

**KONDANSE 1,4-DİHİDROPİRİDİN TÜREVLERİNİN
ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİNİN ELEKTROKİMYASAL
YÖNTEMLE İNCELENMESİ**

**INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT CAPACITIES OF
CONDENSED 1,4-DIHYDROPYRIDINE DERIVATIVES BY
ELECTROCHEMICAL METHOD**

FUNDA ÇORBACIOĞLU

**Prof. Dr. SERDAR ABACI
Tez Danışmanı**

Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
Kimya Anabilim Dalı için Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

2013

FUNDA ÇORBACIOĞLU'nun hazırladığı “Kondanse 1,4-Dihidropiridin Türevlerinin Antioksidan Kapasitelerinin Elektrokimyasal Yöntemle İncelenmesi” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından KİMYA ANABİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan

(Prof. Dr. F. Sema Bektaş)

Üye (Danışman)

(Prof. Dr. Serdar Abacı)

Üye

(Prof. Dr. Kadir Pekmez)

Üye

(Doç. Dr. Cengiz Kavaklı)

Üye

(Doç. Dr. Uğur Tamer)

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fatma SEVİN DÜZ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

... / ... / 2013

Funda ÇORBACIOĞLU

ÖZET

KONDANSE 1,4-DİHİRDOPİRİDİN TÜREVLERİNİN ANTIOKSİDAN KAPASİTELERİNİN ELEKTROKİMYASAL YÖNTEMLE İNCELENMESİ

FUNDA ÇORBACIOĞLU

Yüksek Lisans, Kimya Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. SERDAR ABACI

Haziran 2013, 92 Sayfa

Serbest radikaller ile kanser, diyabet, hipertansiyon, alzheimer, parkinson gibi pek çok hastalık ve yaşlanma arasındaki ilişki yapılan çalışmalarla her gün biraz daha ortaya çıkmaktadır. Serbest radikallerin organizmada neden olduğu oksidatif hasar enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar tarafından önlenir. Ancak α -lipoik asit, melatonin, glutatyon gibi endojen antioksidanlar artan serbest radikal miktarı karşısında yetersiz kalmaktadır. İşte bu durum hem yüksek aktivite hem de düşük toksisite ve yan etkiye sahip yeni antioksidan türlerinin sentezini gerekli kılmaktadır. Geniş literatür kaynaklarına göre diyetle alınan antioksidanlar, serbest radikallere karşı korunmada yararlıdır ve insanlarda pek çok hastalığın önlenmesinde önemli rol oynarlar.

1,4-Dihidropiridin türevleri biyolojik aktivitelerinden dolayı ilaç aktif maddesi olarak kullanılmaktadırlar. En önemli kalsiyum kanal blokerleri olarak bilinirler ve antioksidan özellikleri de araştırılmaktadır.

Bu tez çalışması kapsamında, ilk defa sentezlenen dört farklı kondanse 1,4-dihidropiridin türevinin antioksidan kapasiteleri dönüşümlü voltametri tekniğiyle anodik pik akım değerlerinden belirlenmiştir ve voltamogramlar incelendiğinde kondanse 1,4-dihidropiridin türevlerinin antioksidan etkiye sahip oldukları görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan Kapasite, Kondanse 1,4-Dihidropiridin Türevleri, Serbest Radikal, Dönüşümlü Voltametri, Kalem Ucu Karbon Elektrot

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT CAPACITIES OF CONDENSED 1, 4 – DIHYDROPYRIDINE DERIVATIVES BY ELECTROCHEMICAL METHOD

FUNDA ÇORBACIOĞLU

Master of Science, Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. SERDAR ABACI

June 2013, 92 pages

The relationship between free radicals and diseases like cancer, diabetes, hypertension, alzheimer, parkinson and aging emerges more and more day by day with recent studies. Oxidative damage caused by free radicals in the system is prevented by enzymatic and non-enzymatic antioxidants. But, endogenic antioxidants such as α -lipoic acid, melatonin and glutathione are insufficient against increasing amount of free radicals. This situation requires synthesis of antioxidants with high activity, low toxicity and side effect. According to a large literature sources, dietary antioxidants are useful for protecting against free radicals and play an important role in the prevention of many diseases in humans.

1,4-dihydropyridine derivatives are used as active pharmaceutical ingredient due to their biological activities. They are known as the most important calcium channel blockers and their antioxidant properties are being researched.

In this work, antioxidant capacities of four different condensed 1,4-dihydropyridine derivatives, which were synthesized for the first time, were determined by cyclic voltammetry from anodic peak values and when the voltammograms were analyzed, it was seen that 1,4-dihydropyridine derivatives had an antioxidant effect.

Keywords: Antioxidant Capacity, Condensed 1,4-Dihydropyridine Derivatives, Free Radical, Cyclic Voltammetry, Pen-Point Carbon Electrode

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım süresince bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşıp desteğini esirgemeyen danışmanım ve değerli hocam **Prof. Dr. Serdar Abacı**'ya,

Tez çalışmalarım sırasında, aradaki uzak mesafelere rağmen, manevi varlığıyla bana her zaman yardımcı olan **Doç. Dr. Filiz Kuralay**'a,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum Yüzey Elektrokimyası Araştırma Grubu üyeleri **Gülçin Bolat** ve **Özge Sürücü**'ye,

Tez çalışmalarımın katkılarında dolayı **Yrd. Doç. Dr. Barış Temelli**'ye

Sevgi ve desteklerini benden esirgemeyen çok sevdiğim **arkadaşlarıma**,

Ayrıca tüm hayatım boyunca bana inanan ve her zaman yanımda olan canımdan çok sevdiğim **aileme** sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KABUL VE ONAY SAYFASI.....	i
ETİK	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xvi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xvii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Serbest Radikaller	2
2.1.1. Reaktif Oksijen Türleri	3
2.1.2. Serbest Radikal Kaynakları	4
2.1.3. Serbest Radikallerin Etkileri.....	5
2.2. Antioksidan Savunma Sistemleri	6
2.2.1. Antioksidanların Sınıflandırılması	7
2.2.1.1. Endojen Antioksidanlar	7
2.2.1.2. Eksojen Antioksidanlar	9
2.2.2. Antioksidan Tayin Yöntemleri	10
2.2.2.1. Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasite Yöntemi.....	10
2.2.2.2. Troloks Eşdeğeri Toplam Antioksidan Kapasite Yöntemi	10
2.2.2.3. Demir (III) İyonu İndirgeme Antioksidan Güç Yöntemi.....	11
2.2.2.4. Folin Ciocalteu Yöntemi.....	11

2.2.2.5. Toplam Radikal Tutma Parametresi Yöntemi	12
2.2.2.6. Luminol Yöntemi.....	12
2.2.2.7. Diklorofloresin-diasetat Yöntemi	12
2.2.2.8. Fikoeritrin Esaslı Yöntemler	13
2.2.2.9. Krosin Yöntemi	13
2.2.2.10. 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil Radikal Süpürme Kapasitesi Yöntemi	13
2.2.2.11. Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi Yöntemi	14
2.2.2.12. Toplam Oksiradikal Süpürme Kapasitesi Yöntemi.....	14
2.2.2.13. Dönüşümlü Voltametri Yöntemi	14
2.3. Voltametri	16
2.3.1. Voltametrik Hücrenin Bileşenleri.....	18
2.3.1.1. Voltametrik Kap	19
2.3.1.2. Destek Elektrolit.....	19
2.3.1.3. Çalışma Elektrotu	19
2.3.1.4. Referans Elektrot	20
2.3.1.5. Karşıt Elektrot	21
2.3.2. Voltametrik Analizi Etkileyen Parametreler	22
2.3.2.1. Destek Elektrolit-Çözücü Seçimi.....	22
2.3.2.2. pH Ayarı.....	22
2.3.2.3. Sıcaklık Kontrolü.....	22
2.3.2.4. Oksijenin Uzaklaştırılması	22
2.3.2.5. Polarografik Maksimumların Giderilmesi	23
2.3.2.6. Elektrotlara Yapılan Ön İşlemler	23
2.3.3. Voltametride Akım Çeşitleri ve Elektron Aktarımı	23
2.3.4. Voltametrik Yöntemler	25
2.3.4.1. Diferansiyel Puls Voltametrisi	26

2.3.4.2. Kare Dalga Voltametrisi	26
2.3.4.3. Dönüşümlü Voltametri	27
2.3.4.3.1. Tersinir Tepkimelerin Dönüşümlü Voltamogramı	30
2.3.4.3.2. Tersinmez Tepkimelerin Dönüşümlü Voltamogramı	32
2.3.4.3.3. Yarı-Tersinir Tepkimelerin Dönüşümlü Voltamogramı	34
2.3.4.3.5. Dönüşümlü Voltametriyle Tepkime Mekanizmasının Belirlenmesi	34
2.4. Kondanse 1,4-Dihidropiridin Türevleri	37
3. MATERYAL VE METOT	40
3.1. Kullanılan Materyaller	40
3.1.1. Elektrokimyasal Davranışı İncelenen Madde ve Sentezi	40
3.1.2. Kimyasal Malzemeler ve Çözeltilerin Hazırlanması	42
3.1.3. Cihazlar	42
3.2. Metot	42
4. DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA	44
4.1. Elektrot Seçimi ve Elektrotlara Uygulanan Ön İşlemler	44
4.2. Kalem Ucu C Elektrotun 0.1 M TBAP/CH ₂ Cl ₂ Çözeltisindeki Voltametik Davranışı	46
4.3. Kalem Ucu C Elektrotun 1,4-Dihidropiridin Türevi İçeren Çözeltilerdeki Voltametik Davranışı	46
4.4. Tarama Hızı Çalışması	48
4.5. Derişim Çalışması	54
4.6. Kondanse 1,4-Dihidropiridin Türevlerinin Antioksidan Kapasitelerinin Kıyaslanması	58
5. SONUÇ	62

6. KAYNAKLAR.....	63
ÖZGEÇMİŞ	73

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Serbestleşen oksijen moleküllerinin oluşturduğu radikaller.....	4
Şekil 2.2. Serbest radikal kaynakları ve yaptığı DNA hasarı.....	5
Şekil 2.3. Serbest radikallerin yol açtığı hücre hasarı.....	6
Şekil 2.4. Elektrokimyasal hücre ve giriş-çıkışlar.....	18
Şekil 2.5. Altın çalışma elektrotu	19
Şekil 2.6. a) Doygun kalomel elektrot, b) Ag/AgCl referans elektrot.....	21
Şekil 2.7. Platin karşıt elektrot	21
Şekil 2.8. Elektrokimyasal çalışmalarda pik şeklini ve pik akımını etkileyen parametreler	24
Şekil 2.9. Voltametri de en çok kullanılan uyarma sinyalleri	25
Şekil 2.10. Kare-dalga voltametri tarama programı ve voltamogramı	27
Şekil 2.11. Dönüşümlü voltametri de potansiyel taramasının zamanla değişim, tersinir bir elektrot olayı için akım-potansiyel eğrisi.....	28
Şekil 2.12. Tersinir bir elektrot tepkimesinin dönüşümlü voltamogramı	31
Şekil 2.13. a) Dönüşümlü voltametri çalışmalarında tersinir ve yarı tersinir mekanizmalara ait voltamogramlar, b) Tarama hızı ile mekanizma arasındaki bağlantı	33
Şekil 2.14. Piridinin yapısı	37
Şekil 2.15. 1,4-Dihidropiridinlerin konformasyonu	38
Şekil 2.16. Hantzsch sentezi ile 1,4-dihidropiridin sentezi	39
Şekil 2.17. 1,4-Dihidropiridin türevi.....	39
Şekil 3.1. 1,4-Dihidropiridin türevlerini Hantzsch yöntemiyle sentezi.....	40
Şekil 3.2. 1,4-Dihidropiridin türevi (R=2,4diCl).....	41
Şekil 3.3. 1,4-Dihidropiridin türevi (R=2,5diCl).....	41
Şekil 3.4. 1,4-Dihidropiridin türevi (R=3Cl)	41

Şekil 3.5. 1,4-Dihidropiridin türevi (R=2Cl,5CF ₃).....	41
Şekil 3.6. CH Instruments CHI660C model potansiyostat	42
Şekil 4.1. Au elektrotun, -1.8 V ile +1.8 V potansiyel aralığında, DKE'ye karşı 200 mV tarama hızında, doymuş kalomel elektrota karşı ölçülen, boş çözeltideki ve 0.2 mg/ml antioksidan çözeltisindeki voltametrik davranışı ..	44
Şekil 4.2. Pt elektrotun, -1.8 V ile +1.8 V potansiyel aralığında, DKE'ye karşı 200 mV tarama hızında, doymuş kalomel elektrota karşı ölçülen, boş çözeltideki ve 0.2 mg/ml antioksidan çözeltisindeki voltametrik davranışı ..	44
Şekil 4.3. Kalem ucu C elektrotun, -1.8 V ile +1.8 V potansiyel aralığında, DKE'ye karşı 200 mV tarama hızında, doymuş kalomel elektrota karşı ölçülen, boş çözeltideki ve 0.2 mg/ml antioksidan çözeltisindeki voltametrik davranışı.....	45
Şekil 4.4. Kalem ucu C elektrotun, -1.8 V ile +1.8 V potansiyel aralığında DKE'ye karşı, 200mV tarama hızında ölçülen, boş çözeltideki voltametrik davranışı.....	46
Şekil 4.5. Kalem ucu C elektrotun boş çözelti ve 0.4 mg/ml 1,4-dihidropiridin türevi içeren çözeltilerde, 200 mV tarama hızında, -1.8 V ile +1.8 V aralığında DKE'ye karşı voltametrik davranışı (a)R=2,4diCl, b)R=2,5diCl, c)R=3Cl, d)R=2Cl, 5CF ₃)	47
Şekil 4.6. Kalem ucu C elektrotun, 0.2 mg/ml R=2,4diCl çözeltisinde -1.8 V ile +1.8 V potansiyel aralığında, DKE'ye karşı tarama hızı çalışması	48
Şekil 4.7. Kalem ucu C elektrotun, 0.2 mg/ml R=2,5diCl çözeltisinde -1.8 V ile +1.8 V potansiyel aralığında, DKE'ye karşı tarama hızı çalışması	48
Şekil 4.8. Kalem ucu C elektrotun, 0.2 mg/ml R=3Cl çözeltisinde -1.8 V ile +1.8 V potansiyel aralığında, DKE'ye karşı tarama hızı çalışması	49
Şekil 4.9. Kalem ucu C elektrotun, 0.2 mg/ml R=2Cl,5CF ₃ çözeltisinde -1.8 V ile +1.8 V potansiyel aralığında, DKE'ye karşı tarama hızı çalışması	49

Şekil 4.10. a) R= 2,4diCl, b) R= 2,5diCl, 1,4-Dihidropiridin türevlerinin tarama hızının kareköküne karşı pik akımı grafikleri.....	52
Şekil 4.11. a) R= 3Cl, b) R= R= 2Cl,5CF ₃ , 1,4-Dihidropiridin türevlerinin tarama hızının kareköküne karşı pik akımı grafikleri.....	52
Şekil 4.12. a) R= 2,4diCl b) R= 2,5diCl, 1,4-Dihidropiridin türevlerinin tarama hızına karşı pik akımı grafikleri	53
Şekil 4.13. a) R= 3Cl, b) R= R= 2Cl,5CF ₃ , 1,4-Dihidropiridin türevlerinin tarama hızına karşı pik akımı grafikleri	53
Şekil 4.14. a) R= 2,4diCl b) R= 2,5diCl, 1,4-Dihidropiridin türevlerinin logi-logV grafikleri.....	53
Şekil 4.15. a) R= 3Cl, b) R= R= 2Cl,5CF ₃ , 1,4-Dihidropiridin türevlerinin logi-logV grafikleri.....	54
Şekil 4.16. -1.8 V ile +1.8 V potansiyel aralığında, DKE'ye karşı, 200 mV tarama hızında derişim çalışması (R=2,4diCl).....	54
Şekil 4.17. -1.8 V ile +1.8 V potansiyel aralığında, DKE'ye karşı, 200 mV tarama hızında derişim çalışması (R=2,5diCl).....	55
Şekil 4.18. -1.8 V ile +1.8 V potansiyel aralığında, DKE'ye karşı, 200 mV tarama hızında derişim çalışması (R=3Cl).....	55
Şekil 4.19. -1.8 V ile +1.8 V potansiyel aralığında, DKE'ye karşı, 200 mV tarama hızında derişim çalışması (R=2Cl,5CF ₃).....	56
Şekil 4.20. Kondanse 1,4-dihidropiridin türevinin (R=2,4diCl) derişim-pik akımı grafiği.....	57
Şekil 4.21. Kondanse 1,4-dihidropiridin türevinin (R=2,5diCl) derişim-pik akımı grafiği.....	57
Şekil 4.22. Kondanse 1,4-dihidropiridin türevinin (3Cl) derişim-pik akımı grafiği	57
Şekil 4.23. Kondanse 1,4-dihidropiridin türevinin (R=2Cl,5CF ₃) derişim-pik akımı grafiği.....	58

Şekil 4.24. 4 farklı 0,4 mg/ml kondanse 1,4-dihidropiridin türevinin, -1.8 V ile +1.8 V potansiyel aralığında, DKE'ye karşı,200mV tarama hızında kıyaslanması	58
Şekil 4.25. a) R=2,4diCl, Pik Alanı (A_h)= $-8,169e^{-6}C$, b) R=2,5diCl, Pik Alanı (A_h)= $-6,394e^{-6}C$	59
Şekil 4.26. a) R=3Cl, Pik Alanı (A_h)= $-4,623e^{-6}C$, b) R=2Cl,5CF ₃ , Pik Alanı (A_h)= $-5,748e^{-6}C$	59
Şekil 4.27. Birinci elektrokimyasal basamak.....	60
Şekil 4.28. İkinci elektrokimyasal basamak	61

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. Bazı önemli reaktif türler	3
Çizelge 2.2. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması	17
Çizelge 2.3. Voltametrde kullanılan çalışma elektrotlarının sınıflandırılması	20
Çizelge 2.4. Kimyasal tepkimelerle birlikte gerçekleşen elektrokimyasal mekanizmalar	35
Çizelge 4.1. 1,4-Dihidropiridin türevinin (R= 2,4diCl) farklı tarama hızlarında, anodik pik akım ve potansiyelleri	51
Çizelge 4.2. 1,4-Dihidropiridin türevinin (R= 2,5diCl) farklı tarama hızlarında, anodik pik akım ve potansiyelleri	51
Çizelge 4.3. 1,4-Dihidropiridin türevinin (R= 3Cl) farklı tarama hızlarında, anodik pik akım ve potansiyelleri	51
Çizelge 4.4. 1,4-Dihidropiridin türevinin (R= 2Cl,5CF ₃) farklı tarama hızlarında, anodik pik akım ve potansiyelleri	52
Çizelge 4.5. 4 Farklı kondanse 1,4-dihidropiridin türevinin 200 mV tarama hızında, derişim, anodik pik potansiyeli ve anodik pik akımı değerleri	56
Çizelge 4.6. Kondanse 1,4-dihidropiridin türevlerinin pik alan ve pik potansiyel değerleri	60

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

Au	Altın
C	Karbon
E_p	Pik Potansiyeli
$E_{p,a}$	Anodik Pik Potansiyeli
$E_{p,k}$	Katodik Pik Potansiyeli
$E_{p1/2}$	Yarı pik potansiyeli
H_2O_2	Hidrojen Peroksit
HOCl	Hipoklorit Asit
i_p	Pik akımı
$i_{p,a}$	Anodik Pik akımı
$i_{p,k}$	Katodik Pik akımı
NO	Nitrik Oksit
1O_2	Singlet Oksijen
O_2^-	Süperoksit
OCl^-	Hipoklorit
OH^-	Hidroksil
$ONOO^-$	Peroksinitrit
Pt	Platin
-SH	Sülfidril Grubu

Kısaltmalar

C	Değişim
CUPRAC	Bakır(II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasite

CV	Dönüümlü Voltametri
DCFH-DA	Diklorofloresin-diasetal
DHP	1,4-Dihidropiridin
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
DPV	Diferansiyel Puls Voltametri
FRAP	Demir(III) İyonu İndirgeme Antioksidan Gücü
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
ORAC	Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz Enzimi
TEAC	Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasite
TOSC	Toplam Oksiradikal Süpürme Kapasitesi
TRAP	Toplam Radikal Tutma Parametresi
V	Tarama Hızı

1. GİRİŞ

Organizmada hem normal metabolik faaliyetler sırasında sürekli oluşan, hem de dış kaynaklı etkenlerle oluşturulan serbest radikaller, antioksidan savunma sistemi tarafından düzenli olarak ortadan kaldırılırlar. Serbest radikallerin oluşumu ile antioksidan sistem tarafından ortadan kaldırılması arasında bir denge söz konusudur ve bu dengeye *oksidatif denge* adı verilir. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma serbest radikallerin olumsuz etkilerinden zarar görmez. Antioksidan savunma mekanizmasının yetersiz kalması veya serbest radikal oluşumunun artması nedeniyle oksidatif dengenin serbest radikal yönüne kayması durumunda *oksidatif stres* meydana gelir [1] [2]. Oksidatif stres yaklaşık elli kadar hastalık patogeneziyle ilişkilendirilmiştir [3].

Oksidatif zararları ve antioksidan kapasitesini değerlendirmek için çok sayıda kimyasal ve biyokimyasal protokol geliştirilmiştir. Pek çok çalışmadaki analitik metotlar, UV spektrofotometri, IR spektroskopisi, oksimetri (elektron spin rezonans), yüksek performanslı sıvı kromatografisi veya lazer flaş fotolizi gibi kompleks protokolleri ve/veya pahalı maddeleri içerirler. Bu yöntemlerin yanında elektrokimya kompleks bir ortamın antioksidan kapasitesini belirlemek için uygun bir yol olarak görünür. Elektrokimyasal yöntemler, az miktarda maddenin analiz için yeterli olması, ucuz olmaları, kolay uygulanabilir olmaları gibi avantajlara sahiptirler. Elektrokimyasal tekniklerden dönüşümlü voltametri, bileşiklerin yükseltgenme ve indirgenme potansiyelleriyle ilgili bilgi sağlayarak elektrokimyasal karakterizasyon için benzersiz bir tekniktir. Diferansiyel Puls Voltametri ve Diferansiyel Puls Polarografi de elektrokimyasal ölçümleri almak için sık sık kullanılan tekniklerdir.

Pek çok hastalığın patogeneziindeki etkileri ortaya çıkan serbest radikaller son yıllarda üzerinde en çok araştırma yapılan konuların başında gelmektedirler. Serbest radikallerin bu zararlı etkilerine karşı her geçen gün yeni antioksidanlar ortaya konmaktadır. Bu çalışmanın amacı da bu amaçla ilk defa sentezlenen kondanse 1,4-dihidropiridin türevlerinin elektrokimyasal özelliklerinden yararlanarak dönüşümlü voltametri tekniği ile analizlerinin yapılması ve antioksidan kapasitelerinin, voltamogramların incelenmesiyle kolayca saptanmasıdır.

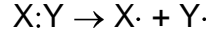
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Serbest Radikaller

Dış orbitallerinde bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron bulunan atom veya moleküllere *serbest radikal* denir. Serbest radikaller, pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötral olabilirler. Düşük molekül ağırlıklı, kısa ömürlü ve kararsız yapılar olan serbest radikaller, ortaklanmamış elektronlarını eşleştirmek için başka moleküllerle kolayca tepkimeye girerler. Sayısız enzimatik tepkime ve biyolojik fonksiyon için gerekli olan serbest radikallerin fazla üretimi doku hasarı ve hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır [4] [5] [6].

Serbest radikaller 3 temel mekanizma ile oluşurlar [7]:

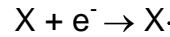
1. Kovalent Bağların Homolitik Kırılması: Kovalent bağ yapısındaki iki elektronun her biri, kırılma sonrasında ayrı ayrı atomlar üzerinde kalıyorsa serbest radikal oluşur.



2. Normal Bir Molekülün Elektron Kaybetmesi: Radikal olmayan bir molekülün elektron kaybetmesi sonucu dış orbitalinde ortaklanmamış elektron kalıyorsa serbest radikal oluşur.

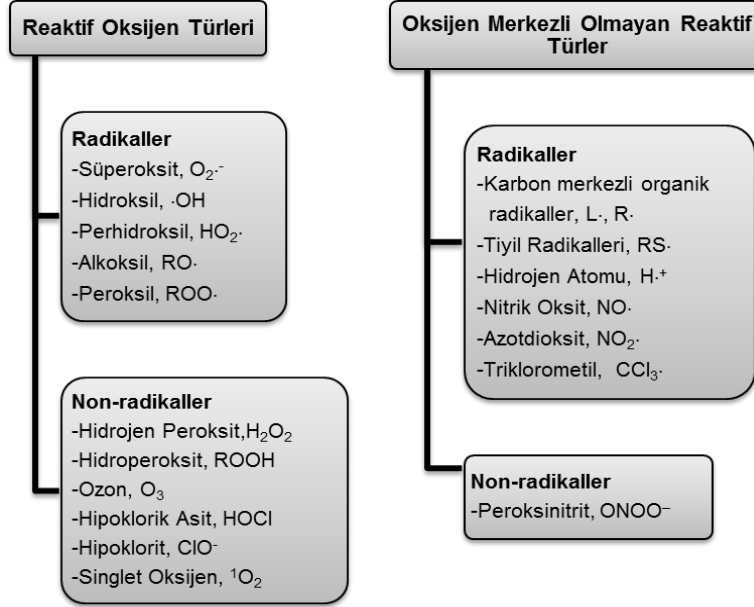


3. Normal Bir Moleküle Elektron Transferi: Radikal olmayan bir moleküle tek elektron transferi ile dış orbitalinde ortaklanmamış elektron oluşuyorsa serbest radikal oluşur.



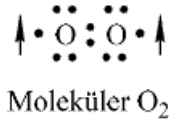
Biyolojik sistemlerde oluşan en önemli serbest radikaller, reaktif oksijen türleri (ROT) olmakla beraber; C, N, S türevi olan radikaller ve inorganik moleküller de vardır. Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Mo^{5+} gibi geçiş metallerinin de ortaklanmamış elektronları olduğu halde serbest radikal olarak kabul edilmezler. Fakat bu iyonlar reaksiyonları katalizlediklerinden dolayı serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar [6].

Çizelge. 2.1. Bazı önemli reaktif türler



2.1.1. Reaktif Oksijen Türleri

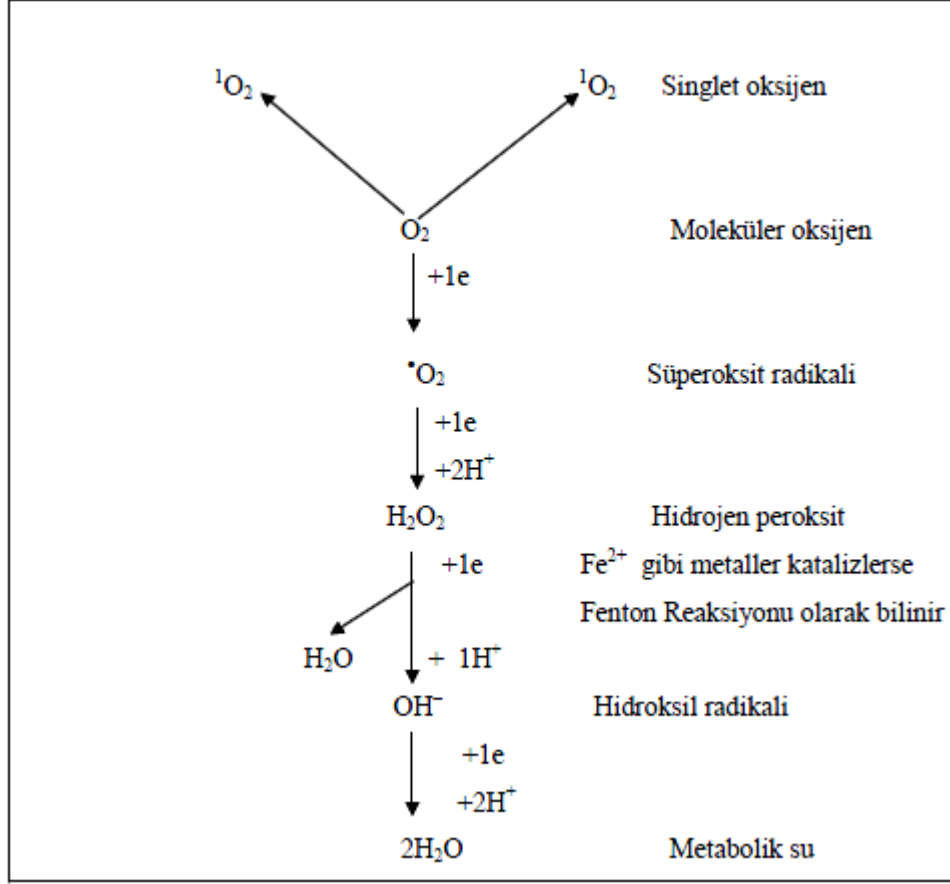
Normal şartlarda oksijen kararlı, kokusuz, tatsız, renksiz, sudaki çözünürlüğü sınırlı bir gazdır. İnsan hayatı için hem gerekli hem de toksik olan bir moleküldür. Moleküler oksijen, taşıdığı iki ortaklanmamış elektrondan dolayı bir diradikal olarak değerlendirilir [6] [8].



Vücuttaki moleküler oksijenin %95-98'i enzimatik yollarla suya çevrilirken, geri kalan kısmı elektron eklenmesi sonucu hücre içi organellerin yapılarını ve fonksiyonlarını değiştiren, membranda oksidatif yıkıma neden olan *reaktif oksijen türlerini* (ROT) meydana getirir. Oksijenden oluşan önemli serbest radikaller arasında süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve singlet oksijen yer almaktadır [9] [10] [11].

Moleküler oksijen elektron alarak suya kadar indirgenir. Oksijene bir elektron eklenmesi sonucu süperoksit anyonu, iki elektron eklenmesi sonucu hidrojen peroksit,

üç elektron eklenmesi sonucu hidroksil radikali ve en son dört elektron eklenmesi ile de su oluşur [12] [13].



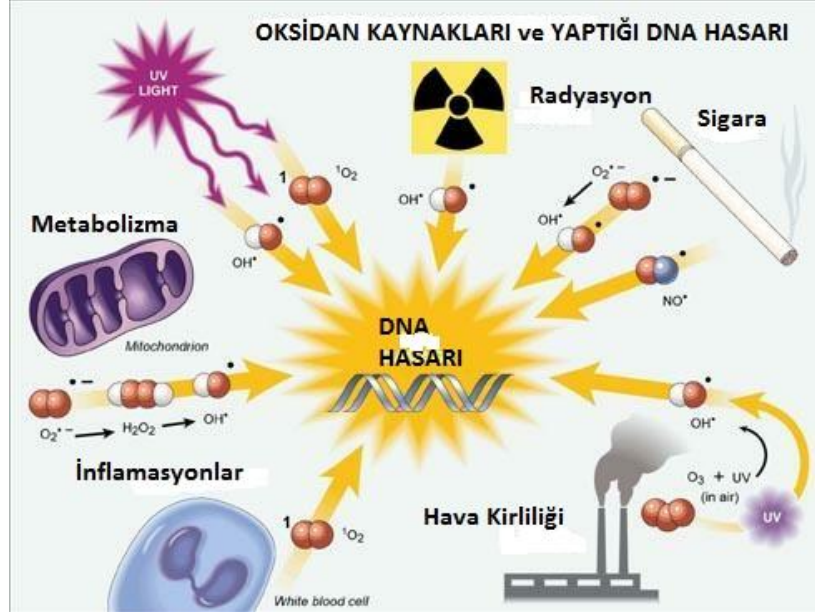
Şekil 2.1. Serbestleşen oksijen moleküllerinin oluşturduğu radikaller

2.1.2. Serbest Radikal Kaynakları

Serbest radikallerin meydana gelmesine neden olan başlıca hücre içi kaynaklar mitokondriyal elektron transport zinciri, mikrozomal elektron transport zinciri, endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transfer sistemleri, küçük moleküllerin otooksidasyonu, araşidonik asit metabolizması, yükseltgenme-indirgenme reaksiyonları, peroksizomlar, çözümler, enzimler ve proteinler, plazma membranı ve solunum patlamasıdır.

Çevresel ajanlar (hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, pestisitler, sigara dumanı, anestezipler, aromatik hidrokarbonlar, radyasyon), toksik maddeler, aktive olmuş fagositler, antineoplastik ajanlar, alışkanlık yapan maddeler, kinolon grubu

antibiyotikler, ısı, ağır egzersiz ve stres de serbest radikallerin meydana gelmesine yol açan başlıca hücre dışı kaynaklardır.

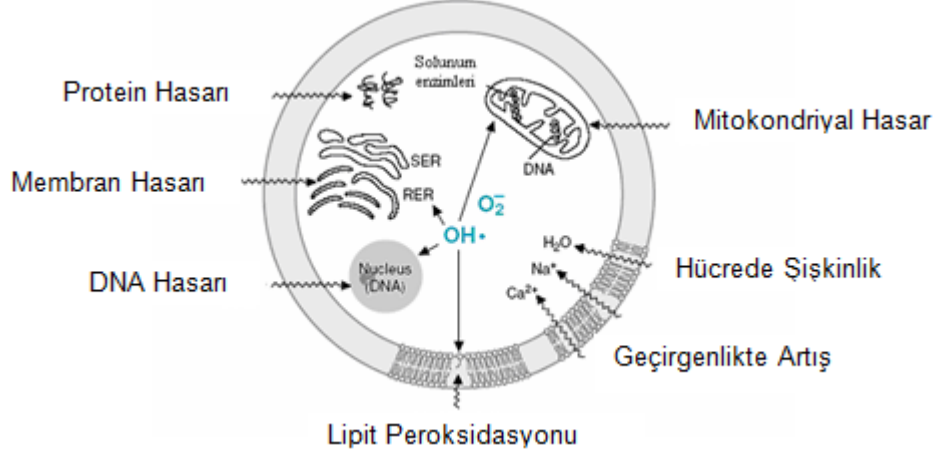


Şekil 2.2. Serbest radikal kaynakları ve yaptığı DNA hasarı

2.1.3. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikallerin doku ve hücredeki hasarları şu şekilde sıralanabilir [14] [15] [16]:

1. DNA Hasarı
2. Nükleotit yapıdaki enzimlerin yıkımı
3. Protein ve lipitlerle kovalent bağlanma
4. Enzim inaktivasyonu
5. Proteinlerin oksidatif hasara uğraması
6. Lipit peroksidasyonu
7. Zar yapılarının ve fonksiyonlarının etkilenmesi
8. Yaşlılık pigmentlerinin birikimi
9. Kolajen ve elastin gibi uzun ömürlü yapılardaki yükseltgenme ve indirgenme olaylarının bozularak damarlarda aterofibrotik değişikliklerin oluşumu
10. Zar proteinlerinin hasarı ve transport sistemlerinin bozulması



Şekil 2.3. Serbest radikallerin yol açtığı hücre hasarı

2.2. Antioksidan Savunma Sistemleri

Hem iç hem de dış etkenler sonucu sürekli oluşan serbest radikallerin belli düzeyde tutulması ve neden oldukları oksidatif hasarların engellenmesi için, hücreler, enzimatik ve nonenzimatik yapılardan oluşan antioksidan savunma sistemlerine sahiptirler ve bu sayede serbest radikallerden ve lipit peroksidasyonundan korunurlar [8] [17] [18] [19] [20] [21].

Antioksidanlar, kendi elektronlarını vererek serbest radikalleri nötralize eden ve bu esnada serbest radikal haline gelmeyen, vücutta kalkan görevi yapan yapılardır [22]. Antioksidanların insan sağlığındaki yerini belirleyen en önemli faktörler, onların kimyasal yapıları, çözünürlükleri, yapı/aktivite ilişkileri ve doğal kaynaklardan elde edilebilmeleridir [23].

Antioksidanlar etkilerini iki şekilde gösterirler [24] [25] [26] ;

1. Serbest radikal oluşumunun engellenmesi
 - a. Başlatıcı reaktif türevleri uzaklaştırırlar.
 - b. Oksijeni uzaklaştırır veya konsantrasyonunu azaltırlar.
 - c. Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırırlar.
2. Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi
 - a. Toplayıcı etki: Serbest radikalleri daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürerek etkisizleştirirler. Antioksidan enzimler ve moleküller bu yolla etki ederler.

- b. Bastırıcı etki: Serbest radikallere bir proton aktararak onları etkisizleştirirler. Vitaminler ve flavonoidler bu şekilde etki ederler.
- c. Onarıcı etki: Oksidatif hasar görmüş biyomolekülü onarırlar.
- d. Zincir kırıcı etki: Serbest radikalleri kendilerine bağlayıp reaksiyon zincirini kırarak fonksiyonlarını önlerler. Hemoglobın, seroplazmin ve ağır metaller bu şekilde etki ederler.

2.2.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanların sınıflandırılması çeşitlilik göstermektedir.

1. Yapılarına göre
 - a- Enzimler
 - b- Enzim olmayan proteinler, küçük moleküller
2. Kaynaklarına göre
 - a- Organizmaya ait olanlar (endojen antioksidanlar)
 - b- Dışardan alınanlar (eksojen antioksidanlar)
3. Çözünürlüklerine göre
 - a- Suda çözünenler
 - b- Yağda çözünenler
4. Buldukları yere göre
 - a- Hücre içinde bulunanlar
 - b- Plazma ve diğer ekstrasellüler sıvılarda bulunanlar.

2.2.1.1. Endojen Antioksidanlar

Pek çok sayıda endojen molekülün antioksidan etkisi tanımlanmıştır. Bu moleküller arasında süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GSH-Red), glutatyon S-transferaz (GST), mitokondriyal sitokrom oksidaz enzimi gibi enzim olanlar ve glutatyon, α -Lipoik Asit (α -LA), albümin, ürik asit,

seruloplazmin, transferrin, laktoferrin, sistein, ferritin, bilirübin, taurin, ubikinon (koenzim q) gibi enzim olmayan antioksidanlar bulunur.

SOD, zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısı olan $O_2^{\cdot-}$ serbest radikalinin daha az toksik olan H_2O_2 'e ve O_2 'e dönüşümünü katalizleyen ve $O_2^{\cdot-}$ serbest radikalinin lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı hücreleri koruyan bir metalloenzimdir [25] [27] [28]. *KAT*, *SOD*'ın oluşturduğu H_2O_2 'yi, peroksidazlarla beraber oksijen ve suya parçalayarak biyolojik sistemleri H_2O_2 'nin zararlarına karşı koruyan bir hemoproteindir [5] [29] [30] [31]. *GSH-Px*, elektron kaynağı olarak glutasyonu kullanarak H_2O_2 ve lipid hidroperoksitlerin indirgenmesini katalizleyen bir enzimdir [17]. *GSH-Red*, elektron kaynağı olarak $NADH$ 'ı kullanarak, okside glutasyonun indirgenmesi reaksiyonunu katalizler [26] [32] [33]. *GST*'ler, yabancı maddelerin biyotransformasyonu ve detoksifikasyonunda önemli rol alan ve lipid peroksitlere karşı aktivite gösteren enzimlerdir [6] [34]. *Mitokondriyal sitokrom oksidaz* solunum zincirinin son enzimidir $O_2^{\cdot-}$ temizleyicisidir [6].

GSH, serbest radikalleri indirgeyerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur ve mebran geçirgenliğinin sağlanması, protein konformasyonu ve enzim aktivitesinin ayarlanması gibi görevlerde de rol alır [6] [25] [35] [36]. *Melatonin*, $\cdot OH$ radikalini ortadan kaldıran en güçlü antioksidanlardan biridir. Lipofilik olması sebebiyle hücrenin bütün organellerine ve hücre çekirdeğine kolayca ulaşarak çok geniş bir alanda antioksidan aktivite gösterir. Melatonin çok yüksek dozlarda dahi toksik etki göstermez ve bazı antioksidanlar gibi prooksidan aktiviteye sahip değildir. DNA hasarının melatonin tarafından etkili bir şekilde inhibe edildiği de gösterilmiştir [37] [38] [39]. α -*LA*, mitokondriyal enzimlerde bir kofaktör olarak görev yapan ve doğal olarak meydana gelen bir bileşiktir. α -*LA*, bütün hücrelerde enerji elde etmek için başlıca yol olan glukoz oksidasyonunun en önemli enzimlerinden biri olan piruvat dehidrogenaz enzim kompleksinin aktivitesi için koenzim olarak gereklidir, hücrelerde hasar yapan serbest radikallerin etkisizleştirilmesi için gereklidir, hücre içi ve hücre dışında görev yapan diğer antioksidanların yenilenmesi için gereklidir ve kadmiyum, mangan, arsenik, bakır, çinko, civa gibi metallerle birleşerek, onların dokularda toksik etki göstermelerini engeller [40] [41] [42] [43] [44]. *Albümin*, plazmada bulunan en yaygın

proteindir. Yapısında bulunan çok sayıda sülfidril grubu sayesinde bakır iyonlarını bağlar ve lipit peroksidasyonunun başlamasını engeller [45] [46]. Pürin metabolizmasında son ürün olarak oluşan *ürük asit* ise singlet oksijen, hidroksil, süperoksit, peroksit radikalleri için güçlü bir temizleyicidir. Fakat lipit radikalleri üzerinde etkisizdir [6]. *Transferin* kanda demir taşıyan bir β -globindir. *Laktoferrin* dolaşımdaki serbest demiri düşük pH'larda bağlarken, *ferritin* dokudaki demiri bağlar [6]. *Seruloplazmin*, SOD'a benzer bir mekanizmayla etki gösterir. *Sistein*, süperoksit ve hidroksil radikali toplayıcısıdır. *Bilirubin* ise hem metabolizmasının memelilerdeki son ürünlerinden biridir. Aynı zamanda lipit peroksidasyonunu inhibe eder ve peroksil radikallerini etkileyerek zincir kırıcı bir etki gösterir [47]. Organizmada sistein ve metiyoninden sentez edilen *taurin*, protein yapısına katılmaz ve dokuda serbest olarak bulunur. Taurinin, kolesterol atılımı, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, hücre membranının stabilizasyonu ve hücre içi kalsiyum seviyelerinin modülasyonu gibi önemli biyokimyasal ve fizyolojik fonksiyonları vardır. Oksidan bir bileşik olan HOCl'yi N-klorotaurine dönüştürerek hücre içinde oksidan hasar oluşmasını engeller [6]. *Ubikinon* esas olarak mitokondride elektron transport zincirinin bir parçası olarak kullanılırken, aynı zamanda düşük derişimlerde plazmada ve hücre zarlarında lipit peroksidasyonuna karşı koruyucu antioksidan olarak bulunur [48].

2.2.1.2. Eksojen Antioksidanlar

İnsanlarda sentez edilmediğinden diyetle alınması gereken *C vitamini (askorbik asit)*, suda çözünen en güçlü antioksidan moleküldür. Güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. C vitamini etkili olarak H_2O_2 , hipoklorit, süperoksit, hidroksil ve peroksil radikallerini ve singlet oksijeni tutar. Sıvı fazdaki tüm peroksil radikallerini plazma lipitlerine difüze olmadan tutar ve bu şekilde lipit peroksidasyonunun başlamasını engeller. Membranlarda oluşan α -tokoferol radikali ile reaksiyona girerek α -tokoferolün yenilenmesini sağlar [5] [6] [12]. *Karotenoidler (A vitamini)*, oldukça etkili serbest radikal süpürücüleridir. Antioksidan aktiviteleri, yapılarındaki konjuge çift bağlardan ileri gelmektedir [49] [50]. *E vitamini*, tokoferol ve tokotrienol türevlerini kapsayan bir vitamindir. α -Tokoferol, süperoksit, hidroksil, singlet oksijen, lipit peroksil radikalleri ve diğer bazı serbest radikalleri indirger ve lipit peroksidasyonuna karşı ilk savunma hattını oluşturur. α -Tokoferol, OH grubundaki H

atomunu kolayca uzaklaştırılabildiği için lipit peroksidasyonu sırasında oluşan peroksil ve alkoksil radikalleri komşu bir yağ asidi ile birleşmeden doğrudan α -tokoferol ile birleşir. Bu olay zincir reaksiyonunu sonlandırdığı için lipit peroksidasyonu da sonlanmış olur [5] [25] [51] [52] [53]. Lipitlerde çözünen antioksidanlar sınıfından olan *flavonoidler*, anomerik hidroksil grubundan lipit radikallerine bir hidrojen atomu vererek lipit oksidasyonunu engellerler. Lipit oksidasyonu engelleme dışında flavonoidlerin, O_2^- , $\cdot OH$, $ROO\cdot$, $RO\cdot$, $NO\cdot$ gibi serbest radikalleri temizleme, metal şelatlama ve α -tokoferol rejenerasyonu gibi fonksiyonlara katıldıkları bildirilmiştir [54] [55] [56] [57] [58].

Yukarıda bahsettiğim doğal eksojen antioksidanların yanı sıra ksantin oksidaz inhibitörleri, NADPH oksidaz inhibitörleri, rekombinant süperoksit dismutaz, Trolox-C, demir redoks döngüsü inhibitörleri, nötrofil adezyon inhibitörleri, sitokinler, barbitüratlar, demir şelatörleri gibi ilaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar ve gıdaların korunması ve depolanması sırasında meydana gelen lipit oksidasyonunu engellemek için kullanılan bütillenmiş hidroksil toluen, tersiyer bütül hidrokinon, bütillenmiş hidroksi anizol , propil gallat gibi eksojen sentetik antioksidanlar da mevcuttur.

2.2.2. Antioksidan Tayin Yöntemleri

2.2.2.1. Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Yöntemi

CUPRAC yöntemi, Apak ve arkadaşları [59] tarafından geliştirilmiştir. Yöntem, örnekte bulunan antioksidanlar tarafından 2,9-dimetil-1,10-fenantrolinin, bakır(II) ile oluşturduğu bakır(II)-neokuproin kompleksinin bakır(I)-neokuproin kelatına indirgenmesini temel alır. Spektrofotometre ile ölçüm yapılır [93]. CUPRAC yöntemi askorbik asit, ürik asit, gallik asit ve kersetin için birkaç dakika içinde tamamlanır, fakat daha kompleks moleküller için 30-60 dakika gereklidir. Bu yöntem, kompleks antioksidan karışımında uygun tepkime zamanını seçme açısından problemlidir [60].

2.2.2.2. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi (TEAC) Yöntemi

TEAC yöntemi ilk olarak Miller ve arkadaşları [61] tarafından ortaya konmuş, daha sonra Re ve arkadaşları [94] tarafından geliştirilmiştir. TEAC yöntemi, antioksidan varlığında çözeltideki 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiyazolin,6-sülfonat) radikalinin

absorbansındaki azalmanın ölçülmesine dayanmaktadır [61] [62]. Antioksidan kapasite Troloks derişimi olarak tayin edilir. TEAC reaksiyonunun bitiş noktasına ulaşması uzun bir zaman alabilir. Kısa süreli bir bitiş noktasının kullanılması, reaksiyon tamamlanmadan önce okuma yapılmasına ve daha düşük TEAC değerleri bulunmasıyla sonuçlanabilir [60].

2.2.2.3. Demir (III) İyonu İndirgeme Antioksidan Güç (FRAP) Yöntemi

FRAP yöntemi, Benzie ve Strain [63] tarafından geliştirilmiştir. FRAP ve TEAC yöntemleri birbirine benzemektedir. Tek fark TEAC yöntemi nötr pH'da FRAP ise asidik koşullarda gerçekleştirilir [64] [65]. Yöntem, asidik ortamda antioksidan içeren bir örneğin eklenmesi sonucu, ferrik-tripiridiltriazin kompleksinin (Fe^{+3} -TPTZ), ferröz kompleksine (Fe^{+2} -TPTZ) indirgenmesine dayanmaktadır. Oluşan ferröz kompleksinin rengi koyu mavidir ve 593 nm'de maksimum absorbans vermektedir. Sonuçlar troloks eşiti olarak ifade edilir [64]. Bu yöntemin dezavantajlarından biri gerçekleşen reaksiyonun spesifik olmamasıdır, 0.70 V'den daha düşük redoks potansiyeline sahip, in vivo olarak antioksidan özellik göstermeyen herhangi bir bileşik bile demiri indirgeyebilir. Ayrıca, glutasyon gibi tiyol antioksidanlar FRAP yöntemiyle ölçülemezler. Bunun nedeni Fe(III)'ün, kimyasal olarak inert olmasına neden olan yüksek spinli yarı dolu d orbitalleri olabilir [65] [66].

2.2.2.4. Folin Ciocalteu Yöntemi

Bu yöntem, Singleton ve Rossi [67] tarafından geliştirilmiştir. Folin-Ciocalteu yöntemi fenolik bileşikler ve diğer indirgeyici bileşiklerden molibdenyuma elektron transfer edilmesine dayanmaktadır. Yöntemde kullanılan bakır sülfat, alkali ortamdaki antioksidanla kompleks yapar. Folin Ciocalteu reaktifi eklendiğinde, reaktif antioksidana bağlanır. Antioksidanla Cu(II)'nin tepkimesinden açığa çıkan Cu(I) kompleksi, reaktifi heteropoli mavisine indirger. Mavi renkli kompleks oluşumu spektrofotometrik olarak belirlenir. Sonuçlar gallik asit eşiti olarak verilir [67]. Sulu fazda gerçekleştirildiği için lipofilik bileşikler için uygulanamamaktadır. Ayrıca kullanılan reaktifin sadece total fenolik bileşik miktarını ölçmediği ve örnek içinde mevcut tüm indirgen maddelerle de reaksiyon vereceği bilinmektedir. Bu nedenle

reaktifin sadece örnekteki fenolik bileşik düzeyini değil örneğin total indirgeme kapasitesini de ölçtüğü konusunda tartışma vardır [63] [68] [69] [70].

2.2.2.5. Toplam Radikal Tutma Parametresi (TRAP) Yöntemi

TRAP yöntemi ilk defa Wayner ve arkadaşları [71] tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntem, bir azo bileşiğinin termal bozunmasıyla indüklenen kontrollü bir lipid peroksidasyon tepkimesi sırasında oksijen tüketiminin ölçülmesi temeline dayanır. Plazmanın oksijen tüketimi üzerine geciktirme etkisi, bilinen miktarda Troloksun geciktirme etkisiyle karşılaştırılır [22] [63] [72]. TRAP yöntemi zaman gerektiren oldukça kompleks bir yöntem olup; oldukça fazla tecrübe gerektirmektedir. Ayrıca bu yöntemde karşılaşılan problemlerden biri de oksijen elektrotunun gereken zaman boyunca stabilitesinin sağlanamamasıdır [22] [60].

2.2.2.6. Luminol Yöntemi

Metsä-Ketelä ve arkadaşları tarafından geliştirilen ve yayınlanan kemiluminesans esaslı TRAP yöntemi daha sonra Alho ve Leinonen tarafından [73] detaylı şekilde ifade edilmiştir. AAPH'dan üretilen peroksil radikallerinin luminolü yükseltgemesi sonucu ışık yayan luminol radikalleri meydana gelmektedir. Yayılan ışık luminometre cihazı ile ölçülür. Örnek içindeki antioksidanlar, kemiluminesans ısımalarının oluşumunu belli bir zaman için engeller. Gecikme zamanı bir örnekteki toplam antioksidan potansiyeli ile doğrudan orantılıdır. Elde edilen sonuçlar troloks eşdeğeri cinsinden hesaplanır [73].

2.2.2.7. Diklorofloresin-diasetat (DCFH-DA) Yöntemi

Valkonen ve Kuusi' nin [74] geliştirdiği DCFH-DA yönteminde, 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiyazolin,6-sülfonat) peroksil radikalini oluşturmak için, DCFH-DA ise yükseltgenebilen substrat olarak kullanılmıştır. Peroksil radikali ile DCFH-DA arasındaki oksidasyon reaksiyonu sonucu oluşan diklorofloresin yüksek floresans özelliğine sahiptir. 504 nm de maksimum absorpsiyon gösterir. Bu bakımdan hem floresans yöntemi hem de spektrofotometrik yöntem kullanılarak diklorofloresin miktarı ve buna bağlı olarak toplam antioksidan kapasitesi hesaplanmaktadır. Bu yöntemde toplam antioksidan kapasitesi iki kademededir. İlk kademedeki örnek içindeki antioksidanların kapasitesi gecikme zamanı cinsinden

hesaplanmaktadır. Sonra aynı örnek üzerine miktarı bilinen Troloks çözeltisi ilave edilmektedir. Troloks çözeltisi serbest radikaller tarafından tüketildikten sonra ikinci gecikme zamanı hesaplanır. Bu iki gecikme zamanı arasındaki farktan yararlanarak troloks cinsinden toplam antioksidan kapasitesi hesaplanmaktadır [74].

2.2.2.8. Fikoeritrin (FE) Esaslı Yöntemler

Bu yöntem Glazer [75] tarafından ortaya konmuş, Ghiselli ve arkadaşları [114] tarafından geliştirilmiştir. Fikoeritrinin peroksil veya hidroksil radikallerine karşı sağladığı gecikme zamanının uzunluğu Troloksun sağladığı gecikme zamanına oranlanarak örneğin antioksidan kapasitesi Troloks eşdeğeri cinsinden belirlenir [75]. Fakat fikoeritrin, floresans sönümünün kinetikleri, peroksil veya hidroksil radikalleri varlığında lineer değildir. Ayrıca analiz edilen örnek, plazma veya serum olduğu zaman gecikme zamanını belirlemek genellikle zordur [22].

2.2.2.9. Krosin Yöntemi

Tubaro ve arkadaşlarının [76] geliştirdiği bu yöntemde kinetik parametreler karşılaştırılarak plazma içindeki antioksidan kapasitesi ölçülmektedir. Bu yöntem; peroksil radikallerinin krosini yükseltmesine dayanmaktadır. Krosinin peroksil radikalleri ile yükseltgenme reaksiyonunda antioksidanların olmadığı durumdaki hızı ve antioksidanların olduğu durumdaki hızı spektrofotometreyle ölçülür. Sonuçlar Troloks cinsinden hesaplanmaktadır [76]. Bu yönteminin gıda örnekleri için uygulanması sınırlıdır. Yöntem antioksidanlarda derişim değişimine duyarlı değildir. Ayrıca krosin safrandan elde edilen doğal pigmentler karışımı olduğu ve çok fazla çeşitlilik gösterdiği için sayısal değerlendirmelerde yöntemin endüstriyel alanda kullanımını sınırlandırmaktadır [63] [64].

2.2.2.10. 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) Yöntemi

DPPH yöntemi ilk olarak Blois [77] tarafında ortaya konmuş, daha sonra Brand-Williams ve arkadaşları [78] tarafından geliştirilmiştir. Yöntemin esası DPPH içeren çözelti ile antioksidan çözeltisinin karıştırılması sonucu DPPH radikalinin indirgenmesine dayanır. DPPH çözeltisinin başlangıçtaki koyu menekşe rengi açılır ve absorbanstaki azalma spektrofotometreyle ölçülür. Antioksidan aktivite başlangıçtaki DPPH derişiminin % 50'sinin azalması için harcanan antioksidan

miktarını ifade eden IC₅₀ (etkin konsantrasyon) değeri ile verilir [78]. DPPH yöntemi teknik olarak basit olmasına karşın bazı dezavantajları bulunmaktadır. Birçok antioksidan bileşik lipid peroksidasyonunda rol oynayan peroksil radikalleri ile çok hızlı tepkime vermektedir, ancak DPPH ile yavaş tepkime vermektedir. Ayrıca, DPPH ile antioksidan bileşik arasındaki reaksiyon kinetiğinin DPPH derişimi ile her zaman doğrusallık göstermediği de bilinmektedir [64] [79].

2.2.2.11. Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi (ORAC) Yöntemi

Bu yöntem başlangıçta Cao ve Prior [80] tarafından geliştirilmiştir. ORAC peroksil radikalinin antioksidan inhibisyonunu ölçer. Bu yöntemde peroksil radikali floresans özellik gösteren bir molekülle floresans olmayan bir ürün oluşturmak üzere reaksiyona girer. Antioksidanın koruyucu etkisinin hesaplanması, floresans bozunma eğrisinin altındaki integre edilmiş net alandan yapılır. ORAC değerleri genellikle Troloks eşdeğer olarak rapor edilir. Farklı derişimdeki Troloks standartları kullanılarak kalibrasyon eğrisi elde edilir. Numunenin Troloks eşdeğeri, Troloks derişimi ve floresans bozunma eğrisi altındaki net alan arasındaki doğrusal veya ikinci dereceden ilişki kullanılarak hesaplanır. ORAC reaksiyonu sıcaklığa duyarlı bir tepkime olduğundan, plaka boyunca sıcaklık kontrolü önemlidir. Küçük sıcaklık farklılıkları tekrar üretilebilirliği azaltır [81].

2.2.2.12. Toplam Oksiradikal Süpürme Kapasitesi (TOSC) Yöntemi

Winston ve arkadaşları [82] tarafından geliştirilmiş olan bu yöntem; peroksil radikallerinin α -keto- γ metiolbutirik asiti etilene yükseltgemesini esas alır. Bu esnada oluşan etilen gazı, gaz kromatografisi ile ölçülür. Eğer ortamda antioksidanlar varsa peroksil radikallerini söndürür ve etilen oluşumunu önler [22] [83]. TOSC yönteminin sakıncaları elle GC enjeksiyonlarına ihtiyaç duyulması ve test çözeltilerinin kısa ömürlü olmasıdır [83].

2.2.2.13. Dönüşümlü Voltametri (CV) Yöntemi

Kohen ve arkadaşları [84] tarafından geliştirilen bu yöntem, biyolojik sıvılarda veya homojen doku altlarındaki düşük molekül ağırlıklı antioksidanların toplam indirgeme güçlerini değerlendiren bir yöntemdir. CV yönteminde örnek, hazırlama işlemini takiben camısı karbon elektrot (çalışma elektrotu), gümüş/gümüşklorür (Ag/AgCl)

elektrot (referans elektrot) ve Pt telden (yardımcı elektrot) oluşan üç elektrotlu bir sistem içine yerleştirilir. Çalışma elektrotuna sabit bir hızla (100 mV/dk) pozitif (indirgeme cinsinden değerlendirme) ve negatif (yükseltgeme cinsinden değerlendirme) potansiyeller uygulanmaktadır. Bu işlem sırasında potansiyel akım eğrisi (çevrimsel voltamogram) elde edilir. Bir örneğin indirgeme gücü (antioksidan gücü) iki parametreden oluşmaktadır: Pik potansiyeli [$E_p(a)$] ve anodik akım. $E_p(a)$, her bir anodik dalgada akımın yarısı kadar artması için gerekli potansiyel olarak ölçülür ve $E_{1/2}$ olarak gösterilir. $E_{1/2}$ değeri indirgen maddeler arasındaki korelasyonu göstermektedir. $E_{1/2}$ değerinin düşük olması, test edilen bileşiklerin çalışma elektrotuna elektron verme yeteneğinin yüksek olmasını ifade etmektedir. Anodik akım ise her bir anodik dalganın y ekseninden ölçülür ve indirgenlerin konsantrasyonları ile ilişkilidir [84].

Kilmartin ve arkadaşları [85] yaptıkları çalışmada iki farklı kırmızı şarap ve iki farklı beyaz şarap örneğindeki fenolik antioksidanların indirgeyici güçlerini dönüşümlü voltametri tekniği ile değerlendirmişlerdir. Çalışma elektrotu olarak camsı karbon elektrot, referans elektrot olarak Ag/AgCl elektrot ve karşıt elektrot olarak da platin tel kullanmışlardır. Tarama hızı olarak 100 mV/s seçmişler ve -100 mV ile +100 mV potansiyel aralığında çalışmışlardır. Derişim ve tarama hızı çalışmaları yapmışlardır. Ortodifenollerin yükseltgenme pikleri +0,4 V civarındayken kırmızı şaraptaki antisyoninlerin yükseltgenme pikleri +0,6 V civarında gözlenmiştir.

Arulpriya ve arkadaşları [86] yaptıkları çalışmada üç farklı petrol eteri ekstraktının antioksidan kapasitelerini anodik pik potansiyelleri üzerinden kıyaslamışlardır. Çalışma elektrotu olarak camsı karbon elektrot, referans elektrot olarak DKE ve karşıt elektrot olarak da platin tel kullanmışlardır. -2.0 mV ile +2.0 mV potansiyel aralığında çalışmışlardır. Tüm örneklerin anodik pik potansiyelleri 0.4 V civarında kaydedilmiştir. Düşük antioksidan potansiyelini yüksek antioksidan kapasite olarak yorumlamışlar ve kıyaslamayı da buna göre yapmışlardır.

Chevion ve arkadaşları [87] elektrokimyasal yöntemlerle antioksidan kapasite tayinin de iki önmeli parametre olduğunu belirtmişlerdir. Birincisi yükseltgenme pik potansiyeli, ikincisi de anodik pik akımı. Fakat farklı maddelerin antioksidan

kapasitelerini kıyaslarken anodik pik dalgasının altında kalan alanı kullanmışlardır; çünkü anodik pik akımı tek bir potansiyel değerini içeriyorken, alanın farklı potansiyel değerlerindeki değişimi içerdiğini belirtmişlerdir. 0.5 V civarında yükseltgenme pik potansiyeline sahip oldukları gözlenen biyolojik örneklerin antioksidan kapasiteleri anodik pik dalgasının altında kalan alan üzerinden kıyaslanmıştır.

Elektrokimyasal yöntemlerle antioksidan kapasitesi tayini nispeten daha yeni bir araştırma konusu olmakla birlikte, şu ana kadar yapılan çalışmalarda bir kısıtlaması ortaya konmamıştır. Bu tez çalışması kapsamında da CV yöntemi kullanılmıştır. Yöntemle ilgili detaylar ileride anlatılacaktır.

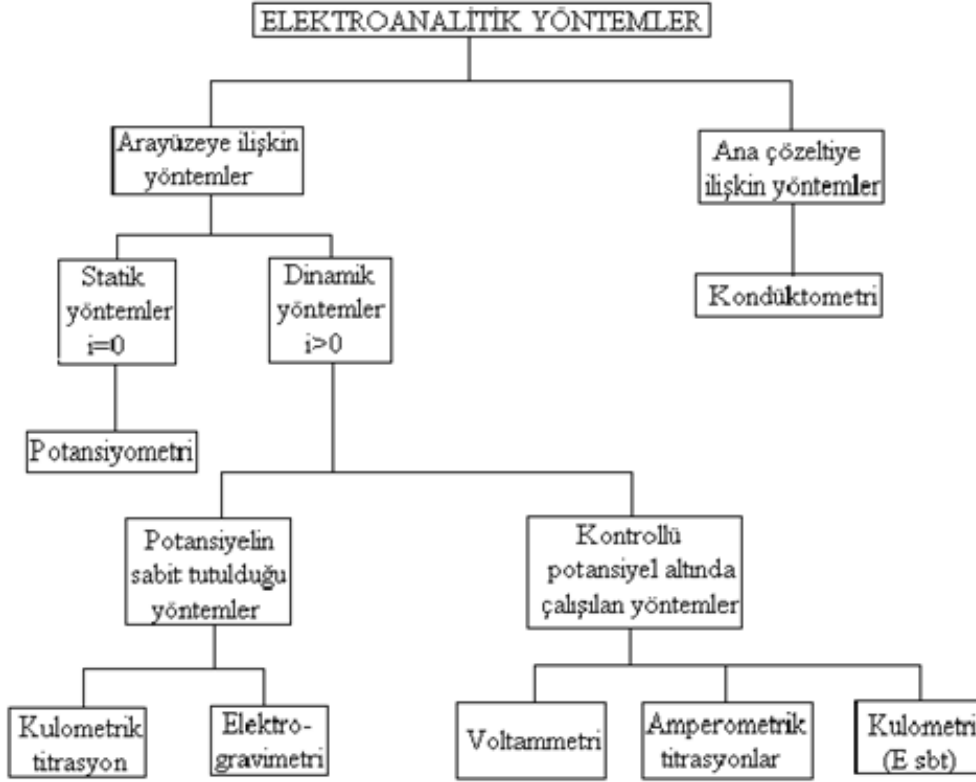
2.3. VOLTAMETRİ

Elektroanalitik kimya, analitik çözelti bir elektrokimyasal hücrenin parçası olduğunda, çözeltinin elektrokimyasal özelliklerine dayanan bir grup kantitatif analitik yöntemi kapsar. Elektroanalitik yöntemler çok düşük tayin sınırlarına ulaşabilirler ve elektrokimyasal yöntemlerin uygulanabildiği sistemler hakkında ara yüzlerdeki yük aktarımının stokiyometrisi ve hızı, kütle aktarım hızı, adsorpsiyon ve kemisorpsiyonun derecesi, kimyasal reaksiyonlarının hız ve denge sabitleri gibi bilgileri de içeren çok fazla sayıda sistemi karakterize eden bilgiler verirler [88].

Elektroanalitik yöntemlerin diğer analitik yöntemlere göre üstünlükleri [89]:

- az miktarda maddenin analiz için yeterli olması,
- ucuz olmaları,
- kolay uygulanabilir olmaları,
- analitlerin ön saflaştırma işlemlerine fazla ihtiyaç olmaması,
- fazla çözücü gerektirmemeleri,
- çoğu kez bir elementin özel bir yükseltgenme basamağı için spesifik olmaları ve hassas birer yöntem olmalarıdır.

Çizelge 2.2. Elektroanalitik yöntemlerin sınıflandırılması



Voltametri, bir indikatör ya da çalışma elektrotunun polarize olduğu şartlar altında akımın, uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak ölçülmesinden faydalanarak, analit hakkında bilgi edinilen bir grup elektroanalitik metoda verilen isimdir. Uygulanan gerilimin ölçülen akım değerlerine karşı çizilen grafiğine *voltamogram* denir. Voltametri; çeşitli ortamlarda meydana gelen yükseltgenme ve indirgenme işlemlerinin incelenmesi, yüzeydeki adsorpsiyon işlemlerinin araştırılması ve elektrot yüzeylerinde gerçekleşen elektron aktarım mekanizmalarının aydınlatılması, moleküler oksijen tayini, farmasötik açıdan önemli türlerin tayini gibi birçok uygulamada kullanılır. Voltametrizde yüzey alanı birkaç mm^2 'den daha küçük çalışma elektrotları kullanılır (mikroelektrotlar). Hatta yüzey alanı birkaç mikrometrekare veya daha küçük elektrotlar kullanılmaktadır [88]. Anot, yükseltgenme reaksiyonlarının gerçekleştiği, katot ise indirgenme reaksiyonlarının gerçekleştiği elektrottur. Katot materyali olarak Hg, C, Ag, Pt, Au ve pek çok metal kullanılabilir. Anot materyali olarak Pt, C, Au veya çeşitli metal oksitler gibi daha sınırlı sayıda materyal kullanılır.

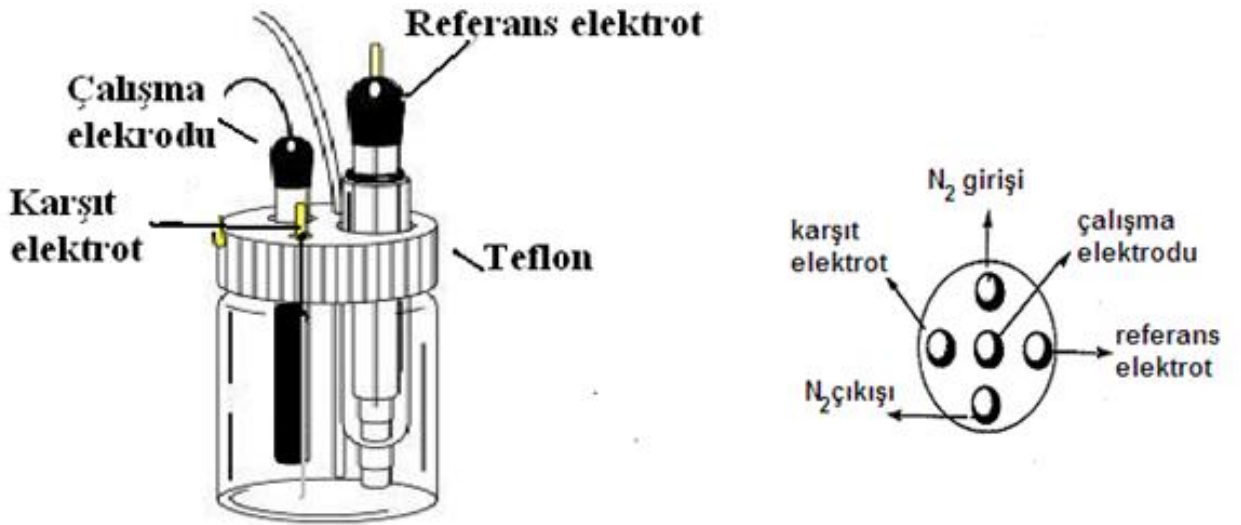
Katot olarak kullanılan bazı metaller, elektrolitik oksidasyon esnasında kolayca oksitleneceğinden anot olarak kullanılmazlar.

Voltametri ile eser düzeyde metallerin ve türlerinin, S^{2-} , CN^- , Cl^- , F^- anyonlarının, IO_3^- , NO_2^- , SCN^- , $S_2O_3^{2-}$, SO_3^{2-} ve SO_2 gibi inorganik bileşiklerin; aromatikler, peroksitler, eterler, nitroaromatikler, aminler, heterosiklik aminler, fenoller, alifatik halojenler, kinonlar, karboksilli asitler, dienler, asetilen gibi organik bileşiklerin tayini yapılmaktadır.

Voltametri, inorganik, fizikokimya, biyokimyada yükseltgenme, indirgenme ve adsorpsiyon olaylarının incelenmesi, hidroliz, çözünürlük, kompleks oluşumu, kimyasal reaksiyonların stokiyometrik ve kinetik incelemelerinde, elektrot reaksiyonlarının mekanizmalarının aydınlatılmasında ve ilaç etken maddeleriyle ilgili çalışmalarda da kullanılmaktadır [88].

2.3.1. Voltametik Hücrenin Bileşenleri

Voltametik ölçümlerde iki ya da üç elektrotlu sistemler kullanılır. Üç elektrotlu hücrelerde çalışma elektrotu ile yardımcı elektrot, iki elektrotlu hücrelerde ise çalışma elektrotu ile karşılaştırma elektrotu ile ölçüm yapılır [90] [91]. Şekil 2.4.'de elektrokimyasal hücre gösterilmektedir.



Şekil 2.4. Elektrokimyasal hücre ve giriş-çıkışlar.

2.3.1.1. Voltametrik Kap

Voltametrik kap, örneğe karşı inert olan herhangi bir materyalden yapılabilir [92]. Genelde cam, kuartz veya teflon hücreler kullanılır.

2.3.1.2. Destek Elektrolit

Elektrokimyasal ölçümler genellikle bir destek elektrolit içeren çözelti ortamlarında gerçekleştirilir. Çözücü seçiminde öncelikle analitin bu ortamdaki çözünürlüğünün iyi olmasına dikkat edilir. Çözücü, analitle tepkime vermemeli ve elektrotta da tepkimeye girmemelidir. *Destek elektrolit*, analit çözeltisine fazla miktarda ilave edilen ve elektrotta tepkimeye girmeyen alkali metal tuzlarıdır [88]. Voltametrde elde edilen akımın yalnız difüzyon kontrollü olabilmesi için ortama iyonik göçün tamamını üstlenmek üzere destek elektrolit eklenir.

2.3.1.3. Çalışma (İndikatör) Elektrotu:

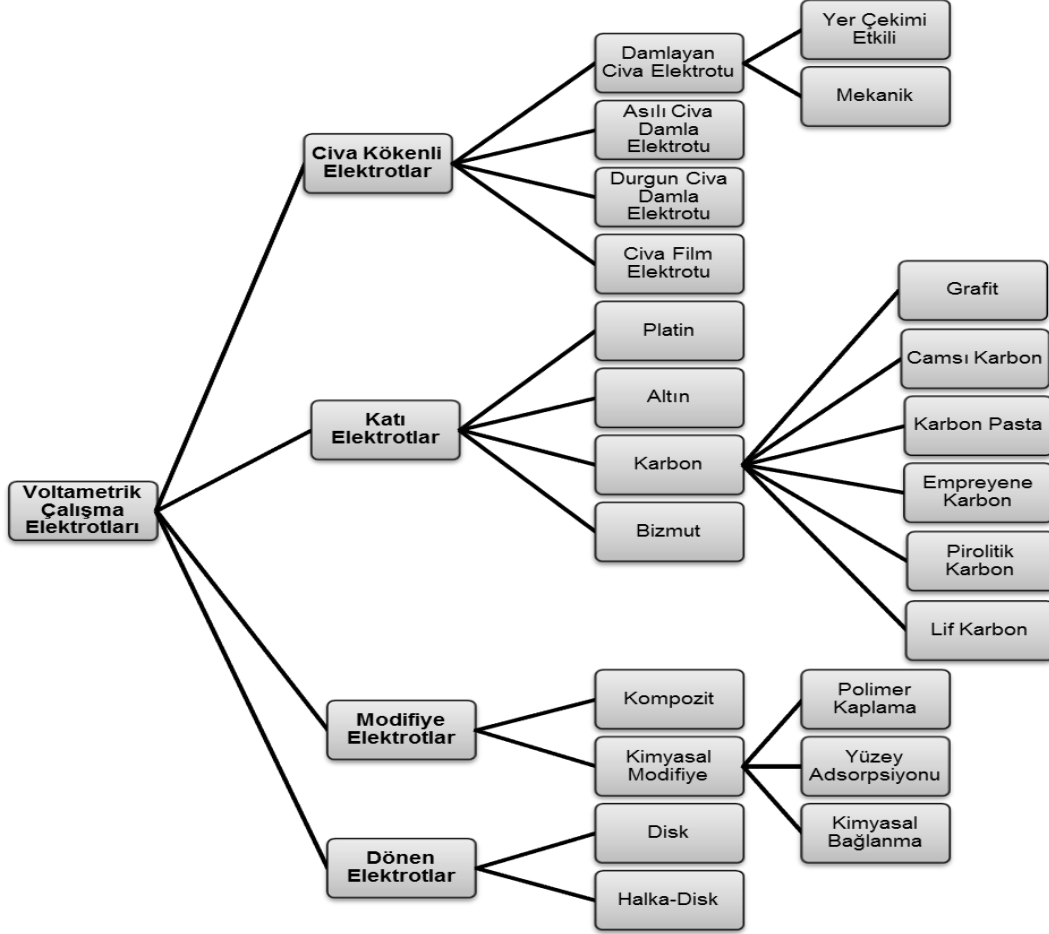
Çalışma elektrotu, zamanla analit derişimindeki değişimlerle potansiyeli doğrusal olarak değişen elektrottur. Analit bu elektrot üzerinde yükseltgenir veya indirgenir. Potansiyometrik ölçümlerde her zaman katot olarak işlem görür [88].

Başarılı bir çalışma elektrotu için elektrotun hazırlandığı materyal; kullanıldığı koşullarda kimyasal olarak inert, geniş bir potansiyel aralığında elektrokimyasal olarak inert, elektron aktarabilir ve elektriksel direnci düşük ve geniş potansiyel aralığındaki artık akımı düşük olmalıdır.



Şekil 2.5. Altın çalışma elektrotu

Çizelge 2.3. Voltametrde kullanılan çalışma elektrotlarının sınıflandırılması



2.3.1.4. Karşılaştırma (Referans) Elektrot

Referans elektrotlar, yarı hücre potansiyeli sabit, çalışılan çözeltinin bileşiminden bağımsız ve potansiyel değeri bilinen elektrotlardır. Referans elektrot, çalışma elektrotunun potansiyelini ölçer, tepkime ile hiç bir ilgisi yoktur. İndirgenme ve yükseltgenme potansiyellerinin tam olarak belirlenebilmesi, bağlantılardaki ve çözelti içindeki potansiyel kaybının ve ayrıca çözelti direncinin giderilmesi için referans elektrot kullanılmalıdır. Bir referans elektrot kolay hazırlanabilmeli, belli bir akım aralığında tersinir davranmalı, geriliminin sıcaklıkla değişme katsayısı küçük olmalıdır. Voltametrde karşılaştırma elektrotu olarak ikinci sınıftan metal-metal iyonu elektrotları kullanılır. En çok kullanılan referans elektrotlar; standart hidrojen elektrodu, doymun kalomel elektrot (DKE) ve gümüş-gümüş klorür elektrotlarıdır.



Şekil 2.6. a) Doygun Kalomel referans elektrot, b) Ag/AgCl referans elektrot

2.3.1.5. Karşıt (Yardımcı) Elektrot

İki elektrotlu sistemlerdeki polarlanmayan elektrot, üzerinden akım geçtiği için, yüksek akımlarda polarlanır. Ayrıca çözelti direnci yüksek ise bu direnci yenmek için gerekli olan potansiyel önemli bir düzeye çıkar. Bu iki nedenden çalışma elektrotunun polarizasyon potansiyeli hatalı okunabilir. Bu sorun, sistemde üçüncü bir elektrot kullanılarak çözümlenir. Akım, çalışma elektrotu ile yardımcı elektrot ikilisinden geçirilir ve çalışma elektrotunun potansiyeli karşılaştırma elektrotuna karşı sıfır akım altında saptanır. *Yardımcı elektrot*, reaksiyon ilgisi olmayan ve elektrokimyasal hücrede akımı taşıyan elektrottur. Akım yardımcı elektrot üzerinden geçtiği için bu elektrotların soy metal olmaları gerekir. Bu nedenle daha çok platin, grafit, tantal ya da tungsten tel çubuklar kullanılır. Bu elektrotların alanı çalışma elektrotu alanının en az elli katı olmalıdır. Ayrıca çok küçük hacimlerle çalışıldığında yardımcı elektrotta oluşan ürünlerin, çalışma elektrotunda girişim yapmayacağı elektrot türü seçilmelidir.



Şekil 2.7. Platin karşıt elektrotlar

2.3.2. Voltametik Analizi Etkileyen Parametreler

2.3.2.1. Destek Elektrolit-Çözücü Seçimi

Daha önce bahsedildiği gibi destek elektrolit ve çözücü elektrotta tepkimeye girmemelidir. Destek elektroliti ve çözücüyü seçerken, analite karşı inert olma, elektriksel iletkenlik, çözme gücü, vizkozite, dielektrik sabiti, kolay bulunabilirlik, ucuzluk, kolay saflaştırılabilir olma gibi özellikler göz önünde bulundurulur.

2.3.2.2. pH Ayarı

Çoğu organik molekülün elektrottaki tepkimesi sırasında H^+ üretimi ya da tüketimi nedeniyle akım-potansiyel ilişkileri pH'ya bağlı olur. Bu bağımlılığın oluşturacağı yanılığlardan kurtulmak için ortam pH'sının yüksek kapasiteli tampon sistemlerle korunması gerekir. Aynı zamanda seçilen tamponun çalışma potansiyel aralığını daraltmaması da gerekir.

2.3.2.3. Sıcaklık Kontrolü

Sıcaklık, difüzyon katsayısı değerini etkiler ve bu nedenle ölçülen akım değişir. Sıcaklıktaki $10^{\circ}C$ 'lik fark, difüzyon katsayısını yaklaşık %1-2 oranında değiştirir. Limit akım kinetik kontrollü olduğunda da sıcaklığın etkisi olacaktır. Bu nedenle çalışmalar termostatik koşullarda yapılmalı ve sıcaklık $\pm 0.5^{\circ}C$ aralığında sabit tutulmalıdır.

2.3.2.4. Oksijenin Uzaklaştırılması

Geniş bir aralıkta indirgenme dalgaları vermesi ve güçlü bir yükseltgen olması nedenleriyle, oksijen voltametik çalışmalarda aşağıdaki sorunları yaratır;

1. O_2 'nin indirgenmesi ek bir faradaik akım yaratır.
2. O_2 'nin indirgenmesine ilişkin dalgalar, geniş bir potansiyel aralığını kapsadığından, analit dalgalarıyla girişim yapar.
3. Kimi analitler oksijenle tepkime verebilir. Örneğin ağır metal iyonları varlığında metal oksitleri oluşur veya anodik sıyırma voltametrisinde toplanan metalin yükseltgenmesine neden olur.

Bu sakıncalar nedeniyle çalışmaya başlamadan önce, çözünmüş oksijenin çözüldüğüden N_2 , He, CO_2 gibi elektroinert bir gaz geçirilerek uzaklaştırılması gerekir. İnert gaz geçirme süresi; 2-30 dakika kadardır. Pratikte, oksijene ait bu dalgalar tamamen

kaybolana dek gaz geçirme işlemi sürdürülür. Ayrıca çalışma süresince sisteme atmosferik oksijenin difüzenmesini önlemek amacıyla, çözelti inert gaz atmosferinde tutulur. Bazik çözellilerle çalışıldığında, oksijen sodyum sülfid ile de giderilebilir.

2.3.2.5. Polarografik Maksimumların Giderilmesi

Polarografik dalgaların limit akım bölgelerinde maksima denilen tepelikler oluşur. Maksima yükseklikleri derişimle orantılı değildir. O nedenle difüzyon akımının sağlıklı ölçülmesini engeller ve giderilmeleri gerekir. Bu amaçla ortama yüzey etkin maddeler katılır. Bunlar jelatin, metil kırmızısı gibi büyük moleküllü organik maddelerdir. Yüzey etkin maddelerin aşırısı, limit akım yüksekliğini düşürdüğü için, ekleme fazla olmamalı ve rutin çalışmalarda her seferinde aynı miktar olmalıdır [133].

2.3.2.6. Elektrotlara Yapılan Ön İşlemler

Elektrooksidasyon olayları, elektroredüksiyon olaylarına oranla daha az incelenmiştir. Bunun nedeni, polarografide damlayan civanın daima yenilenerek temiz bir yüzey sağlaması ve bu nedenle de tekrar edilebilir sonuçlar elde edilebilmesidir. Ancak bu elektrot pozitif potansiyellerde yükseltgendiği için elektrooksidasyon olaylarının incelenmesi için uygun değildir. Katı elektrotlar da elektrooksidasyonda kullanabilmelerine karşın yüzey, adsorblanabilen maddelerle kaplandığından veya elektrotların kendileri yükseltgindiklerinden ve oksitle kaplandıklarından tekrar edilebilirliğin sağlanması için her deneyden önce aynı yüzey halinin oluşturulması gerekmektedir. Ön işlem hem elektrotun cinsine, hem deney çözellisinin bileşimine bağlıdır. Fiziksel, kimyasal, elektrokimyasal ön işlemler yapılabilir.

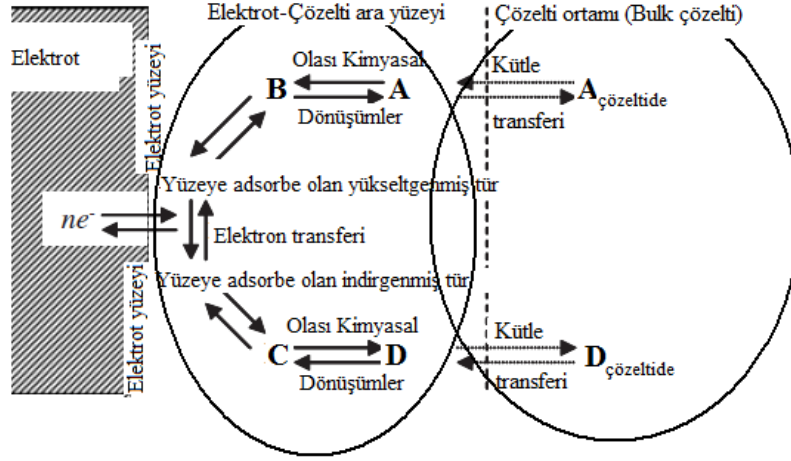
2.3.3. Voltametric Akım Çeşitleri ve Elektron Aktarımı

Diğer elektrokimyasal yöntemlerde olduğu gibi voltametric çalışmalarda da kaynağına göre iki farklı akım vardır [93]:

- 1. Kapasitif akım:** Çalışmalarda kullanılan çözücü-destek elektrolit moleküllerinin çalışma elektrotu çevresinde bulunan kısımları uygulanan potansiyel sonucunda bir kapasitör gibi davranır. Bu kapasitörlerin elektriksel yüklenmeleri sonucu oluşan akıma kapasitif akım denir. Bazı kaynaklarda *artık akım* olarak da isimlendirilen bu akımın elektron transferi ile ilgisi yoktur. Kullanılan çözücü-destek elektrolit çeşiti ve derişimi, sıcaklık, çalışma elektrotu

cinsi ve yüzey alanı, pH ve tarama hızı gibi bazı deneysel parametrelerden etkilenir. Elektrokimyasal tayin yöntemi çalışmalarında bu akım bileşeninin minimum olması istenir.

2. **Faradayik akım:** Elektron aktarımı sonucu oluşan akımdır. Elektrokimyasal çalışmalarda değerlendirilen ve değerlendirilmesi sonucu sistem ile ilgili termodinamik ve/veya kinetik bilgilerin elde edildiği akım çeşitidir.



Şekil 2.8. Elektrokimyasal çalışmalarda pik şeklini ve pik akımını etkileyen olası dönüşümler

Şekil 2.8’de de görüldüğü gibi elektrot yüzeyinde veya elektrot/çözelti ara yüzeyinde gerçekleşecek olan elektron aktarımı, elektron aktarımını gerçekleştirecek olan türlerin bu bölgelere taşınmasını sağlayan kütle aktarımına oldukça bağlıdır ve bu aktarımın genel olarak üç farklı şekilde gerçekleştiği bilinmektedir [93]:

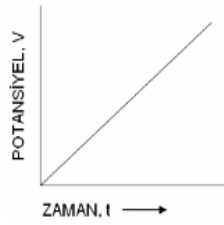
1. **Difüzyon:** Atom, iyon veya moleküllerin bölgeler arasındaki derişim farkından dolayı kendiliğinden gerçekleştirdikleri taşınma hareketidir. Bu taşınmanın hızı sıcaklık, tanecik büyüklüğü ve derişim farkı gibi faktörlerden etkilenir ve söz konusu hareket bölgelerdeki derişimler eşitleninceye kadar devam eder.
2. **Göç (Migrasyon):** Taneciklerin elektrostatik etki ile taşınmasıdır. Elektrokimyasal çalışmalarda çalışma elektrotuna uygulanan potansiyelin polaritesine göre hücredeki türlerin elektrot yüzeyine yaklaşma veya elektrot yüzeyinden uzaklaşma yönünde hareket ettiği düşünülmektedir.

3. Konveksiyon (Nakil): Çözeltide bulunan türlerin çözeltinin karıştırılması ile taşınması olayıdır.

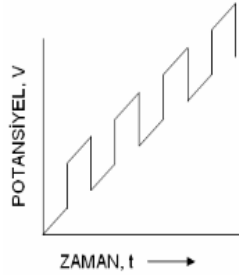
Elektrokimyasal çalışmalarda çalışma elektrotu ve çalışmaların yapıldığı tür arasında gerçekleşen elektron aktarımı ya çözelti-elektrot ara yüzeyinde ya da elektrot yüzeyinde gerçekleşir.

2.3.4. Voltametrik Yöntemler

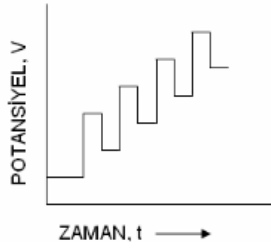
Voltametrde en çok kullanılan uyarma sinyallerinden dördü Şekil 2.9'da verilmiştir.



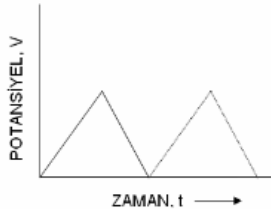
a. Doğrusal Taramalı Voltametri.



b. Diferansiyel Puls Voltametri.



c. Kare Dalga Voltametrisi.



d. Dönüştümlü Voltametri.

Şekil 2.9. Voltametrde en çok kullanılan uyarma sinyalleri.

2.3.4.1. Diferansiyel Puls Voltametri

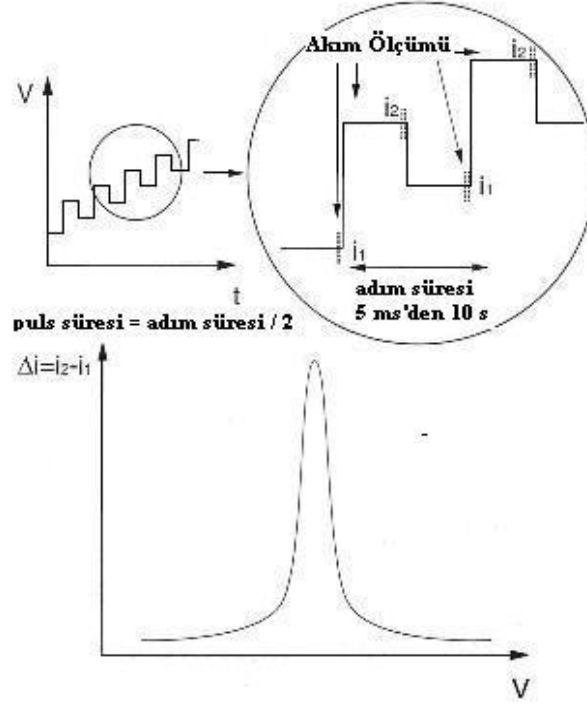
Diferansiyel puls voltametri, organik ve inorganik türlerin eser miktarlarının ölçülmesinde son derece kullanışlı bir tekniktir. Bu yöntemde, doğrusal bir potansiyel artışına göre ayarlanmış sabit büyüklükte pulslar (dE/dt), çalışma elektrotuna belli bir süre uygulanır. İki kez akım ölçülür. Birincisi, puls uygulanmadan önce yani tam pulsun başladığı anda potansiyelde bir artış olmadan, ikincisi, pulsun bitmesine yakın bir bölgede ölçülür. Bu iki akım arasındaki fark, ΔI_{puls} olarak verilir. Sonunda, uygulanan potansiyele karşı bu akım farklarının grafiğe geçirilmesiyle diferansiyel puls voltamogramı elde edilir [94].

DPV, en çok kullanılan elektroanalitik yöntemlerden biridir. Normal puls voltametriyle karşılaştırıldığında iki üstünlüğü vardır. Birincisi, her bir analitin analitik pikleri birbirinden kolayca ayrılabilmesi için tek bir voltamogramda pek çok analitin belirlenebilmesini sağlamaktır. İkinci üstünlüğü ise, diferansiyel akımla çalışılması ve böylece voltametrik bir pikin elde edilmesiyle analitik duyarlılığın $5.0 \times 10^{-8} M$ dan $1.0 \times 10^{-8} M$ a kadar gelişmesidir [94].

2.3.4.2. Kare Dalga Voltametri

Diferansiyel puls voltametri yönteminde olduğu gibi bu yöntemde de her bir puls döngüsünde iki defa akım ölçülür. DPV yönteminden temel farkı ise geri yönde de puls uygulanmasıdır. Akımın ileri yönde uygulanan pulsun bitişi ile geri yönde uygulanan pulsun bitişinde ölçülür ve net akım olarak iki akım arasındaki fark alınır. Bu durumda hesaplanan net akım hem ileri yönde uygulanan pulsun akımından hem de geri yönde uygulanan pulsun akımından daha büyük olacaktır. Çünkü ileri yönde uygulanan pulsun akımı pozitif, geri yönlü pulsun akımı ise negatiftir. Bu durumda elde edilen voltamogram yarı pik potansiyeline göre simetrik ve akımı elektroaktif türün derişimi ile doğrusal değişen bir grafiktir [94] [95]. Kare dalga voltametrisini DPV'den ayıran en önemli iki özellik kare dalga voltametrisinde tarama hızının ve akımın daha yüksek olmasıdır. Hızın yüksek olması rutin analizlerde zaman tasarrufunun yanında çalışma elektrotu olarak damlayan civa elektrot kullanıldığında bir tek damlada ölçüm yapılabilmesini sağlarken, akımın yüksek olması daha yüksek

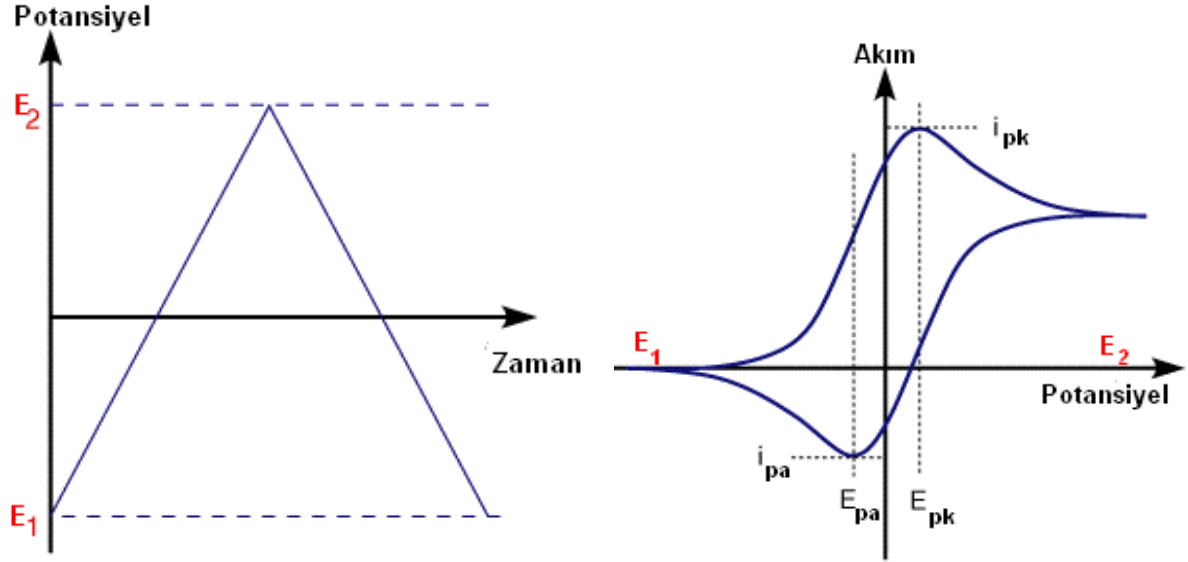
duyarlılığa ve daha düşük alt tayin sınırına sahip tayin yöntemlerinin geliştirilmesini sağlamaktadır [93].



Şekil 2.10. Kare-Dalga voltammetrisi tarama programı ve voltammogramı.

2.3.4.3. Dönüşümlü Voltametri (CV)

Dönüşümlü voltametri tekniği elektrokimyasal teknikler içinde en yaygın kullanılan tekniktir. Bu teknikte potansiyel, zamanla doğrusal olarak değiştirilir. Potansiyelin zaman ile değişmesi tarama hızı olarak adlandırılır. Potansiyel taraması bir E₁ başlangıç potansiyeli ve E₂ potansiyeli arasında yapılırsa metot *doğrusal taramalı voltametri* adını alır. Eğer E₂ potansiyeline ulaşıldıktan sonra aynı tarama hızıyla ilk tarama yönüne göre ters yönde tarama yapılırsa metotun adı *dönüşümlü voltametri* olur. Ters taramada potansiyel E₁'de sonuçlanabileceği gibi farklı bir E₃ potansiyeline de götürülebilir. İleri taramada indirgenme olmuşsa ters taramada yükseltgenme meydana gelir. Doğrusal taramalı voltametri analitik çalışmalar için uygun bir metottur. Fakat elektrot mekanizmalarının incelenmesinde, adsorpsiyon olayının araştırılmasında ve kinetik çalışmalarda CV tekniği daha çok kullanılır.



Şekil 2.11. Dönüşümlü voltametri de potansiyel taramasının zamanla değişimi, tersinir bir elektrot olayı için akım-potansiyel eğrisi

Gerek doğrusal taramalı voltametri de gerek CV’de akım, potansiyele karşı grafiğe geçirilir. Çok yüksek tarama hızlarında çift tabaka yüklenmesi ve IR problemleri ortaya çıkar. Ancak mikroelektrot kullanıldığı zaman bu tür problemler minimuma indirilir.

CV’de tarama hızı değiştirilerek pik yüksekliklerinin tarama hızı ile değişmesinden adsorbsiyon, difüzyon ve elektron aktarım reaksiyonuna eşlik eden kimyasal reaksiyon olaylarının varlığı ve tabiatı belirlenebilir. Ayrıca ileri ve geri tarama piklerinden reaksiyon mekanizması hakkında fikir edinilebildiği gibi ileri taramadan kinetik veriler de bulunabilir. CV’de genellikle katodik ve anodik yöndeki tarama hızları eşit alınır. Ancak özellikle hızlı homojen kimyasal reaksiyonların varlığında anodik ve katodik tarama hızları farklı da alınabilir. CV’de elde edilen pik akımının büyüklüğü elektroaktif maddenin derişimi, aktarılan elektron sayısı, elektrot yüzey alanı ve difüzyon katsayısı ile değişir.

Elektroanalitik çalışmalarda genellikle ilk olarak uygulanan deneysel basamaktır. Özellikle, elektroaktif türlerin redoks potansiyellerinin yerinin hızlı bir şekilde belirlenmesini ve ortamın redoks reaksiyonuna etkisinin değerlendirilmesini sağlar [94].

Elektron aktarımının çözeltili-elektrot ara yüzeyinde gerçekleştiği elektrokimyasal dönüşümler kinetik kontrollü veya difüzyon kontrollü sistemler olarak adlandırılırken, bu aktarımın elektrot yüzeyinde gerçekleştiği dönüşümlere ise adsorpsiyon kontrollü sistemler denilmektedir. CV, gerçekleşen elektrokimyasal değişimin yukarıda verilen iki temel sistemden hangisine ait olduğunu belirlemede en sık kullanılan deneysel yöntemdir. Bunun belirlenmesinde CV çalışmalarında elektro aktif türün derişimi sabit tutularak tarama hızı (V) çalışması yapılır. Bu çalışmalarda potansiyel tarama hızı sistematik olarak değiştirilir ve işaretine bakılmaksızın I_p 'nin V ile değişimi incelenir. Bu incelemede aşağıda tanımlanan grafikler oluşturulur [93]:

1. Tarama hızına karşı pik akımı (I_p -V)
2. Tarama hızının kareköküne karşı pik akımı (I_p - \sqrt{V})
3. Tarama hızının logaritmasına karşı pik akımının logaritması ($\log I_p$ - $\log V$)

I_p -V grafiğinin doğrusal olması ve $\log I_p$ - $\log V$ grafiğinin eğiminin 1.0 değerine yaklaşması incelenen elektrot aktarımının elektrot yüzeyinde gerçekleştiğini (adsorpsiyon kontrollü olduğunu) belirtir. I_p - \sqrt{V} grafiğinin doğrusal ve $\log I_p$ - $\log V$ grafiğinin eğiminin 0.5 değerine yaklaşması ise incelenen elektron aktarımının elektrot-çözeltili ara yüzeyinde gerçekleştiğini (difüzyon kontrollü olduğunu) gösterir [93] [94] [96] [97]. Dönüşümlü voltametri bu incelemeler yapılırken V değerlerinin çok yüksek veya çok düşük değerlerde olmamasına dikkat edilmelidir. Zira V'nin saniyede birkaç milivolt olduğu çok düşük değerlerde tutulması durumunda söz konusu elektroaktif türün elektrot yüzeyine adsorbe olmak için yeterli zaman bulacağı ve incelenen dönüşümün difüzyon kontrollü olsa bile adsorpsiyon kontrollüymüş gibi görüleceği bilinmelidir. V'nin saniyede birkaç volt gibi yüksek seçilmesi durumunda ise adsorpsiyon kontrollü mekanizmalardaki elektroaktif türün yüzeye yeterince adsorbe olması zaman yetersizliğinden dolayı mümkün olmayabilecek ve bu durumda sistem difüzyon kontrollüymüş gibi algılanacaktır. Bu sebeple CV çalışmalarında sistemin adsorpsiyon kontrollü mü, difüzyon kontrollü mü olduğuna karar vermek için yapılan tarama hızı çalışması makul seviyedeki tarama hızı değerlerinde yapılmalıdır [93].

CV çalışmalarında V çalışması sadece yukarıdaki sonuçların elde edilmesi için yapılmaz. V çalışmaları dönüşümlerde gerçekleşebilecek olası radikalik ara ürünlerin

tespitinde ve bu ara ürünlerin çalışmaların yapıldığı ortamdaki göreceli kararlılığının belirlenmesinde de kullanılmaktadır. Bu tür çalışmalarda seçilen V değeri önem kazanmaktadır. Ancak çok yüksek V seçilerek yapılan çalışmalarda oldukça yüksek kapasitif akım ile karşılaşılacağı göz önünde tutulmalıdır. Bu tür çalışmalarda çözeltiye elektroaktif tür eklenmeden alınan ölçümlerdeki akım değerleri elektroaktif tür eklendikten sonra alınan ölçümlerdeki akım değerlerinden çıkarılarak net akımların kullanılması daha doğru sonuçlar verebilmektedir [93].

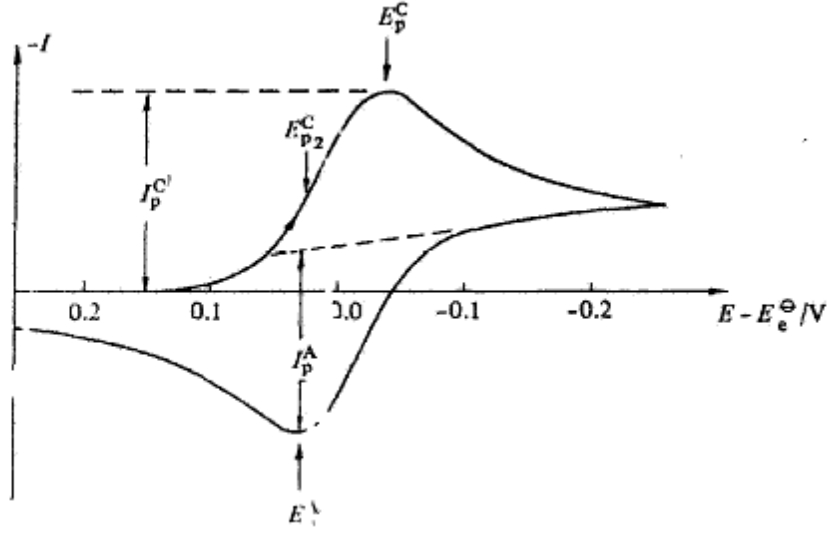
Yapılan çalışmalarda elektrokimyasal dönüşümün hangi olay tarafından kontrol edildiğinin (difüzyon/adsorpsiyon) anlaşılması için daha detaylı çalışmalar da mevcuttur. Bu çalışmalarda yine tarama hızı çalışmalarında yukarıda verilenlerin yanında şu grafikler de oluşturulmaktadır [95]:

1. Derişime karşı pik akımının derişime oranı ($I_p/C-C$)
2. Tarama hızına karşı pik akımının derişim ve tarama hızının çarpımına oranı ($I_p/CV-V$)
3. Tarama hızına karşı pik akımının derişim ve tarama hızının karekökünün çarpımına oranı ($I_p/\sqrt{CV-V}$)

Bu çalışmalarda $I_p/C-C$ grafiğinin azalan bir yaklaşım göstermesi, $I_p/CV-V$ grafiğinin makul değerlerdeki tarama hızlarında yaklaşık olarak sabit kalması, $I_p/\sqrt{CV-V}$ grafiğinin ise artan yönde yaklaşım sergilemesi incelenen elektron aktarımının yüzeye adsorbe olan türler ile elektrot arasında gerçekleştiğini göstermektedir [93].

2.3.4.3.1. Tersinir Tepkimelerin Dönüşümlü Voltamogramı

Tersinir sistemlerde, ileri yöndeki potansiyel taraması sırasında bir yükseltgenme olmuşsa, potansiyel taraması tersine çevrildiğinde yükseltgenme sırasında oluşan ürünün elektrotta yeniden indirgenmesi ile bu yönde de bir pik gözlenebilir.



Şekil 2.12. Tersinir bir elektrot reaksiyonun dönüşümlü voltamogramı

Tersinir bir elektrot reaksiyonunun pik akımı 25°C sıcaklıkta aşağıdaki eşitlikle gösterilir. Bu eşitliğe *Randles-Sevcik* eşitliği adı verilir.

$$i = (2,69 \times 10^5) \times n^{3/2} \times A \times \sqrt{D} \times \sqrt{V} \times C$$

Bu eşitlikteki terimlerin anlamları aşağıdaki gibidir;

i : Pik akımı, A

D : Elektroaktif türün difüzyon katsayısı, tipik değeri 10^{-5} cm²/s'dir.

V : Tarama hızı, V/s

C : Elektroaktif türün derişimi, mol/cm³

n : Aktarılan elektron sayısı, mol e⁻/mol molekül

A : elektrot yüzey alanı, cm²

Bu eşitliğe göre akım, derişimle ve \sqrt{V} ile doğru orantılıdır.

CV tekniği ile sistemin tersinirlik testi yapılabilir. Bunun için sistemin bazı kriterlere uyması gerekmektedir [96]:

1. $i - \sqrt{V}$ grafiği doğrusal olmalıdır.

2. Pik potansiyelleri arasındaki farkın aşağıdaki eşitliğe uyması gerekir. Bu eşitlik kullanılarak, gerçekleşen elektrokimyasal tepkimede aktarılan elektron sayısı hesaplanabilir.

$$\Delta E_p = E_{p,a} - E_{p,k} = \frac{0,059}{n} V$$

$E_{p,a}$: Anodik pik potansiyeli, V

$E_{p,k}$: Katodik pik potansiyeli, V

n: Aktarılan elektron sayısı, mol e^- /mol molekül

Yarı pik potansiyeli ($E_{p/2}$) ile yarı dalga potansiyeli ($E_{1/2}$) arasındaki ilişki de aşağıdaki gibidir.

$$E_{p/2} = E_{1/2} \pm \frac{0,028}{n} V$$

3. Potansiyel tarama hızı ile değişmemelidir.
4. $I_{p,a}/I_{p,k} = 1$ olmalı ve bu oran tarama hızı ile değişmemelidir.
5. Pik potansiyelinden daha negatif potansiyelerde akım, \sqrt{t} ile orantılı olmalıdır.

Bir sistemin tersinir olması için yukarıdaki kriterlerin hepsinin geçerli olması gereklidir.

2.3.4.3.2. Tersinmez Tepkimelerin Dönüşümlü Voltamogramı

Tamamen tersinmez sistemlerde anodik pik gözlenmez. Anodik pik gözlenmeyişi her zaman sistemin tersinmez olduğunu ispatlamaz. Elektron aktarım basamağını takip eden çok hızlı kimyasal bir reaksiyon varlığında yani oluşan ürün, hızlı bir şekilde başka bir maddeye dönüştüğünde de anodik pik gözlenmeyebilir. Tersinmez sistemlerde elektron aktarım hızı yeteri kadar büyük olmadığından elektrot yüzeyinde Nernst eşitliği geçerli değildir. Bu durumda CV voltamogramının şekli, tersinir durumdan farklıdır. Tersinmez durumlarda tarama hızı çok düşük ise, elektron aktarım hızı kütle aktarım hızından daha yüksektir ve sistem tersinir gibi gözlenebilir. Tarama hızı arttıkça kütle aktarım hızı elektron aktarım hızı ile aynı seviyeye gelir. Bu durum tarama hızı arttıkça anodik ve katodik pik potansiyellerinin

birbirinden uzaklaşması ile belli olur. Tersinmez elektron aktarım reaksiyonlarında standart hız sabiti tersinir reaksiyonlardakine göre daha küçüktür.

Tersinmez sistemler için pik akımının matematiksel ifadesi aşağıdaki gibidir. Pik akımı tersinir sistemlerde olduğu gibi derişime bağılıdır ve α (yük aktarım katsayısı) değeri ile değışir.

$$i_p = (2,99 \times 10^5) \times n \times (\alpha n')^{1/2} \times A \times C \times \sqrt{D} \times \sqrt{V}$$

Bu eşitlikteki n , elektrot mekanizmasında aktarılan toplam elektron sayısı, n' ise hız belirleyen basamakta aktarılan elektron sayısıdır.

Ayrıca tersinmez elektrot mekanizmalarında pik potansiyeli ile yarı pik potansiyeli arasındaki fark:

$$E_p - E_{p/2} = (1.857RT/\alpha nF) \text{mV}$$

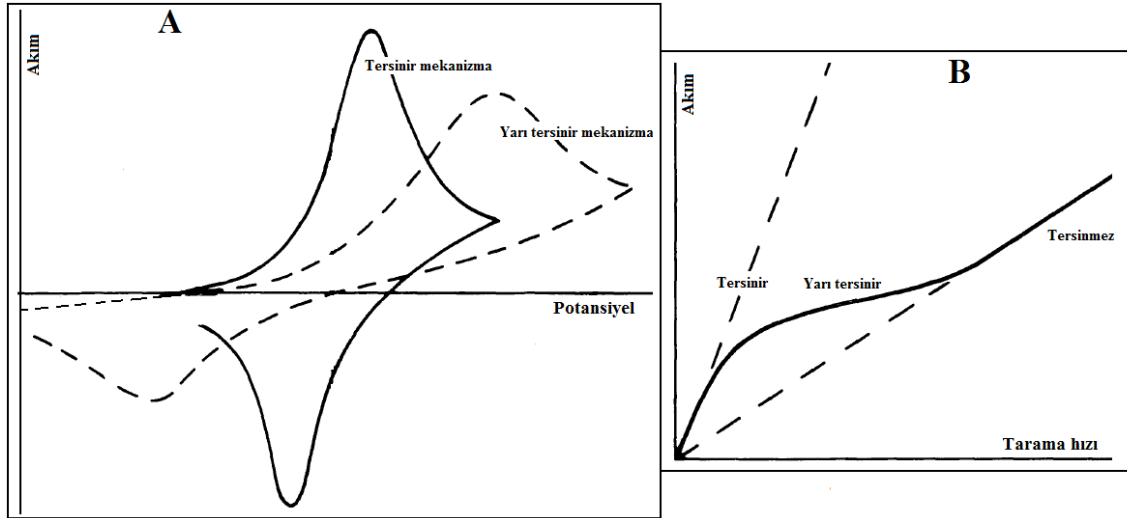
şeklinde ifade edilir.

F: Faraday sabitini, 96485 C/mol e-

R: ideal gaz sabiti, 8.3145 J/mol K

T: mutlak sıcaklığı, K

α : yük aktarım katsayısı



Şekil 2.13. a)Dönüşümlü voltametri çalışmalarında tersinir ve yarı tersinir mekanizmalara ait voltamogramlar, b)Tarama hızı ile mekanizma arasındaki bağlantı.

Dönüşümlü voltametri ile tersinmez bir reaksiyonun tanınma kriterleri [96]:

1. Anodik pik gözlenmez.
2. Akım tarama hızının karekökü ile doğru orantılı olarak değişir.
3. Pik potansiyeli tarama hızının logaritması ile yaklaşık olarak $30/(\alpha n)$ değerine eşit bir eğim ile değişir (α , yük transfer katsayısıdır).
4. $|E_p - E_{p/2}| = 48/(\alpha n)$ mV'dur.

2.3.4.3.3. Yarı Tersinir Tepkimelerin Dönüşümlü Voltamogramı

Yarı tersinir sistemlerde akım, hem elektron aktarımı hem de kütle aktarımı ile kontrol edilir. Tarama hızı arttıkça tersinmezlik eğilimi artar; aynı zamanda pik potansiyelinde tarama hızıyla kayma kaydedilir. Anodik ve katodik pikler birbirinden uzaklaşır.

Dönüşümlü voltametri bir reaksiyonun yarı tersinirlik kriterleri [96]:

1. i_p , \sqrt{V} ile artar ancak doğrusal değildir.
2. $E_{p,k}$, tarama hızı ile değişir bu değişim genellikle tarama hızının artması ile negatif değerlere kayma yönündedir.
3. $i_{p,a}/i_{p,k} = 1$ olmalıdır ($\alpha = 0.5$ ise).
4. $E_{p,k} - E_{p,a}$ farkı düşük tarama hızlarında $59/n$ 'e yaklaşmalıdır.
5. Pik potansiyeli tarama hızının logaritması ile yaklaşık olarak $30/(\alpha n)$ değerine eşit bir eğim ile değişir.

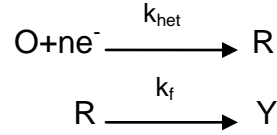
2.4.5.3.4. CV ile Tepkime Mekanizmasının Belirlenmesi

Dönüşümlü voltametrenin en önemli uygulamalarından biri kimyasal reaksiyonların redoks basamakları için nitel bilgiler elde edilmesini sağlamaktır. Bu tip reaksiyon mekanizmaları, genellikle, redoks basamağı için E ve kimyasal basamaklar için C harfleri kullanılarak gösterilir [95] [96] [97].

Çizelge 2.4. Kimyasal reaksiyonlarla birlikte gerçekleşen elektrokimyasal mekanizmalar

1. Kimyasal bir reaksiyonun olmadığı tersinir elektron transferi: Yük + $n e^- \leftrightarrow$ İnd
2. Tersinir bir elektron aktarımının ardından tersinir bir kimyasal reaksiyonun gerçekleştiği; $E_T C_T$ mekanizması: Yük + $n e^- \leftrightarrow$ İnd İnd \leftrightarrow Z
3. Tersinir bir elektron aktarımının ardından tersinmez bir kimyasal reaksiyonun gerçekleştiği; $E_T C_i$ mekanizması: Yük + $n e^- \leftrightarrow$ İnd İnd \rightarrow Z
4. Tersinir bir kimyasal reaksiyonun ardından tersinir bir elektron aktarımı; $C_T E_T$ mekanizması: Z \leftrightarrow Yük Yük + $n e^- \leftrightarrow$ İnd
5. Tersinir bir kimyasal reaksiyonun ardından tersinmez bir elektron aktarımı; $C_T E_i$ mekanizması: Z \leftrightarrow Yük Yük + $n e^- \rightarrow$ İnd
6. Tersinir bir elektron aktarımının ardından başlangıç maddesinin tersinmez olarak yeniden oluştuğu katalitik mekanizma: Yük + $n e^- \leftrightarrow$ İnd İnd + Z \rightarrow Yük
7. Tersinmez bir elektron aktarımının ardından başlangıç maddesinin tersinmez olarak yeniden oluştuğu katalitik mekanizma: Yük + $n e^- \rightarrow$ İnd İnd + Z \rightarrow Yük
8. Araya bir kimyasal reaksiyonun girdiği çoklu elektron aktarımı; ECE mekanizması: Yük + $n_1 e^- \leftrightarrow$ İnd İnd \leftrightarrow Y Y + $n_2 e^- \leftrightarrow$ Z

EC mekanizmasında, elektrokimyasal basamağı bir kimyasal basamak takip etmektedir. EC mekanizması şematik olarak şöyle gösterilir.

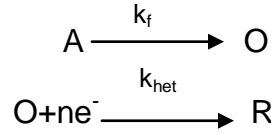


Elektrokimyasal reaksiyonun hız sabiti, heterojen hız sabiti adını alır ve k_{het} ile, kimyasal reaksiyonun hız sabiti ise k_f ile gösterilir. EC mekanizmasına göre tarama hızındaki artma ile katodik pik akımı artar ve pik potansiyeli negatife kayar. Yukarıdaki mekanizmaya göre yürüyen bir sistemde R türü, takip eden kimyasal reaksiyonun hızından etkilenmektedir. Eğer kimyasal reaksiyon hızlı ve tarama hızı düşük ise, R türü hızlı bir şekilde elektrot yüzeyinde kimyasal reaksiyon ile tüketilmekte ve bu nedenle anodik pik gözlenmemektedir. Tarama hızı arttırıldığında ise anodik pik ortaya çıkmaktadır.

EC mekanizması için testler aşağıdaki gibidir [96]:

1. $|i_{p,a}/i_{p,k}| < 1$ 'dir. Ancak V arttıkça bu değer 1'e yaklaşmalıdır.
2. $i_{p,k}/\sqrt{V}$ oranı V arttıkça çok az da olsa azalmalıdır.
3. $E_{p,k}$, tersinir durumdakinden daha pozitif olmalıdır.
4. Artan V ile $E_{p,k}$ negatif bölgeye kayar ve saf kinetik bölge için V 'deki 10 kat artış $30/n$ mV kaymaya neden olmalıdır.

Bir elektrot reaksiyonunda elektron aktarım basamağından önce elektroaktif maddenin oluşmasına yol açan bir kimyasal reaksiyonun bulunması CE mekanizması olarak adlandırılır ve aşağıdaki genel reaksiyon ile gösterilir.

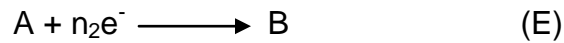


Bu eşitliklerde A, elektroaktif olmayan bir maddeyi ifade etmektedir. Bu maddenin elektrot yüzeyinde ne indirgendiği ne de yükseltildiği kabul edilir. Elektroaktif tür O maddesidir. O ile gösterilen elektroaktif türün, indirgenmesi ile konsantrasyonu azalır ve kimyasal reaksiyon sağa doğru kayar.

CE mekanizması kriterleri [96]:

1. Tarama hızındaki artış E_p 'yi anodik yöne kaydırır.
2. Tarama hızındaki artış ile $i_{p,k}/\sqrt{V}$ oranı azalır.
3. $i_{p,a}/i_{p,k}$ oranı her zaman 1'e eşit veya birden büyüktür ve tarama hızındaki artış ile artar.

CV ile belirlenebilen diğer bir mekanizma ise ECE mekanizmasıdır. ECE mekanizmasında birinci basamakta bir elektrokimyasal basamak gerçekleşmektedir. Bu basamağı bir kimyasal basamak takip eder. Sonra ikinci bir elektron aktarım basamağı tekrar meydana gelir.

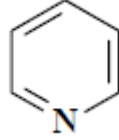


ECE mekanizmasına göre yürüyen bir elektrot reaksiyonu aşağıdaki kriterlere uymalıdır [96]:

1. $|i_{p,k}/\sqrt{V}|$ değeri tarama hızı ile değişir. Ancak yüksek ve düşük tarama hızlarında limit değere ulaşır ve $|i_{p,k}/\sqrt{V}|$ (düşük V) $>$ $|i_{p,k}/\sqrt{V}|$ (yüksek V)'dir.
2. $i_{p,a}/i_{p,k}$ oranı artan tarama hızı ile artar ve yüksek tarama hızlarında 1'e yaklaşır.

2.5. Kondanse 1, 4 - Dihidropiridin Türevleri

Piridin, elektronik bakımdan, benzen molekülüne benzerlik gösteren, altı üyeli heterosiklik bir halkadır. Elektron çifti taşıyan halka içi azot atomu nedeniyle protonlanma, alkilasyon, açilasyon reaksiyonları verebilir ve N-oksit oluşturabilir. Benzen molekülüne benzer şekilde elektrofilik ve nükleofilik sübstitüsyon reaksiyonları verebilir. Kimyasal reaktiflere olan davranışları açısından benzen ve piridin arasında benzerlikler vardır.

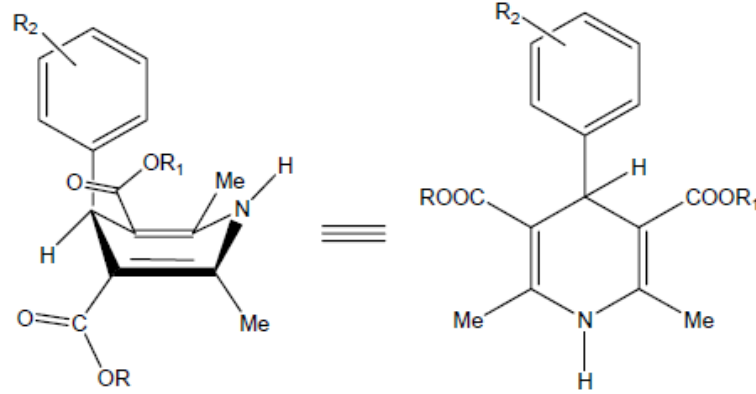


Şekil 2.14. Piridin yapısı

Dihidropiridin, piridin halkasının kısmi indirgenmesiyle oluşan bir halka sistemidir. Piridin halkasına iki hidrojen katılımı, çeşitli dihidropiridin türevlerini verir. Bu izomerlerden 1,2-DHP ve 1,4-DHP yapıları en çok bilinen ve kararlı izomerlerdir. Bunun nedeni, elektronlarını kolaylıkla mezomere sunmalarıdır. Özellikle 1,4-DHP izomerinin kararlılığı, hiperkonjugasyon ve homoaromatisme yoluyla gerçekleşen elektronik etkileşmeye bağlanmaktadır. Moleküler hesaplamalar 1,4-dihidropiridinlerin azotun yalnız elektron çifti ve iki olefin bağının elektronlarının delokalize olduğunu belirlemiştir. Enamine konjuge olan C(3) ve C(5) pozisyonunda elektron çeken sübstituentlerin olması da bu delokalizasyonu artırır. Elektron veren grupların aksine dihidropiridin halkası kararsızdır [98] [99] [100] [101].

İlaçsal aktiviteye dihidropiridin merkezine bağlı çeşitli fonksiyonel grupların etkileri incelenmiş ve agonist ya da antagonist aktiviteleri veren yapı özellikleri ile ilgili bilgiler

sağlanmıştır. Antagonistler için dihidropiridin halkası genellikle C(4) te aril sübstitüe bulunan pseudo aksiyal yönelmeyi sağlayan yassı bot konformasyonunu alır [101].



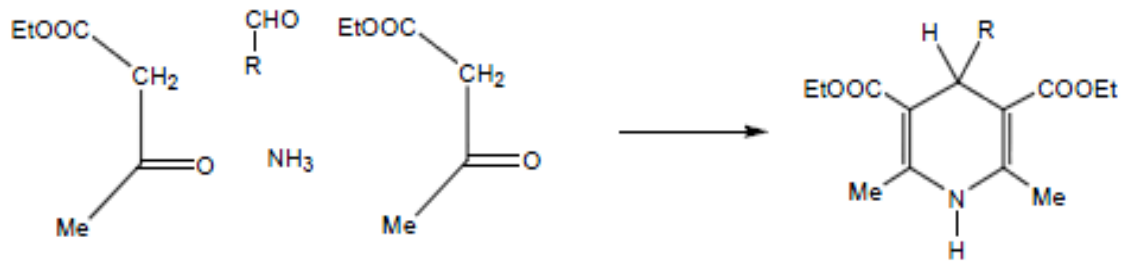
Şekil 2.15. 1,4-Dihidropiridinlerin konformasyonu

Sübstitüe 1,4-dihidropiridin bileşikleri antiviral, antikanser, antitümör, antibakteriyel, damar genişletici, antidiyabetik, karaciğeri koruyucu, kan akımı düzenleyici, beyin hücrelerini koruyucu aktivitelerinden dolayı farmakolojik öneme sahiptirler. Bu bileşiklerin canlı metabolizmasındaki sitokrom P-450'nin redox tepkimelerini katalizlediği bilinmektedir. Bu bileşiklerin kalsiyum kanal blokerleri ve HIV inhibitörü olarak etki gösterdikleri belirlenmiştir. Bunlara ek olarak Alzheimer hastalığının tedavisinde pıhtılaşmayı sağlayan kan hücrelerinin normal damar duvarına yapışmasına önleyici olarak kullanılırlar Sübstitüe 1,4-dihidropiridinler ve piridinler üzerindeki farklı gruplar, bu grupların doğası, kirallığı, özellikleri ve konumları bu maddelerin aktivitelerini etkilemektedir. Son zamanlarda 1,4-DHP bileşiklerine biyolojik aktivitelerinden ötürü çok fazla yönelme olmuştur. Temel hedef, daha etkin, daha selektif ve yan etkileri en aza indirilmiş türevlerin kazanılmasıdır.

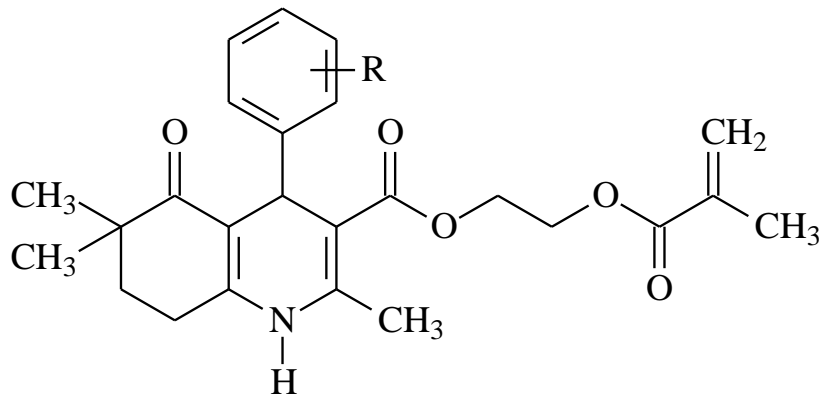
1, 4-DHP'ler, çeşitli yollarla sentezlenebilmektedirler. Bunlar;

1. Hantzsch sentezi
2. Piridin türevlerinden hareketle yapılan sentezlerdir.

Dihidropiridinlerin elde edilmesinde en çok kullanılan yöntem, iki mol etil asetoasetat, bir mol aldehit ve amonyağın reaksiyonuna dayanan ve 1882'de *Hantzsch* tarafından geliştirilen *Hantzsch sentezi* dir [102] [103].



Şekil 2.16. Hantzsch sentezi ile 1,4-dihidropiridin sentezi



Şekil 2.17. 1,4-DHP türevi (2-(metakriloiloksi)etil,4-aril-2,6,6-trimetil-5-okzo-1,4,5,6,7,8-hekzahidrokinolin-3-karboksilat)

3. MATERYAL VE METOT

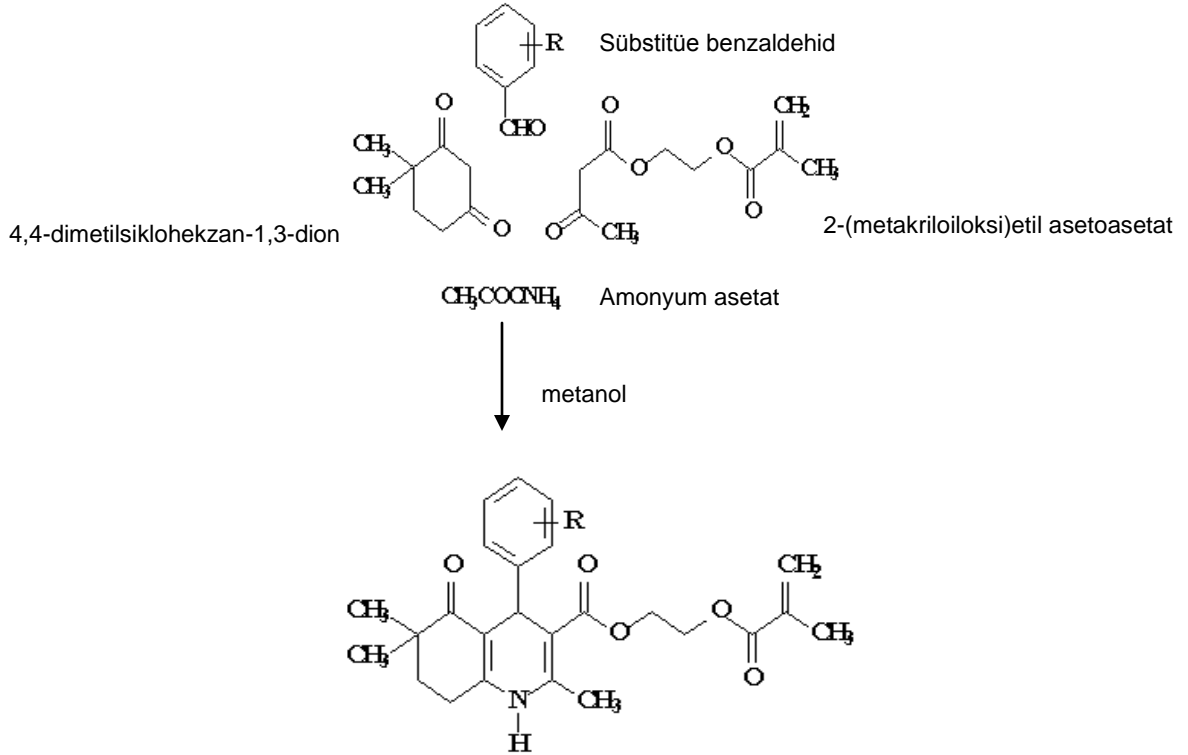
3.1. Kullanılan Materyaller

3.1.1. Elektrokimyasal Davranışı İncelenen Bileşik ve Sentezi

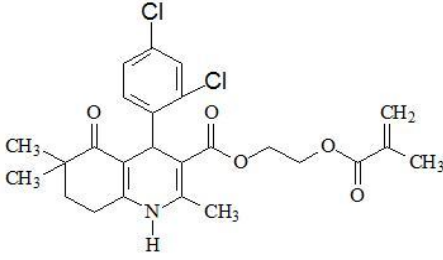
Bu tez çalışması kapsamında dört farklı kondanse 1,4-Dihidropiridin türevinin elektrokimyasal davranışı incelenmiştir.

Bu tez çalışması kapsamında kullanılan 1,4-dihidropiridin türevleri Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Ana Bilim Dalı'nda Prof.Dr. Rahime Şimşek ve grubu tarafından Hantzsch yöntemiyle sentezlenmiştir. Bileşiklerin yapılarının kanıtlanmasında, spektral analizlerden yararlanılmıştır. Ayrıca elemental analizleri yardımıyla tüm bileşiklerin yapıları doğrulanmıştır.

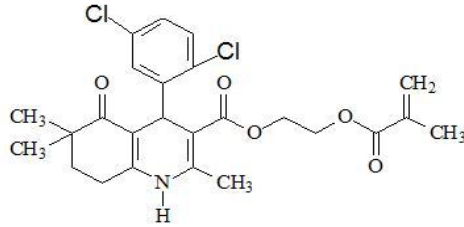
1 mol 4,4-dimetilsikloheksan-1,3-dion, 1 mol 2-(metakriloloksi)etil asetoasetat, 1 mol süstitüe benzaldehit ve 4 mol amonyum asetat metanol içerisinde çözülmüş ve 15 dakika mikrodalga ışınlamasına tabi tutulmuştur. Tepkimenin ilerlemesi TLC ile izlendi. Tepkimenin tamamlanmasının ardından karışım basınç altında kurutulmuş ve sonuçta oluşan çökelek diklorometan/eter karışımından tekrar kristallendirilmiştir.



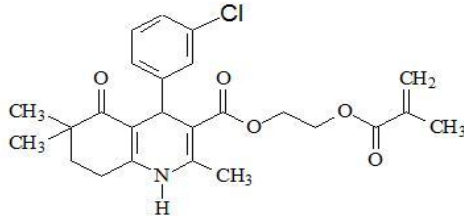
Şekil 3.1. 1,4-DHP türevlerinin Hantzsch yöntemiyle sentezi



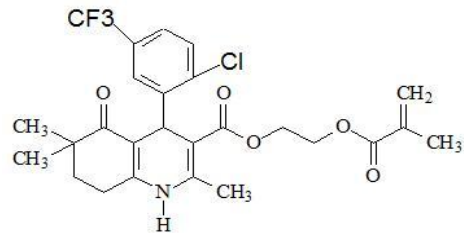
Şekil 3.2. 1,4-DHP türevi, R=2,4diCl (2-(metakriloiloksi)etil,4-(2,4-diklorofenil)-2,6,6-trimetil-5-okzo-1,4,5,6,7,8-hekzahidrokinolin-3-karboksilat)



Şekil 3.3. 1,4-DHP türevi, R=2,5diCl (2-(metakriloiloksi)etil,4-(2,5-diklorofenil)-2,6,6-trimetil-5-okzo-1,4,5,6,7,8-hekzahidrokinolin-3-karboksilat)



Şekil 3.4. 1,4-DHP türevi, R=3Cl (2-(metakriloiloksi)etil,4-(3-klorofenil)-2,6,6-trimetil-5-okzo-1,4,5,6,7,8-hekza hidrokinolin-3-karboksilat)



Şekil 3.5. 1,4-DHP türevi, R=2Cl,5CF₃ (2-(metakriloiloksi)etil,4-(2-kloro-5(triflorometil)fenil)-2,6,6-trimetil-5-okzo-1,4,5,6,7,8-hekzahidrokinolin-3-karboksilat)

3.1.2. Kimyasal Malzemeler ve Çözeltilerin Hazırlanması

Kimyasal Malzeme	Temin Edilen Firma
Tetrabütil amonyum perklorat (TBAP–(CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH ₂) ₄ N(ClO ₄))	Aldrich
Diklorometan (CH ₂ Cl ₂)	Prolabo

Deneylerde kullanılan su destile sudur (Sadece temizleme işleminde kullanıldı).

Susuz ortamda yapılan çalışmada, destek elektrolit olarak TBAP kullanıldı. 0.1 M TBAP destek elektrolit çözeltisi diklorometan çözücüsünde hazırlandı. 0.8548g TBAP, 25ml diklorometanda çözümlenerek stok çözelti hazırlandı. Daha sonra dört farklı 1,4-DHP türevinin değişik derişimlerdeki çözeltileri destek elektrolit çözeltisi kullanılarak deney öncesi 5ml'lik voltametik hücrelerde hazırlandı. Derişimi 0.2 mg/ml, 0.4 mg/ml, 0.6 mg/ml, 0.8 mg/ml ve 1.0 mg/ml olan çözeltilerde çalışmalar yapıldı. Deneye başlamadan önce oksijeni uzaklaştırmak amacıyla, hazırlanan bütün çözeltilerden 2 dakika süre ile saf azot (N₂) gazı geçirildi.

3.1.3. Cihazlar

Voltametik ölçümler CH Instruments CHI660C model potansiyostat ile yapıldı. Üç elektrotlu sistem kullanıldı ve yöntem olarak dönüşümlü voltametri tekniği seçildi.

Tartımlar Axis AGN200C model terazi ile ölçüldü ve çözeltilerden oksijeni uzaklaştırmak için BOS marka saf (%99.99) N₂ gazı kullanıldı.



Şekil 3.6. CH Instruments CHI660C model potansiyostat

3.2. Metot

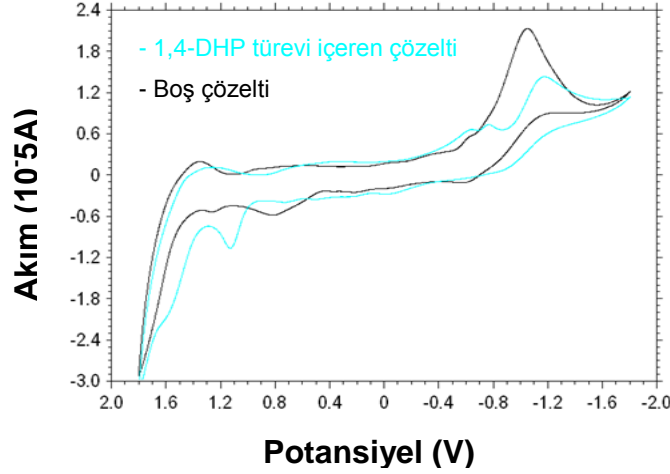
1.0 mg kondanse 1,4-dihidropiridin türevi tartılıp voltametik hücreye koyulduktan sonra üzerine 5 ml 0.1 M TBAP/diklorometan destek elektrolit çözeltisi eklendi.

Destek elektrolitte hazırlanan 0.2 mg/ml antioksidan çözeltisinden oksijeni uzaklaştırmak için 2 dakika süre ile N₂ geçirildi. Hücre, çalışma elektrotu olarak kalem grafit elektrotun, karşıt elektrot olarak Pt telin ve referans elektrot olarak da DKE'nin kullanıldığı üçlü sisteme yerleştirildi. Elektrotlar çözeltiye 1cm daldırıldı. Tüm ölçümler oda sıcaklığında gerçekleştirildi. -1.8 V - +1.8 V gibi geniş bir potansiyel aralığında DKE'ye karşı, tarama hızı 10 mV/s'den 200 mV/s'ye arttırılarak dönüşümlü voltamogramlar alındı. Derişim arttırılarak aynı işlem tekrar edildi. Farklı deneye geçmeden önce elektrotlar temizlendi, kalem ucu değiştirildi ve çözeltiden tekrar 2 dakika süre ile N₂ gazı geçirildi. Seçilen çalışma ortamında pik akımına ve pik potansiyeline tarama hızının ve derişimin etkisi, dönüşümlü voltametri tekniği ile incelendi. Son olarak dört farklı 1,4-DHP türevinin yükseltgenmesi ve indirgenmesi için gerekli akım ve potansiyeller belirlendi ve tarama hızına karşı derişim grafikleri çizilip bu grafiklerden dört farklı 1,4-DHP türevinin antioksidan kapasiteleri kıyaslandı.

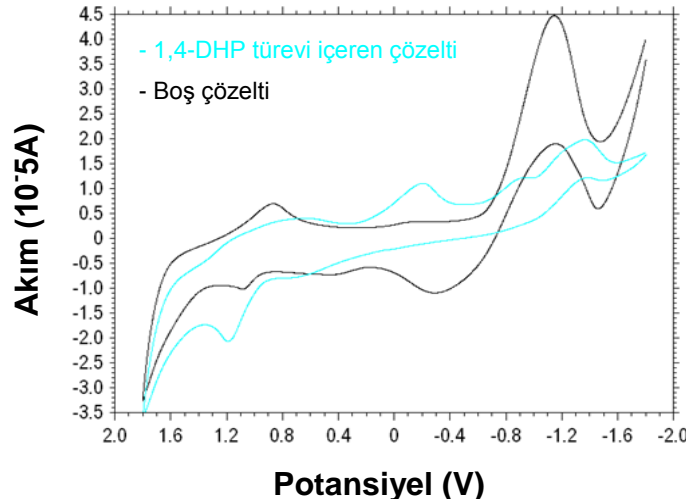
4. DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Elektrot Seçimi ve Elektrotlara Uygulanan Ön İşlemler

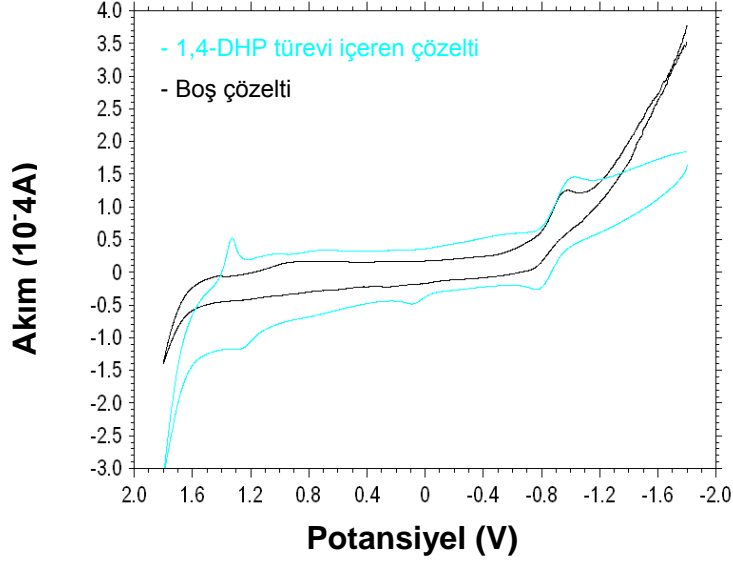
Deneyde hangi çalışma elektrotunun kullanılacağına ve hangi potansiyel aralığında cevap verdiği karar vermek için, tüm çalışma elektrotlarının (Au, Pt ve kalem ucu C çalışma elektrotları) 0.1 M TBAP/CH₂Cl₂ destek elektrolit çözeltisindeki ve 1,4-DHP türevi içeren çözeltideki voltametrik davranışları incelendi.



Şekil 4.1. Au elektrotun, -1.8 V ile +1.8 V potansiyel aralığında DKE'ye karşı, 200 mV tarama hızında, boş çözeltideki ve 0.2 mg/ml 1,4-dihidropiridin türevi içeren çözeltideki voltametrik davranışı



Şekil 4.2. Pt elektrotun, -1.8 V ile +1.8 V potansiyel aralığında DKE'ye karşı, 200 mV tarama hızında, boş çözeltideki ve 0.2 mg/mL 1,4-dihidropiridin türevi içeren çözeltideki voltametrik davranışı



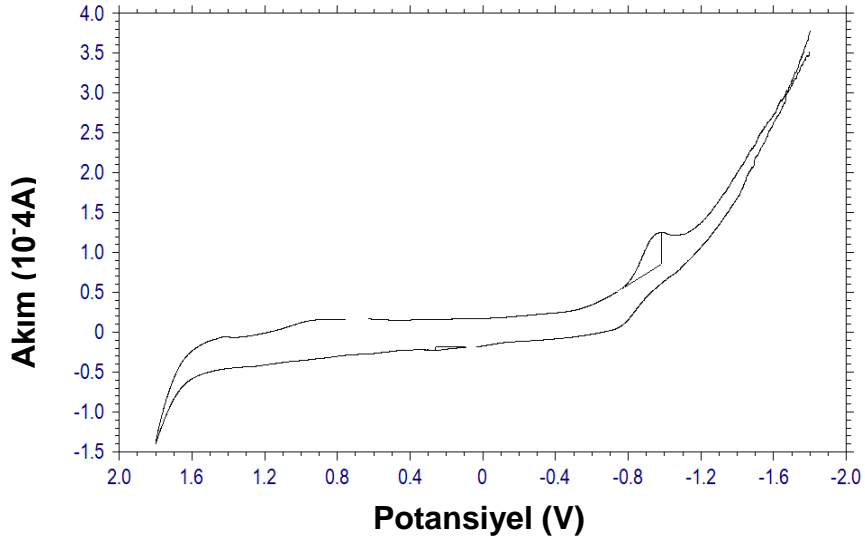
Şekil 4.3. C elektrotun, -1.8 V ile +1.8 V potansiyel aralığında DKE' ye karşı, 200 mV tarama hızında, boş çözeltideki ve 0.2 mg/mL 1,4-dihidropiridin türevi içeren çözeltideki voltametrik davranışı

Yukarıdaki voltamogramlarda görüldüğü gibi, kalem ucu C elektrotun antioksidan ölçümünde daha iyi sonuç verdiği görüldü. C elektrotun antioksidan ölçümünde yaklaşık +0.1 V'de gözlenen ve boş C elektrot davranışından farklılık gösteren yükseltgenme piki antioksidanın varlığını ve yükseltgendiğini gösterdi. Bu sonuca göre çalışma elektrotu olarak seçilen C elektrotun tekrarlanabilirliği için üç kez ölçüm alındı ve standart sapma, $s = \sqrt{(\sum x_i^2 - (\sum x_i)^2 / N) / (N - 1)}$ formülü ile 0.02 olarak hesaplandı. C elektrot olarak kalem ucu C elektrot (0.5 kalem ucu) kullanıldı. Kalem ucu C elektrot laboratuvarımızda platin tel kullanılarak hazırlandı. Kalem ucu C elektrot kullanılarak maliyet düşürüldüğü gibi, bu elektrot kullanıldığında diğer elektrotlara yapıldığı gibi ön işlemlere gerek duyulmadığından deney süresi de kısalmış oldu.

Referans elektrot olarak DKE ve karşıt elektrot olarak da Pt tel kullanıldı. Au ve Pt elektrotlar ölçümden önce 1 M H₂SO₄ çözeltisinde elektrokimyasal olarak ve daha sonra 0.05 mikron gamma alümina tozu ve 1.0 mikron alfa alümina tozu ile zımparada kimyasal olarak temizlendi. Karşıt elektrot yakılarak temizlendi, referans elektrot ise saf suyla temizlenip, kullanılmadığı zaman KCl çözeltisinde bekletildi.

4.2. Kalem Ucu C Elektrotun 0.1 M TBAP/CH₂Cl₂ Çözeltisindeki Voltametrik Davranışı

Şekil 4.4'de kalem ucu C elektrotun 0.1 M TBAP/CH₂Cl₂ destek elektrolit çözeltisinde (boş çözelti), -1.8 V ile +1.8 V aralığında, DKE'ye karşı ölçülen dönüşümlü voltamogramı gösterilmektedir. -0.8 V'de görülen omuz C-O oluşumunu, +1.2 V'de görülen pik ise oluşan C-O tabakasının sıyrılmasını göstermektedir. Bu bilgiden yola çıkarak bir sonraki adımda boş çözeltiliye antioksidan madde eklenerek antioksidanın elektrokimyasal davranışı incelenmiştir.

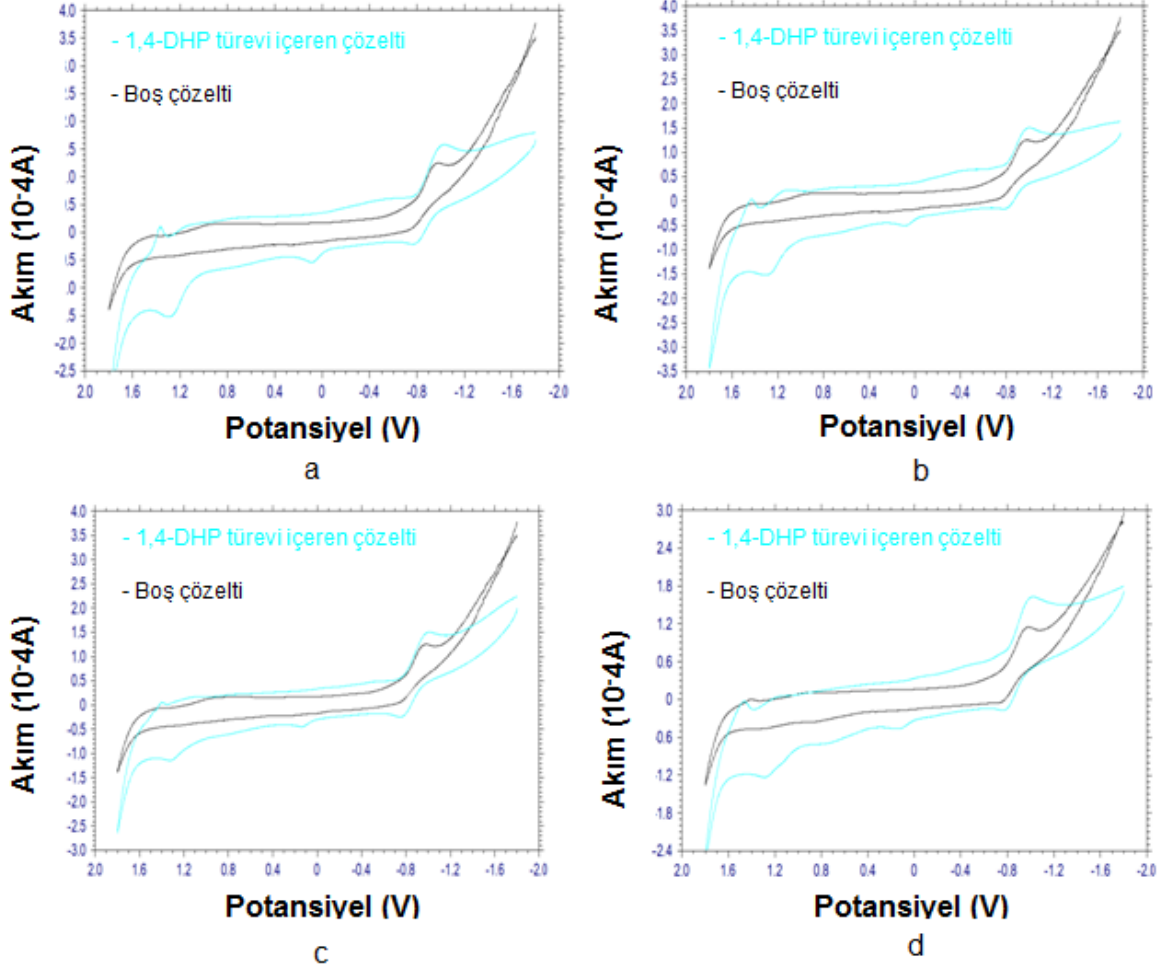


Şekil 4.4. Kalem ucu C elektrotun, -1.8 V ile +1.8 V potansiyel aralığında DKE'ye karşı, 200 mV tarama hızında ölçülen, boş çözeltildeki voltametrik davranışı

4.3. Kalem Ucu C Elektrotun 1,4-Dihidropiridin Türevi İçeren Çözeltilerdeki Voltametrik Davranışı

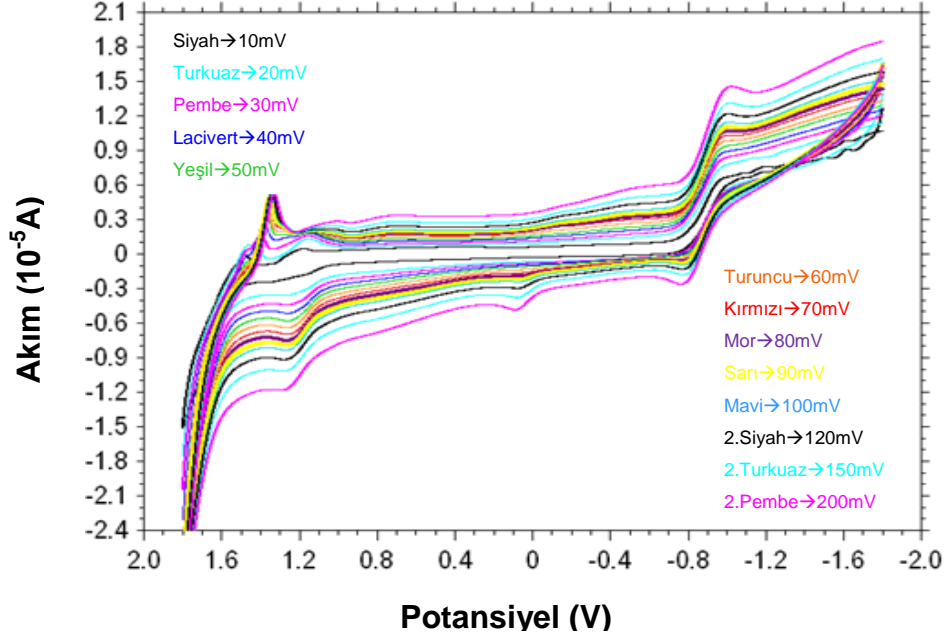
Şekil 4.5'de kalem ucu C elektrotun, boş çözeltilde ve 1,4-dihidropiridin türevi içeren çözeltilerde alınan dönüşümlü voltamogramları karşılaştırılmıştır. Kalem ucu C elektrotun 1,4-dihidropiridin türevi içeren çözeltilerdeki elektrokimyasal davranışları incelendiğinde yaklaşık +0.1 V'de ve +1.2 V'de gözlenen ve boş çözeltilden farklılık gösteren yükseltgenme pikleri antioksidanın varlığını gösterir. Bölüm 2.3.13.'de örnek verdiğim literatürdeki çalışmalarda da antioksidan varlığı 0.0 V'a yakın potansiyellerde gösterilmiştir. Bu tez çalışması kapsamında da antioksidan aktivite yaklaşık +0.1 V civarındaki yükseltgenme pikleri üzerinden kıyaslanmıştır. Yükseltgenme pik

potansiyeli 0.0 V'a ne kadar yakınsa antioksidanın o kadar kolay yükseltgendiğini gösterir. Antioksidan aktivite, antioksidanın ne kadar iyi bir indirgen olduğuyla ilgili olduğu için, yükseltgenme pik potansiyelinin 0.0 V'a yaklaşması yani erken yükseltgenmesi o maddenin daha iyi bir antioksidan aktiviteye sahip olduğunu gösterir.

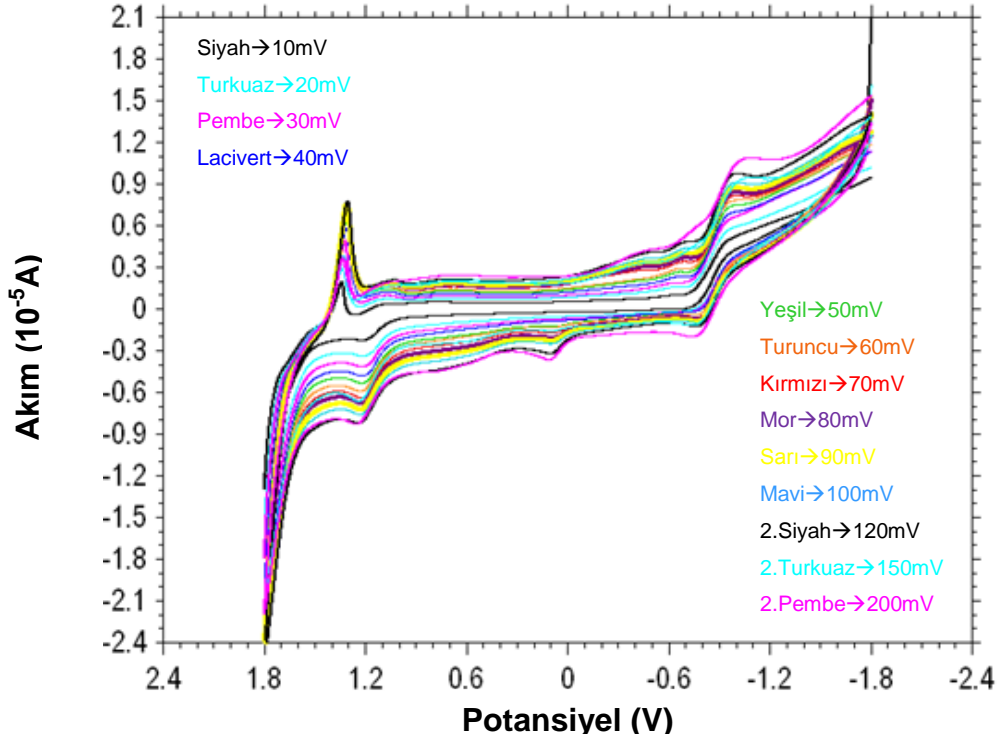


Şekil 4.5. Kalem ucu C elektrotun boş çözelti ve 0.4 mg/ml 1,4-dihidropiridin türevi içeren çözeltilerde, 200 mV tarama hızında, -1.8 V ile +1.8 V aralığında DKE'ye karşı voltametik davranışı (a) $R=2,4diCl$, b) $R=2,5diCl$, c) $R=3Cl$, d) $R=2Cl, 5CF_3$)

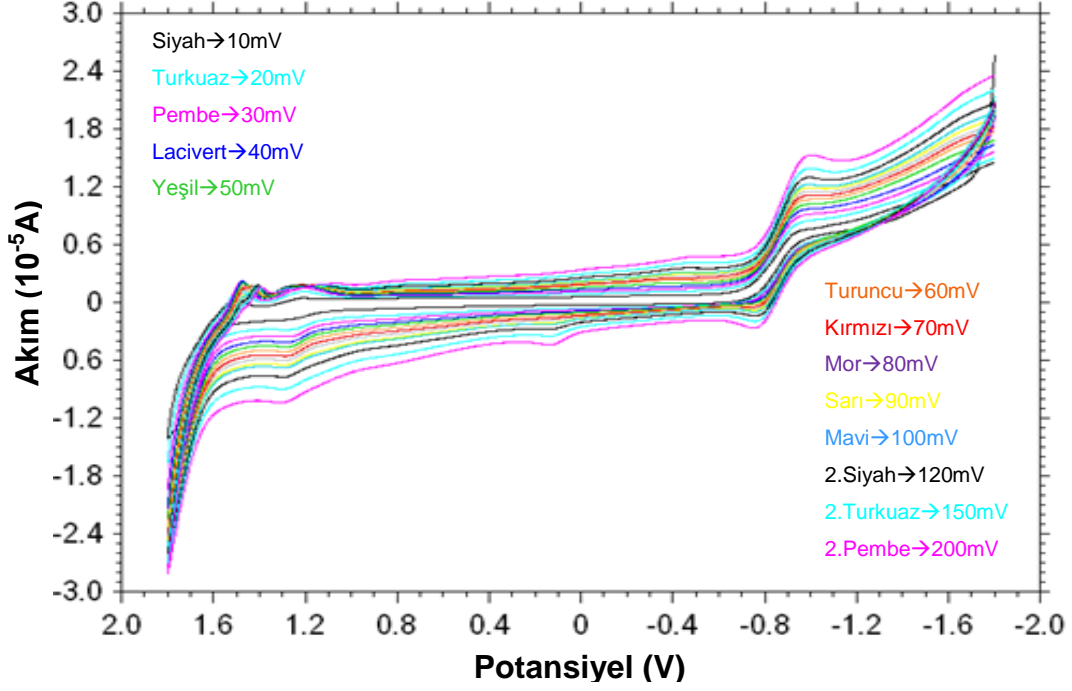
4.4. Tarama Hızı Çalışması



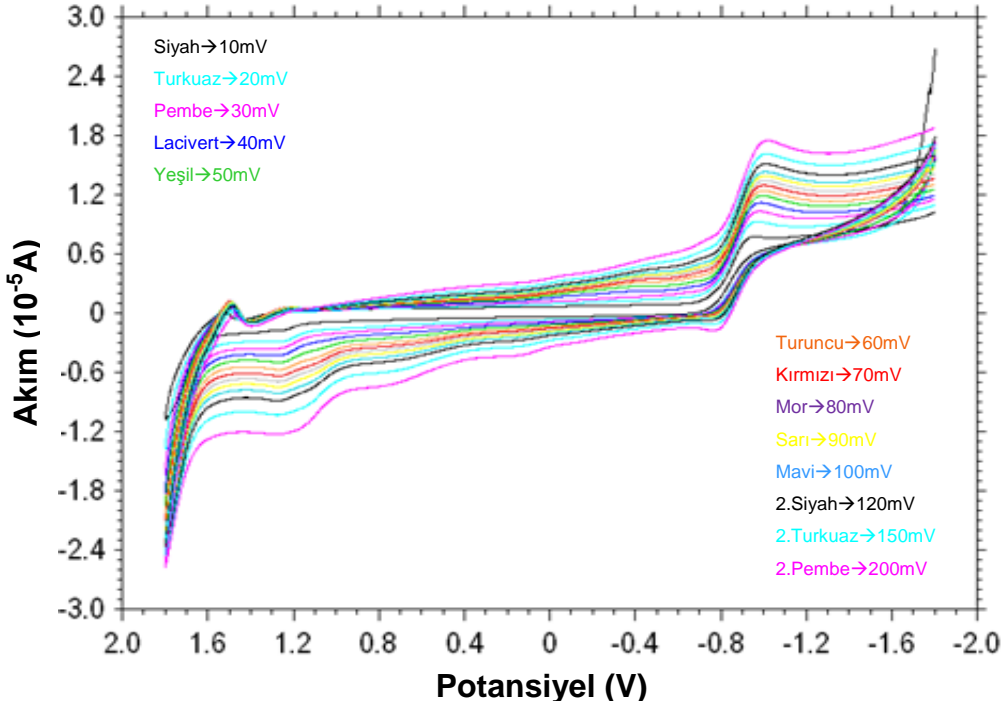
Şekil 4.6. Kalem ucu C elektrotun, 0.2 mg/ml R=2,4diCl çözeltisinde -1.8 V ile +1.8 V potansiyel aralığında, DKE'ye karşı tarama hızı çalışması



Şekil 4.7. Kalem ucu C elektrotun, 0.2 mg/ml R=2,5diCl çözeltisinde -1.8 V ile +1.8 V potansiyel aralığında, DKE'ye karşı tarama hızı çalışması



Şekil 4.8. Kalem ucu C elektrotun, 0.2 mg/ml R=3Cl çözeltisinde -1.8 V ile +1.8 V potansiyel aralığında, DKE'ye karşı tarama hızı çalışması



Şekil 4.9. Kalem ucu C elektrotun, 0.2 mg/ml R=2Cl, 5CF₃ çözeltisinde -1.8 V ile +1.8 V potansiyel aralığında, DKE'ye karşı tarama hızı çalışması

- Çalışılan dört farklı madde için de tarama hızının pik akımına etkisi, tarama hızı 10 mV/s'den 200 mV/s'ye artırılarak incelendi.
- Dört örnek için de artan tarama hızıyla pik potansiyelinin hemen hemen sabit kaldığı gözlemlendi. Pik potansiyelin değişmemesi ve hem anodik hem katodik pik gözlenmesi birlikte değerlendirildiğinde tepkimenin tersinir olduğu düşünüldü.
- Voltamogramlar incelendiğinde tarama hızı arttıkça pik akımlarının da arttığı görüldü. Randles-Sevcik denkleminden yola çıkarak, tarama hızına karşı pik akımı ve tarama hızının kareköküne karşı pik akımı grafikleri çizildi ve her iki grafiğin de doğrusal olduğu görüldü.
- Tüm örnekler için pik akımın tarama hızıyla doğrusal olması ve logi-logV grafikleri çizildiğinde eğimlerinin 1'e yaklaşması tepkimelerin elektrot yüzeyinde ve adsorpsiyon kontrollü gerçekleştiğini gösterir. Fakat incelenen maddelerin hiç birinin dönüşümlü voltamogramlarında bir ön pike ya da arka pike rastlanmaması elektrot tepkimesinde kuvvetli bir adsorpsiyonun gerçekleşmediğini düşündürür.
- Tarama hızının çok düşük tutulduğu değerlerde antioksidan piki kaydedilmemiştir. Bu gözlem, elektrotta uygulanan potansiyelin başlangıç değerinden elektron aktarımı gerekli değere ulaşincaya kadar geçen sürede antioksidan moleküllerinin başka bir forma dönüşebileceğini akla getirmiştir. Yani elektrokimyasal basamaktan önce bir kimyasal basamağın olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca tepkimenin adsorpsiyon kontrollü olması da kimyasal bir tepkimenin gerçekleştiğini düşündürür. Adsorpsiyon olayının gerçekleşmesi polimerizasyon yapılabileceğini de gösterir.

Çizelge 4.1. 0.4 mg/ml 1,4-dihidropiridin türevinin (R= 2,4diCl) farklı tarama hızlarında, anodik pik akım ve potansiyelleri

V(mV/s)	logV	\sqrt{V}	$E_a(V)$	$I_a \times 10^{-5}(A)$	$\log I_a$
50	1.700	7.071	0.069	-1.002	-4.999
100	2.000	10.000	0.069	-2.799	-4.553
120	2.079	10.954	0.072	-3.260	-4.487
150	2.176	12.247	0.080	-4.019	-4.396
200	2.301	14.142	0.089	-5.120	-4.291

Çizelge 4.2. 0.4 mg/ml 1,4-dihidropiridin türevinin (R= 2,5diCl) farklı tarama hızlarında, anodik pik akım ve potansiyelleri

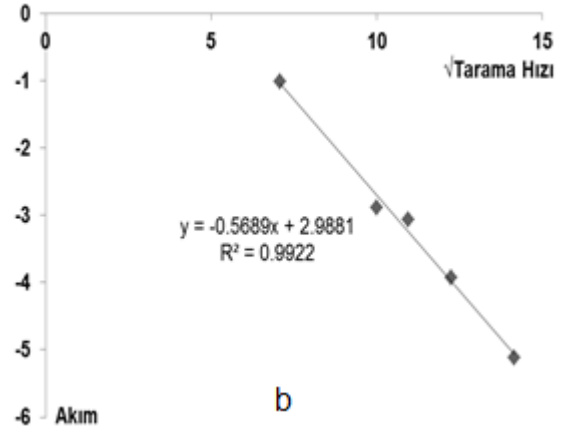
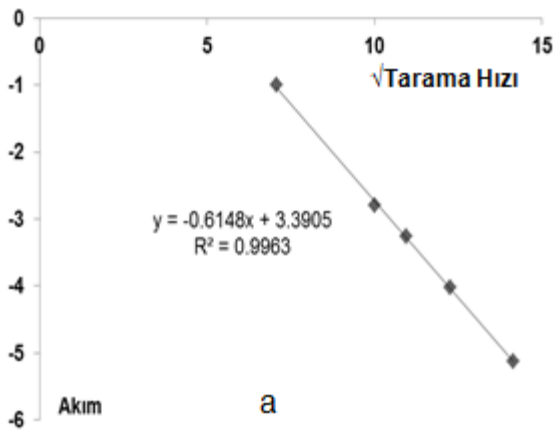
V(mV/s)	logV	\sqrt{V}	$E_a(V)$	$I_a \times 10^{-5}(A)$	$\log I_a$
50	1.700	7.071	0.076	-1.018	-4.992
100	2.000	10.000	0.076	-2.886	-4.540
120	2.079	10.954	0.076	-3.071	-4.513
150	2.176	12.247	0.081	-3.926	-4.406
200	2.301	14.142	0.087	-5.114	-4.291

Çizelge 4.3. 0.4 mg/ml 1,4-dihidropiridin türevinin (R= 3Cl) farklı tarama hızlarında, anodik pik akım ve potansiyelleri

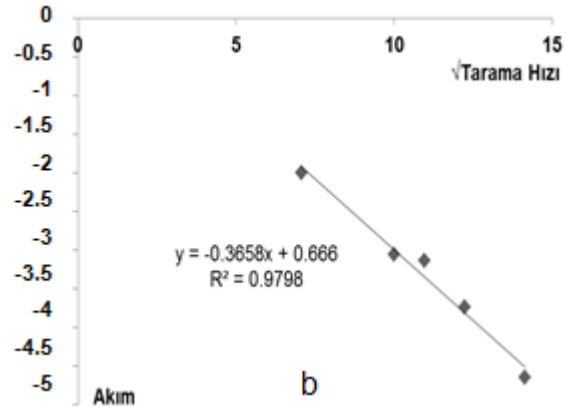
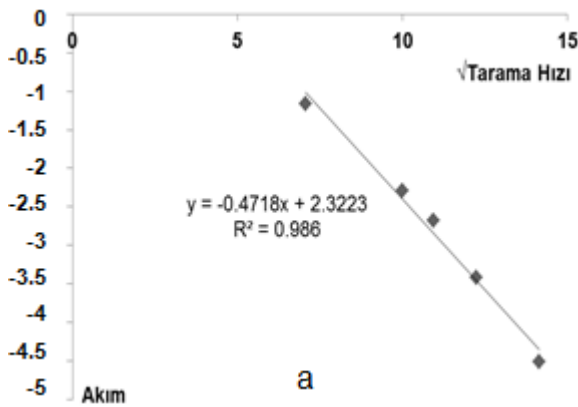
V(mV/s)	logV	\sqrt{V}	$E_a(V)$	$I_a \times 10^{-5}(A)$	$\log I_a$
50	1.700	7.071	0.140	-1.259	-4.900
100	2.000	10.000	0.140	-2.295	-4.639
120	2.079	10.954	0.132	-2.675	-4.573
150	2.176	12.247	0.138	-3.420	-4.466
200	2.301	14.142	0.141	-4.511	-4.346

Çizelge 4.4. 0.4 mg/ml 1,4-dihidropiridin türevinin (R= 2Cl, 5CF₃) farklı tarama hızlarında, anodik pik akım ve potansiyelleri

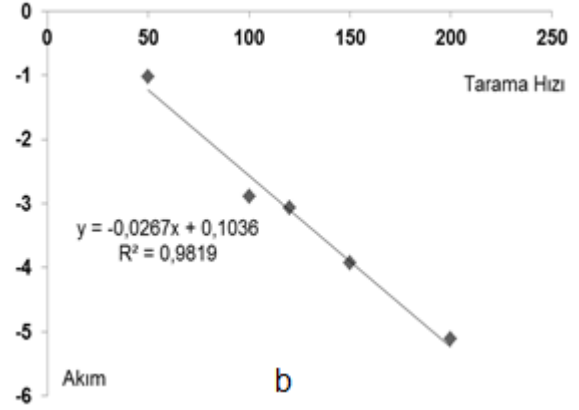
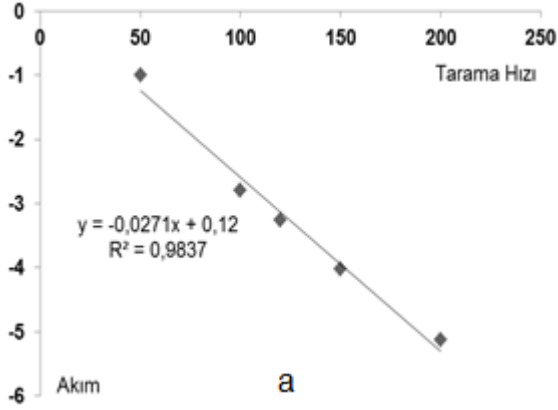
V(mV/s)	logV	\sqrt{V}	E _a (V)	I _a ×10 ⁻⁵ (A)	logI _a
50	1.700	7.071	0.148	-1.998	-4.699
100	2.000	10.000	0.148	-3.051	-4.516
120	2.079	10.954	0.149	-3.138	-4.503
150	2.176	12.247	0.164	-3.738	-4.427
200	2.301	14.142	0.148	-4.650	-4.333



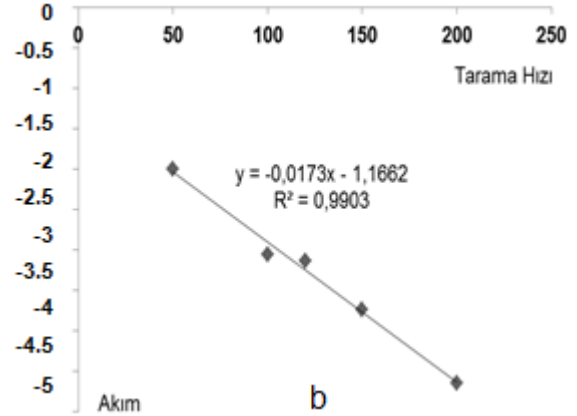
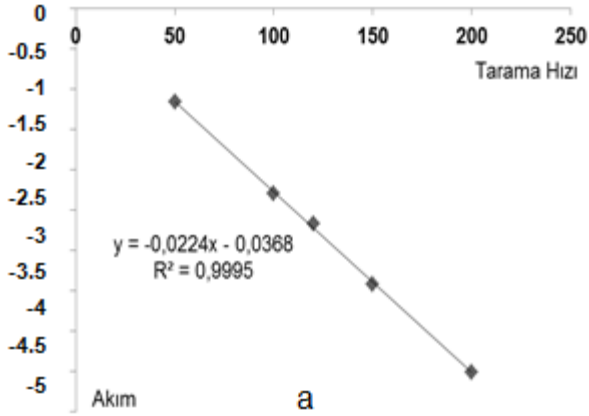
Şekil 4.10. a) R= 2,4diCl b) R= 2,5diCl, 1,4-Dihidropiridin türevlerinin tarama hızının kareköküne karşı pik akımı grafikleri



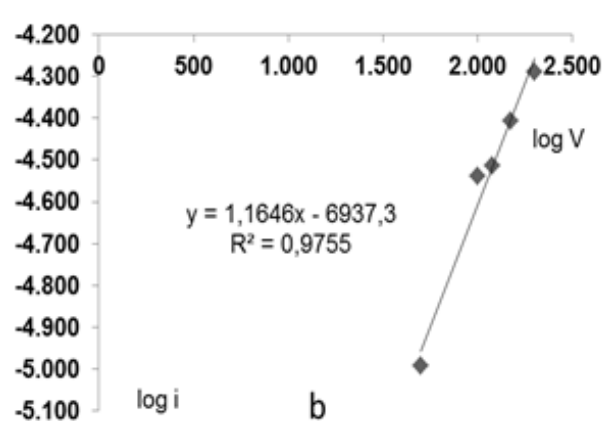
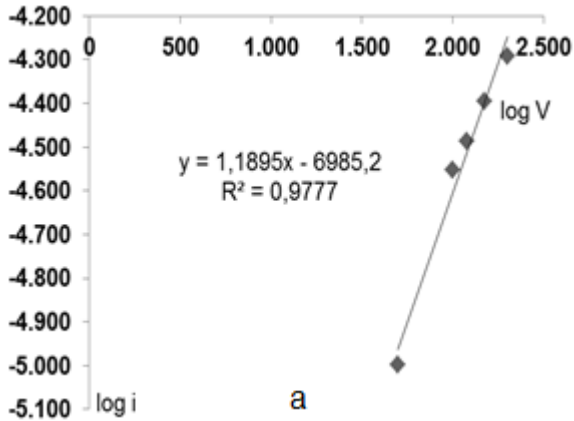
Şekil 4.11. a) R= 3Cl b) R= R= 2Cl,5CF₃, 1,4-Dihidropiridin türevlerinin tarama hızının kareköküne karşı pik akımı grafikleri



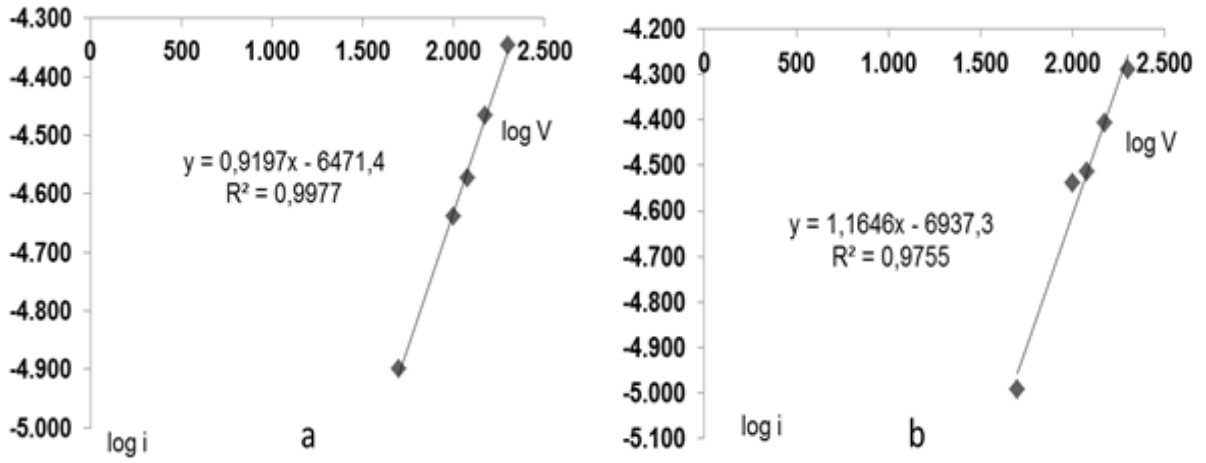
Şekil 4.12. a) R= 2,4diCl b) R= 2,5diCl, 1,4-Dihidropiridin türevlerinin tarama hızına karşı pik akımı grafikleri



Şekil 4.13. a) R= 3Cl b) R= R= 2Cl,5CF₃, 1,4-Dihidropiridin türevlerinin tarama hızına karşı pik akımı grafikleri

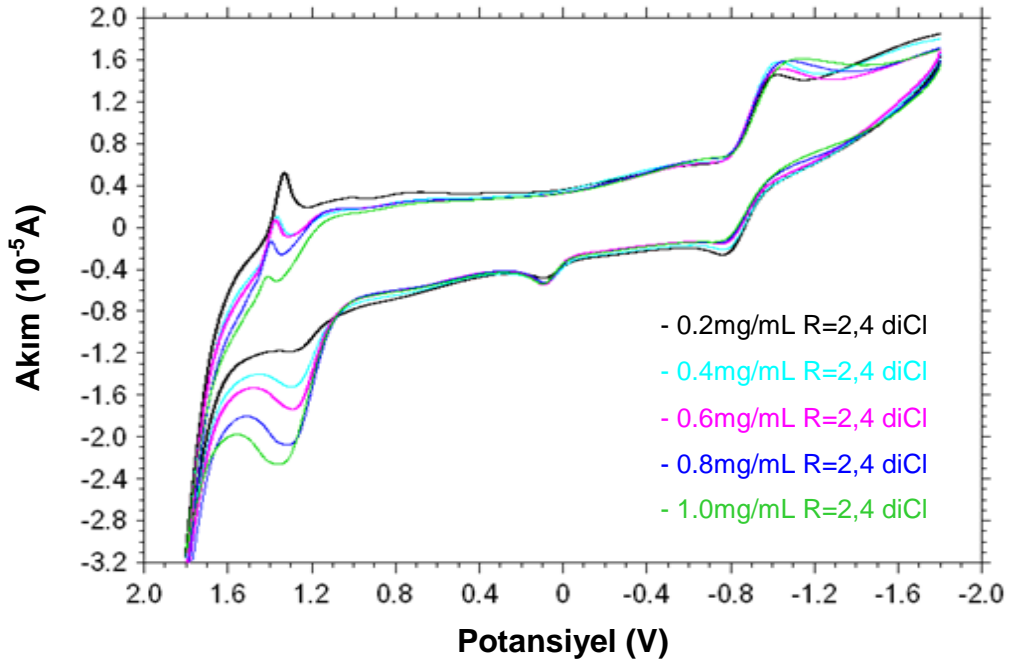


Şekil 4.14. a) R=2,4diCl b) R=2,5diCl, 1,4-Dihidropiridin türevlerinin logi-logV grafikleri

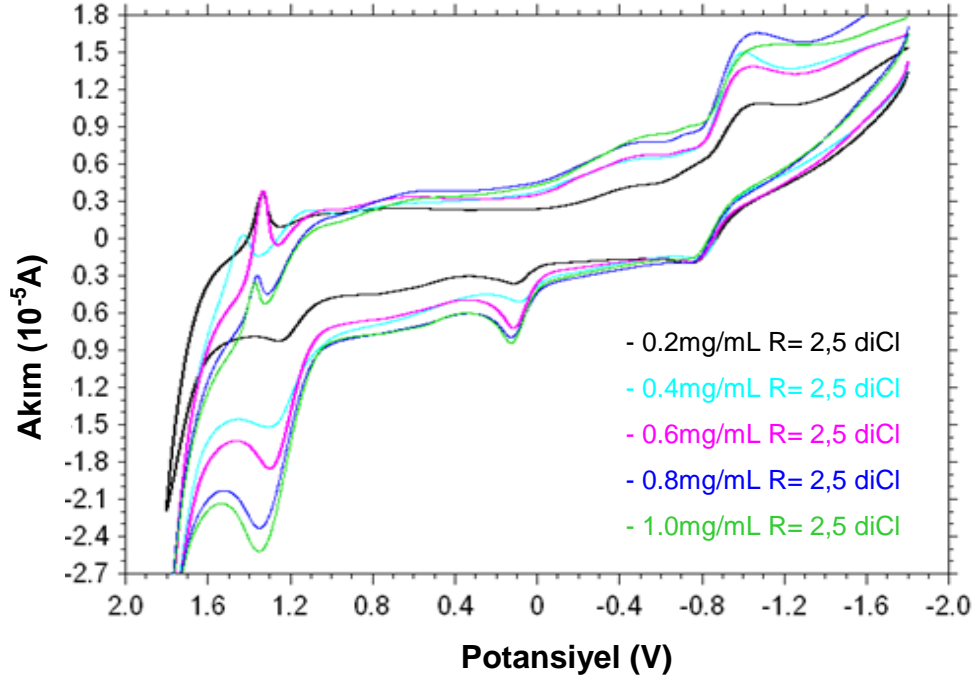


Şekil 4.15. a) R= 3Cl b) R= R= 2Cl,5CF₃, 1,4-Dihidropiridin türevlerinin logi-logV grafikleri

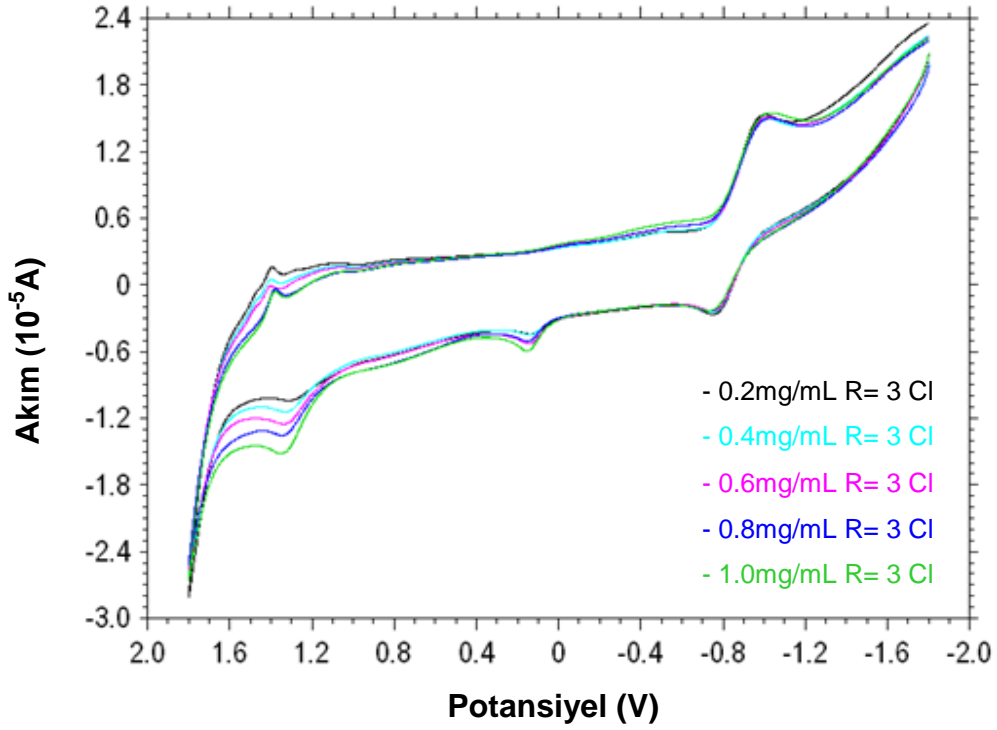
4.5. Derişim Çalışması



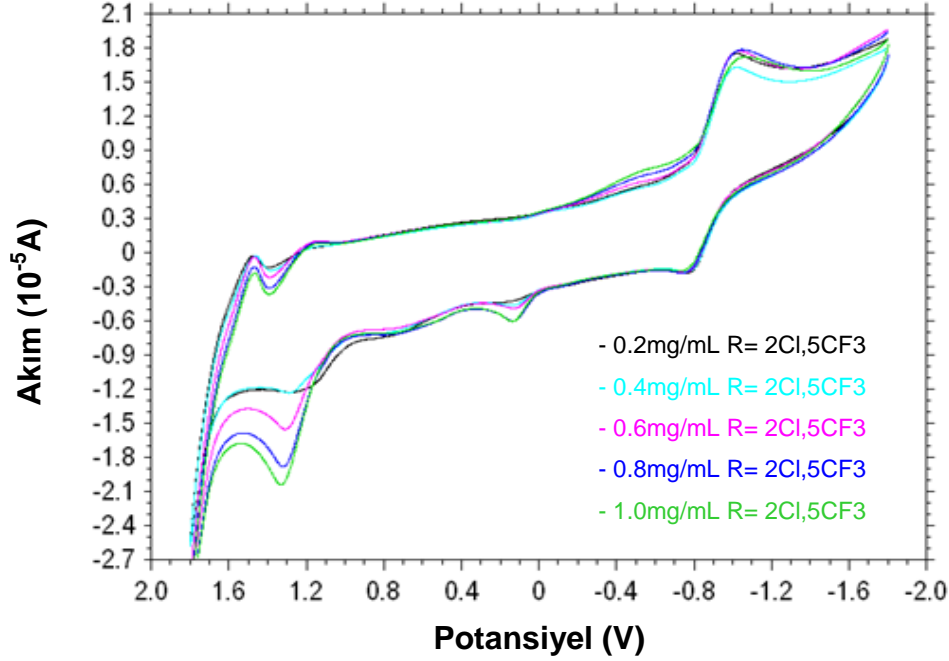
Şekil 4.16. -1.8 V ile +1.8 V potansiyel aralığında, 200 mV tarama hızında derişim çalışması



Şekil 4.17. -1.8 V ile +1.8 V potansiyel aralığında, 200 mV tarama hızında, derişim çalışması



Şekil 4.18. -1.8 V ile +1.8 V potansiyel aralığında, 200 mV tarama hızında, derişim çalışması

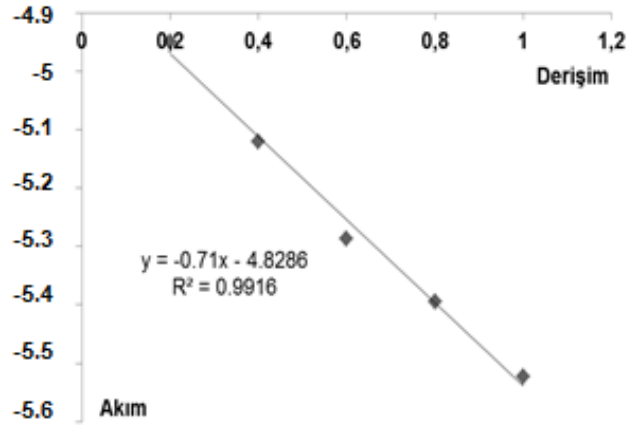


Şekil 4.19. -1.8 V ile +1.8 V potansiyel aralığında, 200 mV tarama hızında, derişim çalışması

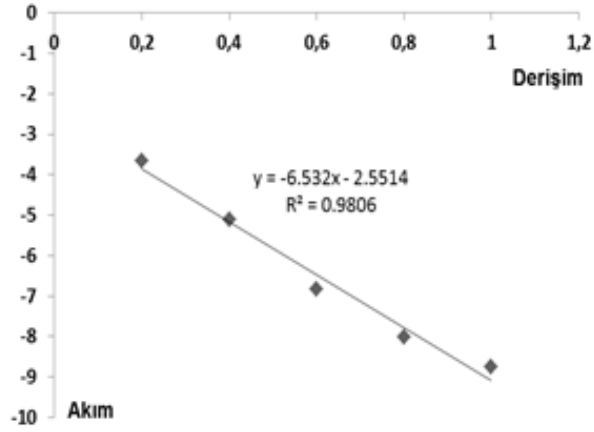
- Derişimin pik akımına etkisi beş farklı derişim (0.2 mg/ml, 0.4 mg/ml, 0.6 mg/ml, 0.8 mg/ml, 1.0 mg/ml) üzerinden araştırıldı. Artan derişim ile yükseltgenme pik akımının arttığı görüldü. Anodik pik potansiyeli ise hemen hemen sabit kaldı. Yani pik potansiyeli derişime bağılı değilken, pik akımın artan derişim ile doğrusal olarak arttığı anlaşıldı. Randles-Sevcik eşitliğine göre de $i-C$ grafiğinin doğrusal olması gerekiyordu.

Çizelge 4.5. 4 Farklı kondanse 1,4-dihidropiridin türevinin 200 mV tarama hızında, derişim, anodik pik potansiyeli ve anodik pik akımı değerleri

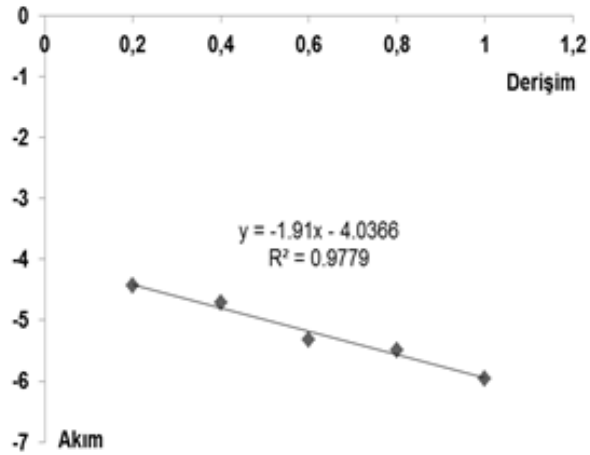
	R=2,4diCl	R=2,4diCl	R=2,5diCl	R=2,5diCl	R=3Cl	R=3Cl	R=2Cl,5CF ₃	R=2Cl,5CF ₃
Derişim (mg/ml)	Akım (10 ⁻⁵ A)	Potansiyel (V)	Akım (10 ⁻⁵ A)	Potansiyel (V)	Akım (10 ⁻⁵ A)	Potansiyel (V)	Akım (10 ⁻⁵ A)	Potansiyel (V)
0.2	-4.950	0.089	-3.659	0.111	-4.436	0.138	-3.885	0.148
0.4	-5.120	0.089	-5.114	0.087	-4.511	0.141	-4.650	0.148
0.6	-5.286	0.092	-6.829	0.112	-5.320	0.144	-4.926	0.130
0.8	-5.394	0.090	-8.006	0.130	-5.489	0.153	-5.695	0.133
1.0	-5.523	0.1	-8.745	0.129	-5.957	0.153	-6.056	0.139



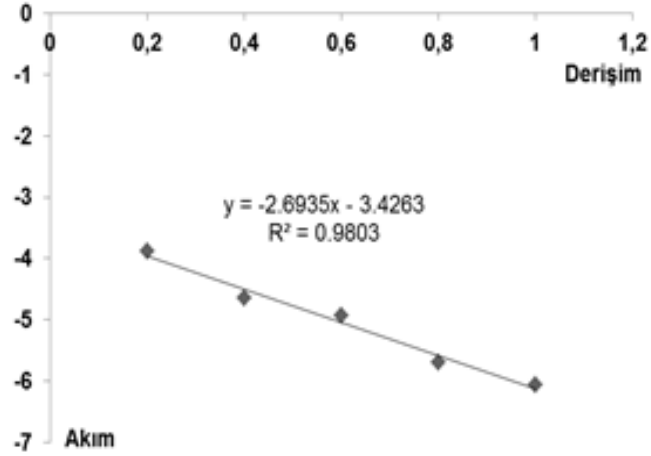
Şekil 4.20. Kondanse 1,4-dihidropiridin türevinin (R=2,4diCl) derişim-pik akımı grafiği



Şekil 4.21. Kondanse 1,4-dihidropiridin türevinin (R=2,5diCl) derişim-pik akımı grafiği

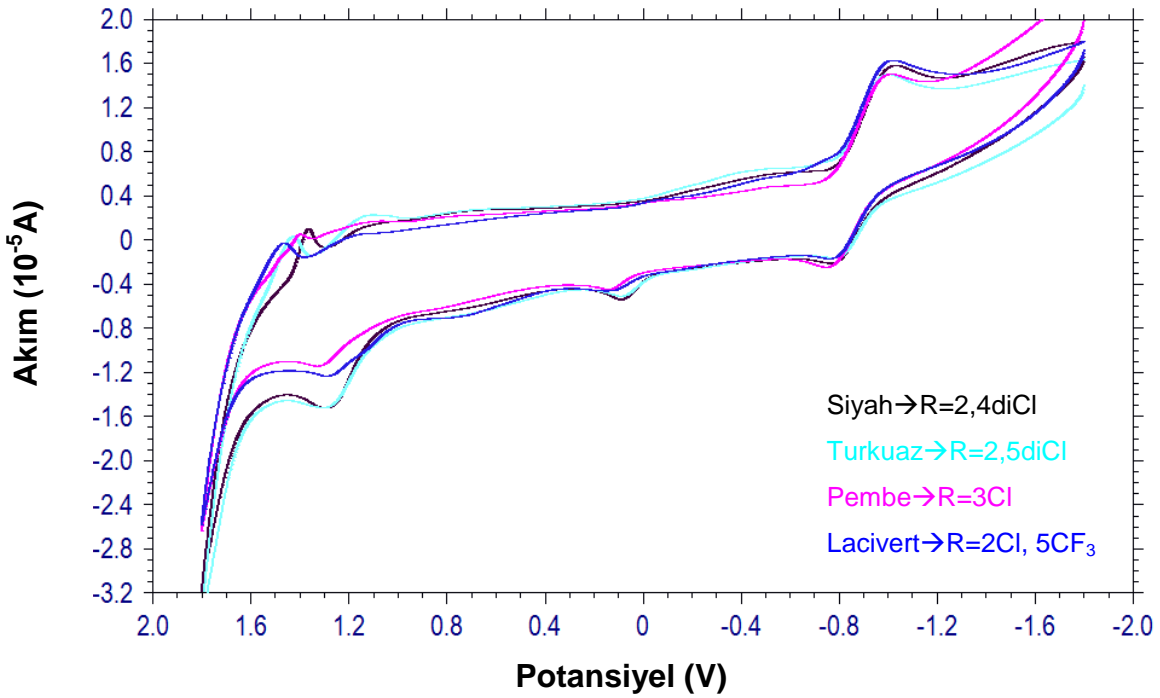


Şekil 4.22. Kondanse 1,4-dihidropiridin türevinin (R=3Cl) derişim-pik akımı grafiği



Şekil 4.23. Kondanse 1,4-dihidropiridin türevinin (R=2Cl,5CF₃) derişim-pik akımı grafiği

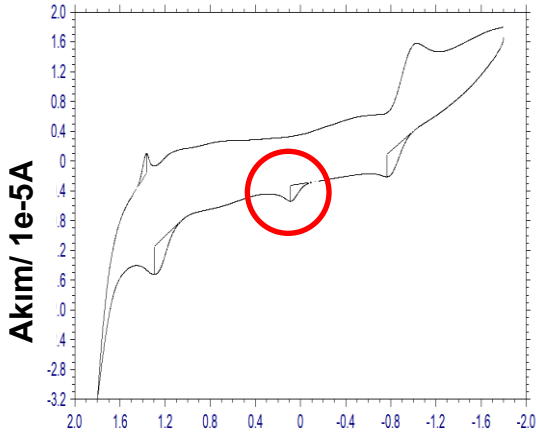
4.6. Kondanse 1,4-Dihidropiridin Türevlerinin Antioksidan Kapasitelerinin Kıyaslanması



Şekil 4.24. 4 farklı 0.4 mg/ml kondanse 1,4-dihidropiridin türevinin, -1.8 V - +1.8 V arasında, 200 mV tarama hızında kıyaslanması

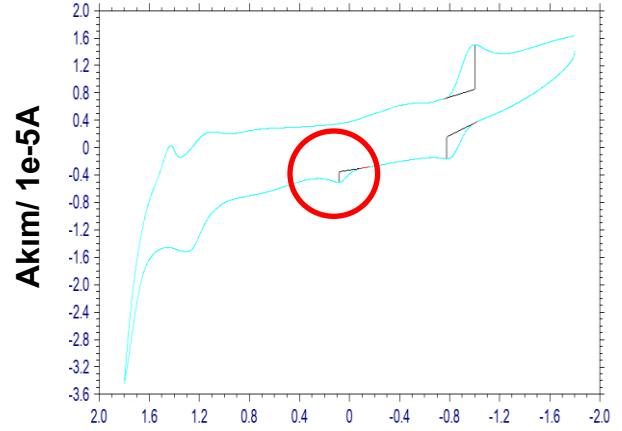
Yapılan çalışmalar sonucunda görüldü ki, anodik pik akımı tarama hızı ve derişim ile doğru orantılıdır.

Bu dört farklı maddenin antioksidan kapasiteleri kıyaslanırken hem yükseltgenme (anodik) pik potansiyelleri hem de anodik pik dalgasının altında kalan alanlar birlikte değerlendirildi. Daha önceki bölümlerde bahsettiğim gibi yükseltgenme tepkimesinin erken gerçekleşmesi o maddenin indirgeme yeteneği yani antioksidan özelliği hakkında fikir verir. Bunun yanında pik dalgasının altında kalan alan farklı potansiyellerdeki değişimleri içerdiğinden, bu iki durum birlikte değerlendirildiğinde daha sağlıklı sonuçlar elde etmemize yardım eder.



Potansiyel/ V

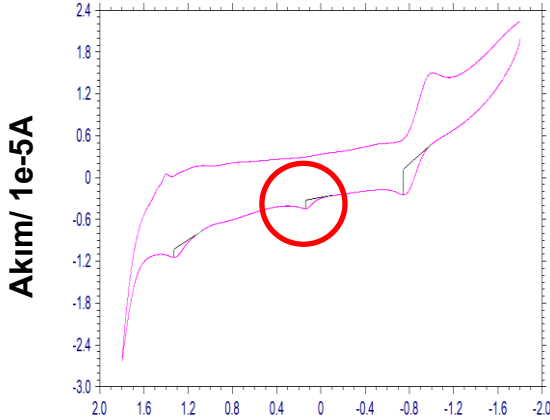
a



Potansiyel/ V

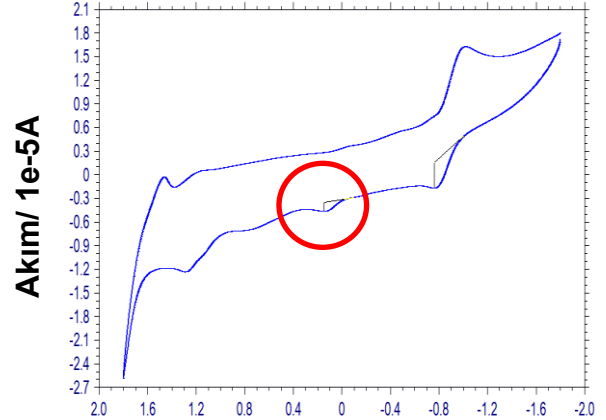
b

Şekil 4.25. a) R=2,4diCl, Pik Alanı (A_h)= $-8,169e^{-6}C$, b) R=2,5diCl, Pik Alanı (A_h)= $-6,394e^{-6}C$



Potansiyel/ V

a



Potansiyel/ V

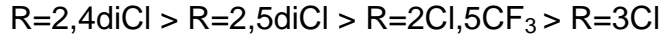
b

Şekil 4.26. a) R=3Cl, Pik Alanı (A_h)= $-4,623e^{-6}C$, b) R=2Cl,5CF₃,Pik Alanı (A_h)= $-5,748e^{-6}C$

Çizelge 4.6. 0.4 mg/ml kondanse 1,4-dihidropiridin türevlerinin pik alan ve pik potansiyel değerleri değerleri

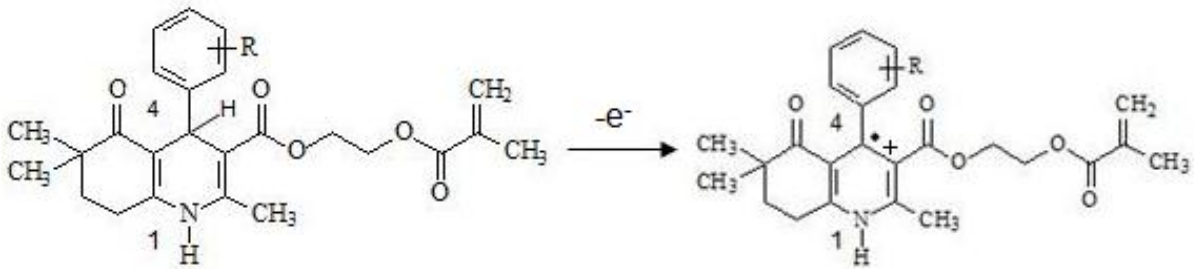
	Pik Alanı (C)	Pik Potansiyeli (V)
R=2,4diCl	-8.169e ⁻⁶	0.089
R=2,5diCl	-6.394e ⁻⁶	0.087
R=3Cl	-4.623e ⁻⁶	0.141
R=2Cl,5CF ₃	-5.748e ⁻⁶	0.142

Voltamogramlar kıyaslanarak çalışılan maddelerin antioksidan kapasite sıralaması şu şeklide bulunmuştur:

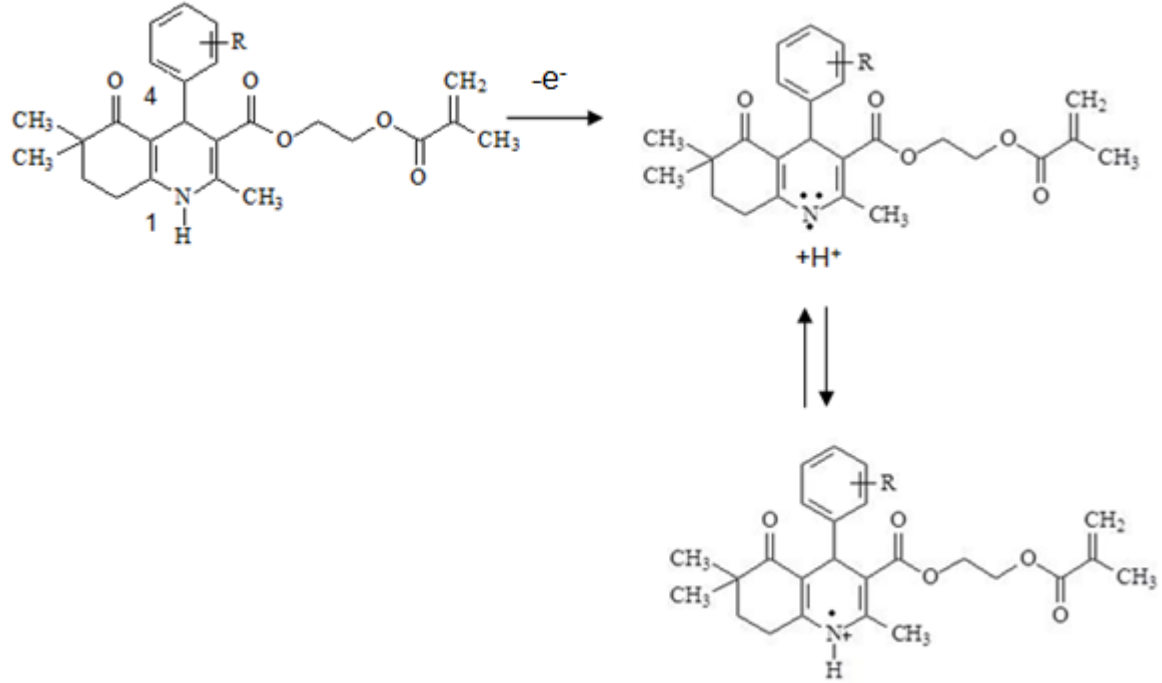


İncelenen dört farklı 1,4-dihidropiridin türevi arasındaki antioksidan kapasite farkı yapılarındaki fenil grubu üzerindeki grupların farklılığından ileri gelmektedir.

Voltamogramlarda iki tane anodik pik görülmektedir. Bu durum yükseltgenme olayının iki basamakta gerçekleştiğini gösterir. İlk yükseltgenme olayının piridin halkası üzerinde C(4) pozisyonundan, ikinci yükseltgenme olayının ise C(1) pozisyonundan H'nin ayrılmasıyla gerçekleştiği düşünülmektedir.



Şekil 4.27. Birinci elektrokimyasal basamak



Şekil 4.28. İkinci elektrokimyasal basamak

İlk elektrokimyasal tepkimeden sonra oluşan radikalın kararlılığı fenil halkasındaki farklı gruplara bağlıdır. Karbokasyon ne kadar kararlıysa antioksidan özelliği de o kadar fazladır. Piridin halkası üzerinde C(4) pozisyonundaki eşleşmemiş elektronun fenil halkası üzerinde ilerlemesiyle, mezomerik etki sonucu dört farklı 1,4-dihidropiridin türevinin her birinin üç farklı rezonans yapısı oluşur. R=2,4diCl türevinin iki rezonans yapısı da kararlıyken, R=3Cl türevinin rezonans yapılarından hiç biri kararlı değildir. R=2,5diCl ile R=2Cl,5CF₃ türevlerinin her ikisinin de tek rezonans yapısı kararlıdır; fakat F'un elektronegatifliği daha yüksek olduğu için R=2,5diCl türevinin rezonans yapısı daha kararlıdır. Deneysel sonuçlar da bu değerlendirmeyi destekler niteliktedir.

5. SONUÇ

- Yapılan çalışmaların sonuçlarında görüldüğü gibi UV spektrofotometri, IR spektroskopisi, yüksek performanslı sıvı kromatografisi veya lazer flaş fotolizi gibi kompleks protokolleri ve/veya pahalı cihazları içeren diğer analitik yöntemlerin yanında, dönüşümlü voltametri tekniği hem antioksidan yükseltgenme tepkimelerinin mekanizmasının aydınlatılmasında hem de antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde düşük maliyetli, nispeten daha basit ve zaman kazandıran bir tekniktir.
- Çalışmadaki voltamogramlar incelendiğinde tarama hızı ve derişimle pik akımın doğrusal olduğu, fakat hem tarama hızının hem de derişimin pik potansiyeli üzerinde bir etkisi olmadığı görülmüştür. Bu durum antioksidan yükseltgenme tepkimesinin tersinir olmasıyla sonuçlanır. Ayrıca voltamogramlardan tepkimenin elektrot yüzeyinde adsorpsiyon kontrollü gerçekleştiği de belirlenmiştir. Tüm bu sonuçların ışığı altında, kullanılan antioksidan türevlerinin kapasitelerinin birbirinden farklı olduğu ve sıralamasının $R=2,4diCl > R=2,5diCl > R=3Cl > R=2Cl,5CF_3$ şeklinde olduğu görülmüştür.
- Antioksidanlarla yüzey elektrokimyası tekniklerini birleştirerek çalışma imkanı sağlayan bu tez çalışması kapsamında, 0.2 mg/ml gibi düşük derişimlerde oldukça az miktarda antioksidan maddesi tüketerek birkaç dakika içerisinde antioksidan ölçümlerinin tamamlandığı görülmüştür. Bu tez çalışmasında sadece nitel analiz yapılmıştır ve antioksidan kapasiteleri anodik pik alanları ve anodik pik potansiyelleri karşılaştırılarak belirlenmiştir. Bu tez, ileride devam edecek çalışmalarda Troloks gibi bir referans madde kullanarak antioksidan miktar tayinlerinin yapılmasına ve yeni antioksidan türlerinin aydınlatılmasına olanak sağlayacaktır.

6. KAYNAKLAR

- [1] Hermes-Lima, M., Zenteno-Savin, T., Animal Response to Drastic Changes in Oxygen Availability and Physiological Oxidative Stress, *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 133, 537–556, **2002**.
- [2] Serafini, M., Del Rio, D., Understanding the Association Between Dietary Antioxidants, Redox Status and Disease: Is the Total Antioxidant Capacity the Right Tool?, *Redox Report*, 9 (3), 145-152, **2004**.
- [3] Percival M., Antioxidants, *Clinical Nutrition Insights*; 10: 1-4, **1998**.
- [4] Halliwell B., Gutteridge J. M, Cross C. E., Free Radicals, antioxidants and human disease: Where are we now? *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 119(6), 598-620, **1992**.
- [5] Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C., *Free Radicals in Biology and Medicine*, Third Edition, Oxford University Press. Inc., New York, 936s, **1999**.
- [6] Akkuş, İ., *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*, Mimoza Yayınları, 38, Kuzucular Ofset, Konya-Türkiye, **1995**.
- [7] Cheeseman, K. H., Slater, T. F., An Introduction to Free Radical Biochemistry, *British Medical Bulletin*, 49(3), 481-93, **1993**.
- [8] Mates, J. M., Effects of Antioxidant Enzymes in the Molecular Control of Reactive Oxygen Species Toxicology. *Toxicology*, 153, 83-104, **2000**.
- [9] Wickens, A. P., Ageing and Free Radical Theory, *Respiration Physiology*, 128, 379–391, **2001**.
- [10] Barnes, P. J., Reactive Oxygen Species and Airway Inflammation, *Free Radical Biology & Medicine*, 9, 235–243, **1990**.
- [11] Ünlü, M., Akkaya, A., Reaktif Oksijen Metabolitleri ve Akciğer Hastalıkları. *Solunum Hastalıkları*, 10, 207–211, **1999**.
- [12] Halliwell, B., Free radicals and antioxidants: A personal view, *Nutrition Reviews*, 52(8), 253-265, **1994**.
- [13] Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C., Oxygen Toxicity, Oxygen Radicals, Transition Metals and Disease, *Biochemical Journal*, 219, 1-14, **1984**.
- [14] Gutteridge, J. M.C., Halliwell, B., The measurement and mechanism of

- lipid peroxidation in biological systems, *Technische Informationsbibliothek*, April:129-134, **1990**.
- [15] Lorenzo, F. G., Alonso, B. O. Oxidative stress and antioxidant supplementation in type 1 diabetes, *Diabetes Care*, 22:870-871, **1999**.
- [16] Collier, A, Rumley, A, Rumley, A. G, Paterson, J. R, Leac, J. P, Lowe, G, Small, M. Free radical activity and hemostatic factors in niddm patients with and without microalbünüría, *Diabetes*, 41:909-913, **1992**.
- [17] Deaton, C. M., Marlin, D. J., Exercise-Associated Oxidative Stress, *Clin. Tech. Equine Pract*, Vol 2, No 3, 278-291, **2003**.
- [18] Thomas, M., The Role of Free Radicals and Antioxidants: How do We Know that they are Working. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35 (1), 21-39, **1995**.
- [19] Gutteridge, J. M., Halliwell, B., Free Radicals and Antioxidants in the Year 2000. A Historical Look to the Future, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 899, 136-147, **2000**.
- [20] Urso, M. L., Clarkson, P. M., Oxidative Stress, Exercise, and Antioxidant Supplementation, *Toxicology*, 189, 41–54, **2003**.
- [21] Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M., Scoullou, M., Molecular Biomarkers of Oxidative Stress in Aquatic Organisms in Relation to Toxic Environmental Pollutants, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 64, 178–179, **2006**.
- [22] Prior, R. L., Cao, G., In vivo Total Antioxidant Capacity: Comparison of Different Analytical Methods, *Free Radical Biology & Medicine*, 27, 1173–1181, **1999**.
- [23] Kaur, C., Kapoor, H. C., Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables, *International Journal of Food Science and Technology*. 37(2): 153-161, **2001**.
- [24] Winston, G. W., Oxidants and Antioxidants in Aquatic Animals, *Comparative Biochemistry and Physiology*, 100C, 173–176, **1991**.
- [25] Murray, R. K., Mayes, P. A., Granner, D. K., Rodwell, V. W., *Harper' in Biyokimyası, Çevirenler: Prof. Dr. Gülriz Menten, Prof.Dr. Biltan Ersöz. Barış Kitabevi, 1993*.

- [26] Hermes-Lima, M., Storey, J. M., Storey, K. B., Antioxidant Defenses and Animal Adaptation to Oxygen Availability During Environmental Stress, *Cell and Molecular Responses to Stress*, 2; 263-287, **2001**.
- [27] McCord, J. M., Fridovich, I., Superoxide Dismutase. An Enzymic Function for Erithrocyte (Hemocytin), *Journal of Biological Chemistry*, 244, 6049-6055, **1969**.
- [28] Moscone, D., Determination of Superoxide Dismutase Activity with an Electrochemical Oxygen Probe, *Analytica Chemica Acta.*, 211, 195-204, **1988**.
- [29] Nordberg, J., Arnér, E. S. J., Reactive Oxygen Species, Antioxidants, and the Mammalian Thioredoxin System, *Free Radical Biology and Medicine*; 31(11): 1287-1317, **2001**.
- [30] Aebi, H., Catalase in vitro, *Methods in Enzymology*, 121-126, **1984**.
- [31] Leutner, S., Eckert, A., Muller, W. E., ROS generation, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in the aging brain, *Journal of Neural Transmission*; 108(8-9):955-67, **2001**.
- [32] McCord, J., The evolution of free radicals and oxidative stress, *American Journal of Medicine*, 108: 652-659, **2000**.
- [33] Rabideau, C. L., *Pesticide mixtures induce immunotoxicity: potentiation of apoptosis and oxidative stress*, MSc Thesis, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Virginia, **2001**.
- [34] Storey, B. K., Oxidative Stress: Animal Adaptations in Nature, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 29, 1715-1733, **1996**.
- [35] Klaassen, C. D., Watkins, J. B., *Casarett & Doull's Essentials of Toxicology*, 3rd Eds. New York, McGraw-Hill, USA, **2003**.
- [36] Burton, G. W., Vitamin E: Molecular and Biological Function, *Proceedings of the Nutrition Society*, 53(2), 251-262, **1994**.
- [37] Hardeland, R., Reiter, R. J., Poeggeler B, Tan DX. The significance of the metabolism of the neurohormone melatonin: antioxidative protection and formation of bioactive substances, *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*; 17(3): 347-57, **1993**.
- [38] Brzezinski, A., Melatonin in humans, *The New England Journal of*

- Medicine*; 336(3):186-95, **1997**.
- [39] Leon, J., Acuna-Castroviejo, D., Sainz, R. M., Mayo, J. C., Tan, D. X., Reiter, R. J., Melatonin and mitochondrial function, *Life Sciences*; 75(7): 765-90, **2004**.
- [40] Packer, L., Witt, E. H., Tritschler, H. J., Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radical Biology and Medicine*, 19: 227-250, **1995**.
- [41] Busse, E., Zimmer, G., Schopohl, B., Kornhuber, B., Influence of alpha lipoic acid on intracellular glutathione in vitro and in vivo, *Arzneimittel Forschung/Drug Research*; 42: 829-832, **1992**.
- [42] Podda, M., Tritschler, H. J., Ulrich, H., Packer, L., Alpha-Lipoic acid supplementation prevents symptoms of vitamin E deficiency, *Biochemical and Biophysical Research Communications*; 204: 98-104, **1994**.
- [43] Quartacci, M. F., Sgherri, C., Lipoic acid: a unique antioxidant in the detoxification of activated oxygen species, *Plant Physiology and Biochemistry*; 40:463-470, **2002**.
- [44] Ou, P., Tritschler, H. J., Wolff, S. P., Thiocctic (lipoic) acid : a therapeutic metal-chelating antioxidant? *Biochem Pharmacology*; 50(1): 123-126, **1995**.
- [45] Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species, *Physiological Reviews*; 74(1):139-62, **1994**.
- [46] Yalçın, A. S., *Antioksidanlar. Klinik Gelişim II*; 342-6, **1998**.
- [47] Gutteridge J. M. C., Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage, *Clinical Chemistry*; 41:1819-1828, **1995**.
- [48] Ernster, L., Dallner, G., Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1271:195–204, **1995**.
- [49] Koca, N., Karadeniz, F., Gıdalardaki doğal antioksidan bileşikler, *Gıda*, 30(4) 229-236, **2005**.
- [50] Podsedek, A., Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review, *Food Science and Technology*, 40;1,1–11, **2007**.
- [51] Chow, C. K., Vitamin E and Oxidative Stress. *Free Radical Biology & Medicine*, 11; 2, 215-232, **1991**.

- [52] Blokhina, O., Virolainen, E., Fagerstedt, K. V., Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review, *Annals of Botany*, 91; 2, 179-94, **2003**.
- [53] Mayes, P.A., Structure and Function of the Water-Soluble Vitamins. In: Murray, D.K., Mayes, P.A-Rodwell, V.W. Harper's Biochemistry 23. ed. Lange Medical Publication, London, 573-578, **1993**.
- [54] Cotellet, N., Bernier, J. L., Catteau, J. P., Pommery, J., Wallet, J. C., Gaydou, E. M., Antioxidant properties of hydroxy-flavones, *Free Radical Biology and Medicine*, 20(1), 35-43, **1996**.
- [55] Çimen, M. B. Y., Flavonoidler ve antioksidan özellikleri." *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 19, 296-304, 1999.
- [56] Rice-Evans, C., Screening of phenolics and flavonoids for antioxidant Activity; 16, 239-253, *Antioxidant Food Supplements in Human Health*, Ed: Packer L., Hiramatsu M., Yoshikawa T., Elsevier Inc., **1999**.
- [57] Ross, J. A., Kasum, C. M., Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety, *Annual Review of Nutrition*, 22, 19-34, **2002**.
- [58] Miller, N. J., Luiz-Larrea, M. B., Flavonoids and other plant phenols in the diet: Their significance as antioxidants, *Journal of Nutritional and Environmental Medicine*, 12, 39-51, **2002**.
- [59] Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. ve Karademir, S. E., A novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols, vitamin C and E using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 7970-7981, **2004**.
- [60] Prior, R. L., Wu, X., Schaich, K., Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4290-4302, **2005**.
- [61] Re, R., Pellegrini, N., Protgrgente, A., Pannala, A., Yang, M. ve Rice-Evans, C., Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization Assay, *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 1231-1237, **1999**.

- [62] Miller, N. J., Rice-Evans, C. A., Davies, M. J., Gopinathan, V., Milner, A., A Novel Method for Measuring Antioxidant Capacity and Its Application to Monitoring the Antioxidant Status in Premature Neonates, *Clinical Science*, 84, 407-412, **1993**.
- [63] MacDonald-Wicks, L. K., Wood, L. G., Garg, M. L., Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 2046–2056, **2006**.
- [64] Huang, D., Ou B., Prior, R., The chemistry behind antioxidant capacity assays, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856, **2005**.
- [64] Perez-Jimenez, J., Saura-Calixto, F., Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays, *Food Research International*, 39, 791–800, **2006**.
- [65] Nilsson J, Pillai D, Onning G, Persson C, Nilsson A, Akesson B. Comparison of the 2,2'-azinobis-3-ethylbenzotiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) methods to assess the total antioxidant capacity in extracts of fruit and vegetables, *Molecular Nutrition & Food Research*; 49:239-46, **2005**.
- [66] Ou BX, Huang DJ, Hampsch-Woodill M, Flanagan JA, Deemer EK. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: A comparative study, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50:3122-8, **2002**.
- [67] Singleton, V. L., Rossi, J. A., Colorimetry of Total Phenolics With Phosphomolybdic Phosphotungstic Acid Reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144 -158, **1965**.
- [68] Magalhaes, L. M., Segundo, M. A., Reis, S., Lima, J. L. F. C., Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties, *Analytica Chimica Acta*, 613, 1–19, **2008**.
- [69] Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., Brighenti, F., Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays, *Journal of Nutrition*, 133, 2812–2819, **2003**.

- [70] Ikawa, M., Schaper, T. D., Dollord, C. A. and Sosner, J. J., Utilization of Folin-Ciocalteu phenol reagent for the detection of certain nitrogen compounds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(7): 1811-1815, **2003**.
- [71] Wayner, D. D. M., Burton, G. W., Ingold, K. U., Locke, S., Quantitative Measurement of the Total, Peroxyl Radical-Trapping Antioxidant Capacity of Human Blood Plasma by Controlled Peroxidation, *Febs Letters*, 187, 33-37, **1985**.
- [72] Somogyi, A., Rosta, K., Pusztai, P., Tulassay, Z. ve Nagy G., Antioxidant measurements, *Physiological Measurement*, 28, R41–R55, **2007**.
- [73] Alho, H., Leinonen, J., Total antioxidant activity measured by chemiluminescence methods, *Methods in Enzymology*, 299, 3-14, **1999**.
- [74] Valkonen, M., Kuusi, T., Spectrophotometric assay for total radicaltrapping antioxidant potential in human serum, *Journal of Lipid Research*, 38, 823-833, **1997**.
- [75] Glazer, A. N., Phycoerythrin fluorescence-based assay for reactive oxygen species, *Methods in Enzymology*, 186, 161-168, **1990**.
- [76] Tubaro, F., Ghiselli, A., Papuzzi, P., Maiorino, M., Ursini, F., Analysis of plasma antioxidant capacity by competition kinetics, *Free Radical Biology & Medicine*, 24, 1228-1234, **1998**.
- [77] Blois, M. S., Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181: 1199-1200, **1958**.
- [78] Brand-Williams, W., Cavalier, M. E., Berset, C., Use of free radical method to evaluate antioxidant activity, *Food Science and Technology*, 28(1): 25-30, **1995**.
- [79] Molyneux, P., The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Journal of Science and Technology*, 26(2): 211-219, **2004**.
- [80] Cao, G., Prior, R.L., Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum, *Clinical Chemistry*, 44, 1309–1315, **1998**.
- [81] Huang, D., Ou B., Hampsch-Woodill, M., Flannagan, J. A., Prior, R. L.,

- High-Throughput Assay of Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) Using Multichannel Liquid Handling System Coupled with a Microplate Fluorescence Reader in 96-well Format, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4437-4444, **2002**.
- [82] Winston, G. W., Regoli, F., Dugas, A. J. Jr., Fong, J. H., Blanchard, K. A., A rapid gas chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids, *Free Radical Biology & Medicine*, 24, 480-493, **1998**.
- [83] Tomer, P. D., McLeman, L. D., Ohmine, S., Scherer, P. M., Murray, B. K., O'Neill, K. L., Comparison of the Total Oxyradical scavenging capacity and oxygen radical absorbance capacity antioxidant assays, *Journal of Medicinal Food*, 10 (2), 337- 344, **2007**.
- [83] Lichtenthaler, R., Marx, F., Kind, O. M., Determination of antioxidative capacities using an enhanced total oxidant scavenging capacity (TOSC) assay, *European Food Research and Technology*, 216, 166–173, **2003**.
- [84] Kohen, R., Yannai, E., Berry, E. M., Tirosh, O., Overall low molecular weight antioxidant activity of biological fluids and tissues by cyclic voltammetry, *Methods in Enzymology*, 300, 285-296, **1999**.
- [85] Kilmartin, P. A., Honglei, Z., Waterhouse, A. L., A Cyclic Voltammetry Method Suitable for Characterizing Antioxidant Properties of Wine and Wine Phenolics, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 1957-1965, **2001**.
- [86] Arulpriya, P., Lalitha, P., Hemalatha, S., Cyclic Voltammetric Assessment of the Antioxidant Activity of Petroleum Ether Extract of Samanea Saman (Jacq.) Merr, *Pelagia Research Library*, 1 (3): 24-35, **2010**.
- [87] Chevion, S., Roberts, M. A., Chevion, M., The Use of Cyclic Voltammetry for the Evaluation of Antioxidant Capacity, *Free Radical Biology & Medicine*, 28; 6, 860-870, **2000**.
- [88] Skoog, D. A., Holler, F. J., West, D. M., Enstrümental Analiz İlkeleri 7. Baskı. Çeviri Editörleri Esmâ Kılıç ve Ark., Bilim Yayıncılık – Ankara, 489 – 492, **2000**.
- [89] Zuman, P., Brezina, M., Polarographic Analysis in Pharmacy. Progress in

- Polarography. Vol. 2th Ed. P. Zuman, I.M. Kolthoff, New York, Intersence Publishers, **1962**.
- [90] Yıldız, A., Genç, Ö., *Enstrümental Analiz*, Hacettepe Üniversitesi Yayınları 1.Baskı, 352, **1993**.
- [91] Bond, A.M., *Modern Polarographic Methods in Analytical Chemistry*, Marcel Dekker Inc. N.Y., **1980**.
- [92] Henden, E., Gökçel, H. İ., Ertaş, F. N., 2001. *Eser Analiz Yaz Okulu*, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilimdalı, İzmir, 151 – 160, **2001**.
- [93] Taşdemir, İ. H., *Hipertansiyon Tedavisinde Kullanılan Bazı İlaçlardaki Etkin Maddelerin Tayini İçin Elektrokimyasal Yöntemlerin Geliştirilmesi ve Analitik Uygulamaları*; Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi; **2001**.
- [94] Wang, J., *Analytical Electrochemistry*, Copyright John Wiley&Sons, Inc. 2nd ed., ISBN 0-471-28272-3, **2000**.
- [95] Bard, A. J., Faulkner L. R., *Electrochemical Methods Fundamentals and Applications*, Copyright John Wiley & Sons, Inc. 2ND ed ISBN 0-471-04372-9, **2001**.
- [96] Greef, R. G., Peat, R., Peter, L. M., Pletcher, D., Robinson, J., *Instrumental Methods in Electro Chemistry*, London, Ellis Horwood series in Physical Chemistry, **1990**.
- [97] Wopschall, R. H. and Shain, I., Effect of Adsorption of Electroactive Species in Stationary Electrode Polarography, *Analytical Chemistry*, 39; 1514, **1967**.
- [98] Stout, D. M., Meyers, A. I., Recent advances in the chemistry of Dihydropyridines, *Chemical Reviews*, 82, 223-243, **1982**.
- [99] Ko, S., Yao, C., Ceric Ammonium Nitrate (CAN) Catalyzes the One-pot Synthesis Polyhydroquinoline Via the Hantzsch Reaction, *Tetrahedron*, 62; 31, 7293-7299, **2006**.
- [100] Sabitha, G., Raddy, G. S. K. K., Raddy, C. S., Yadav, J. S., A Novel TMSI-Mediated Synthesis of Hantzsch 1,4-Dihydropyridines at Ambient Temperature, *Tetrahedron Letters*, 44, 4129-4131, **2003**.

- [101] Anana, R., *1,4-Dihydropyridine calcium channel modulators as cardiovascular agent*, Doctora Theses, University of Alberta, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Canada, Spring, **1996**.
- [102] Stout, D. M., Meyers, A. I., Recent advances in the chemistry of Dihydropyridines, *Chemical Reviews*, 82, 223-243, **1982**.
- [103] Ashimori, A., Ono, T., Uchida, T., Ohtaki, Y., Fukaya, C., Watanabe, M., Novel 1,4-dihydropyridine calcium antagonists. I. Synthesis and activity of 4-(substituted pyridyl)-1,4-dihydropyridine derivatives, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 38(9), 2446-2458, **1990**.

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı : Funda ÇORBACIOĞLU
Doğum Yeri : Rize
Medeni Hali : Bekar
E-posta : fundacorbacioglu@gmail.com
Adresi : Eşref Bitlis Caddesi, Karayolları 4.Bölge Müdürlüğü Lojmanları E Blok Daire: 7 Yenimahalle/Ankara

Eğitim

Lise : Ankara Atatürk Anadolu Lisesi
Lisans : Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü
Yüksek Lisans : Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı
Doktora : -

Yabancı Dil ve Seviyesi

İngilizce, C

İş Deneyimi

Stajyer : TÜBİTAK, ATAL (Ankara Test ve Analiz Laboratuvarı), Ankara
Stajyer : Düzen Norwest Laboratuvarı, Ankara
Kimyager : T.C.K. 4.Bölge Müdürlüğü Ar-Ge Başmühendiliği, Ankara

Deneyim Alanları

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

Tezden Üretilmiş Yayınlar

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar