallerinde floresanttır fakat yalnızca samaryum (Sm) (kalsiyum tungstat ve sülfatlı ortamda), europiyum (Eu), gadolinyum (Gd), terbiyum (Tb) ve disprosiyum (Dy) sulu çözeltide (boraks ve fosforik asitli ortamda) floresans özelliğe sahiptirler (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3. Nadir toprak elementlerinin doğrudan analiz duyarlılığı

Element	Sembol	Alt tayin sınırı (g.dm ⁻³)
Proseodmiyum	Pr	2,5 x 10 ⁻¹⁰
Neodmiyum	Nd	5 x 10 ⁻⁷
Samaryum	Sm	5 x 10 ⁻¹¹
Europiyum	Eu	2,5 x 10 ⁻¹⁰
Godolinyum	Gd	10 ⁻⁶
Terbiyum	Tb	2,5 x 10 ⁻⁹
Disprosiyum	Dy	2,5 x 10 ⁻⁹
Erbiyum	Er	5 x 10 ⁻⁹
Tuliyum	Tm	5 x 10 ⁻⁹

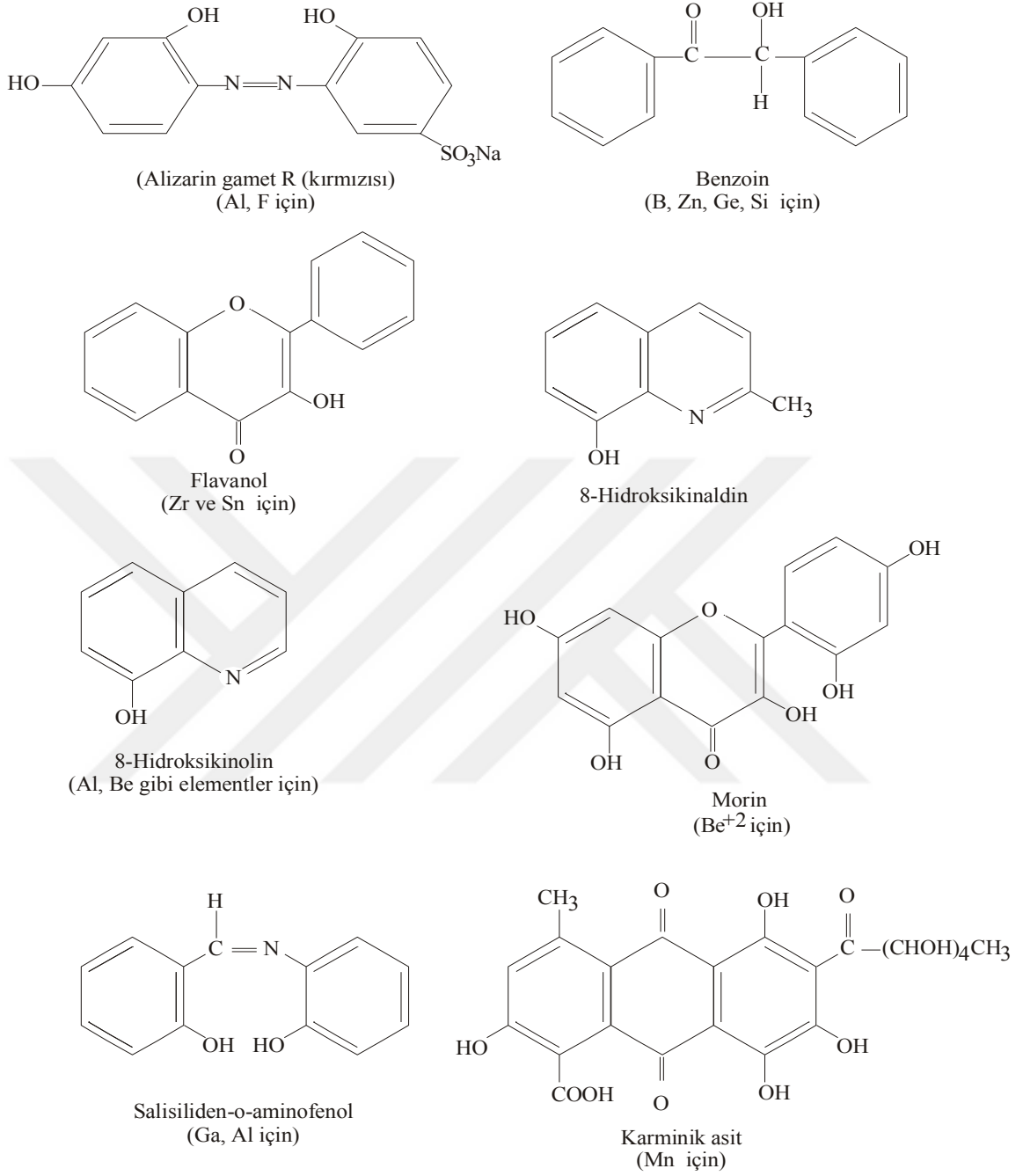
4f orbitalleri arasındaki geçişler (f → f* geçişleri) atomun yer aldığı çevreden çok az etkilenirler (tam dolu 5s ve 5p elektronlarının perdeleme etkisinden dolayı) ve moleküler spektrumdan çok daha karakteristik, keskin atomik spektrum çizgileri içeren emisyon spektrumu verirler, yani emisyon bantları diğer komplekslerin π → π* geçişlerinden çok daha dardır. Bu, organik spektrumun aksine, birden çok elektronik geçişi içine alır. Spektroflorometrik metotlar, bu elementlerin en çok bilineni olan uranyum için sıklıkla kullanılır. Sulu çözeltideki en önemli türü uranil-VI iyonu (UO₂⁺²) dur ki bu iyon mavi ışıkla uyarıldığında yeşil bir floresans gösterir. Işık şiddeti farklı anyonlarla büyük ölçüde değişir (Gündüz, 1995).

2) Floresans özelliğini azaltan veya söndüren (engelleyen) maddeler. Bu özelliği genellikle inorganik anyonlar gösterirler.

Lüminesent olmayan bazı bileşikler, lüminesent söndürmeyle (quenching olayı) veya bir lüminesent reaksiyon ürünü oluşturmak üzere bileşiklerle reaksiyon veren bir kimyasal reaktif yardımıyla kantitatif olarak tayin edilebilirler. Floresans söndürmesine bir örnek nitrat iyonu ile asitli diklorofluoresseinin floresansının sönmesidir (quenching). Nitrat iyonu, sabit bir diklorofluoressein konsantrasyonunun floresans şiddetindeki azalmanın çalışma eğrisinden nitrat konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak tayin edilebilir. Daha önce de anlatıldığı gibi, lüminesent olmayan bir ürün oluşturmak üzere analit ile lüminesent bileşiğin kimyasal reaksiyonu söndürmeye (quenching'e) sebep olabilir.

3) İnorganik bileşiklerin çoğu fotolüminesent bir reaksiyon ürünü oluşturmak üzere florometrik veya fosfometrik bir reaktif ile maddenin reaksiyonundan tayin edilir. Floresent tayinleri fosforesent tayinlerinden çok daha geneldir. Bazı metaller de lüminesent ürün oluşturmak üzere lüminesent olmayan bir ligand veya kompleksleştirici maddeyle (ajanla) reaksiyona sokularak tayin edilebilirler. Alternatif olarak ligand veya kompleksleştirici madde, uygun bir metal iyonu ile reaksiyonundan tayin edilebilir. Floresent analizlerinin çoğu dedeksiyon limiti 0.001 ve 2 µg/mL arasındadır. Genellikle kompleksleştirici madde olarak kullanılan organik ligandlar oksijen ve azot gibi heteroatomlar içerir ve floresent değildirler. Florometrik bir reaktifin ilavesiyle tayin edilmekte olan inorganik elementler arasında Al, Au, B, Be, Ca, Mg, Cd, Cu, Zn, Ga, S, Sb, Se, Si, Ge, Sn, Ta, Te, Hf, Nb, Pd, Rh, Ru, Gd, Sm, Eu, Th, W ve Zr yer almaktadır.

Florimetrik reaktifler (ayıraçlar) olarak kullanılan, genel kompleksleştirici maddelerin (ajanlar) bazılarının yapıları Şekil 2.5'de gösterilmiştir. Ayrıca florimetrik ayıraçlarla (reaktiflerle) yapılan bazı tayinlerin listesi Çizelge 2.4'de verilmiştir (Gündüz, 1995).



Şekil 2.5. Florimetrik reaktif olarak kullanılan bazı genel kompleksleştirici maddeler

Çizelge 2.4. Florimetrik reaktifler (ayırıcılar) kullanılarak tayin edilebilen çeşitli metal iyonları

Metal	Reaktif (ayırıcı)	Floresent dalgaboyu, nm		Bozucu İyonlar
		Eksitasyon (Ex)	Emisyon (Em)	
Al (III)	Alizarin Garnet R (kırmızısı)	470	500	Be, Co, Cr, Cu, F ⁻ , NO ₃ ⁻ , PO ₄ ⁻³ , Zr, Th
	Morin	430	500	
	8-Hidroksikinolin	365	520	Ga, Mg, Zn, Li
Be (II)	1-Amino-4-hidroksi antrokinon	540	620	
	Morin	420	525	
	2,3-hidroksinaftoyik asit	380	460	
	2-(o-hidroksifenil)-benzoksazol	365	590 (geniş)	
Cu (II)	Tetrakloro tetra iyodo-florosein-o-fenantrolin	560	570	
Ga	8-hidroksikinaldin	—	492	
	8-hidroksikinolin	436	470	Mg, Al, Zn, Li
	Salisiliden-o-amino-fenol	420	520	
Ge	Benzoin	365	410 (geniş)	
Li (I)	8-hidroksikinolin	370	450	Al, Ga, Zn, Mg
Mg (II)	Bissalisiliden diaminobenzofuran	475	575	
Mn (II)	Karminik asit	467	556	
Sc (III)	Salisilaldehit semikarbazon	370	455	
Sn (IV)	Flavanol	400	470	F ⁻ , PO ₄ ⁻³
B ₄ O ₇ ⁻²	Benzoin	370	450	Be, Sb
F ⁻	Alizarin Garnet R'nin al kompleksi	470	500	Be, Co, Cu, Cr, Fe, Ni, PO ₄ ⁻³ , Zr, Th
Zn (II)	Benzoin	—	Yeşil	B, Be, Sb
	8-Hidroksikinolin	375	517	Mg, Al, Ga, Li

Hemen hemen her kompleks örneğindeki uyarılma ve emisyon $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişine uymaktadır.

Florimetrik reaktifler (ayıraçlar) kullanılarak yapılan direkt tayinlere ek olarak indirekt tayinler yapmak da mümkündür. Analite floresent olmayan bir kompleksin aşırısının ilave edilmesi sıklıkla kullanılan bir işlemdir. Kompleks içerisindeki metale, ligandan daha kuvvetle etki eden analit, kompleksteki ligandın yerini değiştirir. Böylece ligand floresansının yeri de değişir. Floresans, serbest ligand miktarıyla orantılıdır ki bu da eklenen analit miktarıyla orantılıdır (Gündüz, 1995).

Geçiş elementlerinin katyonlarının şelat kompleksleri floresans özelliği göstermezler. Bunun nedenleri şöyledir:

- a) Geçiş elementleri katyonları genellikle paramagnetiktir. Paramagnetik maddeler haller arası geçişi kolaylaştırdıklarından singlet hal kolayca triplet hale dönüşür.
- b) Geçiş elementleri katyonlarında enerjice birbirlerine çok yakın seviyeler olduğundan, iç dönüşmeler kolaylaşır (ışsızsız enerji yayma).

2.2. Antihipertansifler

Hipertansiyon tedavisinde kullanılan ilaçlar beş başlık altında toplayabiliriz. Bunlar, Adrenerjik, Sempatikolitik, Diüretik sinir sistemi Antagonistler, Renin Angiotensin Sistemine (RAS) etki edenler, düz damar kaslarında etkili ilaçlardır.

- I. Adrenerjik sinir sistemi antagonistleri
 - A. Merkezi etkililer
 - B. Periferik etkililer
 - a) Adrenerjik nöron blokerleri
 - b) Ganglion blokerleri
 - C. Adrenerjik reseptör blokerleri
 - 1. α reseptör blokerleri
 - 2. β reseptör blokerleri
 - 3. α ve β reseptör blokerleri (miks etkililer)
- II. Diüretikler
 - A. Tiyazidler ve ilgili ajanlar (hidroklorotiyazid, klortalidon)

- B. Loop ajanları (furosemid)
- C. Potasyum tutucu ajanlar (Spironolakton, Triamteren)
- III. Renin-anjiyotensin sistemini etkileyen ilaçlar
 - A. ADE inhibitörleri
 - B. Anjiyotensin II tip 1 reseptör Antagonistleri
- IV. Damar düz kasında etkili ilaçlar
 - A. Kalsiyum kanal blokerleri
 - B. Potasyum kanal açıcılar
 - C. Doğrudan damar düz kasını gevşetici ilaçlar
- V. Gelişim aşamasındaki ilaçlar
 - A. Nötral endopeptidaz peptid(NEP) inhibitörleri
 - B. Endotelin I reseptör Antagonistleri
 - C. Renin inhibitörleri ve diğerleri

Antihipertansiflerden öncelikli kullanılan ilaçlar:

- ADE İnhibitörleri (Benazepril, Enalapril, Fosinopril, Kaptopril, Kinapril, Lisinopril, Moeksipril, Perindopril, Ramipril, Silazapril, Trandolapril)
- Beta blokerler (Asebutolol, Atenolol, Karvedilol, Labetalol, Metoprolol, Nadolol, Propranolol)
- Ca^{+2} kanal blokerleri (Amlodipin, Diltiazem, Felodipin, İsradipin, Lerkadipin, Nifedipin, Nizoldipin, Verapamil)

2.2.1. Anjiotensin Dönüştürücü Enzim (ADE) İnhibitörleri

ADE inhibitörleri, kronik konjestif kalp yetmezliğinde de kullanılan ilaçlardır. Hipertansiyon tedavisinde renin-anjiyotensin sistemi aracılığıyla etki eden ilaçlar, ADE inhibitörleri yanı sıra renin inhibitörleri ve anjiyotensin II antagonistleri olarak da etki göstermektedirler.

Anjiyotensinojen, plazmada bulunan $\alpha 2$ -globülin yapısında bir maddedir. Kesin yapısı bilinmemektedir. Karaciğerde gerçekleşen sentezi, glikokortikoidler ve bir kısım hormonlar tarafından indüklenir. ADE, kininaz II veya dipeptidilkarboksi peptidaz

olarak da isimlendirilen ve yapısında 1278 aminoasit içeren bir polipeptiddir. Böbrek, beyin, adrenal bezler ve endotelyal hücrelerde bulunan bir glikoproteindir. Bu ise sodyum retansiyonuna neden olur. ADE inhibitörleri, anjiyotensin II oluşumunu engelleyerek, kan basıncını doğrudan etkilerler. Ayrıca adrenal bezlerden aldosteron salgılanmasını azaltırlar. Vücutta bulunan nötral peptidaz enzimi de ADE gibi işlev görür ve peptit hidrolizi yapar. Anjiyotensin II oluşturur. Anjiyotensin II ve III aldosteron salgılamasını uyarır. Hücre dışı sıvı hacmi ve kan basıncı artar.

ADE inhibitörlerinin, hipertansiyon tedavisi, çeşitli böbrek hastalıkları ve özellikle diyabetik nefropatide kullanımları, konjestif kalp yetersizliğinde ölüm oranı ve morbiditeyi azaltmaları, felç tedavisinde kullanımları gibi çok çeşitli ve önemli uygulamaları vardır (Sağlam ve ark., 2003). Kan basıncını düşüren etkinin oluşumu aktif olmayan anjiyotensin I'in aktif, anjiyotensin II'ye dönüşmesini sağlayan ADE baskılanmasıyla gerçekleşmektedir. ADE baskılanması ile plazma ve dokularda anjiyotensin düzeyi azalır. Böylece hem arteriollerde hem venillerde genişlemeyle (vazodilatasyonla) çevresel damar direnci azalır, dolayısıyla arteriyel kan basıncı düşer. ADE aynı zamanda kininaz II olarak da bilinmektedir. ADE tek etkili bir enzim değildir (Kayaalp, 2005). Başka peptidlerin yıkımından da sorumludur. Bu peptidler içinde en iyi bilineni bradikininidir. ADE baskılanması sonucu bradikinin yıkımı azalmakta ve organizmada birikim olmaktadır. Bu birikim ADE inhibitörü (ADEİ) tedavisinin en fazla bırakılmasına neden olan öksürük yan etkisini ortaya çıkarır. ADE inhibitörleri esansiyel yüksek kalp basıncı olan bireylerde tek ilaç olarak kullanılabilir. Zamanla ilaçların antihipertansif etkinlikleri azalabilmektedir. Bu durumdaki hastalara diüretik eklemek, ilacın antihipertansif etkinliğini yeniden eski düzeyine getirmektedir. ADEİ esas olarak sistemik damarlar üzerine etkilidir. Akciğer yatağı üzerine etki yok denecek kadar azdır (Demir, 1994).

ADE inhibitörlerinin diüretiklere ve beta blokerlere göre yan etkilerinin nispeten az oluşu bakımından üstünlükleri vardır. Ancak hafif ve orta derecedeki yüksek kan basıncı olan kişilerde etkinlikleri diğer ilaçlardan fazla değildir. Kalp debisini düşürmezler, refleks, taşikardi yapmazlar, böbrek koruyucu etkileri vardır. ADE inhibitörlerinin antihipertansif etkilerinden bağımsız olarak kalp damar hipertrofisini önlediği gösterilmiştir. ADE inhibitörleri kalp yetersizliğinde de ilk seçenek olarak kullanılabilir. Kuru öksürük, bazen wheezing ve anjiyoödem, hiperkalemi, özellikle bilateral renal arter stenozlu hastalarda akut böbrek yetmezliği yapabilirler. Potasyum seviyesinde yükselme, hacim eksilmesine karşı yanıtlarda zayıflama, döküntü ve kan

şekeri düşüklüğü, tat bozuklukları, pankreatit, kolestatik sarılık diğer görülebilen yan etkileridir (Vidt ve ark., 1982; Sesoko ve Kaneko, 1985)

Başlıca ADE inhibitörü preparatları:

Benazepril, enalapril, fosinopril, kaptopril, kinapril, lisinopril, moeksipril, perindopril, ramipril, silazapril, trandolapril, zofenopril (Gümüştas, 2009).

2.2.2. ADE İnhibitörlerinin Etki Mekanizmaları

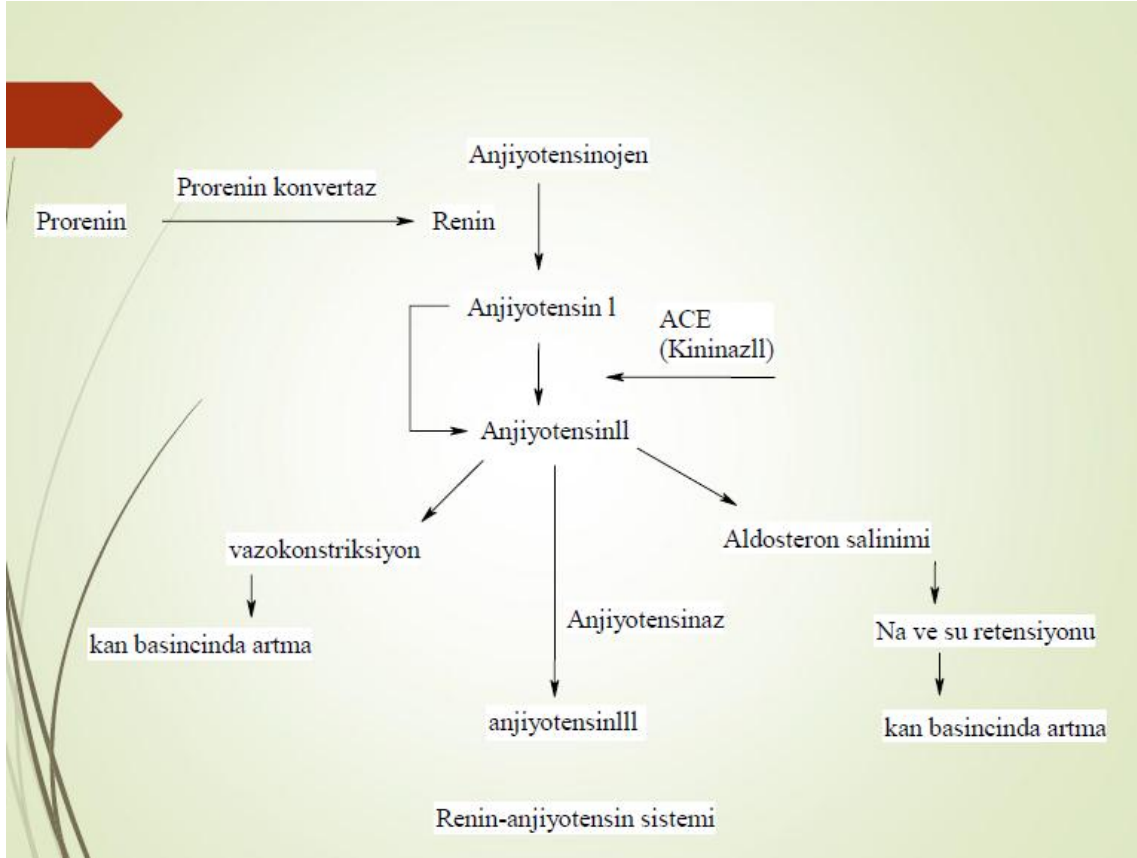
Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ADE) kan basıncını düzenleyici mekanizmalar arasında yer alan Renin-Anjiyotensin-Aldesteron Sistemi (RAAS) içinde işlevi olan bir enzimdir. Bu enzimin inhibisyonu ile, yükselen kan basıncının regülasyonunun sağlandığı tesbit edildikten sonra antihipertansif tedavide "Anjiyotensin Antagonistleri ADE veya ADE inhibitörleri adlı yeni bir ilaç sınıfı ortaya çıkmıştır. Bu sistemi açıklarsak (Şekil 2.6):

ADE İnhibitörleri Antihipertansif Mekanizmaları (Opie, 1994).

1. Dolaşımdaki renin-anjiyotensin II sisteminin inhibisyonu,
2. Doku ve vasküler renin- anjiyotensin sisteminin inhibisyonu
3. Terminal nöronlardan norepinefrin salınımının azalması,
4. Bradikinin ve vasodilator prostaglandinlerin oluşumunda artış,
5. Aldosteron salınımında azalma ve/veya renal kan akımının artışından dolayı sodyum retansiyonunun azalmasıdır.

Anjiyotensin I anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) aracılığıyla anjiyotensin II'ye dönüştüğünü görürüz. ADE'ye alternatif enzimatik yollar tripsin, cathepsin veya kalp chymase'da anjiyotensin I'i anjiyotensin II'ye dönüştürür. Bu nedenle ADE inhibitörleri anjiyotensin II oluşumunu %100 bloke etmez.

Kan basıncının herhangi bir nedenle normal seviyenin altına düşmesiyle böbrekler proteolitik bir enzim olan renini salgılamaya başlar. Renin, plazmada bol miktarda bulunan ve aynı zamanda karaciğerde sürekli bir şekilde sentezlenerek serbest hale geçen anjiyotensinojen adlı bir peptidin üzerine etki ederek dekaeptit (10 lu) olan inaktif anjiyotensin I' in oluşumunu katalizler.



Şekil 2.6. ADE İnhibitörlerinin Etki Mekanizması

Yine plazmada bulunan Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ADE) denilen bir enzim bu inaktif anjiyotensin I' i oldukça aktif bir oktapeptit olan anjiyotensin II' ye dönüştürür. Eski adı hipertansin olan Anjiyotensin II, sadece anjiyotensin olarak da adlandırılmaktadır. Anjiyotensin kardiovasküler sistem ve adrenal korteksteki aldosteron sentezi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Anjiyotensin, kardiovasküler sistem üzerinde bilinen en güçlü etkiye sahip vazokonstriktördür (damar daraltıcıdır) ve kan basıncının yükselme gücü noradrenaline göre yaklaşık 40 kez daha fazladır. Bunların yanında Anjiyotensin, adrenal kortekste aldosteron sentezini ve salgılanmasını da arttırmaktadır. Böylece Na ve su reabsorbsiyonunu arttırarak indirekt olarak vazokonstriktör (hipertansif) etki gösterir. ADE inhibitörü olan ilaçlar, anjiotensin dönüştürücü enzimi inhibe ederek anjiyotensin I' in anjiyotensin II' ye dönüşümünü engellerler ve böylece plazmada anjiotensin II' nin düzeyi azaltılıp arteriollerde ve venüllerde vazodilatasyona ve kan basıncında azalmaya sebep olurlar. ADE inhibitörleri aynı zamanda kininin kininaz II enzimi tarafından inaktivasyonunu engellerler ve

böylece organizmada kinin birikimine sebep olurlar. Kinin, bradikinin periferel vasküler rezistansı düşürerek kan basıncını azaltan oldukça etkili vazodilatör maddelerdir.

ADE, glikoprotein yapısında olan renin-anjiyotensin sisteminde düzenleyici bir çinko-proteazıdır. ADE nin proteinik kısmı 1278 amino asit kalıntısı taşımakta olup %8-32 oranında karbonhidrat içermektedir. ADE transmembran bir peptidazdır ve aminoasit zincirinin son C' una yakın, hidrofobik küçük aminoasit taşır ve bu aminoasit ADE' nin plazma membranına tutunmasını sağlar.

ADE inhibisyonu ve bununla beraber plazma ve dokularda Anjiyotensin II düzeyi düşürüldüğü ve aynı zamanda ADE ile kinin yıkımı da inhibe edildiği için plazmada bradikinin ve dokularda kallidin düzeyi yükseltilmesi sağlanabilir. ADE inhibitörlerin tasarımı için ADE' nin yapısal özellikleri araştırılıp enzimin aktif bölgeleri olarak yapılan çalışmalar sonucunda aşağıdaki sonuca varılmıştır:

Bu enzimin aktif yöresinde mevcut (+) yüklü grup, maddenin (-) yüklü terminal karboksi grubuyla iyonik bağ oluşturabilecektir. Ayrıca bu enzim, maddenin karboksi terminal amit grubu ile hidrojen bağı oluşturabilecek yapıda olup aktif bölgesinde yer alan Zn^{++} iyonu ise, bu enzimle etkileşebilen maddenin amit karbonil grubunun polarlanmasına ve bu şekilde hidrolitik yarılmaya da hassas hale getirilmesine neden olacaktır.

Başarılı bir ADE inhibitörü;

- Zn^{+2} ile etkileşerek ve ADE deki pozitif yüklü bölge ile iyonik bağ yapabilecek gruplar taşınmalıdır. Yani inhibitör fizyolojik pH' da iyonize olabilen bir karboksilik asit olmalıdır.
- Bu iki noktada enzim ile bağlantı sağlayabilmelidir.
- Anjiyotensin I' i ADE' nin aktif bölgelerinden uzaklaştırmak için enzim-substrat bağlantısı açısından enzime anjiyotensin I' e göre daha güçlü bir şekilde bağlanmalıdır.

Doğal inhibitörlerin tümünün karboksi terminalinde "prolin" amino asidi yer aldığından dolayı ilaç tasarımında prolin esas yapı olarak düşünülmüş olup geliştirilen ilk madde süksinil-L-prolin olmuştur. Etkinin zayıflığı gözlenince karboksil grubu yerine SH getirilmiş ve aktivitede artış olduğu saptanmış olup Kaptopril sentezlenmiştir.

ADE inhibitörleri diyabetik nefropatili hastalarda proteinüriyi azaltıp böbrek fonksiyonlarını stabilize ederek etkili olmaktadır. Aynı zamanda ADE inhibitörleri konjestif kalp yetmezliğinde sol ventrikül hipertrofisini geriletebilirler. Miyokard infarktüsü sonrasında kullanımlarının faydalı etkileri olduğu kanıtlanmış bulunmaktadır.

Fosinopril, moeksipril, ramipril ve trandolapril dışındaki tüm ADE inhibitörleri böbreklerle atılır.

2.2.3. Diüretiklerin Antihipertansif Amaçla Kullanımı

Diyetle sodyumun azaltılması hipertansif hastalarda kan basıncını azaltıcı yönde etki ettiği bilinmektedir.. Sodyum kısıtlaması bakıldığı zaman toksin içermeyen bir tedavi şeklidir. Bazı durumlarda toksik önleyici etkisi de vardır. Diüretikler için birincil olarak sodyum depolarını azaltıcı yönde etkileri gözlenir. Başlangıçta kan basıncı azalır. periferik vasküler rezistans artıcı yönde etki gösterebilir. 6 ila 8 hafta devam edildikten sonra kardiyak output normale döner ve periferik vazküler rezistans düşer. Sodyum $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$ değişimi aracılığıyla intraselüler kalsiyum artacaktır. İstenmeyen bu durumlar diüretikler veya sodyum azaltıcı yöntemleriyle giderilebilir.

Diüretikler genellikle hastalarda kan basıncını 10-15 mm Hg seviyesinde düşüreceklerdir. Bu sebeple orta ve hafif hipertansiyon hastalarında tek başlarına etkileri gözlenir. Şiddetli hipertansiyonlarda ise sempatoplejik ve vazodilatör ilaçlarla birlikte kullanılabilirler. Sonuç olarak sodyum retansiyonu yapmasına engel olurlar. Çoğu hasta için tiazit grubu diüretikler uygun olacaktır. Fakat kalp veya böbrek yetmezliği olan hastalarda (glomerüler filtrasyon 50 mL/dakikanın altındaysa) için şiddetli hipertansiyon ve sirozda gözle görülür miktarda sodyum retansiyonu oluşabilir. Bu durum gerçekleştiği takdirde bir loop diüretik kullanılması uygundur. Potasyum koruyucu özelliğe sahip diüretikler hem fazla potasyum kaybını engellemek hem de natriürece katkı sağlamak için kullanımı uygundur.

2.2.4. Birlikte Bulunan Çeşitli Durumlara Göre İlaç Seçimi

Hipertansiyon tedavisinin bireyselleştirilmesi gerekir. Bu nedenle ilaç seçiminde birlikte bulunan çeşitli durumlar dikkate alınmalıdır. Bazı durumlarda yararı kanıtlanmış ya da eşlik eden hastalığa da yararlı olabileceği düşünülen ilaçların seçilmesi uygundur. Öte yandan eşlik eden hastalığa zararlı olabilecek ilaçların seçilmemesine özen göstermek gerekir. Joint National Committee (JNC)-VI. Kılavuzunda komplikasyonsuz hipertansiyonun tedavisinde morbidite ve mortalite

üzerine kanıtlanmış etkinlikleri nedeniyle -kontrendikasyon söz konusu değilse- ilk seçenek olarak diüretikler ve beta blokerler önerilmektedir. Bunun yanı sıra bazı durumlarda yararı kanıtlanmış olan ve kontrendike olmadıkça kullanılmaları önerilen ilaç grupları Çizelge 2.5’ de görülmektedir.

Çizelge 2.5. Bazı durumlarda yararı kanıtlanmış olan ilaç grupları

Durum	İlaç grubu
* Proteinürili tip 1 diyabet	ADE inhibitörleri
* Kalp yetersizliği	ADE inhibitörleri, diüretikler
* İzole sistolik hipertansiyon (yaşlı hastalarda)	Diüretikler (tercih edilir), uzun etkili dihidropiridin grubu kalsiyum antagonistleri
* Miyokard infarktüsü sonrası	Beta blokerler (ISA’sız), ADE inhibitörleri(sistolik disfonksiyonda)

Hipertansiyon tedavisinde eşlik eden duruma da yararlı olabileceği düşünülen ilaç grupları Çizelge 2.6’da özetlenmektedir.

Çizelge 2.6. Hipertansiyon tedavisinde eşlik eden duruma da yararlı olabileceği düşünülen ilaç grupları

Durum	İlaç grubu
• Diyabetik nefropati	ADE inhibitörleri
• Sol ventrikül disfonksiyonu	ADE inhibitörleri
• Yaşlı hastalar	Diüretikler, kalsiyum antagonistleri
• Taşiaritmiler	Beta blokerler, kalsiyum antagonistleri (dihidropiridin dışı)
• Angina	Beta blokerler, kalsiyum antagonistleri
• Prostat hipertrofisi	Alfa blokerler
• Proteinürlü diyabet (Tip 1 ve Tip 2)	ADE inhibitörleri (tercih edilir), kalsiyum antagonistleri
• Tip 2 diyabet	ADE inhibitörleri, düşük doz diüretikler, beta blokerler
• Glukoz intoleransı	Alfa blokerler
• Dislipidemi	Alfa blokerler
• Esansiyel tremor	Beta blokerler (kardiyoselektif olmayan)
• Kalp yetersizliği	ADE inhibitörleri, diüretikler, anjiyotensin II antagonistleri, beta blokerler
• Hipertiroidi	Beta blokerler
• Migren	Beta blokerler (kardiyoselektif olmayan), kalsiyum antagonistleri (dihidropiridin dışı)
• Miyokard infarktüsü	Beta blokerler, diltiazem, verapamil
• Osteoporoz	Tiyazid grubu diüretikler
• Preoperatif hipertansiyon	Beta blokerler
• Böbrek yetersizliği	ADE inhibitörleri
• Gebelik	Alfa metil dopa, beta blokerler, kalsiyum antagonistleri
• Periferik damar hastalığı	Kalsiyum antagonistleri
• ADE inhibitörüne bağlı öksürük	Anjiyotensin II antagonistleri
• Siklosporin'e bağlı hipertansiyon	Kalsiyum antagonistleri

İlaç tedavisinde kullanılabilecek diğer bir seçenek ise kombinasyon tedavisi yani birleşik tedavidir. Kombinasyon tedavisi ile tek ilaçla sağlanabilecek başarı oranları arttırılabilmektedir. Genellikle iki farklı ilaçtan oluşan kombinasyonlara hastaların %75-80'i cevap verirken tek ilaç tedavisinde ilacın en yüksek dozuna bile, hastaların yaklaşık %55-60 kadarı yanıt vermektedir. Birleşik tedavi yaklaşımı ile yan etkiler en düşük düzeye çekilebilmektedir (Gümüştas, 2009).

Kombinasyon tedavisinin dayandığı başlıca prensipler şunlardır:

- a) *Antihipertansif etkinliğin farklı mekanizmalar kullanılarak artırılması:* Farklı mekanizmalar ile kan basıncını düşüren iki ilaç kombinasyonunun kan basıncı kontrol altına alınabilen hipertansif hasta sayısını artırdığı bilinmektedir. Artmış antihipertansif etkinlik olasılıkla anormal kan basıncı yükselmesinde rol oynayan pek çok sayıdaki düzenleyici sisteme aynı anda etki edilmesiyle ilişkilidir. Bunun anlamı sistemlerden birinin özgün olarak bloke edilmesinin sonucunda oluşan kan basıncı düşüşünün hemen her zaman diğer sistemlerin dengeyi sağlamayı amaçlayan aktivitesini tetikleyeceği ve bunun sonucunda da, genele bakıldığında antihipertansif etkinlikte bir azalma görüleceği şeklindedir. Bu nedenle iki farklı mekanizmaya sahip iki ilaç kombinasyonunun tek ilaç tedavisine göre daha iyi sonuç vereceği düşünülmektedir.
- b) *Yan etki sıklığının azaltılması:* Yan etkilerden bahsederken bunların doza bağımlı olduğu unutulmamalıdır. Kan basıncı ve yan etki profili kombine ilaçlar ve tek ilaç tedavisi ile karşılaştırıldığında, kullanılan ilaç dozu daha düşük olup yan etki görülme sıklığı da daha azdır. Örneğin yüksek dozlarda diüretik kullanımının yan etkileri, ADE inhibitörleri veya β blokerlerle birlikte kullanılması ile azaltılabilir. Bu sayede hem daha az yan etki, hem de daha fazla kan basıncı düşüşü sağlanır. Burada kombine ilaç kullananlar için dozlarının ayarlanması süreci hastanın birçok defa muayeneye gelmesine yol açabilmektedir. Sabit dozlu ilaçlarda ise doz ayarlaması kısmen doktorun kontrolü dışındadır. Bütün kan basıncı düşürücü ilaçlar beraber kullanılabilir, ancak kişiye özel tedavi gerçeği unutulmamalı ve beraber kullanıldıklarında istenmeyen yan etkinin artacağı kombinasyonlar tercih edilmemelidir (Sağlam ve ark., 2003; İlerigelen, 2005)

2.2.5. ADE İnhibitörlerinin Kimyasal yapıları ve Özellikleri

Kimyasal olarak üç farklı ADE inhibitörü sınıfı vardır. Bunlar, ADE inhibitörlerinin metal iyonlarıyla bir ligand olarak bağlanarak kompleks oluşturmasını da sağlayan, içerdikleri sülfidril, karboksil ya da fosforil gruplarına göre sınıflandırılmaktadır. Değişik yapıda olmaları, dokulardaki dağılımlarını ve atılım yollarını etkiler.

- a) Sülfür içerenler (kaptopril, alasepril, phentiapril, pivalopril, zofenopril).
- b) Karboksil grubu içerenler (enalapril, perindopril, trandolapril, ramipril, kinapril, delapril, silazapril, benazepril, lisinopril, pentopril)
- c) Fosforil grubu içerenler (fosinopril)

2.2.5.1. Enalapril

Enalapril anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) inhibitörüdür. Enapril hipertansiyon tedavisi, konjestif kalp yetmezliği, post-miyokard infarktüsü, konjestif kalp yetmezliği, gibi endikasyonlar için kullanılır (Hutchison ve ark., 2003).

Kaptopril'den sonra tedaviye girmiş bir ADE inhibitörüdür. Enalaprilin kendisi zayıf bir ADE inhibitörüdür ama karaciğerde ester grubunun hidrolizi ile aktif metaboliti olan enalaprilata dönüşür. Bu nedenle enalapril bir ön ilaç (prodrug) dır. Ön ilaç olarak verilmesinin nedeni enalaprilatın mide ve barsak kanalından iyi absorblanmamasıdır. Enalaprilat ADE inhibitörü olan enalaprilden 10-20 kat daha etkindir. Enalapril genellikle tek doz uygulamadan sonra daha 24 saat etkilidir. Kaptoprile göre daha aktif, daha uzun etki süreli, diğer ADE inhibitörlerine göre ise daha kısa etki sürelidir. Kaptoprilden daha düşük dozda kullanılır, yan etkisi daha azdır. Enalapril, yan etkiye neden olabilecek sülfhidril grubu içermez. Mide-barsak kanalından %70 absorblanır. Besinler biyoyararlanıma etki etmez. Karaciğerde aktif metabolitine dönüştükten sonra, etkisi geç başlar, uzun sürer. Enalapril diğer ADE inhibitörleri gibi hipertansif hastaların tedavisinde kalsiyum kanal veya beta-adrenoseptör antagonistlerine göre inme, pnömoni riskini ve zatürre riskini azaltan ADE inhibitörüdür (Hutchison ve ark., 2003).

Enalaprilin oral formu plazma düzeyinde 30-90 dakika içinde emilimi gerçekleşir. Aktif metabolitin plazma düzeyinde 3-4 saat içinde emilimi gerçekleşmektedir. Enalaprilin tek doz alımında kan basıncında azalma 0,5-4 saat içinde gerçekleşir. 12-24 saat arası sürer. Aktif metabolitin yarılanma süresi 30-50 saattir (Hutchison ve ark., 2003).

Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri esansiyel hipertansiyon ve konjestif ısı yetmezliği tedavisi için kullanılır. Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörlerinin olumsuz etkileri verimsiz öksürük, döküntü, eozinofili, anemi ve trombositte azalmadır. Ayrıca, bu ajanlar hipotansiyon, taşikardi, anjina, perikardit veya anephric hastalarda hipertansiyon neden olabilir. Diğer ortak yan etkiler hiperkalemi, hipertermi, hipoglisemi, hiponatremi, insülin duyarlılığı ve çinko eksikliği bulunmaktadır (Hutchison ve ark., 2003).

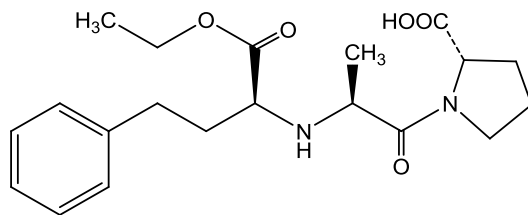
Vasotec markası altında diğerleri arasında satılan Enalapril 1978'de patentlendi ve 1984'te tıbbi kullanıma girmiştir. Sağlık sisteminde ihtiyaç duyulan en etkili ve güvenli ilaçları listeleyen Dünya Sağlık Örgütü Temel İlaçlar Listesinde yer almaktadır.

CAS numarası : 76095-16-4

Kimyasal Adı: (2S)-1-[(2S)-2-[[[(2R)-1-etoksi-1-oxo-4-fenilbütan-2-yl]amino]propanol] pirolidin-2-karboksilik asit

Kapalı Formülü : C₂₀H₂₈N₂O₅

Açık Formülü :



Enalapril Maleat

Molekül Ağırlığı : 492.5 g/mol

Erime Noktası : 143-144.5°C

Suda Çözünürlüğü : 0,025 g/mL

Suda az çözünmekle beraber metanol ve dimetilformamitte çözünür. Yarı polar organik çözücülerde hafifçe çözünür.

2.2.5.2. Kinapril

Kinapril non-sülfidril anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörüdür. Diğer grup üyelerine göre daha uzun bir etkinlik süresi vardır. Bu ön ilaç iki asitli aktif metabolitin karaciğerde desterifikasyon yapılmış şeklidir. Kinapril hipertansiyon tedavisi, konjestif kalp yetmezliği, post-miyokard infarktüsü ve diğer endikasyonlar için kullanılır (Hutchison ve ark., 2003).

Kinapril karaciğerde kinaprilat için hızla hidrolize olur. İlaç alındıktan sonra ana bileşik 1saat içinde doruk plazma seviyesine ulaşır, aktif metabolit ise 2 saatte ulaşmaktadır (Hutchison ve ark., 2003). Tek doz alındıktan sonra kan basıncı 1 saat içinde azalmaya başlamaktadır ve etkisi 12-24 saat arasında sürmektedir. Kinaprilin bir dozunun % 60 kadarı kinaprilat olarak idrarda süzülür, kinapril dozu böbrek veya karaciğer yetmezliğine göre ayarlanmalıdır. Kinaprilin yarılanma süresi 30 dakikadır. Kinaprilat ise bu süre 2-25 saat arasındadır (Hutchison ve ark., 2003).

Kinapril anjiyotensin-dönüştürücü enzim inhibitörü, anjiyotensin I'in anjiyotensin II'ye dönüşümünü engelleyen, doğrudan etkili vazokonstiktör ajanıdır. Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri kalp hızında bir refleks artışına neden olmadan sistemik vasküler direnci azaltmaktadır (Brown ve Vaughan, 1998).

Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörlerinin başlıca kullanımları esansiyel hipertansiyon ve konjestif ısı yetmezliği tedavisi içindir (Hutchison ve ark., 2003). Diğer anjiyotensin enzim inhibitörlerinin kullanımı, anjiyoödem, anurik böbrek yetmezliği, kalıtsal ya da idiyopatik anjiyoödem dönüştürme ve hamilelik gibi durumlarda uygun değildir (Hutchison ve ark., 2003).

Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörlerinin olumsuz etkileri verimsiz öksürük, döküntü, eozinofili, anemi ve trombosit toplamada azalıştır. Ayrıca, bu ajanlar hipotansiyon, taşikardi, anjina, perikardit veya anefrik hastalarda hipertansiyona neden olabilir. Diğer ortak yan etkileri ise hiperkalemi, hipertermi, hipoglisemi, hiponatremi, insülin duyarlılığı ve çinko eksikliğidir.

Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörlerinin kullanımı ile ilgili daha ciddi yan etkileri pankreatit, böbrek yetmezliği, nötropeni, hepatotoksisite, anjiyoödem, spermde ve fetal ölümdür (Hutchison ve ark., 2003). Hidroklorotiyazit ödem ve hipertansiyon tedavisinde kullanılan tiazit yapılı bir diüretiktir. Tiazit grubu diüretikler

hipertansiyonun başlangıç tedavisinde tek başlarına veya diğer ilaçlarla kombine kullanılırlar. Kıvrım diüretiklerden farklı olarak, böbrek yetmezliği olan hastalarda etkinlikleri zayıflar. Hidroklorotiyazit diabetes insipidus ve hiperkalsüri tedavisi için de kullanılır. Hidroklorotiyazit, FDA gebelikte ilaç kullanımı risk sınıflandırmasında B kategorisine dahildir (hayvan deneyleri ve gebelerde yapılan kontrollü çapraz çalışmalarda risk olasılığı doğrulanmamış ilaçlar). Tiazit grubu diüretikler böbrek tubulus epitelyumundan sodyum iyon transportunu inhibe ederek sodyum, klor ve suyun atılımını artırır.

Tiazitlerin bu etkiyi göstermelerinde farklı mekanizmalar rol oynayabilirse de, yaptıkları diürezden sorumlu esas mekanizma Henle kıvrımının çıkan kolunun kortikal bölümü (kortikal dilüe edici segment) ile distal tubulusun proksimal bölümünde aktif klorür reabsorbsiyonunu inhibe etmeleridir. İkincil olarak sodyum reabsorbsiyonunu da azaltırlar. Klorür transportunu nasıl azalttıkları tam olarak bilinmemektedir.

Tiazitler ayrıca potasyum ve bikarbonat atılımını artırır, kalsiyum ve ürik asit eliminasyonunu azaltırlar. Hidroklorotiazitlerin potasyum atılımını artırmaları renal tübülüslerin distal bölümünde sodyum yükünü arttırmalarına (Na^+ iyonundan zengin filtrat) bağlıdır; böylece sodyum-potasyum değiş-tokuş mekanizmasını harekete geçirerek potasyum salgılanmasını indirekt olarak artırmış olurlar. Neden oldukları hipokloremi ve hipokalemi hafif metabolik alkalozu yol açabilir.

Hidroklorotiazitlerin diüretik etkileri hastanın asit-baz dengesinden etkilenmez. Hidroklorotiazitler aldosteron antagonist etkisi göstermezler ve esas etkileri karbonik anhidraz enzim inhibisyonundan bağımsızdır (Sweetman, 2007).

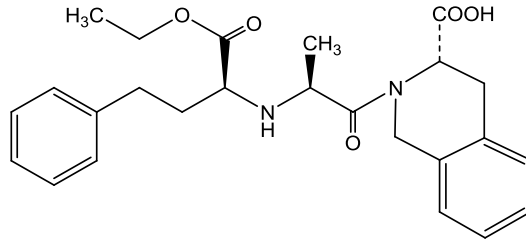
Accupril markası altında diğerleri arasında satılan kinapril, yüksek tansiyon, kalp yetmezliği ve diyabetik böbrek hastalığını tedavi etmek için kullanılan bir ilaçtır. Yüksek tansiyon için makul bir başlangıç tedavisidir. Ağızdan alınır. Sık görülen yan etkiler baş ağrısı, baş dönmesi, yorgun hissetmek ve öksürüğü içerir. Ciddi yan etkiler arasında karaciğer problemleri, düşük kan basıncı, anjiyoödem, böbrek problemleri ve yüksek kan potasyum olabilir. Hamilelikte ve emzirmede kullanılması tavsiye edilmez. Bir ADE inhibitörüdür ve renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi aktivitesini azaltarak çalışır.

CAS numarası : 85441-61-8

Kimyasal Adı: (3S)-2-[(2S)-2-[[[(2S)-1-etoksi-1-oxo-4-fenilbütan-2-yl] amino] propanol]-3,4-di hidro-1H-izokinolin-3-karboksilik asit

Kapalı Formülü : C₂₅H₃₀N₂O₅

Açık Formülü :



Kinapril

Molekül Ağırlığı : 474.98 g/mol

Erime Noktası : 120-130 °C

Suda Çözünürlüğü : 1 mg/L

2.2.5.3. Ramipril

Ramipril bir anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) inhibitörüdür. Bir ön ilaç olan, ramipril hızla gastrointestinal sistemden emilir ve aktif metaboliti olan ramiprilat için kapsamlı hepatik metabolizmasına uğrar. Ramiprilat, Ramiprilden 6 kat daha etkili anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörüdür.

Ramiprilin doruk plazma konsantrasyonu alımından 1 saat içinde gerçekleşir. Kan basıncındaki azalma ilacın alımında sonra 2 saat içinde, zirve değerine ise 6-8 saatte ulaşır. İlaç alındıktan sonra 24 saat etkisi sürer. Ramipril idrar elenirse, doz böbrek yetmezliği ile ayarlanmalıdır. Ramiprilatın yarılanma süresi 24-50 saattir (Hutchison ve ark., 2003). Ramipril, anjiyotensin-dönüştürücü enzim inhibitörü, anjiyotensin I den anjiyotensin II'ye dönüşümünü engelleyen, doğrudan etkili vasoconstrictor ajanıdır. Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri kalp hızında bir refleks artışına neden olmadan sistemik vasküler direnci azaltmaktadır (Brown ve Vaughan, 1998; van Veldhuisen ve ark., 1998).

Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri için başlıca kullanımları esansiyel hipertansiyon ve konjestif ısı yetmezliği tedavisi içindir. Ramipril ve diğer anjiyotensin enzim inhibitörlerinin kullanımı, anjiyoödem, anürik böbrek yetmezliği, kalıtsal ya da idiyopatik anjiyoödem dönüştürme ve hamilelik gibi durumlarda uygun değildir (Hutchison ve ark., 2003).

Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörlerinin olumsuz etkileri verimsiz öksürük, döküntü, eozinofili, anemi ve trombosit toplamada azalıştır. Ayrıca, bu ajanlar hipotansiyon, taşikardi, anjina, perikardit veya anephric hastalarda hipertansiyona neden olabilir.

Diğer ortak yan etkileri ise hiperkalemi, hipertermi, hipoglisemi, hiponatremi, insülin duyarlılığı ve çinko eksikliğidir. Diğer daha az yaygın yan etkileri tat bozuklukları, cinsel işlev bozukluğu, döküntü ve alopesidir. Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri kullanımı ile ilgili daha ciddi yan etkileri pankreatit, böbrek yetmezliği, nötropeni, hepatotoksisite, anjiyoödem, spermde ve fetal ölümdür (Hutchison ve ark., 2003).

Altace markası altında satılan Ramipril, yüksek tansiyon, kalp yetmezliği ve diyabetik böbrek hastalığını tedavi etmek için kullanılan bir ilaçtır. Ayrıca yüksek risk altındaki hastalarda kardiyovasküler hastalıkları önlemek için kullanılır. Yüksek tansiyon için makul bir başlangıç tedavisidir. Ağızdan alınır. Sık görülen yan etkiler baş ağrısı, baş dönmesi, yorgun hissetmek ve öksürüğü içerir. Ciddi yan etkiler karaciğer problemlerini, anjiyoödem, böbrek problemlerini ve yüksek kan potasyumunu içerebilir. Hamilelikte ve emzirmede kullanılması tavsiye edilmez. Bir ADE inhibitörüdür ve renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi aktivitesini azaltarak çalışır.

CAS numarası : 87333-19-5

Kimyasal Adı: (2S,3aS,6aS)-1-[(2S)-2-[(2S)-1-etoksi-1-oxo-4-fenilbütan-2-yl] amino] propanol]-3,3a,4,5,6,6a-hekza hidro-2H-siklo penta[d]pirol-2-karboksilik asit

Kapalı Formülü : C₂₃H₃₂N₂O₅

Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri kalp hızında bir refleks artışa neden olmadan sistemik vasküler direnci düşürür (Brown ve Vaughan, 1998; van Veldhuisen ve ark., 1998). Lisinopril ve diğer anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörlerinin kullanımı anjiyoödem, anurik böbrek yetmezliği, kalıtsal ya da idiyopatik anjiyoödem, hamilelik gibi durumlarda uygulanması uygun değildir.

Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörlerinin olumsuz etkileri verimsiz öksürük, döküntü, eozinofili, anemi ve trombosit toplamada azalıştır. Ayrıca, bu ajanlar hipotansiyon, taşikardi, anjina, perikardit veya anephrik hastalarda hipertansiyona neden olabilir. Diğer ortak yan etkileri ise hiperkalemi, hipertermi, hipoglisemi, hiponatremi, insülin duyarlılığı ve çinko eksikliğidir (Hutchison ve ark., 2003).

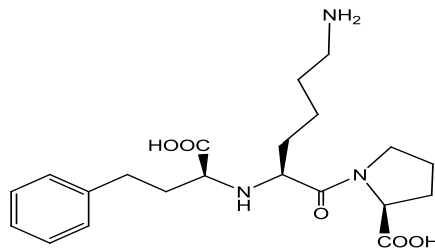
Lisinopril, yüksek tansiyon, kalp yetmezliği ve kalp krizlerinden sonra tedavisinde kullanılan anjiyotensin-dönüştüren enzim (ADE) inhibitör sınıfının bir ilacıdır. Yüksek tansiyon için, siyah insanlarda kalsiyum kanal blokerleri veya tiazid diüretikleri daha iyi çalışsa da, genellikle ilk tedavidir. Diyabetli kişilerde böbrek problemlerini önlemek için de kullanılır. Lisinopril ağızdan alınır. Tam etki meydana gelmesi dört hafta kadar sürebilir. Sık görülen yan etkiler baş ağrısı, baş dönmesi, yorgun hissetmek, öksürük, bulantı ve döküntüdür. Ciddi yan etkiler düşük kan basıncı, karaciğer problemleri, yüksek kan potasyum ve anjiyoödem içerebilir. Bebeğe zarar verebileceği için hamilelik sırasında kullanılması tavsiye edilmez. Lisinopril, renin-anjiyotensin-aldosteron sistemini inhibe ederek çalışır.

CAS numarası : 83.915-83-7

Kimyasal Adı: (2S)-1-[(2S)-6-amino-2-[[[(2S)-1-hidroksi-1-oxo-4-fenilbütan-2-yl] amino]heksanol]pirolidin-2-karboksilik asit

Kapalı Formülü : C₂₁H₃₁N₃O₅

Açık Formülü :



Lisinopril

Molekül Ağırlığı : 441.52 g/mol

Suda Çözünürlüğü : 13 mg/L

2.3. Çinko, Kimyasal ve Biyolojik Özellikleri

Çinko mavimsi açık gri renkte, kırılgan bir metaldir. Elementlerin periyodik tablosunda geçiş elementleri grubunda yer alır. Düşük kaynama sıcaklığı dikkat çekicidir. Bu değer özellikle pirometalurjik metal üretiminde çok belirleyici bir etmendir. Dökülmüş halde sert ve kırılgandır. 120 °C'de şekillendirilebilir. Elektrokimyasal potansiyel dizisinde demirden daha negatif değerdedir. Böylece çinko anot olarak katodik korozyon korumada önemli bir kullanım bulur. Galvanizleme bu tür uygulamalardan biridir.



Şekil 2.7. Çinko (Zn)

Çinko, bileşiklerinde +2 değerlikli olarak bulunur ve oluşturduğu bileşiklerde genelde iyonik bağ yapar. Amonyak, amin, siyanür ve halojen iyonları ile kompleks bileşikler meydana getirir. Mineral asitlerinde H_2 gazı çıkışıyla çözünür. Ancak nitrik asitte NO_x çıkışı olur. Dolayısıyla çinko, özellikle toz halde çok etkili bir indirgeyicidir. Normal sıcaklıkta havada bırakılan metalin yüzeyinde koruyucu bir tabaka oluştuğundan bu sıcaklıkta halojenlere bile dayanıklıdır. HCl çinkoyu çok çabuk korozyona uğratar. Toz çinkonun reaksiyona girme kabiliyeti oldukça fazla ise de yanıcı değildir. Yüksek sıcaklıkta oksijen, klor ve kükürt gibi elementlerle şiddetle reaksiyona girer. Cıva ile sert bir amalgam meydana getirir. Klorür ve sülfat tuzları suda yüksek miktarda çözünür. Buna karşılık çinko oksit, silikat, fosfat ve organik kompleksleri ya suda hiç çözün-mezler ya da çok az çözünürler. Bileşikleri arasında çinko oksitin teknik

ve ekonomik değeri vardır. Organik bileşikler arasında çinko sabunu en önemli kullanıma sahiptir.

Çinko tüm hücrelerimizin içinde ve 200 kadar enzimin yapısında bulunur. Çinko diğer minerallere göre daha fazla enzimatik reaksiyonda görev alır. Ayrıca timus hormonları, insülin, büyüme hormonu gibi birçok hormonun oluşumunda görev alır. İnsanda ortalama olarak 1.4-2.5 g çinko bulunmaktadır. Vücutta en çok kas dokusunda (% 65) depolanır. En yüksek oranda eritrosit ve lökositlerde bulunur. Diğer yüksek oranda çinko içeren dokular kemik, deri, böbrek, karaciğer, pankreas, retina ve prostattır. Erişkinlerin günlük çinko ihtiyacı 15 mg kadardır.

Ciddi çinko eksikliği nadirdir. Eksiklik geliştiğinde cilt değişiklikleri, ishal, saç dökülmesi, zihinsel dalgalanmalar, immün fonksiyonlarda bozulmaya bağlı tekrarlayan enfeksiyonlar gelişir. Çinko eksikliği daha çok yaşlılarda saptanır. Besinlerle alınan çinkonun % 47-67' si emilir.

Çinko eksikliği ile ilişkili durumlar:

- | | |
|------------------------------------|-------------------------------|
| - Sık ve/veya ciddi enfeksiyonlar | - Malabsorpsiyon sendromları |
| - Uyku ve davranış bozuklukları | - İştah azalması, anoreksia |
| - Yara iyileşmesinde gecikme | - Büyüme geriliği |
| - Ruhsal hastalıklar | - Koku ve tat kaybı |
| - İnflamatuvar barsak hastalıkları | - Gece körlüğü |
| - İnfertilite | - Cilt bozuklukları |
| - Adet bozuklukları | - Saçta kepeklenme ve dökülme |
| - Bağ dokusu hastalıkları | - Romatoid Artrit |

Sınırdaki çinko eksikliği kendini enfeksiyona yatkınlıkta artma, yara iyileşmesinde gecikme, koku ve tat duyusunda azalma, sivilce, egzema, sedef hastalığı gibi cilt bozuklukları ile belli eder. Diğer çinko eksikliği ile ilişkili bulgular gece görme yeteneğinde azalma, gelişme geriliği, testis atrofisi, ağız ülserleri, dilde beyaz tabaka oluşumu, nefesin pis kokması olarak söylenebilir.

3. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Márcia C. de Souza ve arkadaşlarının 2014 yılında yapmış oldukları “Antihipertansif ilaç enalapril ile bir çinko kompleksinin konformasyonel polimorfizmi” başlıklı çalışmada, enalapril-Zn kompleksinin kristal yapısı, çeşitli sıcaklıklarda X ışını kırınımı yöntemi ile belirlenmiştir. Kompleks, tek dişli modundaki karboksilat grubunun oksijen atomu ile bir Zn^{2+} iyonuna koordine olmuş enalapril ilacından oluşmaktadır. Metal iyonu, canlı içi ortam için önerilene benzer canlı dışı ortamda (in vitro) Zn^{2+} iyonu ile enalaprilin kompleksleşmesinin gösterdiği gibi, bir tetrahedral geometri oluşturmaktadır. Enalapril-Zn kompleksinin kristal yapısı, soğutma işlemi sırasında 150-200 K arasında bir sıcaklık aralığında geri dönüşümsüz düzenli-düzensiz yapısal bir faz geçişi olduğunu göstermiştir. Oda sıcaklığında C222den (faz I), 150 K’de P212121ye (faz II) simetrik bir değişim gözlenmiştir. Faz II hafifçe düzensiz iken Faz I, belirgin fiili düzensizlik sunmuştur (de Souza ve ark., 2014).

Subrata Jana ve arkadaşlarının 2014 yılında yapmış oldukları “Bakır (II) öncülerinin yerinde indirgenmesi vasıtasıyla, esnek-dişli siklik N2-verici Schiff bazlarına dayalı bakır (I) komplekslerinin tasarımı ve oluşturulması” başlıklı çalışmada, üç bakır (I) kompleksi, $[Cu(m2-L1)I]n(1)$, $[CuL1(m-1,1,3-SeCN)]n(2)$ ve $[Cu2(m2-I)2(L2)2](3)$, burada $L1 = 5,6$ -difenil-2,3-dihidropirazin ve $L2 = 2,3$ -dihidro-5,6-bis (4 metoksifenil) pirazin, ortam koşulları altında bakır (II) öncülerinin yerinde indirgenmesi vasıtasıyla sentezlenmiştir ve elementel analiz, IR ve UV-Vis spektroskopisi ve tek-kristal X-ışını difraksiyon çalışmaları ile karakterize edilmiştir. Bakır (I) merkezleri, 1 ve 3 komplekslerinde trigonal düzlemsel geometriye sahiplerdir, oysaki kompleks 2’de tetrahedraldir. Kompleks 1 1-D zincir yapı, kompleks 2 Cu_2Se_2 çekirdekli merdiven benzeri polimerik koordinasyon ağı özelliğindedir, kompleks 3 çift iyodür köprü dimer özelliكتedir. Kompleks 1 monoklinik boşluk gruplu P21/c kristallenir, ancak kompleks 2 ve 3 triklinik boşluk gruplu p11 kristallenirler. Kompleks 1 ve 2 önemli C-H-p etkileşmeleri gösterir, fakat kompleks 3, böyle C-H-p etkileşmelerine sahip değildir (Jana ve Chattopadhyay, 2014).

Willian X.C. Oliveira ve arkadaşlarının 2014 yılında yapmış oldukları “Potansiyel anti-kanser ajanlar olarak Paladyum (II) ve platinyum (II) oksamat kompleksleri: Yapısal karakterizasyonu ve sitotoksik aktivitesi” başlıklı çalışmada, insandaki kanserojen hücrelerine karşı sitotoksik aktivitesi olan, üçü paladyum(II) ve bir platin(II)

içeren beş bileşiğin sitotoksik aktivitesi ilk defa değerlendirilmiştir. Bu bileşikler sentezlenerek karakterize edilmiştir ve formül olarak: $K_2(H_2opba)_2H_2O$ (1), $K_2[Pd(opba)]_2H_2O$ (2) $[Pd(NH_3)_4]Cl_2 \cdot 2H_2O$ (3), $[Pd(NH_3)_4][Pd(opba)]$ (4) and $[Pt(H_2opba)]H_2O$ (5) şeklindedir. Bu formülde opba = 1,2-fenilenbis (oksamat). Bileşiklerden 4. ve 5. yenidir ve bunların sentezi ve karakterizasyonu detaylarıyla tartışılmıştır. 4'ün kristal yapısı, tek kristal X ışını kırınımı ile değerlendirilmiş ve bileşiminde kesin ve net $[Pd(NH_3)_4]^{2+}$ katyonlarının hidrojen bağlarıyla $[Pd(opba)]^{2-}$ anyonlarıyla etkileşmesi yoluyla ortaya konmuştur. Bileşik 1'in kronik miyelojen lösemi hücrelerinin büyümesine anlamlı bir etkisi yokken, Pd(II) ve Pt(II) kompleksleri hücrel büyüme 2'nin aktivitesini takiben önlemektedir. 2 ve 4. bileşikler, serbest liganda kıyasla lösemi hücrelerine yaklaşık 20 kat daha fazla sitotoksiktirler (Oliveira ve ark., 2014) .

Moamen S. Refat ve arkadaşlarının 2014 yılında yapmış oldukları “Enalapril maleat ilacının yeni La (III), Ce (III), Sm (III) ve Y (III) komplekslerinin hazırlanması, spektroskopik ve termal karakterizasyonu. Canlı dışında (in vitro) antimikrobiyal değerlendirme çalışmaları” başlıklı çalışmada La (III), Ce (III), Sm (III) ve Y (III) ile enalapril maleat hipertansif ilacın 1:1 M oranında metal kompleksleri sentezlenmiştir. Sonuçlanan komplekslerin önerilen yapıları, elementel analiz, molar iletkenlik, (kızılötesi, UV-görünür ve floresans) spektrumları, etkin manyetik moment, termal analiz (TG), X-ışını toz difraksiyonu (XRD) ve taramalı elektron mikroskopu (SEM) sonuçlarına dayalı olarak ele alınmıştır. IR spektral verileri, enalaprilin, karboksilat oksijeni ve amit karbonil oksijeni vasıtasıyla iyonik çift dişli bir ligand olarak metal iyonlarıyla reaksiyon verdiğini göstermiştir. Fakat Sm (III) kompleksi halinde, amid karbonil oksijen ile tek dişli olarak reaksiyon olmaktadır. Maleat kısmı, karboksilat veya karbonil oksijeni vasıtasıyla çift dişli ligand olarak bütün bu metallerle etkileşir. Kinetik ve termodinamik parametreler, E_a , DH , DS gibi, DTG eğrilerinden hesaplanmıştır. Enalapril maleat ve komplekslerinin antibakteriyal değerlendirmesi, bazı gram pozitif ve negatif bakterilere ilaveten mantarlara karşı da gerçekleştirilmiştir (Refat ve ark., 2014a)

Hisham E. Abdellatif ve arkadaşlarının 1999 yılında yapmış oldukları “Eosin ve Cu(II) ile üçlü kompleks oluşumu yoluyla ramiprilin ve perindoprilinin spektrofotometrik ve atomik absorpsiyon spektrometrik tayini” başlıklı çalışmada, iki hassas spektrofotometrik ve atomik absorpsiyon spektrometrik işlem, ramipril ve perindoprilinin belirlenmesi için geliştirilmiştir. Her iki yöntem de, bakır (II), eosin ve

ele alınan iki ilaç arasında, kloroform ile ekstrakte edilebilen üçlü bir kompleks oluşumuna dayalıdır. En uygun şartlarda spektrofotometrik olarak üçlü kompleksler; perindopril ve ramipril için sırasıyla, belirgin 6.55 ve $4.00 \cdot 10^3 \text{ mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ molar absorpsiyon kapasitesi ve 5.80102 ve 1.04101 mg cm^2 Sandell hassasiyetleriyle, 535 nm 'de maksimum absorpsiyon göstermişlerdir. Üçlü kompleks çözeltileri, perindopril ve ramipril için sırasıyla $10\text{-}60$ ve $20\text{-}100 \text{ mg ml}^{-1}$ konsantrasyon aralıklarında Beer yasasına uygundur. Önerilen yöntemin, farmasötik tabletlerde ele alınan iki ilacın tayinine uygulanabileceği ifade edilmiştir. Kompleksin organik özütünün, bakır içeriğinin nicel olarak doğrudan tayin yolu olan atomik absorpsiyon yöntemiyle, aynı zamanda tayin duyarlılığını artırmak amacıyla da incelendi. Spektrofotometrik ve atomik absorpsiyon spektrometrik işlemlerin, ramiprilin ve perindoprilin dozaj formlarına uygulandığında iyi bir doğruluk ve kesinliğe sahip oldukları görülmüştür (Abdellatef ve ark., 1999).

Moamen S. Refat ve arkadaşlarının 2014 yılında yapmış oldukları “Metal-ilâç komplekslerinin sentezi, termal ve spektroskopik davranışları: La (III), Ce (III), Sm (III) ve Y (III) ve amoksisilin trihidra antibiyotik ilâç kompleksleri” başlıklı çalışmada, amoksisilin trihidratın La (III), Ce (III), Sm (III) ve Y (III) ile metal kompleksleri, 1:1 (metal:Amoksisilin) mol oranında sentezlenmiştir. Komplekslerin önerilen kompleks yapıları, element analizler, molar iletkenlik, (infrared, UV-görünür ve floresan) spektrumları, Bohr magnetonlu etkin manyetik moment, ayrıca termal analiz (TG) sonuçlarına dayanmaktadır ve X-ışını toz difraksiyonu (XRD) ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile karakterize edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, amoksisilinin amino, imino ve b-lactamic karbonilin vasıtasıyla metal iyonuna koordine olmak suretiyle, üç dişli ligantlar olarak metal iyonları ile reaksiyon verdiğini göstermiştir. Ea, DH, DS ve DG gibi kinetik termodinamik parametreler, DTG eğrilerinden yola çıkılarak hesaplanmıştır (Refat ve ark., 2014b).

Literatür taraması sonucunda, ADE inhibitörleriyle, özellikle metabolik öneme sahip bazı metaller arasında oluşturulan komplekslerin spektrofotometrik yöntemle incelenmesi konusunda bir çalışmaya rastlanmamıştır.

4. MATERYAL VE YÖNTEM

Deneysel çalışmalara, ADE inhibitörlerinin (Ramipril ve Enalapril) DMF, etanol, metanol, asetonitril ve ultra saf su ile oluşturdukları çözeltilerin florimetrik parametreleri belirlenerek başlanmıştır. Bu parametrelerin belirlenmesi için Ramipril ve Enalapril'in her bir çözücünde uygun derişimlerdeki çözeltileri hazırlanarak, uyarma dalga boyları 10'ar nm aralıklarla değiştirilip emisyon spektrumları alınmış ve ADE inhibitörlerinin her bir çözücünde maksimum floresans şiddetine sahip oldukları uyarma ve emisyon dalga boyları belirlenmiştir. Daha sonra vücuttaki pek çok reaksiyonda önemli rol oynayan çinko (Zn) ile ADE inhibitörlerinden oluşturulan komplekslerin aynı çözücü ortamlarında kompleks oluşturacağı en uygun koşullar tayin edilmiştir. Bu amaçla pH, çözücü ortamı, kompleks oluşum süresi ve ADE inhibitörlerinin konsantrasyonu incelenmiştir. Çözelti ortamında oluşturulan kompleksin belirlenen en uygun koşullar altında, uyarma ve emisyon spektrumları alınarak en yüksek floresans şiddetine sahip olduğu uyarma ve emisyon dalga boyları tespit edilmiştir. Aynı zamanda, belirlenen en uygun koşullarda çalışılan metallerin kalibrasyon eğrileri çizilerek geliştirilecek yöntemin doğrusal tayin aralığı, gözlenebilme ve alt tayin sınırları belirlenmiştir.

4.1. Kullanılan cihazlar

4.1.1. Spektroflorimetre

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

4.1.2. Analitik Terazî ve pH Metre

Maddeler ACCULAB ATILON marka hassas terazî kullanılarak tartımı yapılmıştır. Deney çözeltilerinin pH'larını ayarlamak amacıyla METTLER TOLEDO marka pH-metre ve aynı marka kombine cam-pH elektrodu kullanılmıştır. pH-metrenin

kalibrasyonu, Merck firmasından temin edilen pH 4, pH 7 ve pH 10 tampon çözeltileri kullanılarak yapıldı.

4.1.3. Su Banyosu, Saf Su Cihazı ve Karıştırıcı

Çözeltileri hazırlamak için kullanılan ultra saf su Pure Lab Option-Q ELGA DV25 marka ultra saf su cihazdan elde edildi. Sıcaklığı 35°C’de sabit tutabilmek için WiseCircu marka sirkülasyonlu su banyosu kullanılmıştır. Çözeltileri karıştırmak için ULTRASONIC LC/30H marka manyetik karıştırıcı kullanılmıştır.

4.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

4.2.1. ADE inhibitörleri (Enalapril, Ramipril)

ADE inhibitörlerinden olan Enalapril (ENP) ve Ramipril (RMP), metabolik metallerle kompleks oluşumuna dayalı çalışmalarda ligant olarak tercih edilmiştir. Bu ilaç etken maddeleri Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Sibel A. Özkan tarafından ilgili ilaç firmalarından tedarik edilmiştir. ENP ve RMP’in DMF, asetonitril, etanol, metanol ve ultra saf suda 10^{-3} M’lık stok çözeltileri hazırlanmış, deneysel işlemlerde uygun derişimlere seyrtilerek kullanılmıştır.

4.2.2. Çözücüler

Deneysel çalışma sürecinde öncelikle, ADE inhibitörleri olan ENP ve RMP’in, Merck firmasından temin edilen, DMF, asetonitril, etanol, metanol ve ultra saf suda çözünme özellikleri incelenmiştir.

4.2.3. Amonyum asetat çözeltisi

Deneysel çalışmalarda, çözelti ortamlarının pH’larını kontrol altında tutabilmek için % 20’lik amonyum asetat ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) çözeltisi tampon çözelti olarak kullanılmıştır. Amonyum asetat çözeltisi, Merck firmasından temin edilen ekstra saflıktaki amonyum asetatından alınarak ultra saf suda hazırlanmıştır.

4.2.4. Hidroklorik asit ve sodyum hidroksit çözeltisi

Deney çözeltilerinde, tamponun pH değerini ayarlamak için, 1M HCl ve 1M NaOH çözeltileri kullanılmıştır. 1M HCl çözeltisi, Merck firmasından temin edilen % 37'lik saf hidroklorik asitten ultra saf suda hazırlanmıştır. 1M NaOH çözeltisi yine Merck firmasından tedarik edilen sodyum hidroksitten uygun miktar alınarak saf suda hazırlanmıştır.

4.2.5. Stok çinko çözeltisi

Çinkonun 10^{-3} M'lık standart stok çözeltisi, Merck firmasından temin edilen 1000 ppm'lik standart çinko çözeltisinden gerekli miktarda alınıp ultra saf suda hazırlanmıştır.

4.2.6. Çinko içerikli tabletlerin çözeltisi

Çinko içerikli ilaç olarak Bayer firmasının ürettiği Redoxon tercih edilmiştir. Bu ilaç 20 adet tabletten oluşmakta ve her tablet içerisinde 10 mg çinko ihtiva etmektedir. Redoxon içerisinden alınan iki adet tablet birkaç büyük parçaya ayrılmıştır. Bu parçalar 250 ml'lik balon içerisine atılmış ve 250 ml ultra saf su ilave edilmiştir. Bu karışım 1 saat boyunca ultrasonik banyoda tutularak tamamen çözünmesi sağlanmıştır.

4.3. Deneysel İşlem

En çok kullanılan ADE inhibitörleri RNP ve ENP ile metabolik öneme sahip çinko iyonlarının kompleks oluşumuna dayanan spektrofotometrik tayinde kullanılan deneysel işlem şöyledir:

25 mL'lik sıcaklık kontrollü bir reaksiyon hücresinde, çinko derişimleri 10^{-6} M- 10^{-5} M olacak şekilde Zn (II) stok çözeltisinden uygun hacimlerde ilave edildi. Bunun üzerine, 2.0 mL 10^{-3} M RNP'in tayin için belirlenen en uygun floresans şiddetinin elde edildiği çözücüdeki (metanol, MeOH)) stok çözeltisinden ilave edildi, 1.0 mL % 20'lik amonyum asetat çözeltisi eklendi. Daha sonra 1M HCl ve 1M NaOH çözeltileri kullanılarak, çözeltinin pH değeri belirlenen en uygun değere (pH=3.0) ayarlandı.

Çözeltilerin hacmi uygun çözücüyle (MeOH) 20 mL'ye tamamlandı. Çözelti kompleks oluşumu için en uygun süre (25 dakika) ve sıcaklıkta bekletildi. Aynı deneysel işlem ENP-Zn kompleksi için de uygulandı. Hazırlanan bu çözeltilerin uyarma ve emisyon spektrumları alındı ve floresans şiddetleri ölçüldü. Belirlenen en uygun uyarma ve emisyon dalga boylarında, kalibrasyon ($F-[Zn^{+2}]$) çizildi. En uygun deney şartları altında, bu florimetrik çinko tayin yöntemi Redoxon-Zinc tabletlerine uygulanarak içeriğindeki Zn (II) miktarı tayin edilmeye çalışıldı. Geri kazanım, alt tayin sınırı (LOQ) ve gözlenebilme sınırı (LOD) değerleri hesaplandı.

4.4. Deney Koşullarının Belirlenmesi

ADE İnhibitörlerinden olan ENP ve RMP'in öncelikle çinko ile oluşturacağı kompleks yapının en uygun şartları belirlenmesi gerekmektedir. En uygun deney şartlarının belirlenmesi için, ligand ve kompleksin en iyi çözündüğü çözücü ortamı, en uygun uyarma ve emisyon dalga boyları, pH, ligand derişimi, kompleks oluşum süresi incelenmiştir. Belirlenen en uygun koşullarda Stern-Volmer kalibrasyon eğrileri çizilmiş ve geliştirilen yöntemin tayin aralığı ve alt tayin sınırı belirlenmiştir.

4.4.1. Uyarma ve emisyon dalga boylarının belirlenmesi

ENP ve RMP'in hangi çözücünde daha uygun uyarma ve emisyon dalga boyunu verdiğini görmek amacıyla, bu ilaç etken maddelerinin DMF, asetonitril, metanol, etanol ve ultra saf suda uygun derişimlerde çözeltileri hazırlanmış ve uyarma dalga boyu 200 nm' den başlayarak 10'ar nm aralıklarla değiştirilmek suretiyle herbir uyarma dalga boyunda çoklu emisyon spektrum taraması yapılmıştır. Bu çoklu emisyon spektrumlarından maksimum floresans şiddetine sahip, en uygun çözücü ortamı, en uygun uyarma ve emisyon dalga boyları belirlenmiştir.

4.4.2. En uygun ENP ve RMP derişiminin belirlenmesi

ADE inhibitörlerinden olan ve çalışmada ligand olarak kullanılan ENP ve RMP'in derişimi en uygun kompleks oluşumunu sağlamak amacıyla 10^{-5} - 10^{-3} M derişim aralığında değiştirilerek emisyon spektrumları alınmış ve en uygun floresans şiddetinin elde edildiği derişim çalışmada ligand derişimi olarak belirlenmiştir.

4.4.3. En uygun pH değerin belirlenmesi

ENP ve RMP, vücut içerisinde gastrointestinal sistemin mideden kalın barsağa kadar herbir bölümünde farklı pH değerlerinin söz konusu olmasından dolayı farklı reaksiyon vererek metabolize olmaktadır. Bu nedenle ENP ve RMP'in ve metal komplekslerinin farklı pH değerlerinde florimetrik davranışları incelenmiştir. Bu amaçla en uygun pH değerini belirlemek için, belirlenen en uygun çözücü ortamlarında, pH değeri 2-9 arasında 0.5 artış ile değiştirilerek belirlenen dalga boylarında emisyon spektrumları alınmış ve floresans şiddetleri belirlenmiştir. Herbir ilaç etken maddesi için ölçülen floresans şiddeti değerleri pH'ya karşı grafiğe geçirilmiştir. Bu grafiklerden kompleks oluşumu için en uygun pH değeri belirlenmiştir.

4.4.4. En uygun ortam sıcaklığının belirlenmesi

İlaç etken maddeleri olan ENP ve RMP için kompleks oluşum sıcaklığının belirlenmesinde vücut sıcaklığının dikkate alınması gerektiği göz önünde bulundurularak, kompleks oluşumu için en uygun sıcaklık değerini belirlemek amacıyla, deneyler sabit sıcaklıkta çalışma imkanı sağlayan özel bir reaksiyon hücresinde 35-37°C sıcaklık aralığında yapılmıştır. Sıcaklık ceketini bulunduran bu hücre, sirkülasyonlu su banyosundan sürekli belli sıcaklıktaki su devir daimi ile sıcaklığı sabit tutmaktadır. Bu reaksiyon hücresinde herbir sıcaklık değerinde belirlenen dalga boylarında emisyon spektrumları alınarak floresans şiddetleri ölçülmüş, ENP ve RMP'in kompleks oluşumu için en uygun verilerin elde edildiği sıcaklık değeri belirlenmiştir.

4.4.5. Kompleks oluşum süresinin belirlenmesi

Kompleks oluşumunda süre çok önemli bir parametredir ve optimize edilmesi gerekir. Bu amaçla ENP ve RMP'in Zn (II) iyonlarıyla kompleks oluşturduğu en uygun kompleks oluşum süresi, belirlenen en uygun çözücü ortamı ve diğer deney parametrelerinde hazırlanan uygun derişimlerdeki çözeltilerin, 10. dk'dan başlayarak 75. dk'ya kadar 5'er dk aralıklarla seçilen dalga boylarında floresans şiddeti ölçümleri alınarak tespit edilmiştir.

4.4.6. Kalibrasyon grafiği ve analitik parametrelerin belirlenmesi

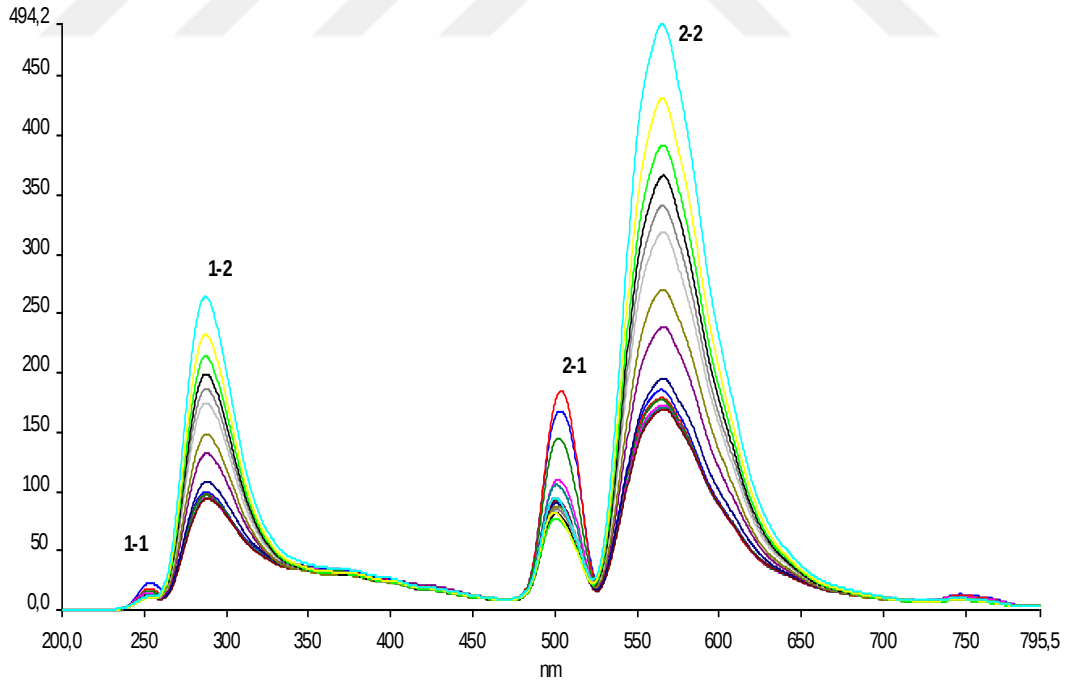
Zn(II)-ENP ve Zn(II)-RMP komplekslerinin belirlenen en uygun deney koşullarında ve uygun derişim aralıklarında hazırlanan çözeltilerinin, seçilen dalga boylarında floresans şiddetleri ölçölerek, doğrusal çalışma aralığını belirlemek amacıyla çinko derişimine karşı floresans şiddetleri grafiğe geçirildi. Ayrıca elde edilen eğrilerden bu spektrofotometrik yöntem ile tayin edilebilecek en düşük çinko derişimleri ve diğer analitik parametreler belirlendi.



5. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

5.1. Uyarma ve Emisyon Dalga Boylarının Belirlenmesi

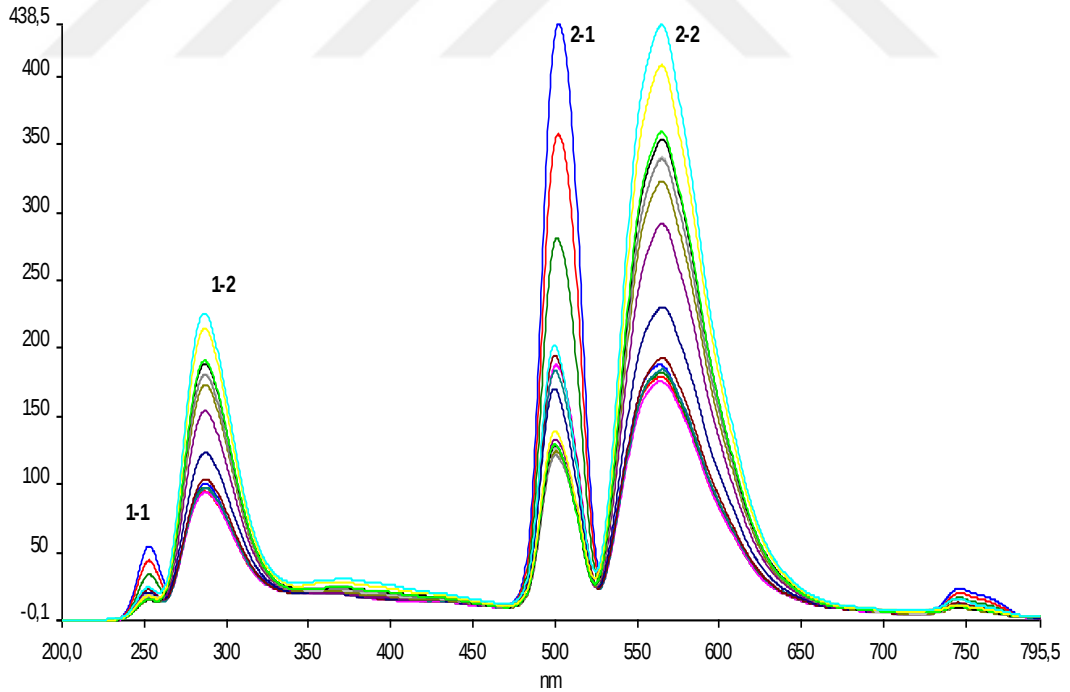
Çalışmada öncelikle, ENP ve RMP'in DMF, asetonitril (ACN), metanol (MeOH), etanol (EtOH) ve suda 10^{-3} M derişiminde stok çözeltileri hazırlanarak uyarma dalga boyu 200 nm'den başlayarak 10'ar nm aralıklarla değıştirilmek suretiyle herbir uyarma dalga boyunda çoklu emisyon spektrum taraması yapılmıştır. Kompleks oluşumunda ligandın değışen pH değeriindeki davranışı da çok önemli olduğu için, daha sonra ENP ve RMP'in her bir çözücünde pH değeri 2-9 arasında 0.5 artış ile değıştirilerek, derişimleri 10^{-3} M olacak şekilde bir seri çözeltileri hazırlanmış ve belirlenen dalga boylarında emisyon spektrumları alınmıştır. Bu spektrumlar ve veri tabloları ENP için Şekil 5.1-Şekil 5.5 ve Tablo 5.1-Tablo 5.5'de, RMP için ise Şekil 5.6-Şekil 5.10 ve Tablo 5.6-Tablo 5.10'de verilmiştir. ENP ve RMP'in bu çözücülerdeki emisyon spektrumları incelendiğinde, en yüksek floresans şiddeti değeriinin EtOH, MeOH ve ACN'de elde edildiği görülmüştür.



Şekil 5.1. Enalaprilin EtOH' de pH 2-9 değeri arasındaki emisyon spektrumları ($\lambda_{\text{ex}} = 250$ nm, $[\text{ENP}] = 10^{-3}$ M).

Çizelge 5.1. Enalaprilin EtOH' de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumlarına ait floresans şiddeti değerleri ($\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$, $[\text{ENP}] = 10^{-3} \text{ M}$).

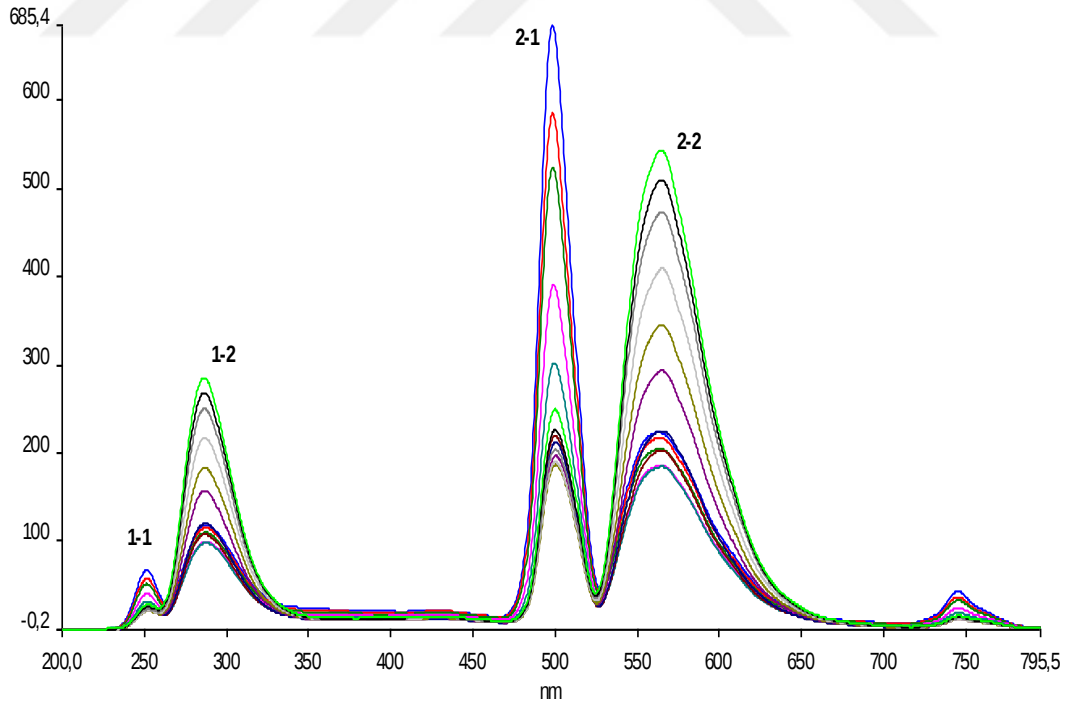
EtOH	Floresans Şiddeti (F.I.)			
	1-1	1-2	2-1	2-2
PH	$\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{em}} = 287 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{ex}} = 503 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{em}} = 566 \text{ nm}$
2		271.22		502.78
2.5	B	235.95	İ	437.72
3	İ	219.88	K	397.45
3.5	R	204.49	İ	370.20
4	İ	189.69	N	345.27
4.5	N	178.21	C	323.31
5	C	151.82	İ	272.64
5.5	İ	134.97		243.28
6		110.01	U	199.85
6.5	U	95.15	Y	171.39
7	Y	95.23	A	171.69
7.5	A	96.59	R	174.77
8	R	97.84	M	178.34
8.5	M	100.07	A	180.86
9	A	100.98		188.48



Şekil 5.2. Enalaprilin MeOH' de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumları ($\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$, $[\text{ENP}] = 10^{-3} \text{ M}$).

Çizelge 5.2. Enalaprilin MeOH' de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumlarına ait floresans şiddeti değerleri ($\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$, $[\text{ENP}] = 10^{-3} \text{ M}$).

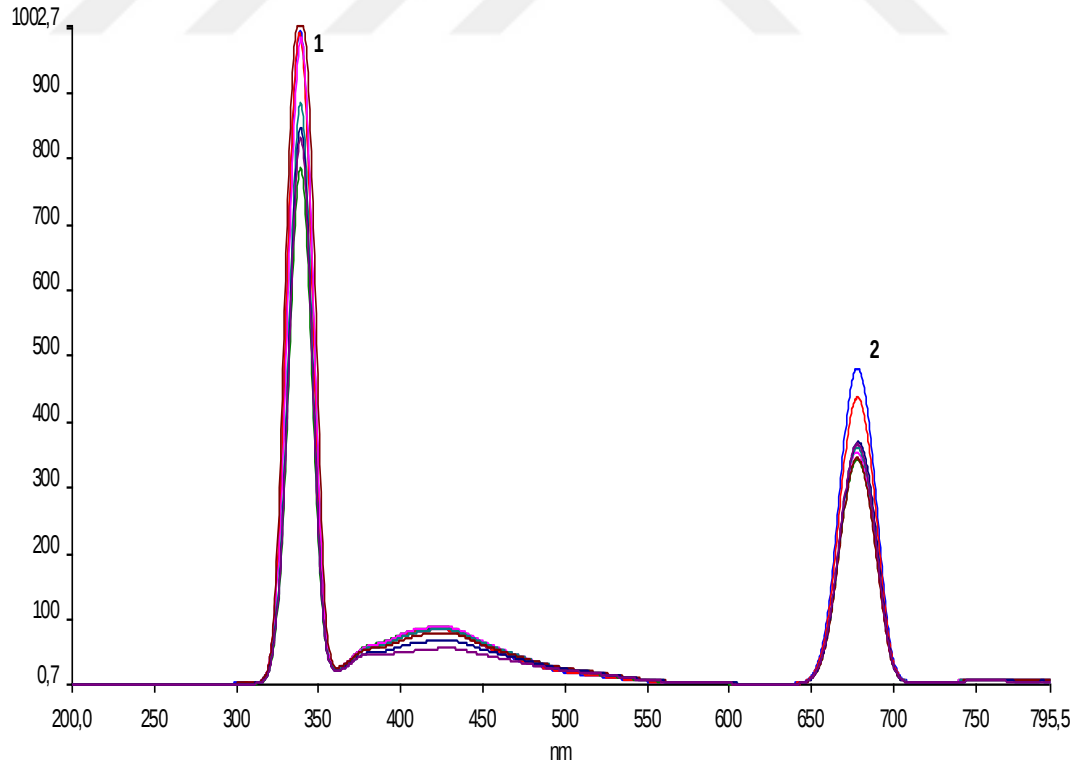
MeOH	Floresans Şiddeti (F.I.)			
	1-1	1-2	2-1	2-2
PH	$\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{em}} = 287 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{ex}} = 501 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{em}} = 565 \text{ nm}$
2		233.42		444.76
2.5	B	219.53	İ	414.24
3	İ	196.22	K	363.29
3.5	R	193.37	İ	359.06
4	İ	185.81	N	343.75
4.5	N	184.81	C	345.53
5	C	177.87	İ	329.57
5.5	İ	157.87		298.11
6		126.58	U	233.30
6.5	U	105.78	Y	195.65
7	Y	98.86	A	186.55
7.5	A	95.26	R	176.91
8	R	100.35	M	183.07
8.5	M	98.33	A	180.05
9	A	102.44		190.02



Şekil 5.3. Enalaprilin ACN' de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumları ($\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$, $[\text{ENP}] = 10^{-3} \text{ M}$).

Çizelge 5.3. Enalaprilin ACN’ de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumlarına ait floresans şiddeti değerleri ($\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$, $[\text{ENP}] = 10^{-3} \text{ M}$).

ACN	Floresans Şiddeti (F.I.)			
	1-1	1-2	2-1	2-2
PH	$\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{em}} = 287 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{ex}} = 498 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{em}} = 566 \text{ nm}$
2		293.43		552.45
2.5	B	276.99	İ	516.44
3	İ	258.02	K	480.27
3.5	R	-	İ	-
4	İ	223.87	N	416.73
4.5	N	188.86	C	352.10
5	C	163.59	İ	296.32
5.5	İ	-		-
6		110.43	U	205.35
6.5	U	100.77	Y	187.07
7	Y	101.11	A	188.78
7.5	A	113.17	R	206.26
8	R	116.96	M	220.22
8.5	M	-	A	-
9	A	120.60		225.60

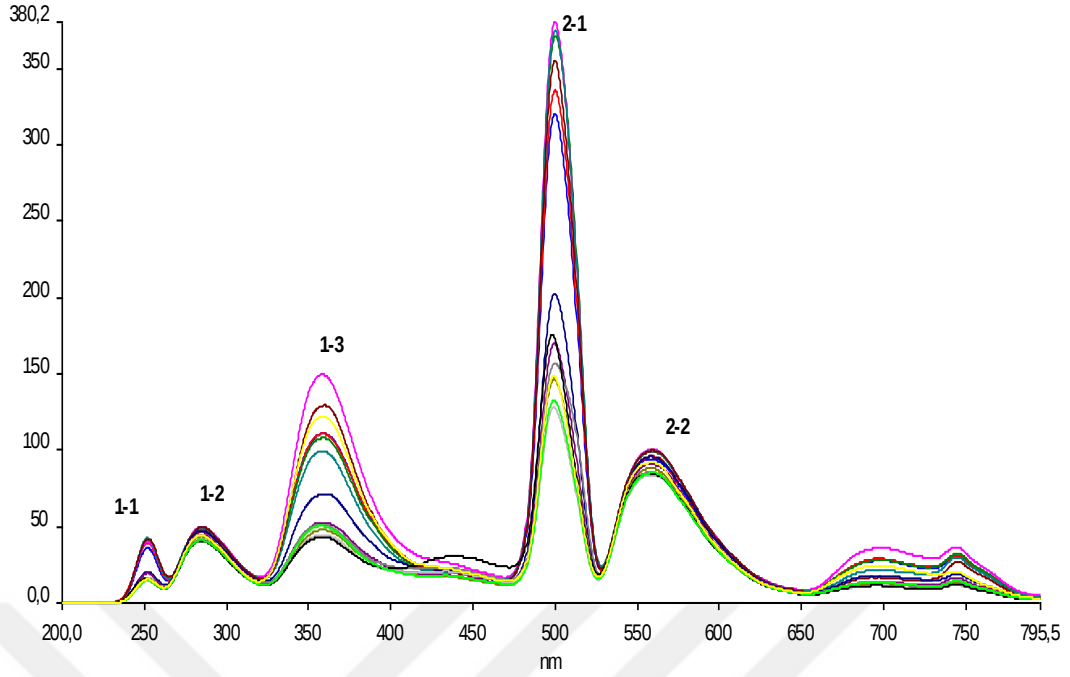


Şekil 5.4. Enalaprilin DMF’ de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumları ($\lambda_{\text{ex}} = 340 \text{ nm}$, $[\text{ENP}] = 10^{-3} \text{ M}$).

Çizelge 5.4. Enalaprilin DMF’ de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumlarına ait floresans şiddeti değerleri ($\lambda_{\text{ex}} = 340 \text{ nm}$, $[\text{ENP}] = 10^{-3} \text{ M}$).

DMF	Floresans Şiddeti (F.I.)			
	1-1	1-2	2-1	2-2
PH	$\lambda_{\text{ex}} = 340 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{em}} = 424 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{ex}} = 678 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{em}} = 760 \text{ nm}$
2		93.43		Floresans şiddeti değerleri bu dalga boyunda çok düşük olduğu için okunamamıştır.
2.5	B	-	İ	
3	İ	88.02	K	
3.5	R	-	İ	
4	İ	73.87	N	
4.5	N	-	C	
5	C	61.59	İ	
5.5	İ	-		
6		59.43	U	
6.5	U	-	Y	
7	Y	57.11	A	
7.5	A	-	R	
8	R	55.96	M	
8.5	M	-	A	
9	A	56.89		

Enalaprilin DMF’ de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumlarına ait floresans şiddeti değerleri, diğer çözücülerle karşılaştırıldığında çok daha düşük olduğu görülmüştür. Bu nedenle, ENP’in kompleks çalışmalarında çözücü olarak DMF’nin kullanımının çok uygun olmadığına karar verildi.

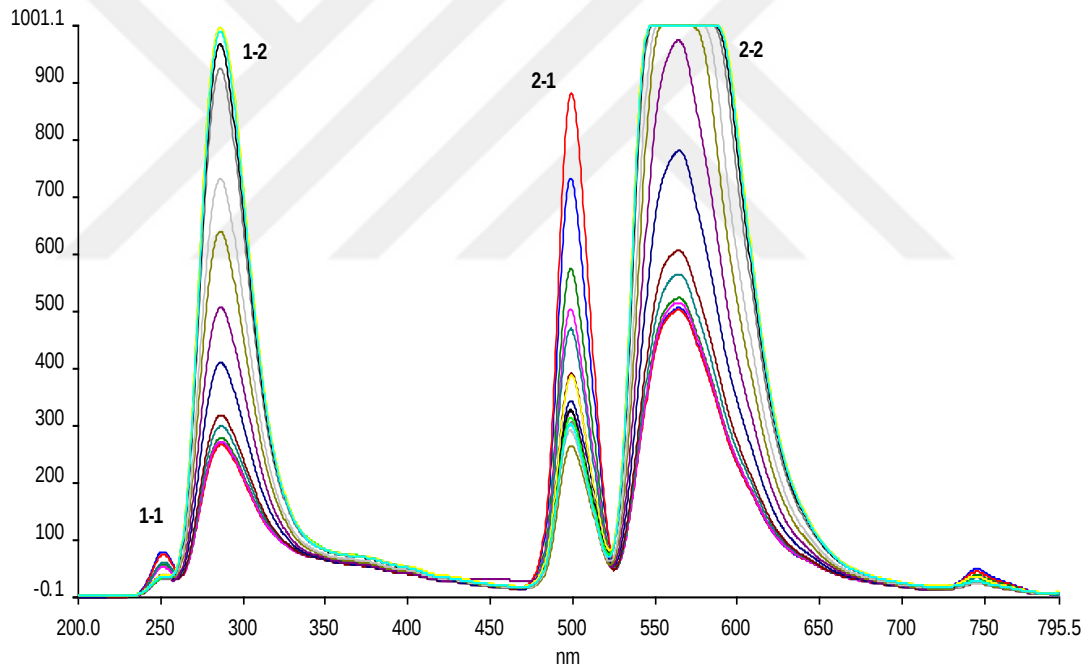


Şekil 5.5. Enalaprilin suda pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumları ($\lambda_{\text{ex}} = 250$ nm, $[\text{ENP}] = 10^{-3}$ M).

Çizelge 5.5. Enalaprilin suda pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumlarına ait floresans şiddeti değerleri ($\lambda_{\text{ex}} = 250$ nm, $\lambda_{\text{ex}} = 275$ nm (su piki), $[\text{ENP}] = 10^{-3}$ M).

SU	Floresans Şiddeti (F.I.)			
	1-1, 1-2	1-3	2-1	2-2
PH	$\lambda_{\text{ex}} = 250$ nm, 275 nm (Su piki)	$\lambda_{\text{em}} = 358$ nm	$\lambda_{\text{ex}} = 499$ nm	$\lambda_{\text{em}} = 557$ nm
2		122.77		91.84
2.5	B	50.91	İ	85.26
3	İ	43.22	K	84.25
3.5	R	52.14	İ	85.49
4	İ	44.03	N	84.48
4.5	N	-	C	-
5	C	48.67	İ	88.60
5.5	İ	53.34		91.44
6		71.22	U	96.80
6.5	U	100	Y	99.39
7	Y	129.29	A	100.25
7.5	A	149.06	R	101.39
8	R	108.15	M	99.04
8.5	M	111.01	A	95.14
9	A	111.45		93.57

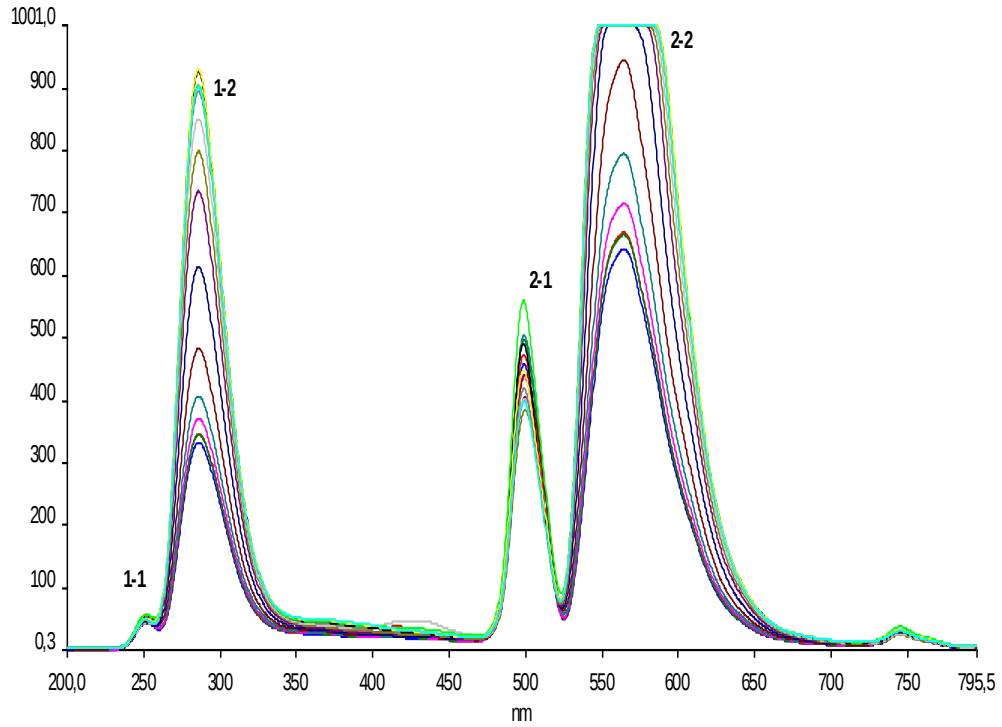
ENP'in pH 2-9 değerleri arasında bu çözücülerdeki emisyon spektrumları incelendiğinde, en yüksek floresans şiddeti değerlerinin sırasıyla EtOH, MeOH ve ACN'de elde edildiği görülmüştür. Ayrıca ENP için uyarma dalga boyları, DMF ortamında $\lambda_{ex} = 340$ nm (birinci uyarma için), ikinci uyarda floresans şiddeti değerleri çok düşük olduğu için kaydedilememiştir, EtOH, MeOH, ACN ve suda $\lambda_{ex} = 250$ nm (birinci uyarma) ve $\lambda_{ex} = 500$ nm (ikinci uyarma) olarak tespit edilmiştir. Emisyon dalga boyları ise, EtOH, MeOH ve ACN'de $\lambda_{em} = 287$ nm (birinci uyarma için) ve $\lambda_{em} = 566$ nm (ikinci uyarma için), DMF ortamında $\lambda_{em} = 424$ nm (birinci uyarma için) ve su ortamında $\lambda_{em} = 358$ nm (birinci uyarma için) ve $\lambda_{em} = 557$ nm (ikinci uyarma için) olarak belirlenmiştir.



Şekil 5.6. Ramiprilin EtOH' de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumları ($\lambda_{ex} = 250$ nm, $[RMP] = 10^{-3}$ M).

Çizelge 5.6. Ramiprilin EtOH’ de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumlarına ait floresans şiddeti değerleri ($\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$, $[\text{RMP}] = 10^{-3} \text{ M}$).

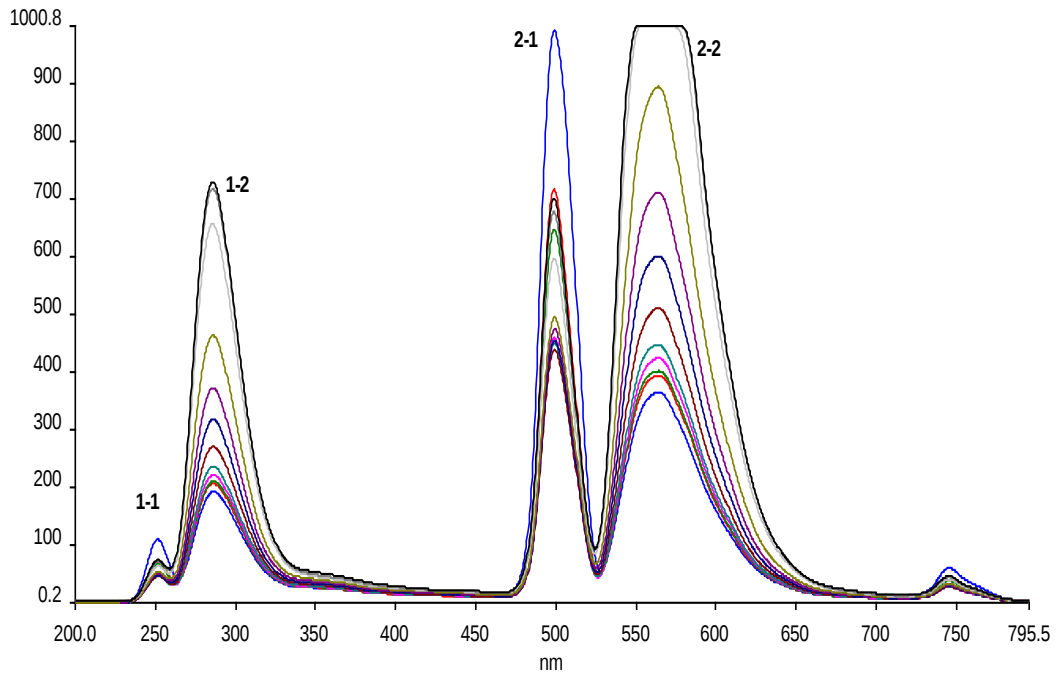
EtOH	Floresans Şiddeti (F.I.)			
	1-1	1-2	2-1	2-2
PH	$\lambda_{\text{ex}} = 251 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{em}} = 286 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{ex}} = 498 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{em}} = 565 \text{ nm}$
2		1001.05		999.99
2.5	B	1000	İ	999.99
3	İ	1000.01	K	999.99
3.5	R	993.74	İ	999.99
4	İ	951.12	N	999.99
4.5	N	753.35	C	999.99
5	C	659.81	İ	999.99
5.5	İ	517.60		990.55
6		423.79	U	790.23
6.5	U	327.45	Y	612.21
7	Y	307.56	A	572.35
7.5	A	286.15	R	521.05
8	R	280.42	M	508.95
8.5	M	273.69	A	529.28
9	A	276.60		512.94



Şekil 5.7. Ramiprilin MeOH’ de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumları ($\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$, $[\text{RMP}] = 10^{-3} \text{ M}$).

Çizelge 5.7. Ramiprilin MeOH’ de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumlarına ait floresans şiddeti değerleri ($\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$, $[\text{RMP}] = 10^{-3} \text{ M}$).

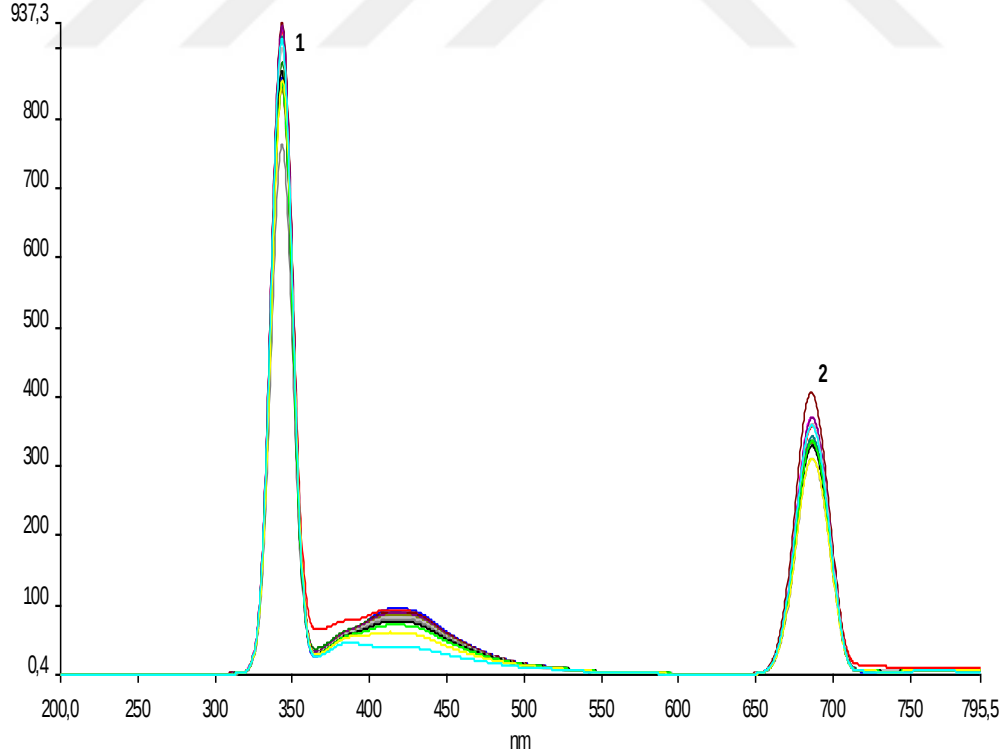
MeOH	Floresans Şiddeti (F.I.)			
	1-1	1-2	2-1	2-2
PH	$\lambda_{\text{ex}} = 252 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{em}} = 285 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{ex}} = 498 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{em}} = 566 \text{ nm}$
2		927.24		999.99
2.5	B	956.05	İ	999.99
3	İ	928.61	K	999.99
3.5	R	951.16	İ	999.99
4	İ	918.39	N	999.99
4.5	N	873.61	C	999.99
5	C	822.05	İ	999.99
5.5	İ	754.53		999.99
6		631.70	U	999.99
6.5	U	496.23	Y	956.01
7	Y	418.48	A	805.49
7.5	A	578.45	R	721.58
8	R	353.48	M	671.88
8.5	M	353.66	A	676.51
9	A	341.43		652.66



Şekil 5.8. Ramiprilin ACN’ de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumları ($\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$, $[\text{RMP}] = 10^{-3} \text{ M}$).

Çizelge 5.8. Ramiprilin ACN’ de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumlarına ait floresans şiddeti değerleri ($\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$, $[\text{RMP}] = 10^{-3} \text{ M}$).

ACN	Floresans Şiddeti (F.I.)			
	1-1	1-2	2-1	2-2
PH	$\lambda_{\text{ex}} = 251 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{em}} = 286 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{ex}} = 498 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{em}} = 565 \text{ nm}$
2		750.35		999.99
2.5	B	-	İ	-
3	İ	736.92	K	999.99
3.5	R	-	İ	-
4	İ	674.77	N	999.99
4.5	N	-	C	-
5	C	477.44	İ	904.83
5.5	İ	381.85		718.40
6		327.22	U	611.37
6.5	U	276.96	Y	517.72
7	Y	243.33	A	451.03
7.5	A	227.21	R	428.50
8	R	215.89	M	405.46
8.5	M	212.05	A	396.44
9	A	196.67		368.48

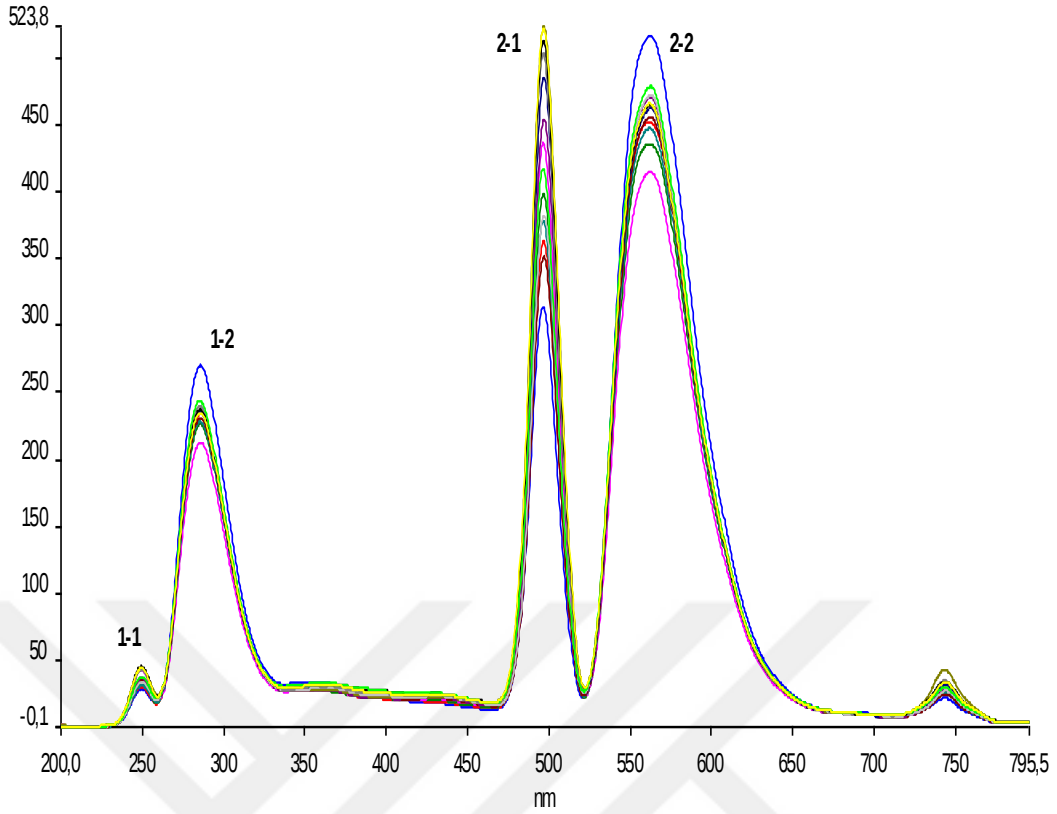


Şekil 5.9. Ramiprilin DMF’ de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumları ($\lambda_{\text{ex}} = 344 \text{ nm}$, $[\text{RMP}] = 10^{-3} \text{ M}$).

Çizelge 5.9. Ramiprilin DMF’ de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumlarına ait floresans şiddeti değerleri ($\lambda_{\text{ex}} = 346 \text{ nm}$, $[\text{ENP}] = 10^{-3} \text{ M}$).

DMF	Floresans Şiddeti (F.I.)			
	1	1-2	2	2-2
PH	$\lambda_{\text{ex}} = 346 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{em}} = 424 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{ex}} = 686 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{em}} = 760 \text{ nm}$
2		103.23		Floresans şiddeti değerleri bu dalga boyunda çok düşük olduğu için okunamamıştır.
2.5	B	-	İ	
3	İ	98.12	K	
3.5	R	-	İ	
4	İ	85.67	N	
4.5	N	-	C	
5	C	72.29	İ	
5.5	İ	-		
6		69.83	U	
6.5	U	-	Y	
7	Y	67.91	A	
7.5	A	-	R	
8	R	65.96	M	
8.5	M	-	A	
9	A	50.69		

RMP’in de DMF’de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumlarına ait floresans şiddeti değerlerinin, diğer çözücülerdeki değerlere göre çok daha düşük olduğu görülmüştür. Bu nedenle, RMP’in kompleks çalışmalarında da çözücü olarak DMF’nin kullanımının çok uygun olmadığına karar verilmiştir.



Şekil 5.10. Ramiprilin suda pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumları ($\lambda_{\text{ex}} = 249 \text{ nm}$, $[\text{RMP}] = 10^{-3} \text{ M}$).

Çizelge 5.10. Ramiprilin suda pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumlarına ait floresans şiddeti değerleri ($\lambda_{\text{ex}} = 249 \text{ nm}$, $[\text{RMP}] = 10^{-3} \text{ M}$).

SU	Floresans Şiddeti (F.I.)			
	1-1	1-2	2-1	2-2
PH	$\lambda_{\text{ex}} = 249 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{em}} = 285 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{ex}} = 497 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{em}} = 564 \text{ nm}$
2		240.84		472.81
2.5	B	250.21	İ	481.04
3	İ	242.75	K	468.56
3.5	R	248.48	İ	469.33
4	İ	246.11	N	476.18
4.5	N	243.43	C	468.54
5	C	246.35	İ	474.74
5.5	İ	241.37		466.62
6		236.47	U	459.25
6.5	U	234.07	Y	450.64
7	Y	217.62	A	419.96
7.5	A	231.97	R	437.49
8	R	-	M	-
8.5	M	240.80	A	453.09
9	A	274.88		520.93

RMP'in pH 2-9 değerleri arasında bu çözücülerdeki emisyon spektrumları incelendiğinde, en yüksek floresans şiddeti değerlerinin, ENP'dekine benzer şekilde, sırasıyla EtOH, MeOH ve ACN'de elde edildiği görülmüştür. Ayrıca RMP için uyarma dalga boyları, DMF ortamında $\lambda_{ex} = 346$ nm (birinci uyarma için), ikinci uyarmada floresans şiddeti değerleri çok düşük olduğu için kaydedilememiştir, EtOH, MeOH, ACN ve suda $\lambda_{ex} = 250$ nm (birinci uyarma) ve $\lambda_{ex} = 498$ nm (ikinci uyarma) olarak tespit edilmiştir. Emisyon dalga boyları ise, EtOH, MeOH ve ACN'de $\lambda_{em} = 286$ nm (birinci uyarma için) ve $\lambda_{em} = 565$ nm (ikinci uyarma için), DMF ortamında $\lambda_{em} = 424$ nm (birinci uyarma için) ve su ortamında $\lambda_{em} = 285$ nm (birinci uyarma için) ve $\lambda_{em} = 564$ nm (ikinci uyarma için) olarak belirlenmiştir.

Aynı işlem, belirlenen en uygun deney şartlarında ENP ve RMP'in Zn(II) kompleksi için de tekrarlanmıştır.

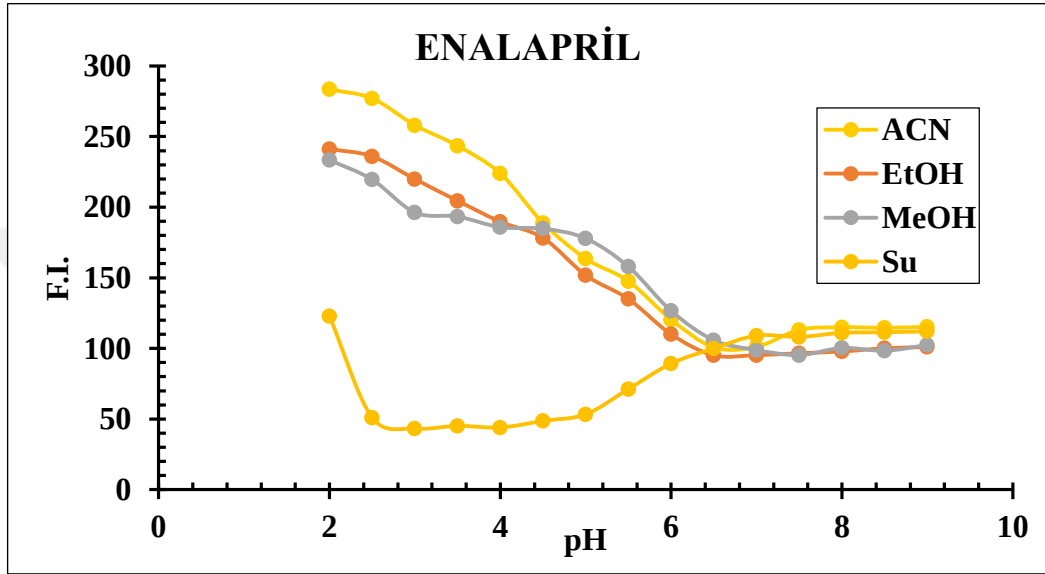
5.2. En Uygun ENP ve RMP Ligand Derişimlerinin Belirlenmesi

Çalışmada ligand olarak kullanılan ENP ve RMP'in derişimi, en uygun kompleks oluşumunu sağlamak amacıyla 10^{-5} - 10^{-3} M derişim aralığında değiştirilerek emisyon spektrumları alınmıştır. 10^{-5} M derişimde çalışıldığında her iki ligandın da floresans şiddetinin çok düşük ve 10^{-3} M derişimde ise floresans şiddetinin çok yüksek olduğu gözlenmiştir. 10^{-3} M derişimdeki ligand ile çinko kompleks oluşturduğunda floresans şiddeti arttığı için, florimetrenin dedeksiyon limitinin üzerine çıkması sebebiyle bu derişimde tayin yapılamamıştır. 10^{-5} M derişimdeki ligand ile artan derişimdeki çinko kompleks oluşturulduğunda da uygun bir kalibrasyon grafiği çizilememiş ve tayin yapılamamıştır. Bu nedenle ENP ve RMP'in Zn (II) kompleksleri için en uygun floresans şiddetinin elde edildiği derişim 10^{-4} M olarak seçilmiştir.

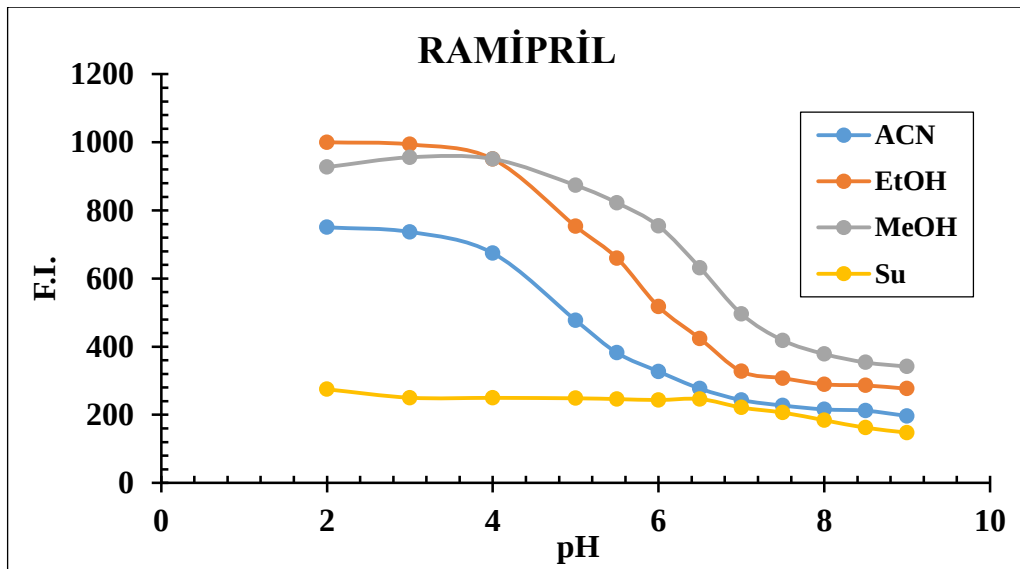
5.3. En Uygun pH Değerinin Belirlenmesi

Metal komplekslerinin oluşumunda pH değerinin büyük önem taşımasından dolayı, ENP (Şekil 5.11), RMP (Şekil 5.12) ve metal komplekslerinin (Şekil 5.13) en uygun çözücü ortamlarında en uygun pH değerini belirlemek amacıyla farklı pH değerlerinde (pH değeri 2-9 arasında 0.5 birim artışlarla) değiştirilerek florimetrik davranışları incelenmiştir. Bu amaçla, 2 ml ligant alınarak üzerine 1ml % 20'lik

amonyum asetat, 2 ml Zn (II) çözeltisi ve 10 ml çözücü ilave edilerek bir çalışma çözeltisi hazırlanmış, pH değeri uygun değere ayarlandıktan sonra çözücü ile çözelti hacmi 20 ml'ye tamamlanmıştır. Çözelti kompleks oluşumu için uygun süre bekledikten sonra, belirlenen dalga boylarında emisyon spektrumları alınmış ve floresans şiddetleri kaydedilmiştir. Herbir ilaç etken maddesi için ölçülen floresans şiddeti değerleri pH'ya karşı grafiğe geçirilmiştir.

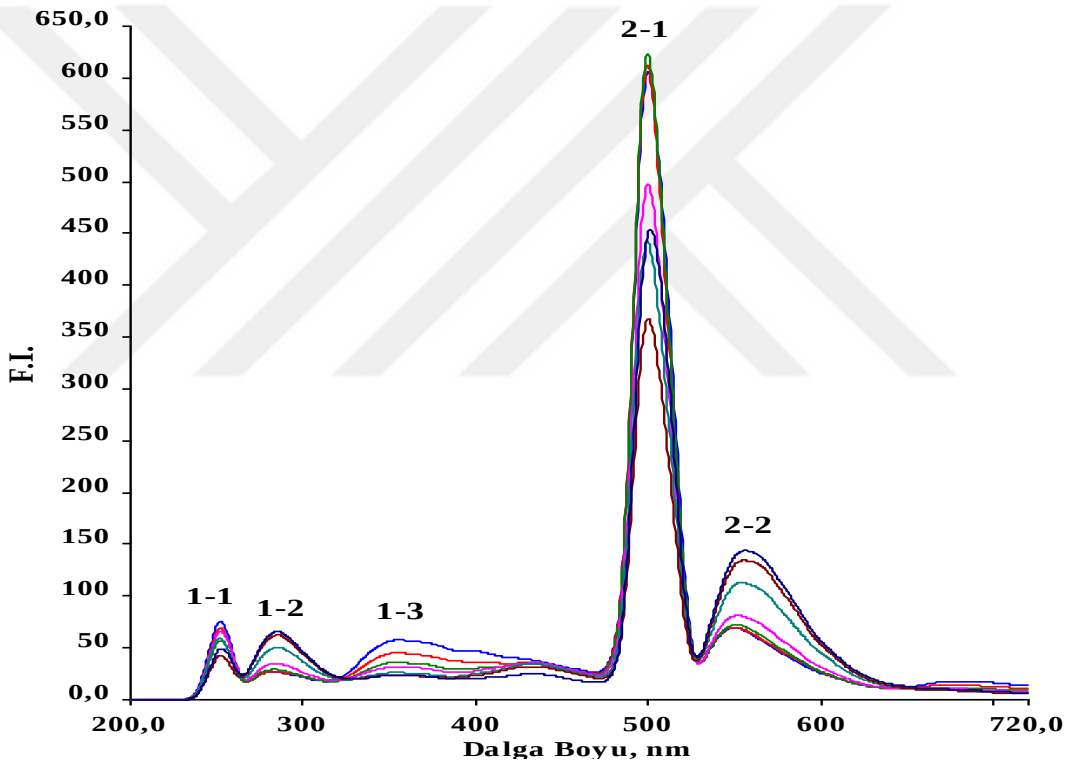


Şekil 5.11. Enalaprilin farklı çözücülerdeki pH-F.I. grafikleri, $[ENP] = 10^{-3}$ M, $\lambda_{ex}=250$ nm, $\lambda_{em}=287$ nm (ACN, EtOH ve MeOH), 358 nm (su)



Şekil 5.12. Ramiprilin farklı çözücülerdeki pH-F.I. grafikleri, $[RMP] = 10^{-3}$ M, $\lambda_{ex}=250$ nm, $\lambda_{em}=286$ nm.

Bu grafikler incelendiğinde, ENP ve RMP'in katyonik formlarının, çalışılan bütün çözücülerde anyonik formlarınkinden (ENP'nin sudaki durumu dışında) daha yüksek floresans şiddetine sahip olduğu gözlemlenmiştir.

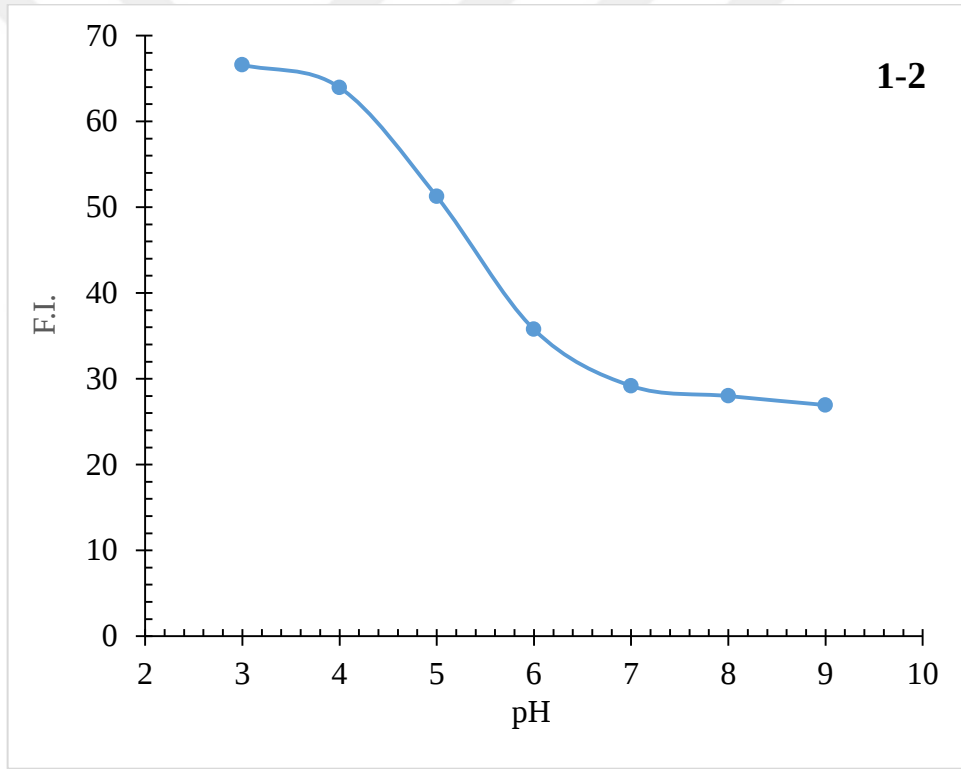


Şekil 5.13. RMP-Zn (II) kompleksinin metanol ortamında pH=2-9 aralığındaki emisyon spektrumları, ($[RMP] = 10^{-4}$ M, $[Zn^{2+}] = 10^{-4}$ M).

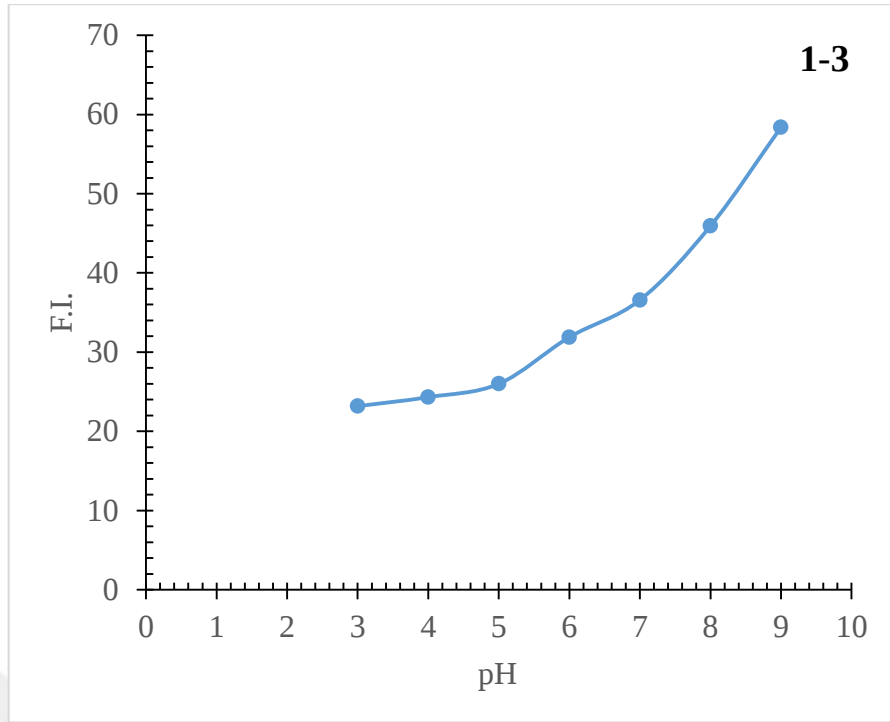
Ramiprilin Şekil 5.12'de verilen pH-F.I. grafikleri incelendiğinde, en uygun floresans şiddeti değerlerinin MeOH ortamında elde edildiği görülmüştür. Bu nedenle RMP-Zn(II) kompleksinin oluşumu için en uygun pH değerini belirlemek amacıyla MeOH ortamında çalışılmıştır.

Çizelge 5.11. RMP-Zn (II) kompleksinin MeOH' de pH 2-9 değerleri arasındaki emisyon spektrumlarına ait floresans şiddeti değerleri ($\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$, $[\text{RMP}] = 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{Zn}^{2+}] = 10^{-4} \text{ M}$).

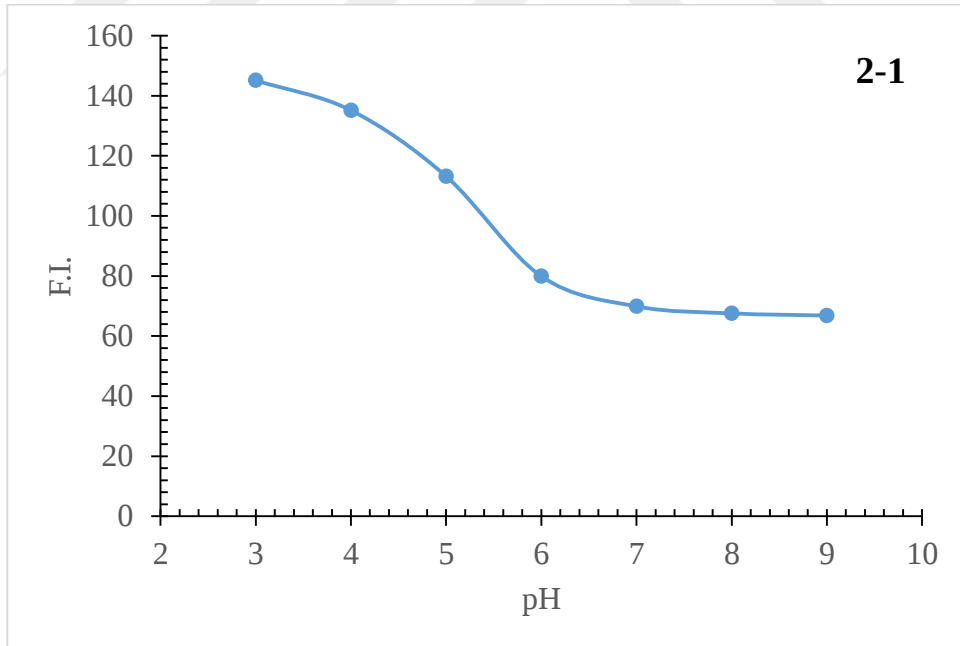
MeOH	Floresans Şiddeti (F.I.)				
	1-1	1-2	1-3	2-1	2-2
PH	$\lambda_{\text{ex}} = 252 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{em}} = 284 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{em}} = 353 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{ex}} = 499 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{em}} = 556 \text{ nm}$
3.0	1.	66.59	23.18	2.	145.11
4.0		63.95	24.32		135.14
5.0	U	51.24	26.00	U	113.19
6.0	Y	35.76	31.89	Y	79.90
7.0	A	29.17	36.58	A	69.87
8.0	R	27.99	45.92	R	67.55
9.0	M	26.94	58.38	M	66.82
	A			A	



Şekil 5.14. RMP-Zn (II) kompleksinin metanol ortamında pH=2-9 aralığındaki pH-F.I. grafiği ($\lambda_{\text{ex}} = 252 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 284 \text{ nm}$)



Şekil 5.15. RMP-Zn (II) kompleksinin metanol ortamında pH=2-9 aralığındaki pH-F.I. grafiği ($\lambda_{\text{ex}} = 252 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 353 \text{ nm}$)



Şekil 5.16. RMP-Zn (II) kompleksinin metanol ortamında pH=2-9 aralığındaki pH-F.I. grafiği ($\lambda_{\text{ex}} = 499 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 556 \text{ nm}$)

Bu grafiklerden (Şekil 5.14 ve Şekil 5.16), RMP-Zn (II) kompleksinin oluşumu için, metanol ortamında en uygun pH değeri 3.0 olarak belirlenmiştir. Şekil 5.15’ de

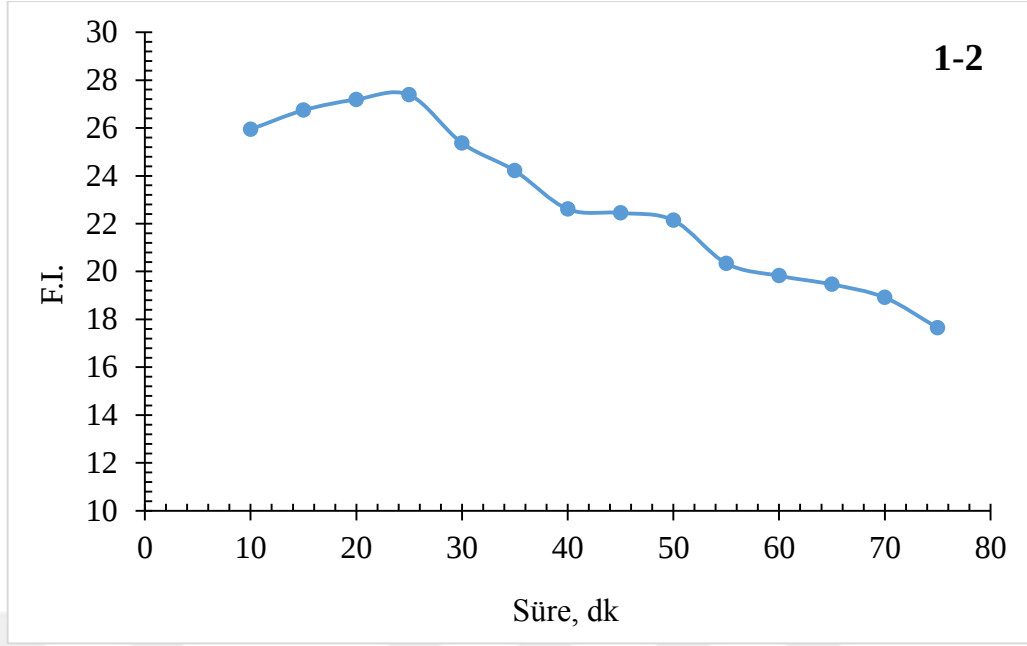
verilen grafik, RMP-Zn (II) kompleksinin oluşumu için uygun bulunmamıştır. Metanol ortamında pH=6'dan sonra çözeltide bulanıklık gözlemlenmiş ve floresans şiddetinde de hızlı bir düşüş olmuştur. Bu pH değerinden sonra $Zn(OH)_2$ 'in çökmeye başladığı düşünülmüştür. ENP-Zn (II) kompleksi için yapılan pH çalışmasında, çalışılan ortamlarda ve derişimlerde emisyon spektrumlarında çok düşük ve kararsız floresans şiddeti değerleri kaydedilmiştir. Bu nedenle bundan sonraki çalışmalara, sadece RMP-Zn (II) kompleksiyle devam edilmiştir.

5.4. En Uygun Sıcaklığın Belirlenmesi

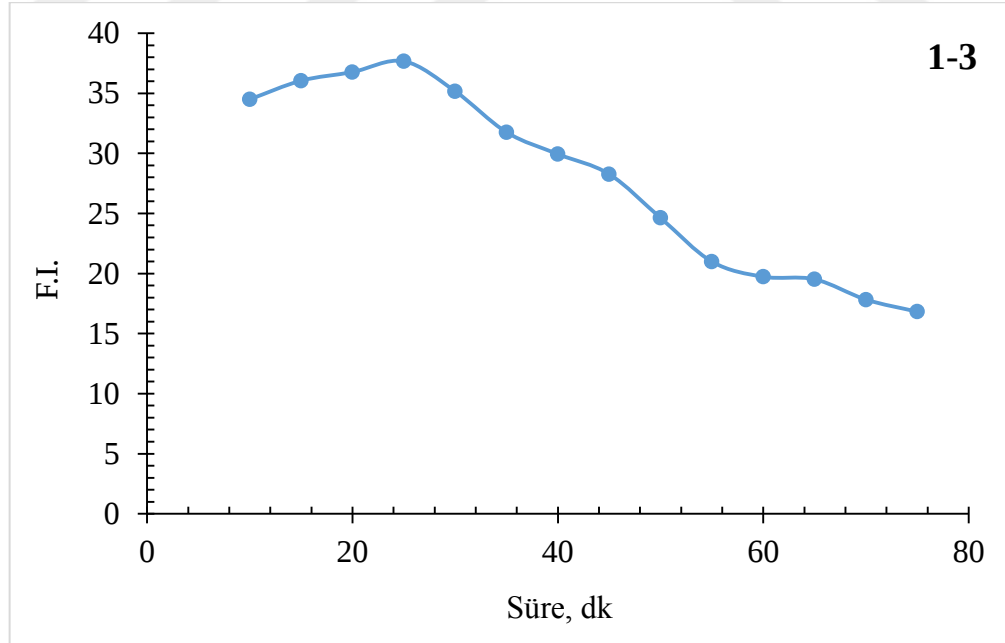
Kompleks oluşum çalışmaları için ortam sıcaklığı önemli bir parametredir. Çalışılan ADE inhibitörlerinden olan ENP ve RMP'in Zn (II) kompleksleri için ortamın sıcaklığı, daha uygun floresans şiddeti değerlerine sahip olduğu için fizyolojik sıcaklığa yakın olan 35°C olarak tercih edilmiştir

5.5. Kompleks Oluşum Süresinin Belirlenmesi

Kompleks oluşum reaksiyonlarında süre de oldukça önemlidir. Bu amaçla ENP ve RMP'in Zn (II) iyonlarıyla kompleks oluşturduğu en uygun kompleks oluşum süresi, MeOH ortamında, %20'lik amonyum asetat ile tamponlanarak pH=3.0'de RMP ve Zn(II) derişimleri 10^{-4} M olacak şekilde hazırlanan çözeltilerin, 10. dk'dan başlayarak 75. dk'ya kadar 5'er dk aralıklarla seçilen dalga boylarında floresans şiddeti ölçümleri alınmasıyla çizilen Süre, dk -F.I. grafiklerinden tespit edilmiştir (Şekil 5.17 ve Şekil 5.18).



Şekil 5.17. RMP-Zn(II) kompleksinin metanol ortamında Süre, dk - F.I. grafiği
($\lambda_{\text{ex}} = 252 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 284 \text{ nm}$) (1-2)

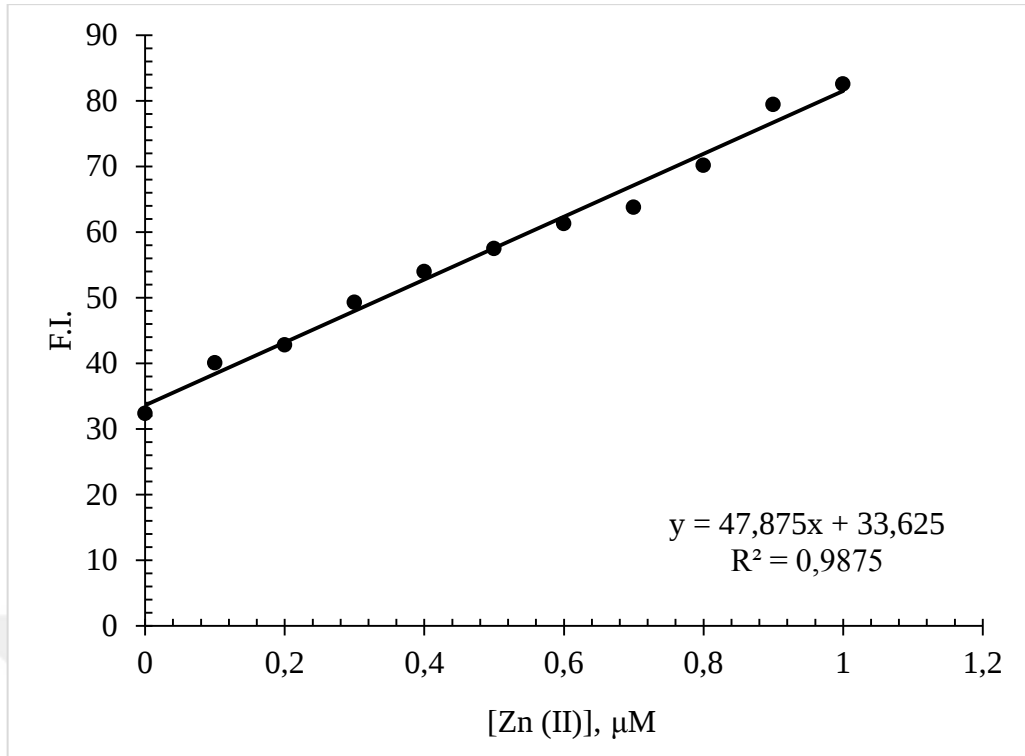


Şekil 5.18. RMP-Zn(II) kompleksinin metanol ortamında Süre, dk - F.I. grafiği
($\lambda_{\text{ex}} = 252 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 435 \text{ nm}$) (1-3)

Farklı iki uyarma ve emisyon dalga boyunda (1-2 ve 1-3) çizilen Süre, dk - F.I. grafikleri incelendiğinde, floresans şiddetinin 25. dakikaya kadar attığı ve daha sonra azalmaya başladığı gözlenmiştir. Bu nedenle RMP'in belirlenen şartlar altında Zn(II) iyonlarıyla kompleks oluşturduğu en uygun süre 25 dk olarak belirlenmiştir.

5.6. Kompleksin Floresans Şiddetine Zn(II) Derişiminin Etkisinin Belirlenmesi

Belirlenen en uygun koşullarda, 35°C ve pH 3.0'de MeOH ortamında, belirlenen uyarma ve emisyon dalga boylarında, RMP'in farklı Zn (II) derişimlerdeki etkileşimlerini incelemek amacıyla, 0.1-1.0 µM derişim aralığında kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Floresans şiddeti ile derişim arasındaki doğrusal ilişki ancak belli bir derişime kadar söz konusu olduğundan geniş bir aralıkta bir kalibrasyon eğrisinin çizilmesi mümkün olmamıştır. Belirlenen en uygun koşullarda hazırlanan çözeltilerin 252 nm uyarma dalga boyu ve 284 nm emisyon dalga boyunda floresans şiddetleri ölçülmüş, Zn(II) derişimine karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon grafiği çizilmiştir, Şekil 5.19. RMP'in de kompleks için belirlenen uyarma ve emisyon dalga boylarında az da olsa floresans şiddetine sahip olmasından ve bu floresans şiddetinin sıfırlanmasının mümkün olmamasından dolayı kalibrasyon grafikleri sıfırdan geçmemektedir. Bu kayma değeri, belirlenen deney koşullarında RMP'in floresans şiddetine eşittir.



Şekil 5.19. RMP-Zn(II) kompleksinin kalibrasyon grafiği (Deney koşulları: [RMP] = 10^{-4} M, $[Zn^{2+}] = 0,1-1,0$ µM, $dk = 25$, $pH=3,0$, MeOH ortamı, $\lambda_{uy} = 252$ nm, $\lambda_{em} = 284$ nm).

5.7. RMP-Zn(II) Kompleksi İçin Belirlenen En Uygun Koşullar

Bu çalışmada yapılan deneyler sonucunda, RMP'in Zn(II) ile kompleks oluşturduğu en uygun koşullar belirlenmiş ve Çizelge 5.12' de verilmiştir.

Çizelge 5.12. RMP-Zn(II) kompleksi için belirlenen en uygun koşullar

Uyarma dalga boyu	252 nm
Emisyon dalga boyu	284 nm
En uygun RMP konsantrasyonu	1×10^{-4} M
En uygun pH	3,0
En uygun çözücü ortamı	MeOH
Kompleks oluşum sıcaklığı	35°C
Kompleks oluşum süresi	25 dakika

5.8. Yöntem Validasyonu

5.8.1. Doğrusallık

Kalibrasyon (Regresyon) grafiği, Çizelge 5,13’de verilen aralıkta Zn(II) derişimi üzerinde floresans şiddetinin doğrusal bir bağıntısının olduğunu göstermiştir. RMP-Zn(II) kompleksine ait verilerin doğrusal regresyon analizi aşağıdaki eşitlikle verilmiştir:

$$F = 47,87 [Zn^{2+}] + 33,62, R^2 = 0,9875$$

Doğrusallık, en uygun şartlar altında, RMP-Zn(II) kompleksi için 0.1-1.0 μ M olarak belirlenmiştir.

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

RMP-Zn(II) kompleksi için geliştirilen yöntemin gözlenebilme sınırı (LOD) 0.04 μ M ve alt tayin sınırı (LOQ) 0.13 μ M olarak bulunmuştur. Sonuçlar Çizelge 5.13’de verilmiştir.

Çizelge 5.13. RMP ile Zn(II) etkileşiminin incelendiği florimetrik yöntemin istatistik parametreleri

Parametreler	RMP-Zn(II) Kompleksi
Doğrusal aralık (μ M)	0.1-1.0
LOD (μ M)	0.04
LOQ (μ M)	0.13
Eğim (b)	47.87
Kayma (a)	33.62
Korelasyon katsayısı (R^2)	0.9875

5.8.3. Doğruluk ve Kesinlik

RMP-Zn(II) kompleksi için geliştirilen yöntemin doğruluk ve kesinliği, numunelerin üç tekrarlı (n=3) analiziyle tayin edilmiştir. Bağlı ortalama hata olarak ifade edilen yöntemin doğruluğu, RMP-Zn(II) kompleksi için % 1.96-10.53 aralığındadır. Düşük değerlerdeki yüzde bağlı standart hata, RMP ile Zn(II) iyonu arasındaki etkileşimin tayini için geliştirilen yöntemin iyi bir kesinliğinin ve tekrar yapılabilirliğinin olduğunu göstermektedir. Bu istatistik parametreler Çizelge 5.14’de verilmiştir.

Çizelge 5.14. Florimetrik yöntemle RMP ve Zn(II) iyonu arasındaki etkileşimin tayini için geri kazanım çalışması.

RMP-Zn(II) Kompleksi için			
Eklenen Zn(II) iyonu (μM)	Bulunan Fe(III) iyonu (μM) $\pm$ SD ^a	Geri Kazanım (%)	RSD (%)
0.20	019 $\pm$ 0.02	95	10.53
0.40	0.42 $\pm$ 0.03	105	7.14
0.60	0.58 $\pm$ 0.04	97	6.89
0.80	0.77 $\pm$ 0.05	96	6.49
1.00	1.02 $\pm$ 0.06	102	1.96

^a Üç tayinin ortalaması ve standart sapması.

5.9. RMP’in Çinko İçerikli Tabletlerle Kompleks Oluşturması

RMP’in Zn(II) çözeltisiyle etkileşimi ve bağlanabilirliği bir florimetrik yöntem geliştirilerek deneysel olarak incelenmiştir. Bu yöntemle, RMP’in çinko ihtive eden ilaçlarla reaksiyona girerek aynı kompleksi oluşturup oluşturamayacağı tayin edilmeye çalışılmıştır. Bu amaçla, Zn(II) numune çözeltisini hazırlamak için öncelikle 250 mL’lik bir balon joje içerisine, Zn(II) içeren bir ilaç olan Redoxon’dan 2 adet suda eriyen tablet alınıp kırılmış ve ultra saf su ile çözeltisi oluşturulmuştur. Oluşan bu çözeltiden 50mL’lik beher içerisine belirli miktarda alınmış ve HCl ile pH 2 olacak şekilde

ayarlanmıştır. 35°C olan hücre içerisine 2ml 10^{-3} M RMP, 1ml %20'lik amonyum asetat çözeltisi, 5ml Redoxon numune çözeltisi ilave edilmiş ve 1M HCl ile pH 3 olacak şekilde ayarlanmıştır. Daha sonra MeOH ile hacim 20 mL'ye tamamlanmış ve çözelti kompleks oluşumu için 25 dk beklenmiştir. Hücre içerisinden alınan numune belirlenen en uygun dalga boylarında floresans şiddeti değerleri kaydedilmiş ve çalışma grafiğinden Redoxon içeriğindeki Zn(II) derişim değeri belirlenmeye çalışılmış, ancak olumlu sonuç elde edilememiştir. Redoxon içeriğindeki Zn (II) derişim değerini, geliştirilen RMP ile kompleks oluşumuna dayalı florimetrik yöntemle belirleyebilmek için standart ekleme yöntemi de denenmiş, ancak başarılı olunmamıştır.



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

Bu tez çalışmasında, pekçok metabolik reaksiyonda önemli rol oynayan ve vücutta az miktarlarda bulunan mikro element çinko mineraliyle ADE inhibitörleri ENP ve RMP'in çeşitli çözücü ortamlarında kompleks oluşturabilme özellikleri spektrofotometrik yöntem ile incelenmiştir. RMP ile Zn(II) iyonları özellikle MeOH ortamında belirlenen en uygun deney koşullarında etkileşime girerek kompleks oluştururken, ENP ile iyi ve uygun sonuçlar alınamamıştır. RMP'in Zn(II) iyonlarıyla oluşturduğu komplekse dayalı florimetrik yöntem, çinko içeren bir ilaca (Redoxon) uygulanmış, ancak uygun ve başarılı sonuçlar elde edilememiştir. Bu durumda, hem fizyolojik bir çözücü ortamı olan suda RMP-Zn(II) kompleksinin oluşturulamamış olması, hem de Redoxon içeriğindeki çinko miktarının geliştirilen florimetrik yöntemle tayin edilememiş olması sebebiyle ilaç olarak birlikte alınmasının herhangi bir zararının olmadığı sonucuna varılmıştır.

6.2. Öneriler

İlaç etken maddelerinin eser miktarlardaki metallerin tayinleri için kullanılabilecek iyi ligandlar olduğu ve bu tez çalışmasının bu alanda yapılacak çalışmalara güzel bir örnek olacağı söylenebilir. Ayrıca, bu çalışmayla, antihipertansif ilaçlar ile çinko içerikli ilaçların birbirleriyle etkileşime girmedikleri için aynı anda alınmasının bir sakıncasının olmadığı gösterilmiştir.

KAYNAKLAR

- Abdellatef, H. E., Ayad, M. M. ve Taha, E. A., 1999, Spectrophotometric and atomic absorption spectrometric determination of ramipril and perindopril through ternary complex formation with eosin and Cu (II), *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 18 (6), 1021-1027.
- Brown, N. J. ve Vaughan, D. E., 1998, Angiotensin-converting enzyme inhibitors, *Circulation*, 97 (14), 1411-1420.
- DEMİR, T. (1994). Bir ADEİ olan enalaprilin solunum fonksiyon testleri ve bronş hiperaktivitesi üzerine etkileri. Doktora Tezi, *İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi*, İstanbul.
- de Souza, M. C., Franco, C. H., Pinheiro, C. B. ve Diniz, R., 2014, Conformational polymorphism of a zinc complex with enalapril antihypertensive drug, *Polyhedron*, 81, 290-297.
- Dzau, V. ve Re, R., 1994, Tissue angiotensin system in cardiovascular medicine. A paradigm shift?, *Circulation*, 89 (1), 493-498.
- Gümüştas, M., (2009), Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü ve kalsiyum kanal blokörü kombinasyonu ilaçların yüksek performanslı sıvı kromatografi yöntemi ile aynı anda analizi, Yüksek Lisans, *Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi* Ankara.
- Gündüz, B., 1995, Fotoluminesans ve analitik uygulama alanları, *Doktora Semineri, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara*.
- Gündüz, T., 2002a, Instrümental Analiz, *Ankara, Gazi Büro Kitabevi*, p.
- Gündüz, T., 2002b, Instrümental analiz, *Gazi Büro Kitabevi*, p.
- Hutchison, T., Shahan, D. ve Anderson, M., 2003, DRUGDEX system, *Englewood, CO*.
- İlerigelen, B., 2005, Hipertansiyon tedavisi, *Klinik Gelişim*, 18 (2), 33-41.
- Jana, S. ve Chattopadhyay, S., 2014, Design and construction of copper (I) complexes based on flexi-dentate cyclic N2-donor Schiff bases via in situ reduction of copper (II) precursors, *Polyhedron*, 81, 298-307.
- Kayaalp, S. O., 2005, Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, Hacettepe Taş Kitapçılık Limited Şti., p.
- Kepez, A. ve Kabakçı, G., 2004, Kalp yetersizliği tedavisi, *Acta Medica*, 35 (2), 69-81.
- Oliveira, W. X., da Costa, M. M., Fontes, A. P., Pinheiro, C. B., de Paula, F. C., Jaimes, E. H., Pedroso, E. F., de Souza, P. P., Pereira-Maia, E. C. ve Pereira, C. L., 2014, Palladium (II) and platinum (II) oxamate complexes as potential anticancer agents: Structural characterization and cytotoxic activity, *Polyhedron*, 76, 16-21.
- Opie, L. H., 1994, Angiotensin-converting enzyme inhibitors: scientific basis for clinical use, Wiley-Liss, p.
- Refat, M. S., Al-Azab, F. M., Al-Maydama, H. M., Amin, R. R. ve Jamil, Y. M., 2014a, Preparation, spectroscopic and thermal characterization of new La (III), Ce (III), Sm (III) and Y (III) complexes of enalapril maleate drug. In vitro antimicrobial assessment studies, *Journal of Molecular Structure*, 1059, 208-224.
- Refat, M. S., Al-Maydama, H. M., Al-Azab, F. M., Amin, R. R. ve Jamil, Y. M., 2014b, Synthesis, thermal and spectroscopic behaviors of metal–drug complexes: La (III), Ce (III), Sm (III) and Y (III) amoxicillin trihydrate antibiotic drug complexes, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 128, 427-446.

- Sağlam, K., Yılmaz, M., Sönmez, A., Baykal, Y. ve Koçar, D., 2003, Primer hipertansiyon, *Gata Basımevi. İstanbul*.
- Sesoko, S. ve Kaneko, Y., 1985, Cough associated with the use of captopril, *Archives of internal medicine*, 145 (8), 1524-1524.
- Skoog, D. A., Holler, F. J. ve Nieman, T., 1998, Principles of instrumental analysis. 5th, *Thomson Learning, USA*, p849.
- Sweetman, S., 2007, The complete drug reference (Martindale), The Pharmaceutical Press, London.
- van Veldhuisen, D. J., Genth-Zotz, S., Brouwer, J., Boomsma, F., Netzer, T., Man, A. J., Pinto, Y. M., Lie, K. ve Crijns, H. J., 1998, High-versus low-dose ACE inhibition in chronic heart failure: a double-blind, placebo-controlled study of imidapril, *Journal of the American College of Cardiology*, 32 (7), 1811-1818.
- Vidt, D. G., Bravo, E. L. ve Fouad, F. M., 1982, Captopril, *New England Journal of Medicine*, 306 (4), 214-219.



KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : GÖKHAN BAŞ
Uyruğu : TÜRKİYE
Doğum Yeri ve Tarihi : BURDUR 26.05.1991
Telefon : 05548134409
Faks : --
e-mail : gkhanbas@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Anadolu Teknik Lise, Merkez, BURDUR	2009
Üniversite	: Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü Selçuklu, KONYA	2014
Yüksek Lisans :		
Doktora :		

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
(11.2014-07.2015)	Uber Kozmetik Kimya A.Ş.	Üretim Sorumlusu
(08.2016-Halen)	Konkap Galvaniz Metal İşleme İnş. Taah. San. Tic. A.Ş.	Üretim Geliştirme Sorumlusu

UZMANLIK ALANI

Anjiyotensin dönüştürücü enzimlerin bazı metaller ile oluşturduğu komplekslerin spektrometre ile tayini

YABANCI DİLLER

İngilizce

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

Bilimsel çalışmalar dışında vaktimi doğada geçirmeyi severim. Spor yapmak ve ney üflemekten zevk alırım.

BİLDİRİLER

S. B. Gündüz, G. Baş, "The solvent and pH effect on the fluorescence properties of the some ACE inhibitor compounds", 4th International Türk-Pak Conference Chemical Sciences (ITPCCS 2017) Kongresi, 26-28 Ekim 2017, PP093, Konya, Türkiye.