

**IŞINLAMA SONUCUNDA BETA-LAKTAM GRUBU BAZI
ANTİBİYOTİKLERDE OLUŞAN ARA ÜRÜNLERİN
ESR YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ**

**INVESTIGATION OF RADIOLYTICAL INTERMEDIATES
PRODUCED BY RADIATION IN SOME BETA-LACTAM
ANTIBIOTICS USING ESR METHOD**

SEMRA TEPE

Hacettepe Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
FİZİK MÜHENDİSLİĞİ Anabilim Dalı İçin Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

2005

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma jürümüz tarafından **FİZİK MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan (Danışman) :

Prof.Dr. Mustafa KORKMAZ

Üye :

Prof.Dr. Sevgi BAYARI

Üye :

Doç. Dr. Mustafa POLAT

ONAY

Bu tez/..../2005 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

..../..../....

Prof. Dr. Ahmet R. ÖZDURAL

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

İŞINLAMA SONUCUNDA BETA-LAKTAM GRUBU BAZI ANTİBİYOTİKLERDE OLUŞAN ARA ÜRÜNLERİN ESR YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ

Semra TEPE

ÖZ

İlaç üretiminde önde gelen önemli hususlardan biri de steril olmuş birim doz preparasyonlarının hazırlanmasıdır. Preparasyonların mikroorganizmalardan arındırılması klasik sterilizasyon teknikleri ile yapıldığında, özellikle sıcaklığa duyarlı ilaç ve ilaç etkin maddelerinde, ciddi boyutlarda degradasyonlar ortaya çıkabilmektedir. Bu sakıncayı ortadan kaldırmak ya da hiç değilse azaltmak için günümüzde yüksek enerjili radyasyonun kullanılması yoluna gidilmektedir. Başka deyimle günümüzde biyolojik kökenli ürünlerin ve ilaçların sterilizasyonu için daha çok yüksek enerjili radyasyonun kullanılması tercih edilmektedir. Bu tez çalışmasında, beta-laktam ailesine giren antibiyotiklerin hazırlanmasında ilaç etkin maddesi olarak kullanılan biri karbapenem (Meropenem trihidrat) diğer ikisi penisilin (piperasilin monohidrat ve sultamisilin tosilat) grubuna dahil olan üç bileşiğin radyasyon duyarlılıkları incelenerek bu etkin maddeleri içeren ilaçların radyasyonla sterilizasyonlarının yapıp yapılamayacakları araştırılmıştır. Bileşikler radyosterilizasyon için uluslararası kabul gören doz limitleri içerisinde kalınarak 1, 3, 6, 10 ve 15 kGy doz değerlerinde gamma ışınları ile ışınlanmış ve ışınlama sonucunda bu bileşiklerde oluşan radyolitik ara ürünlerin miktarları, mikrodalga doyum davranışları, sıcaklığın bu ara ürünler üzerine etkileri, odqa ve yüksek sıcaklıklardaki kararlılıkları ESR spektroskopisi yardımı ile incelenmiştir.

İşinlanan piperasilin monohidratın iki, sultamisilin tosilatın beş ve üçüncü bileşik olan meropenem trihidratın daha çok sayıda olmak üzere karmaşık sayılabilecek karakteristik rezonans tepesine sahip oldukları gözlenmiştir. Örneklerin ESR spektrumlarının mikrodalga gücüne bağlı değişimleri; 0,1-20 mW aralığında incelenerek spektruma katkı getiren olası radikal türleri belirlenmeye çalışılmıştır. Daha sonra sıcaklığın bu radikal türleri üzerine olan etkileri araştırılmış ve bu amaçla örnek sıcaklığı 100-410 K arasında değiştirilerek spektrumlarda oluşan olası değişimler gözlenmeye çalışılmıştır. Sinyal şiddetlerinin düşük sıcaklıklarda artarken yüksek sıcaklıklarda azaldıkları belirlenmiştir. Ancak, spektrumların genel görünüşlerinin değişmediği görülmüştür. Sinyal şiddetlerinde düşük sıcaklıklarda gözlenen artışların tersinir, yüksek sıcaklıklardaki azalmaların ise tersinir olmadığı

saptanmıştır. İki ay süre ile oda sıcaklığında bekletilen örneklerin sinyal şiddetlerinde zamanla ortaya çıkan olası değişimler incelenmiş ve tüm rezonans tepeleri ile ilgili şiddetlerin başlangıçta hızlı bir sönüm gösterdikleri ancak zaman ilerledikçe bu sönüm hızının azaldığı gözlenmiştir. Sinyal şiddeti sönüm verilerine en iyi uyan kuramsal fonksiyonlar araştırılmış ve bu yolla spektruma katkı getiren radikal türleri ve bunların oda sıcaklığındaki sönüm sabitleri belirlenmiştir.

Yüksek sıcaklıklarda değişik sürelerle tavlanan örneklerin sinyal şiddetlerinde gözlenen azalmalar dikkate alınarak deneysel spektrumun oluşumuna katkı getiren radikal türlerinin sönüm aktivasyon enerjileri hesaplanmış ve bulunan değerlerin benzer molekül yapısına sahip olan bileşikler için literatürde elde edilen değerlerle uyumlu olduğu belirlenmiştir. Ancak, sultamisilin tosilat örneği ile ilgili tavlama bulgularına anlamlı sayılabilecek bir veri uyarlama işlemi yapılamadığından, bu bileşikte oluşan kökçe türlerinin aktivasyon enerjileri hesaplanamamıştır. Ayrıca tüm örnek türleri için doz-cevap eğrileri oluşturulmuş, bu eğrilerden yararlanarak incelenen bileşiklerin dozimetre malzemesi olarak kullanılıp kullanılmayacakları araştırılmıştır. Meropenem trihidrat bileşiğinin bu amaçla kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Tüm bu incelemelerin sonucunda, meropenem trihidrat örneği ESR spektrumunun oluşumuna değişik ağırlık oranlarında olmak üzere dört; piperasilin monohidrat ve sultamisilin tosilatın spektrumlarına da yine değişik ağırlık oranlarında olmak üzere iki farklı türde radikal katkı getirdikleri yargısına varılmıştır. Moleküler yapılar dikkate alınarak bu radikallerin oluşum tepkimeleri için öneriler yapılmıştır. Önerilen radikal türlerinin ve bunların oluşum mekanizmalarının ancak spektrum simülasyon hesaplamalarının tamamlanması ile kesinlik kazanabileceğini belirtmek gerekir. Oldukça düşük sayılabilecek radyasyon verimine sahip olmaları nedeniyle her üç etkin maddeyi içeren ilaçların radyasyonla sterilizasyona uygun oldukları sonucuna varılmıştır.

ANAHTAR KELİMELER: ESR, sterilizasyon, radyasyonla sterilizasyon, beta-laktam antibiotikler, meropenem trihidrat, piperasilin monohidrat, sultamisilin tosilat

Danışman: Prof.Dr. Mustafa KORKMAZ, Hacettepe Üniversitesi, Fizik Mühendisliği Bölümü, Atom ve Molekül Fiziği Anabilim Dalı

INVESTIGATION OF RADIOLYTICAL INTERMEDIATES PRODUCED BY RADIATION IN SOME BETA-LACTAM ANTIBIOTICS USING ESR METHOD

Semra TEPE

ABSTRACT

Particular interest now centers on the preparation of steril-unit dose preparations. When preparations are purified from microorganisms using classic sterilization techniques, serious degradations may occur especially in temperature sensitive drugs and drug active components. In order to remove or at least reduce this drawbacks, use of high energy radiation now become popular. In other words, the use of high energy radiation for sterilization of bioproducts and pharmaceuticals is now preferred to the other techniques. In this M.S. work, radiation sensitiveness of three compounds, one of them is included in carbapenems and the others are included in penicillins groups which used as active drug components while preparing beta-lactam antibiotics were investigated and searched whether these drugs can be sterilized by radiation or not. Compounds were irradiated by gamma rays at 1,3,6,10 and 15 kGy irradiation doses. These dose values stay in the international dose limits accepted for radiation sterilization. After that, the amounts, microwave saturation behaviours, stability at room and high temperatures of the radiolytic intermediates produced in the samples after irradiation and effects of temperatures on these intermediates were investigated by Electron Spin Resonance (ESR) spectroscopy.

It is observed that the irradiated piperacillin monohydrate has two, sultamicillin tosylate has five and the third sample called meropenem trihydrate has still much more characteristic resonance peaks making complex the ESR spectra. The microwave dependent variations of ESR spectra for all the samples were examined in the range of 0.1-20 mW to determine the possible radical species contributing to the experimental spectra. Afterwards, the effects of temperature on these radical species were investigated and for this aim, possible changes arising in spectra were tried to observe while changing sample temperature in the range of 100 and 410 K. While the signal intensities of the spectra were increased at low temperatures, they were found to decrease at high temperatures. However, it was observed that the general patterns of the spectra did not change. Whereas the increases of the signal intensities at low temperatures were reversible, their

decreases at high temperatures were not. The samples were stored at room temperature for two months and the changes in the signal were examined. The intensities related to all resonance peaks showed fast decay at the beginning of storage period, but as time passed the rate of these decays were observed to decrease. Theoretical functions describing well the signal intensity decay data were searched and by this way radical species contributing to experimental spectra and their room temperature decay constants were determined.

The decay activation energies of the radical species contributing to ESR spectra were calculated by taking into consideration the signal intensities decay data of the studied compounds annealed at high temperatures for different period of time and it was found that the calculated values were correlated well with those obtained in the literature for samples exhibiting similar molecular structure. However, it was not possible to calculate activation energies of radical species produced in sultamicillin tosylate due to lack of reliable signal intensity decay data at high temperature for this compound. Moreover, the dose-response curves were constructed for all the sample species and by using the data obtained from these curves, an evaluation was made whether investigated compounds can be used or not for dosimetric purposes. It was concluded that meropenem trihydrate can be used for this purpose.

As a result of these investigations, it was concluded that, four and two different radical species contributed with different weights to the formation of experimental ESR spectra of meropenem and both piperacillin monohydrate and sultamicillin tosylate, respectively. By taking into consideration molecular structures, different propositions were made concerning the formation reactions of these radicals. It is needed to state that proposed radical species and their formation mechanisms can only become definite after completion of spectrum simulation calculations. However, it was found that the drugs including these compounds as active ingredients were suitable for radiation sterilization since they have rather low radiation yield.

KEY WORDS: ESR, sterilization, radiation sterilization, beta-lactam antibiotics, meropenem trihydrate, piperacillin monohydrate, sultamicillin tosylate

Advisor: Prof. Dr. Mustafa KORKMAZ, Hacettepe University, Department of Physics Engineering, Atom and Molecul Physics Section

TEŞEKKÜR

Tez çalışmasının yürütülmesinde çok değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her aşamada hoşgörüsü ve desteğini gördüğüm çok değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Mustafa Korkmaz'a,

Değerli fikir ve önerilerinden yararlanma fırsatı veren Sayın Prof.Dr. Turan Özbey'e,

Örneklerin temin edilmelerinde yardımcı olan Eczacıbaşı ve AstraZeneca ilaç firmalarına,

Işınlama çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Sayın Talat Aydın (TAEK) ve TAEK-Sarayköy Işınlama Tesisi çalışanlarına,

Öneri ve yardımlarını her zaman gördüğüm Sayın Dr. Şeyda Çolak'a, tez yazım aşamasında karşılaştığım sorunları çözmeme yardımcı olan Arş.Gör. Mustafa Coşkun'a, bilgisayarıyla rahat çalışmamı sağlayan Arş.Gör.İlknur Özkırım'a ve Magnetik Rezonans Araştırma Laboratuvarı ailesine,

Her an yanımda olduklarını hissettiren ve bana güç katan aileme ve sevgili nişanlım Ercan Barış Çam'a

içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZ.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xii
1.GİRİŞ.....	1
2. TEMEL KAVRAMLAR VE BİLGİLER.....	3
2.1. Gama Radyasyonunun Madde İle Etkileşmesi.....	3
2.1.1. Radyolitik ara ürünlerin oluşması.....	3
2.1.2. Radyolitik ara ürünlerin sönümü.....	5
2.2. Sterilizasyon.....	5
2.3. Sterilizasyon Yöntemleri Ve Bu Yöntemlerin Karşılaştırılması.....	6
2.3.1. Buharla sterilizasyon.....	6
2.3.2. Kuru sıcak hava ile sterilizasyon.....	7
2.3.3. Etilen oksit (EO) ile sterilizasyon.....	8
2.3.4. Aseptik filtrasyon.....	9
2.3.5. Radyasyonla sterilizasyon.....	9
2.3.5.1. Radyosterilizasyonun avantajları.....	11
2.3.5.2. Radyosterilizasyonun dezavantajları.....	13
2.4. İncelenen β -laktam Grubu Antibiyotikler Ve Özellikleri.....	14
2.4.1. Karbapenemler.....	16
2.4.1.1. Meropenem trihidrat (MPT).....	16
2.4.2. Penisilinler.....	17
2.4.2.1. Piperasilin monohydrate (PPM).....	17
2.4.2.2. Sultamisilin tosilat (SULT).....	18
2.5. Penisilinler Ve Radyasyonla Sterilizasyon.....	18
2.6. Elektron Spin Rezonans (ESR) Spektroskopisi.....	21
2.6.1. Spektroskopik yarıлма çarpanı.....	25
2.6.2. Aşırı ince yapı etkileşmesi.....	26
2.6.3. Çizgi genişliği ve sinyal şiddeti.....	30
2.6.4. Spin hamiltoniyeni ve çok bileşenli ESR spektrumları.....	31
2.6.5. ESR spektroskopisinin radikal analizinde kullanılması.....	32
2.7. ESR Spektroskopisinin Radyasyonla Sterilizasyon İşleminde Kullanılması.....	33

3. DENEYSEL YÖNTEM	34
3.1. Örneklerin Temin Edilmeleri ve Hazırlanmaları	34
3.2. İncelenen Bileşiklerin İçerikleri	34
3.3. Örneklerin Işınlanması	37
3.4. Kullanılan Ölçüm Tekniği	37
3.4.1. Kullanılan ESR spektrometreleri ve özellikleri	38
4. DENEYSEL BULGULAR	41
4.1. Meropenem Trihidrat (MPT) İçin Elde Edilen Bulgular	41
4.1.1. Oda sıcaklığında elde edilen bulgular	41
4.1.1.1. Işınlanmamış MPT ESR spektrumu	41
4.1.1.2. Işınlanmış MPT ESR spektrumu.....	41
4.1.1.3. Sinyal şiddetinin mikrodalga gücüne bağlı değişimi.....	42
4.1.2. Değişik sıcaklıklarda elde edilen bulgular.....	44
4.1.3. Sinyal şiddetinin normal koşullardaki sönümü.....	46
4.1.4. Sinyal şiddetinin yüksek sıcaklıklardaki sönümü	48
4.1.5. Işınlanmış MPT için kökçe sönüm aktivasyon enerjileri.....	53
4.1.6. MPT örneği doz-cevap eğrileri	54
4.2. Piperasilin Monohidrat (PPM) İle İlgili Bulgular	57
4.2.1. Oda sıcaklığında elde edilen bulgular	57
4.2.1.1. Işınlanmamış PPM ESR spektrumu.....	57
4.2.1.2. Işınlanmış PPM ESR spektrumu.....	57
4.2.1.3. Sinyal şiddetinin mikrodalga gücüne bağlı değişimi.....	58
4.2.2. Değişik sıcaklıklarda elde edilen bulgular.....	59
4.2.3. Sinyal şiddetinin normal koşullardaki sönümü.....	61
4.2.4. Sinyal şiddetinin yüksek sıcaklıklardaki sönümü	62
4.2.5. Işınlanmış PPM için kökçe sönüm aktivasyon enerjileri	64
4.2.6. PPM örneği doz-cevap eğrileri	66
4.3. Sultamisilin Tosilat (SULT) İle İlgili Bulgular	68
4.3.1. Oda sıcaklığında elde edilen bulgular	68
4.3.1.1. Işınlanmamış SULT ESR spektrumu	68
4.3.1.2. Işınlanmış SULT ESR spektrumu	68
4.3.1.3. Sinyal şiddetinin mikrodalga gücüne bağlı değişimi.....	69
4.3.2. Değişik sıcaklıklarda elde edilen bulgular.....	71
4.3.3. Sinyal şiddetinin normal koşullardaki sönümü.....	72
4.3.4. Sinyal şiddetinin yüksek sıcaklıklardaki sönümü	75
4.3.5. SULT örneği doz-cevap eğrileri.....	77
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	80
5.1 Genel Değerlendirme	81
5.2. Piperasilin Monohidrat (PPM)	82
5.3. Sultamisilin Tosilat (SULT)	84
5.4. Meropenem Trihidrat (MPT)	87
6.KAYNAKLAR DİZİNİ	90
ÖZGEÇMİŞ	98

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. β -laktam grubu antibiyotiklerin genel molekül yapısı.....	15
Şekil 2.2. Meropenem trihidratın molekül yapısı.....	16
Şekil 2.3. Piperasilin monohidratın molekül yapısı	17
Şekil 2.4. Sultamisilin tosilatın molekül yapısı	18
Şekil 2.5. a) Bir serbest elektronun manyetik alan içindeki enerji düzeyleri, b) Soğurulan enerjinin manyetik alana göre değişimi, c) Soğurma eğrisinin birinci türevi.	23
Şekil 2.6. Tek çizgili bir ESR spektrumunun karakteristik özellikleri	24
a) soğurma , b) birinci türev.....	24
Şekil 2.7. Üç farklı simetri durumunda toz örnekler için elde edilen ESR spektrumları. a) ortorombik, b) eksenel, c) kübik.....	27
Şekil 3.1. Kullanılan ESR spektrometrelerinin şematik diyagramı	39
Şekil 4.1. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış bir MPT örneği için oda sıcaklığında kaydedilen ESR spektrumu.....	42
Şekil 4.2. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış bir MPT örneği rezonans tepeleri için oda sıcaklığında elde edilen mikrodalga doyum bulguları [■ (1); ● (2); ☆ (3); ✕ (4); □ (5); ◀ (6); * (7); ☒ (8); ★ (9); ⊕ (10); ◆ (11)].....	43
Şekil 4.3. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış MPT örneği 1,2,3 ve 4 nolu rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinin 110-380 K aralığında sıcaklık değişimleri [■ (1); ● (2); ◀ (3); ★ (4)] soğutma; [☒ (1); ◻ (2); ◁ (3); ☆ (4)]; ısıtma	44
Şekil 4.4. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış MPT örneği 5, 6 ve 8 nolu rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinin 110 - 380 K aralığında sıcaklıkla değişimleri [■ (5); ★ (6); ◀ (8)] soğutma; [☒ (5); ☆ (6); ◁ (8)]; ısıtma	45
Şekil 4.5. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış MPT örneği 9, 10 ve 11 nolu rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinin 110 - 380 K aralığında sıcaklıkla değişimleri [■ (9); ★ (10); ◀ (11)] soğutma; [☒ (9); ☆ (10); ◁ (11)]; ısıtma.....	45
Şekil 4.6. 6 kGy doz değerinde ışınlanmış MPT örneği için belirlenen rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinin normal koşullarda zamanla değişimleri [semboller (deneysel): ■ (1); ● (2); ▽ (3); △ (4); ◆ (5); ◀ (10); * (11); sürekli çizgiler (kuramsal)].....	47
Şekil 4.7. İki nolu rezonans tepesi ile ilgili, bire normalize edilmiş, sinyal şiddetinin üç değişik sıcaklıkta tavlama zamanına bağlı değişimi [semboller (deneysel): ⊕ (360 K); ■ (370 K); △ (380 K); sürekli çizgiler (kuramsal)].....	50

- Şekil 4.8. Dört nolu rezonans tepesi ile ilgili, bire normalize edilmiş, sinyal şiddetinin üç değişik sıcaklıkta tavlama zamanına bağlı değişimi [semboller (deneysel): \oplus (360 K); \blacksquare (370 K); \triangle (380 K); sürekli çizgiler (kuramsal)] 50
- Şekil 4.9. Beş nolu rezonans tepesi ile ilgili, bire normalize edilmiş, sinyal şiddetinin üç değişik sıcaklıkta tavlama zamanına bağlı değişimi [semboller (deneysel): \oplus (360 K); \blacksquare (370 K); \triangle (380 K); \star (385 K); \blacktriangleright (390 K); sürekli çizgiler (kuramsal)] 51
- Şekil 4.10. Spektruma katkı getiren kökçeler için oluşturulan $\ln(k) - 1/T$ grafiği [semboller (deneysel): \boxtimes (A); \triangle (B); \odot (C); \star (D)]; sürekli çizgiler (kuramsal)] 53
- Şekil 4.11. Işınlanmış MPT örneği karakteristik rezonans tepelerine karşılık gelen sinyal şiddetlerinin soğurulan radyasyon dozuna bağlı değişimleri [semboller (deneysel) \blacksquare (1); \bullet (2); \triangle (4); \diamond (5); \blacktriangleleft (6); \ast (7); sürekli çizgiler ($I=k + I^*D$ fonksiyonundan elde edilen kuramsal değerler)] 55
- Şekil 4.12. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış bir PPM örneği için oda sıcaklığında kaydedilen ESR spektrumu 58
- Şekil 4.13. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış PPM örneği 1 ve 2 nolu rezonans tepeleri için oda sıcaklığında elde edilen mikrodalga doyum bulguları [\blacksquare (1); \bullet (2)] 59
- Şekil 4.14. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış bir PPM örneği 1 ve 2 nolu rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinin 110-410 K aralığındaki sıcaklıkla değişimleri ([\star (1); \triangle (2)] soğutma; [\star (1); \blacktriangle (2)] ısıtma; [\star (1); \boxtimes (2)] yeniden soğutma)..... 60
- Şekil 4.15. 6 kGy doz değerinde ışınlanmış bir PPM örneği 1 ve 2 nolu rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinin normal koşullardaki zamanla değişimleri [semboller (deneysel): \blacksquare (1); \oplus (2); sürekli çizgiler (kuramsal)]..... 61
- Şekil 4.16. Bir nolu rezonans tepesi ile ilgili, bire normalize edilmiş, sinyal şiddetinin dört değişik sıcaklıkta tavlama zamanına bağlı değişimi [semboller (deneysel): \oplus (370); \star (380); \blacktriangleright (390); \ast (400); sürekli çizgiler (kuramsal)]63
- Şekil 4.17. İki nolu rezonans tepesi ile ilgili, bire normalize edilmiş, sinyal şiddetinin dört değişik sıcaklıkta tavlama zamanına bağlı değişimi [semboller (deneysel): \oplus (370); \star (380); \blacktriangleright (390); \ast (400); sürekli çizgiler (kuramsal)] 63
- Şekil 4.18. Spektruma katkı getiren kökçeler için oluşturulan $\ln(k)-1/T$ grafiği [semboller (deneysel): \boxtimes (A); \odot (B); sürekli çizgiler (kuramsal)]..... 65
- Şekil 4.19. Işınlanmış PPM örneği karakteristik rezonans tepelerine karşılık gelen sinyal şiddetlerinin soğurulan radyasyon dozuna bağlı değişimleri [semboller (deneysel): \blacksquare (1); \oplus (2); sürekli çizgiler ($I=m+nD+pD^2$ fonksiyonundan elde edilen kuramsal değerler)]..... 66
- Şekil 4.20. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış SULT örneği için oda sıcaklığında kaydedilen ESR spektrumu 69

- Şekil 4.21. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış bir SULT örneği karakteristik rezonans tepeleri için oda sıcaklığında elde edilen mikrodalga doyum bulguları (⊞ (1); ● (2); ★ (3); ▶ (4); ◇ (5))..... 70
- Şekil 4.22. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış SULT örneği 1 ve 2 nolu rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinin 100-350 K aralığında sıcaklıkla değişimleri [■ (1); ● (2)] soğutma; [⊞ (1); ○ (2)] ısıtma 71
- Şekil 4.23. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış SULT örneği 3, 4 ve 5 nolu rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinin 100-350 K aralığında sıcaklıkla değişimleri [★ (3); ◆ (4); ▲ (5)] soğutma; [☆ (3); ◊ (4); △ (5)] ısıtma 72
- Şekil 4.24. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış bir SULT örneği için belirlenen rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinin normal koşullardaki zamanla değişimleri [semboller (deneysel): ⊞ (1); ✱ (2); ☆ (3); ▲ (4); ● (5); sürekli çizgiler (kuramsal)] 73
- Şekil 4.25. Bir nolu rezonans tepesi ile ilgili, bire normalize edilmiş, sinyal şiddetinin üç değişik sıcaklıkta tavlama zamanına bağlı değişimi [semboller (deneysel): □ (340); ⊕ (345); ✱ (350)]..... 75
- Şekil 4.26. İki nolu rezonans tepesi ile ilgili, bire normalize edilmiş, sinyal şiddetinin üç değişik sıcaklıkta tavlama zamanına bağlı değişimi [semboller (deneysel): □ (340); ⊕ (345); ✱ (350)] 76
- Şekil 4.27. Beş nolu rezonans tepesi ile ilgili, bire normalize edilmiş, sinyal şiddetinin üç değişik sıcaklıkta tavlama zamanına bağlı değişimi [semboller (deneysel): □ (340); ⊕ (345); ✱ (350)]..... 76
- Şekil 4.28. Işınlanmış SULT örneği karakteristik rezonans tepelerine karşılık gelen sinyal şiddetlerinin soğurulan doza bağlı değişimleri [semboller (deneysel): ✱ (1); ▶ (2); ✱ (3); ★ (4); ⊞ (5); sürekli çizgiler $I=m+nD+pD^2$ fonksiyonundan elde edilen kuramsal değerler] 78

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Işınlanmış MPT örneği ESR spektrumunun oluşumuna katkı getiren kökçelerin oda sıcaklığındaki sönüm sabitleri ve incelenen rezonans tepelerine bu kökçelerin katılım ağırlık oranları	49
Çizelge 4.2. Işınlanmış MPT örneği ESR spektrumuna katkı getiren kökçe türleri için üç değişik sıcaklıkta hesaplanan k sönüm sabitleri.....	52
Çizelge 4.3. Işınlanmış MPT ESR spektrumuna katkı getiren kökçeler için hesaplanan sönüm aktivasyon enerjileri	54
Çizelge 4.4. MPT örneği doz-cevap eğrilerine uydurulmaya çalışılan matematiksel fonksiyonlar. Parantez içindeki sayılar R^2 değerlerini göstermektedir.	56
Çizelge 4.5. Işınlanmış PPM ESR spektrumunun oluşumuna katkı getiren kökçe türleri için hesaplanan oda sıcaklığı sönüm sabitleri ve katılım ağırlık oranları	62
Çizelge 4.6. Işınlanmış PPM örneği ESR spektrumuna katkı getiren kökçeler için değişik sıcaklıklarda hesaplanan k sönüm sabitleri.....	64
Çizelge 4.7. Işınlanmış PPM örneği ESR spektrumuna katkı getiren kökçeler için hesaplanan sönüm aktivasyon enerjileri	65
Çizelge 4.8. PPM örneği doz-cevap eğrilerine uydurulmaya çalışılan matematiksel fonksiyonlar. Parantez içindeki sayılar R^2 değerlerini göstermektedir.	67
Çizelge 4.9. Işınlanmış SULT örneği ESR spektrumunun oluşumuna katkı getiren kökçelerin oda sıcaklığındaki sönüm sabitleri ve incelenen rezonans tepelerine bu kökçelerin katılım ağırlık oranları	74
Çizelge 4.10. SULT örneği doz-cevap eğrilerine uydurulmaya çalışılan matematiksel fonksiyonlar. Parantez içindeki sayılar R^2 değerlerini göstermektedir.	79

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A	Aşırı İnce Yapı Sabiti
AAMI	Tıbbi Cihazlar Gelişim Derneği
BP	İngiliz Farmakopesi
DEA	Doğrusal Enerji Aktarımı
DMSO	Dimetil Sülfoksit
EO	Etilen Oksit
ESR	Elektron Spin Rezonans
G	Radyasyon verimi
g	Spektroskopik Yarılma Çarpanı
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
H ₀	Örneğin rezonans alanı
H _s	Standardın rezonans alanı
H _r	Rezonans alanı
IAEA	Uluslararası Atom Enerjisi Kurumu
ISO	Uluslararası Standardizasyon Örgütü
k	Sönüm sabiti
k.b.	Keyfi birim
MD	Mikrodalga
MPT	Meropenem Trihidrat
PPM	Piperasillin Monohidrat

SAL	Sterilite Temin Seviyesi
SULT	Sultamisilin Tosilat
USP	Amerika Farmakopesi
Y_m'	Sinyal şiddeti
μ_β	Bohr Magnetonu
ΔH_{pp}	Tepeden Tepeye Çizgi Genişliği

1.GİRİŞ

İlaç, ilaç hammaddesi ve medikal gereçlerin mikroorganizmalardan arındırılması ve besinlerin hijyenik kalitelerinin artırılması için gama ışınları ve elektron demetleri gibi yüksek enerjili radyasyonların kullanımına ilgi gün geçtikçe artmaktadır (Saint-Lebe ve Raffi, 1995). Bu ilginin iki ana nedene dayandığı söylenebilir. Bunlardan birincisi kullanılan radyasyonun yüksek giricilik özelliğine sahip olması, ikincisi ise işlem sonucunda ışınlanan örneklerde çok düşük düzeylerde sıcaklık artışlarının ortaya çıkmasıdır. Mikroorganizmalar genelde radyasyona duyarlıdırlar (Farkas, 1989; Whitby, 1993), ancak bu duyarlık bir türden diğerine değişebilir. Dolayısı ile ilaç ve ilaç hammaddelerine uygulanacak sterilizasyon dozu, bunların başlangıçtaki mikrobiyal yükün (bioburden) derecesine ve muhatap olunan mikroorganizmanın radyasyona karşı duyarlılığına bağlıdır (Jacobs, 1985). Sterilizasyon dozu, mevcut mikrobiyal yükün milyonda bire indirilmesi için gerekli olan radyasyon dozu da olarak bilinir ve buna sterilite temin seviyesi ya da İngilizce karşılığı ile “Sterility Assurance Level” SAL değeri denir.

Radyasyonla sterilizasyon; konvansiyonel sterilizasyon tekniklerine göre daha kolay ve güvenilirdir, yüksek giriciliğe sahiptir, örnek sıcaklığını çok az artırır, validasyon işlemi kolaydır, işlem garantilidir ve çevreye zarar vermez. Tüm bu avantajlara sahip olmasına karşın bu tekniğin bazı dezavantajları da vardır. Yüksek enerjili radyasyon yıkıcıdır ve bunun radyolitik etkilerini öngörmek zordur. Dolayısı ile radyasyonla sterilizasyonun uygulanabilirliği ancak ışınlama sonucunda örnekte oluşan kökçelerin ve diğer araürünlerin belirlenmesi ve bunların kontrol edilmesi ile olanaklıdır. Ayrıca bu tekniğin uluslararası standartlara kavuşturulması, başka deyimle, bir ulustan diğerine düzenlemelerin değişmemesi gerekir (Pharmacopeia, 1992, 1993, 1995).

Radyosterilizasyon sonucunda oluşan ve çiftlenimsiz elektrona sahip araürünlerin oluşum mekanizmalarını, türlerini, yapılarını, miktarlarını ve bunların kararlılıklarını incelemede kullanılabilecek en duyarlı teknik Elektron Spin Rezonans (ESR) spektroskopisidir (Crucq, 1994; Zeegers et al., 1993; Gibella et al., 1993; Basly et al., 1997; Yürüş et al., 2004; Yürüş ve Korkmaz, 2005; Çolak ve Korkmaz, 2004a; Çolak ve Korkmaz, 2004b). ESR tekniği kullanılarak çok sayıda antibiyotiğin radyasyon duyarlılığı literatürde incelenmiştir. Radyasyonla sterilizasyonu

sonucunda sodyum benzil penisilinin sulu çözeltisinde radyoliz gözlenmiştir. Bu bozunmanın penisilin yan zincirindeki benzen halkasının suyun radyolizi ile oluşan hidroksil grubu ile tepkimeye girmesi nedeni ile oluştuğu ileri sürülmüştür (Phillips et. al.,1973). Dziegilewski ve arkadaşları (Dziegilewski et. al., 1973) benzil penisilinin potasyum tuzları üzerinde yürüttükleri radyosterilizasyon çalışmaları sonucunda bu bileşiklerin G değerleri için 2,2 rakamını elde ederken serbest asidin G değeri için 28,8 sayısını elde etmişlerdir. Bu G değerine dayanarak, penisilin tuzlarının radyasyona karşı kararlılıklarının serbest aside göre çok daha yüksek olduğu yargısına varmışlardır. Benzer çalışmalar amoksisilin trihidrat, benzilpenisilin, susuz ampisilin, ampisilin trihidrat, sodyum ampisilin, oksasilin sodyum, kloksasilin sodyum, dikloksasilin sodyum, hetasilin potasyum ve karbenisilin disodyum gibi yarısentetik penisilinler üzerinde yürütülmüştür (Dimitrova et. al.,1983; Dziegielewski, 1975; Fleurette et. al., 1975). Jacobs (Jacobs, 1984, 1985) ampisilin ve esterlerini 25 ve 50 kGy doz değerlerinde ışınlayarak radyoliz sonucunda oluşan ara ürünleri hem ESR hem de yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) teknikleri ile incelemiştir. Bu tür çalışmaların bir devamı olarak bu tez çalışmasında beta-laktam antibiyotik ailesine giren biri karbapenem ve diğer ikisi penisilin grubu üyelerinden olan toplam üç bileşiğin [meropenem trihidrat (MPT); piperasilin monohidrat (PPM) ve sultamisilin tosilat (SULT)] gama ışınlarına tutulmaları sonucunda oluşan kökçelerin miktarları, mikrodalga doyum davranışları, oda ve yüksek sıcaklıklardaki kararlılıkları Elektron Spin Rezonans tekniği ile ayrıntılı olarak incelenmiştir. Kökçe kararlılık sonuçlarından yararlanarak bu bileşiklerin dozimetre malzemesi olarak kullanılıp kullanılmayacakları araştırılmıştır. Tez; giriş; temel kavramlar ve bilgiler; deneysel yöntem; deneysel bulgular; tartışma ve sonuç kısımlarından oluşmaktadır. Girişte incelemenin yürütüldüğü alanda bugüne değin yapılan araştırmaların kısa bir özetine yer verilmiş; temel kavramlar ve bilgiler kısmında üzerinde çalışılan örneklerin kimyasal yapılarına, fiziksel ve kimyasal özellikleri ile kullanılan ölçüm tekniğinin genel ayrıntılarına yer verilmiştir. Deneysel yöntem kısmında örneklerin hazırlanması,ışınlanması, spektrumların alınması ve kullanılan spektrometrelerin çalışma ilkelerine yer verilmiştir. Deneysel bulgular kısmında, elde edilen sonuçlara yer verilmiş ve tartışma kısmında ise elde edilen bulguların moleküler temelleri üzerinde durulmuştur.

2. TEMEL KAVRAMLAR VE BİLGİLER

2.1. Gama Radyasyonunun Madde İle Etkileşmesi

Radyasyon dalga veya parçacık formu altındaki enerjinin bir yerden başka bir yere taşınmasıdır. Atom ve çekirdeklerin kararlı enerji durumları bozulduğu zaman çevrelerinde bulunan diğer birimlerle enerji alışverişine girerler. Bu enerji alışverişi γ ve X ışını radyasyonlarında olduğu gibi elektromanyetik dalga paketi şeklinde veya α ve β radyasyonlarında olduğu gibi kütleli ve yüklü parçacık yayınlanması veya soğurulması şeklinde olabilir. Sonuç olarak radyasyon terimi hem elektromanyetik dalgalar hem de yüksek enerjili parçacık demetleri için kullanılmaktadır. Enerjisi yüksek olan radyasyona 'iyonlayıcı', düşük olana ise 'iyonlayıcı olmayan' radyasyon denir. Su ve yoğunluğu suya eşit malzemeler için gama ışınlarının giriciliği 30 cm civarında iken, elektron demetlerinin aynı malzemelerdeki giriciliği 2.5-5 cm arasındadır (Russell et al., 1982). Elektron demetleri gama ışınlarına göre çok daha yüksek doz hızına sahiptir. Sterilizasyon dozu sağlanması için gereken süre elektron hızlandırıcılarının kullanıldığı durumda saniyeler mertebesinde iken, gama kaynaklarının kullanıldığı durumlarda bu süre saatler mertebesinde (Russell et al.,1982). Gama radyasyonu, enerjisine ve etkileştiği malzemenin atom numarasına bağlı olarak maddeye fotoelektrik olay, Compton saçılması ve çift oluşum yolları ile enerji aktarır. Farmasötikler ve yumuşak dokular, ağırlıklı olarak, C,H,N,O,Cl,P,S gibi hafif elementler içerdiklerinden bu tür ortamlara γ ışınlarının gönderilmesi durumunda genelde Compton saçılması gözlenir. Ayrıca; γ ışınlarının enerjileri, 12 eV'dan daha küçük olan kovalent bağ enerjisinden çok daha büyük olduğundan, γ ışınları bu tür ortamlarda büyük oranda bağ kırılmalarına yol açarak araürünlerin oluşmasına neden olurlar (Gopal, 1978).

2.1.1. Radyolitik ara ürünlerin oluşması

İyonlayıcı radyasyonun madde ile etkileşimi sonucu Compton saçılmasından doğan elektronlar, radyasyon enerjisini ortama taşırlar. Bu elektronların birçoğu moleküllerin iyonlaşma ve uyarılma potansiyellerinden daha fazla enerjiye sahip

olduğundan, yolları üzerindeki moleküllerin iyonlaşma ve uyarılmalarına neden olurlar (Gopal, 1978). Uyarılmış moleküller kararsızlıklarından kurtulmak için parçalanarak enerjilerini kaybederler. Bu yolla ortaya çıkan molekül parçalarına ara ürün denir. Bunlar genellikle tepkimeye girme eğilimleri yüksek olan birimlerdir ve bazıları çiftlenmemiş elektrona sahiptir. Çiftlenmemiş elektron taşıyan bu birimlere radikal denir.

Radikallerin ve uyarılmış moleküllerin yerel konsantrasyonları ışınlama sonunda yaratılan serbest elektronların yerel konsantrasyonuna bağlıdır. Radyasyonun yoğun ortamda soğurulması sonucunda doğan ikincil elektronlar enerjilerini büyük ölçüde iyonlaşma bölgesinde kaybederler. Enerjileri 100 eV'dan daha küçük olan elektronların oluşturduğu iyonlaşma bölgesine spur, enerjileri $100 \leq E_e \leq 500$ arasında olan elektronların oluşturduğu bölgeye blob adı verilir. Blob bölgesi enerjisinin üst sınırını iyonun Coulomb alanı belirler. Diğer yandan Coulomb etkileşmesinin etkin olduğu mesafe ortamın dielektrik sabitine bağlıdır. Bu yüzden blob bölgesi üst sınırı bir ortamdan diğerine değişir. Spur ve blob bölgelerinin örtüştüğü alanlar kısa iz bölgeleri olarak bilinir. Enerjinin 500 eV'dan daha büyük olması durumunda izole spurlar ve bunların biraraya gelmesi ile de temel iz bölgeleri oluşur. Bu bölgelerdeki iyonlaşma yoğunlukları diğer bölgelerdeki iyonlaşma yoğunluklarından daha azdır. Bu sınıflandırma, doğrusal enerji transferleri düşük olan γ ışınları, X-ışınları ve hızlı elektron gibi radyasyon türleri için anlamlıdır. Fiziksel etki bakımından çeşitli radyasyon tipleri arasındaki en önemli fark, radyasyonun madde içinde birim uzunlukta kaybettiği enerji nedeniyle ortaya çıkar. Radyasyonun madde içinde uzunluk birimi başına kaybettiği enerjiye doğrusal enerji aktarımı (DEA) denilir.

α parçacıkları ve hızlı protonlar gibi yüksek enerji aktarımına sahip radyasyonlarla maddenin etkileşimi sonucunda ana izler oluşur ve bu durumda spurlarda, bloblarda ve kısa izlerde iyonlaşma yoğunlukları hemen hemen aynıdır. ^{60}Co gama radyasyonunun oluşturduğu Compton elektronları durumunda, enerjinin % 65'i spur bölgelerine aktarılır (Pshezhetskii and Kotov, 1974).

2.1.2. Radyolitik ara ürünlerin sönümü

Radyasyonun madde ile etkileşmesi sonucu oluşan ilk ara basamak ürünler ve kısa ömürlü ürünler diyebileceğimiz türler, uyarılmış ve iyonlaşmış moleküllerdir. Uyarılmış ve iyonlaşmış moleküller çok kısa bir süre içinde serbest radikallere dönüşme eğilimine sahiptirler. Bu nedenle radyasyonun etkisi ile oluşan ara basamak ürünler; uyarılmış moleküller, iyonlar ve serbest radikallerdir. Bu ara basamak ürünlerinin hepsi kararsızdırlar ve sonuçta, çevrelerinde bulunan uygun birimlerle tepkimelere girerek kararlı radyoliz ürünlerine dönüşürler. Bu olay, ara ürünlerin ya da kökçelerin sönümü olarak bilinir. Kökçe sönümünde en önemli tepkimeler kökçe-kökçe birleşmesi ve disproporsiyonasyon tepkimeleridir. Bu tepkimeler, ortam içinde kökçelerin tesadüfen karşılaşması sonucu ortaya çıkan ikinci dereceden sönüm kinetiğine uymazlar (Basly et al., 1997). Radikaller spurlar içinde oluşurlar. Spur içi birleşmelerden ve disproporsiyonasyon tepkimeleri ile sönümden kurtulanlar difüzyona uğrayarak diğer spurlarda olan radikallerle birleşerek sönüme uğrarlar. Bu tür tepkimeler ikinci dereceden sönüm kinetiğine uyarlar. Madde içindeki kökçe difüzyon hızı bu tepkimelerin yönlendirilmesinde önemlidir. Işınlanmış katı örneklerin fiziksel özelliklerinde ortaya çıkan küçük değişimler kökçe difüzyonunu yönlendirmede belirleyici rol oynarlar. Katılarda kökçe sönümü çok yavaştır ve sıvılarda gözlenen birçok kökçe-molekül tepkimeleri katılarda gözlenmez. Buna karşın katının sıvılaştırma sıcaklığı civarında kökçe sönüm hızı, moleküler hareket genliklerindeki artış nedeniyle çok hızlıdır (Lawrence and Sauken, 1967; Bögl, 1985; Jacobs, 1985; Dusaucy and Tilquin, 1991; Miyazaki et al., 1994a; Gopal, 1995; Gibella et al., 2000).

2.2. Sterilizasyon

Bakteri sporları da dahil olmak üzere bir ortamı canlı organizmalardan arındırma işlemine sterilizasyon denir. Steril olmuş üründe yaşayan mikroorganizma bulunma olasılığı milyonda bir'den azdır. Bu sonuç mikrobiyoloji konuşma dilinde "sterilite" olarak adlandırılır (Gopal, 1978) ve ürünün 'Sterilite Temin Seviyesi' (SAL) olarak da tanımlanır. Bir malzeme sterildir veya değildir; başka bir deyişle sterilizasyonun derecesi yoktur (Todaro, 2001).

Sterilizasyon işleminde esas olan, ürünün kalitesini değiştirmeden mikrobiyal yükün sterilite düzeyine düşürülmesidir. Bu yüzden bir ürün için uygun olan yöntem diğer ürün için uygun olmayabilir. Sterilizasyon işleminin tekrarlanması, zarar verici etkiler kümülatif olduğundan, önerilmez. Farklı sterilizasyon yöntemleriyle üstüste sterilize etmek de istenmeyen sonuçlara neden olur (Gopal,1978). Sterilizasyon yönteminin seçiminde, ürünün hangi hazırlık aşamasında olduğuna, ambalajı ile olan uygunluğuna, gereken SAL değerinin sağlanabilmesine ve ürünün toplam kalitesinin değişmemesine dikkat edilmelidir.

2.3. Sterilizasyon Yöntemleri Ve Bu Yöntemlerin Karşılaştırılması

Bu kısımda, ilaç ve ilaç hammaddelerinin sterilizasyonunda farmakopelerce kabul edilen sterilizasyon yöntemleri üzerinde durulacak ve bunlarla ilgili bilgiler verilecektir. İlaç ve ilaç hammaddelerinin sterilizasyonunda aşağıdaki yöntemler kullanılmaktadır:

-Buharla sterilizasyon veya otoklav sterilizasyonu

-Kuru sıcak hava ile sterilizasyon

-Etilen oksit ile sterilizasyon

-Aseptik filtrasyon

-Radyasyonla sterilizasyon

Tüm durumlar için geçerli olan ideal bir sterilizasyon yöntemi yoktur. Yöntemin seçimi ürünün türüne ve hangi hazırlama aşamasında olduğuna bağlıdır. Tez çalışmasının bu kısmında yukarıda belirtilen sterilizasyon yöntemleri kısaca tanıtılacak ve radyasyonla sterilizasyon yönteminin diğer yöntemlere göre üstünlüklerinin ve gitmezliklerinin neler olduğuna yer verilecektir.

2.3.1. Buharla sterilizasyon

Buharla sterilizasyon yönteminde basınca ve yüksek sıcaklığa dayanıklı kazanlar kullanılır. Bunlar; içerisinde sterilize edilecek malzemenin konulacağı rafların

bulunduğu, termometre ile sıcaklığı ölçölen ve basıncı kontrol altında tutulan kazanlardır. Bu yöntemin başarılı olması için, tekdüze sıcaklık dağılımı sağlanması ve otoklav içinde doymuş buhar olması gerektiğinden önce otoklav içindeki hava vakum yolu ile boşaltılır ve otoklav buhar ile doldurulur. Daha sonra ürün doymuş buhara, istenilen sıcaklık ve basınçta belirli bir süre maruz bırakılır. Ürünler 115 °C sıcaklıkta 30 dakika veya 121 °C sıcaklıkta 15 dakika veya 134 °C sıcaklıkta 3 dakika bekletilir (Gopal, 1978). Sıcaklık-zaman ayarlaması malzemenin kararlılığına göre seçilir. Bu işlem genellikle, yüksek sıcaklıklarda bile kararlılıklarını koruyabilen ürünlerin sulu çözeltilerine ve pamuk, gazlı bez, tampon, ameliyat örtüleri, cerrahi aletler, kontak lensler gibi malzemelere uygulanır. Paketlemenin; sıcaklık ve buhar geçirgenliğine uygun olarak yapılması gerekir.

Bu yöntemde mikroorganizmaların ölümü; yıkıcı oksidasyondan, proteinlerin denatürasyonundan ve enzimlerin aktivitelerini kaybetmelerinden kaynaklanır. Buharla sterilizasyon; işlemin basit oluşu, nispeten kısa işlem süresi gerektirmesi, geride zehirli atık bırakmaması ve validasyonun kolay olması gibi avantajlara sahiptir. Dezavantajları ise sıcaklığa ve neme duyarlı ürünlere bu yöntemin uygulanamamasıdır.

2.3.2. Kuru sıcak hava ile sterilizasyon

Kuru sıcak hava ile sterilizasyon, kuru sıcak hava akımı yardımı ile içersinde tekdüze sıcaklık sağlanan bir fırında gerçekleştirilir. Sıcaklık sürekli denetim altında tutulur. Örnekler 160 °C sıcaklıkta 1 saat veya 180 °C sıcaklıkta 11 dakika bekletilir. Bu sıcaklıklarda özelliklerini koruyabilen ameliyat makası, iğnesi ve bıçağı gibi metal ve cam malzemelere uygulanabilir. Kuru sıcak hava ile sterilizasyonun belli başlı avantajları işlemin basit oluşu, giricilik gücünün yüksek oluşu ve geride zehirli atıklar bırakmamasıdır. Dezavantajları ise işlemin uzun sürmesi, yüksek sıcaklığın ürün ve paketleme malzemesinin çeşidini sınırlamasıdır.

2.3.3. Etilen oksit (EO) ile sterilizasyon

Sıcaklığa duyarlı malzemeler için uygulanır. Buharla sterilizasyona göre daha düşük sıcaklıklar gerektirdiği için malzeme daha az zarar görür. Sterilizasyon, %30-50 oranında neme sahip 50-60 °C sıcaklıktaki bir ortamda yapılır (Gopal, 1978). Etilen oksit ile sterilizasyon; basıncı, nemi ve sıcaklığı ayarlanabilen özel otoklavlar kullanılarak yapılır. İşlem, havası boşaltılmış ve ön nemlendirilmeye tabi tutulmuş sızdırmaz yapıdaki sterilizatörlerde yürütülür. Sterilize edilecek malzemeler sterilizatöre yerleştirildikten sonra EO gazı ya saf olarak veya karışım halinde verilerek örnek belirli bir sıcaklıkta tutulan bu ortamda bir süre bekletilir. Sterilizatördeki EO gazı uzaklaştırılarak malzemeler sterilizatörden alınır. Soğurulan EO gazının atımı için işlem sonrası havalandırma gereklidir. İşlem öncesi ise nemlendirme işlemi yapılması zorunludur. Havalandırma süresi ürün türüne bağlı olarak oda sıcaklığında 24 -168 saat arası değişmektedir. Alternatif olarak ürünler 8-12 saat süre ile 50-60 °C sıcaklıkta sterilizatör içinde de havalandırılabilirler. Bu yöntemle güvenilir sonuçlar elde etmek için hacim, sıcaklık, nem ve gaz konsantrasyonu gibi parametrelerin doğru olarak seçilmesi gerekir.

EO ile sterilizasyon, ürünlerde toksik reaksiyonlara neden olması ve işlem sonrası ürünün bir müddet bekletilmesi gereği bu yöntemin başlıca dezavantajlarını oluşturur. Ayrıca, malzemenin paketlenmesinde getirdiği bazı kısıtlamalar ve EO'in çevreye sızdığında karsinojenik ve mutajenik etkiler göstermesi bu yöntemin diğer gitmezliklerini oluşturur. Nemin, havanın ve gazın iyi ve hızlı bir biçimde yayılmasını sağlayan malzemeler bu yöntemle etkin bir biçimde sterilize edilebilir. Diğer yandan, EO gazı saf olarak kullanıldığında ekonomik açıdan pahalı ve işçi güvenliği açısından tehlikeli, buna karşın freon gazı ile karıştırılarak kullanıldığında ise ozon tabakası için zararlıdır (Jacobs, 1985; Wogl, 1985; Taner, 1995; <http://www.engineeringreference.com/sterilization/select%20sterilization.htm>).

Plastik ve kauçuk malzemeler, optik aygıtlar, çelik malzemeler, infüzyon setleri, enjektörler, ameliyat eldivenleri, cerrahi örtüler, kateterler, yapışkan bandajlar gibi tıbbi malzeme ve materyaller daha çok bu yöntemle sterilize edilirler.

2.3.4. Aseptik filtrasyon

Filtrasyon yöntemi ile sterilizasyon özellikle sıcaklığa duyarlı maddelerin sulu çözeltileri için uygulanır. Sterilizasyon işlemi; 0.22 mikrona kadar tüm partikülleri ve mikroorganizmaları tutabilen tipte özel filtrelerden solüsyonun geçirilmesi ve steril hale gelen solüsyonun aseptik şartlarda dolumunun yapılması ile gerçekleştirilmektedir. Doldurulan bu ürünler, eğer sıcaklığa dayanıklı iseler 121 °C da 15 dakika olmak kaydıyla otoklavlarda terminal sterilizasyon işleminden geçirilirler. Toz içeren flakonların sterilizasyonu ise, ya etken maddenin doğrudan aseptik şartlarda doldurulmasıyla ya da filtrasyonu gerçekleştirilerek steril edilen solüsyonun liyofilizatörlerde liyofilize edilerek toz hale getirilmesi ve bunun aseptik şartlarda doldurulması ile gerçekleştirilir.

Zar filtreler polimerik yapıdaki filmlerden yapılırlar ve yüksek geçirgenlik özelliğine sahiptirler. Bu işlem sırasında filtre üzerinde madde kaybı olmamasına ve filtreden mikroorganizma bulaşmamasına dikkat edilmesi gerekir. Filtre gözenek büyüklüğü ile aynı büyüklüğe sahip mikroorganizmaların ortamdaki uzaklaştırılmaması, ürünün aseptik şartlarda doldurulması gereği ve filtrasyonunun çevresel, mikrobiyolojik ve kişisel kontrolü gibi zorluklar bu sterilizasyon işleminin başlıca dezavantajlarıdır.

2.3.5. Radyasyonla sterilizasyon

Radyasyonla sterilizasyon, ürünün kontrol edilen düzeylerde iyonize edici gama radyasyonuna tabi tutulmasıdır. Radyasyon düzeyinin kontrol edilmesi, ürüne en az hasar verecek şekilde üründeki mikroorganizma yükünü istenen düzeylere indirmek için gereklidir ve ürünün radyasyona maruz kalma süresinin kontrolü ile sağlanır. Sterilizasyon dozunun seçimi, sterilizasyon öncesi üründe mevcut olan mikrobiyal yüke, ürünün radyasyon duyarlılığına ve istenilen sterilité temin seviyesine bağlıdır (Olguner,Özer, 2000; Gopal, 1978). Farmasötikler için gerekli olan sterilizasyon dozu, başlangıçtaki mikroorganizma miktarı ve mevcut türlerin radyasyona duyarlılığına bağlı olarak değişir. İlaç sterilizasyonu için genel olarak kabul edilen doz 25 kilogray (kGy)dir. Bununla birlikte birçok farmasötik madde, ürüne verilebilecek zararı en aza indirmek için, daha düşük dozlarda da steril

edilebilir (Özalp, 2003). Bazı ülkelerde antibiyotikler ve göz merhemleri gibi ürünlerin sterilizasyonlarının 10-150 kGy doz değerlerinde yapıldığı bilinmektedir (Gopal, 1978).

Radyasyonla sterilizasyonda kaynak olarak ^{60}Co ve ^{137}Cs izotoplarından yayılan gama ışınları veya hızlandırılmış elektronlar kullanılır (<http://www.engineeringreference.com/sterilization/select%20sterilization.htm>).

Işınlama cihazlarında kullanılan ^{60}Co radyo izotopu, doğal ^{59}Co elementinin nötronlarla bombardıman edilmesi sonucunda yapay olarak elde edilir. Bu izotop suda çözünmez ve erime sıcaklığı yüksektir. Nötron bombardımanı sonucunda üretilen ^{60}Co izotopu kararsızdır, bozunarak bir beta parçacığı ile enerjileri 1.17 MeV ve 1.33 MeV olan iki foton enerjisine sahip gama ışını yayınlamakla kararlı ^{60}Ni elementine dönüşür. Beta parçacıkları kaynak kapsülünde tutulduklarından kaynaktan yalnızca çok girici olan gama ışınları çıkabilir ve ışınlama işlemi bu gamalar kullanılarak yapılır (Alkan, 2003). ^{60}Co kaynakları genellikle çubuklar şeklinde olup dış etkenlerden korunabilmeleri ve sızıntının önlenmesi için iki kat paslanmaz çelik içerisine konurlar.

^{137}Cs uranyum elementi çekirdeğinin parçalanması sonucu elde edilir ve 0.662 MeV'lik bir foton enerjisine sahiptir. ^{60}Co 'ın yarı ömrü yaklaşık 5.26 yıldır ve bir metredeki doz hızı 1.32 röntgen/curie-sa'dir. ^{137}Cs 'nin yarı ömrü ise 30 yıldır ve bir metredeki doz hızı 0.33 röntgen/curie-sa'dir. Verilerden açıkça görüldüğü gibi aynı doz çıkışı elde edebilmek için kullanılacak ^{137}Cs miktarı ^{60}Co 'ın 4 katı kadardır. Ayrıca, ^{137}Cs kaynağını hazırlamak ^{60}Co kaynağı hazırlamaktan daha zordur (Gopal, 1978).

Bir diğer iyonlayıcı radyasyon kaynağı hızlandırılmış elektronlardır. Van de Graff jeneratörleri ile 1-3 MeV enerjili, mikrodalga temeline dayanan doğrusal hızlandırıcılarla ise 3-15 MeV enerjili elektronlar üretilebilmektedir. Elektron demetlerinde doz hızı yüksek olduğundan ürün kısa sürede ışınlanır. Malzemeye giricilikleri gama ışınlarına göre düşük olduğundan hızlandırılmış elektronlar küçük hacimli, düşük yoğunluklu ürünlerin ışınlanmasında, yüksek doz hızı gereken proseslerde ve yüzeysel ışınlamalarda kullanılır. 50-200 keV'luk enerjiye sahip elektronlar yüzey sterilizasyonunda, 10-15 MeV'luk enerjiye sahip olanlar ise daha kütleli ürünlerin sterilizasyonu için kullanılır.

Gama ışınları yüksek giricilik özelliğine sahip olduklarından ambalaj malzemelerinden geçerek asıl ürüne öngörülen işlem dozu düzeyinde erişebildiklerinden bitmiş ürünlerin sterilizasyonunda da kullanılabilir. Ürünlerin her tarafında düzgün bir doz dağılımı sağlamak için ışınlanan ürünlerin iki ayrı yönden ışınlanması yeğlenmektedir (Alkan, 2003). Ürünlere aktarılan radyasyon enerjisi, bu ürünlerin ışınlama hücresinde kalış süreleri ile doğru orantılıdır. Mikroorganizmaların radyasyona karşı duyarlılıkları farklı olduğu için ürünlere uygulanacak sterilizasyon dozu da mikroorganizmaların türüne ve miktarına göre değişmektedir. Mikroorganizmalar radyasyona maruz kaldıklarında yaşamsal moleküllerinin yıkımı veya bu moleküllerin bileşenlerinde oluşan kimyasal değişiklikler sonucu ölmektedirler. Gama radyasyonu ve diğer tip iyonlayıcı radyasyonlar, biyolojik öneme sahip makromoleküllerin uzaysal konfigürasyonunu veya moleküler yapısını değiştirerek mikroorganizmaların ölümüne neden olur veya onları inaktive eder (Özer, 2003).

Gama ışınlanması ile bazı farmasötik ürünlerin sterilizasyonu ilk olarak 1963 yılında USP-XVII'e dahil edildi. Sterilizasyon uygulamalarında BP1993, USP XXII ve IAEA bildireleri esas alınır (BP 1993, USP XXII 1985, IAEA 1990). Uluslararası Atom Enerjisi Kurumu (IAEA), ürünün sahip olduğu mikrobiyal yükün ışınlama öncesi bilinmediği durumlarda, sterilizasyon için kullanılması gereken doz değerinin 25 kGy olduğuna karar vermiştir.

2.3.5.1. Radyosterilizasyonun avantajları

Gama radyasyonu ile sterilizasyonun üstünlükleri şöyle sıralanabilir;

a) Kolay ve güvenilirdir

Radyasyonla sterilizasyon işlemi, kontrolü kolay ve oldukça güvenilirdir. Sterilizasyon işlemi sırasında ışınlanan örneğin sıcaklığı minimal düzeyde arttığı için moleküllerde bu kaynaklı bir yıkım gözlenmez. Bu işlemde ışınlanma süresi tek kontrol edilmesi gereken parametredir.

b)Giricilik özelliğine sahiptir

Gama radyasyonunun ambalaj materyallerinden geçebilme özelliği nedeniyle ürün ya da etkin madde paketlenmiş halde de sterilize edilebilir. Bu işlemin avantajı; istenilen sterilite temin seviyesini sağlayan son işlem olmasıdır (Ražem,1990).

c)Örnek sıcaklığının çok az artmasına neden olur

Radyasyonla sterilizasyon işlemi ürün üzerinde minimal düzeyde sıcaklık artışına neden olduğundan 'soğuk teknik' olarak adlandırılır ve sıcaklığa duyarlı etkin ve yardımcı maddeler ile ambalaj malzemelerinin sterilizasyonunda güvenle kullanılabilir (Controulis et al., 1954; Barbarin et al., 1999; Gibella et al., 2000).

d)Validasyon işlemi kolaydır

Işınlama işleminin doza bağlı validasyonu, işlem için öngörölmüş olan dozun, ışınlama işlemi sonunda ürüne verildiğinin kanıtlanmasıdır. Tek değişkenin zaman olduğu bu işlemin validasyonu oldukça kolaydır (Olguner ve Özer, 2000; Naki ve Özer, 2002). Bu amaca yönelik olarak, gerekli doz miktarı saptandıktan ve ışınlama işlemi başlatıldıktan sonra taşıyıcının kaynak çevresi boyunca hareketinde her konumda kalması gereken süreyi kontrol etmek üzere zaman ayarlı saatler kullanılır (Özer, 2003).

e) Garantili bir işlemdir

İşlem süresince ve de işlem sonrasında sonuçların uygunluğunu belirlemek için duyarlı dozimetre sistemleri kullanılır. Bu sistemle ürünün maruz kaldığı doz kesin olarak belirlenebildiği için ayrı bir sterilite testine gerek yoktur ve dolayısı ile ürün sterilizasyon sonrası ayrıca başka bir işleme uğratılmadan tüketiciye ulaştırılabilir. Başka deyimle karantina süresi gerekmez.

f) Çevreye zarar vermez

Bu sterilizasyon tekniğinin kimyasal kirlilik ve atık oluşumu gibi çevre için zararlı bir etkisi bulunmaz. İşçi sağlığı açısından güvenlidir. İşlem sonrasında kalıntı ve toksik gazlardan arınmış, üstün kalitede ürün elde edilir (Başgöl,1995).

Radyasyonla sterilizasyon pahalı yatırım gerektirmesine karşın tam ve güvenilir bir sterilizasyon yöntemi olması nedeniyle hem hastanelerde hem de ilaç ve kozmetik endüstrisinde kullanım açısından etilen oksit ve diğer sterilizasyon yöntemlerine göre üstün olan çağdaş bir yöntemdir. Hava filtreleri, aşı taşıyıcıları, test tüpleri gibi tıbbi malzemelerin, enjektörler, eldivenler, cerrahi setler gibi cerrahi işlemlerde kullanılan malzemelerin, kalp kapakçıkları, eklem protezleri gibi geçici veya kalıcı implant ve cihazların yanısıra enjeksiyonluk lipozomal, nano ve mikro büyüklüklerdeki kontrollü küresel ilaç taşıyıcı sistemler, enjeksiyonluk tozlar, steril etkin madde ve yardımcı maddelerin aseptik ortamda karıştırıldığı ve steril paketlere konduğu oftalmik pomatlar da radyasyonla başarılı bir şekilde sterilize edilebilmektedir.

2.3.5.2. Radyosterilizasyonun dezavantajları

Tüm bu avantajlarına karşın radyasyonla sterilizasyonun iki temel problemi vardır (Basly et. al., 1996a, 1996b).

1) Temel sorunlardan birincisi yüksek enerjili radyasyon kullanılarak gerçekleştirilen ışınlama işlemi sırasında yeni radyolitik ara ürünlerin oluşmasıdır (Barbarin et al., 2001). Oysa bir sterilizasyon işleminde ürünün fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve toksikolojik özelliklerinin değişmemesi istenir (Varsheney and Patel, 1994). Bu yüzden, yüksek enerjili radyasyonun üründe neden olduğu kimyasal ve fiziksel değişiklikler belirlenip oluşan ara ürünlerin karakterizasyonlarının yapılması başka deyimle bu ara ürünlerin türleri, yapıları, miktarları, kararlılıkları ve sönüm mekanizmaları ayrıntılı bir şekilde belirlenmesi gerekir (Signoretta et al., 1994; Crucq et al., 1995; Onori et al.,1996; Mathews and Sangster,1965; Dziegielewski,1975; Gopal, 1978; Tsuji et al.,1979; Hayes et al., 1980; Bussey et al., 1982; Gibella et al., 2000).

Işınlanan ürünün soğurduğu doz miktarı ve ışınlama sonucunda oluşan çiftlenmemiş elektrona sahip moleküler radikallerin miktarları, yapıları ve kararlılıkları Elektron Spin Rezonans (ESR) spektroskopisi yardımı ile belirlenebilir (Dood et al., 1985; Basly et al., 1998; Polat et al.,1997; Korkmaz and Polat, 2000,2001; Onori et al.,1996; Desrosiers and Simie, 1998; Raffi, 1992; Bögl,

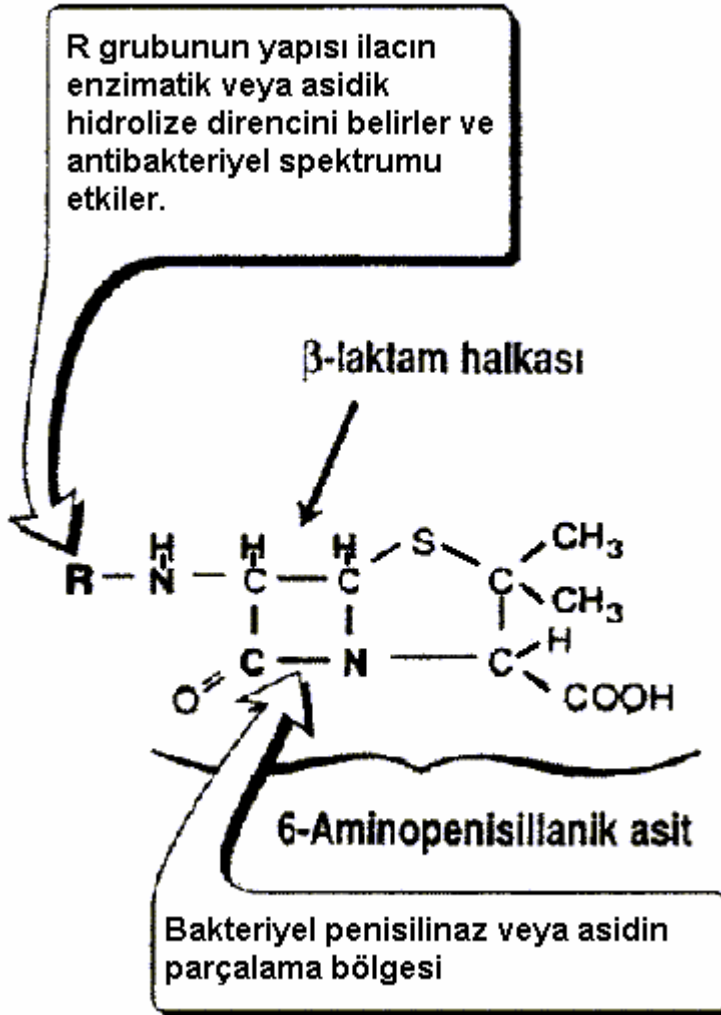
1989). ESR ölçümleri ile ışınlanmış ve ışınlanmamış ürünlerin ayrımını yapmak olanaklıdır (Miyazaki et al., 1994). İlaç stability protokollerinin çoğunluğunun başvurduğu diğer analitik yöntem ise yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)'dir. Bozunma ürünlerinin ölçümlerini ve ayrımını sağlamaya yarayan başarılı bir tekniktir (Fauconnet et. al., 1996). ESR ve HPLC ölçüm teknikleri birlikte kullanılarak ve radyasyon kimyası temel olguları dikkate alınarak ışınlama sonucunda oluşan ara ürünlerin ortamdan uzaklaştırılması veya ısı, atmosfer, doz, çözelti konsantrasyonu gibi koşulların optimizasyonu ile ürün içindeki bozunmanın kabul edilebilir düzeylere indirilmesi çalışmaları da son zamanlarda hız kazanmıştır. Radyasyonla sterilizasyon işlemi sonucunda ilaçlarda oluşan ara ürünlerin miktarları ile ilgili bilgi edinebilmek için ESR doz-cevap eğrileri oluşturulur ve ilaçların depolanma sürelerine bağlı olarak bu ara ürünlerin sönüm mekanizmaları incelenir (Basly et al., 1997a).

2) Radyasyonla sterilizasyon yönteminin uygulaması ile ilgili bir diğer sorun farmasotiklerin ışınlanması konusundaki düzenlemelerin ülkeden ülkeye değişmesidir. EN 552 ve ANSI/AAMI/ISO 11137 bildireleri yayınlanarak, radyasyonla sterilizasyon yönteminin uygulamalarına standartlar getirilmiştir. Gelecekte, uluslararası pazarda ekonomik kaygılar nedeniyle yetkisiz ve kontrolsüz ışınlama işleminin kullanımı söz konusu olabileceğinden, en azından raf ömrü süresince bir ilacın ışınlanmış olup olmadığını belirlemeye olanak veren, ışınlanmış ise ışınlama dozunu belirlemede kullanılacak analitik bir yöntem ihtiyacı duyulmaktadır. Bu bağlamda, ESR spektroskopisinin doz tayininde kullanılabilecek en uygun ve güvenilir tekniklerden birisi olduğu ortaya çıkmıştır (Basly et. al., 1996a, 1996b).

2.4. İncelenen β -laktam Grubu Antibiyotikler Ve Özellikleri

Beta laktam türü antibiyotikler, bakteri hücre duvarı sentezini inhibe ederek bakterisid etki gösteren, yani bakteriyi öldürerek etkisini gösteren, antibakteriyellerdir. Bakterilere özgü olan hücre duvarı, insan hücrelerinde bulunmadığından β -laktam grubu antibiyotik alan insanların hücre yapıları

bozulmaz. β -laktam diye adlandırılmalarının nedeni, aktiviteleri için gerekli olan β -laktam halkası taşımalarıdır.



Şekil 2.1. β -laktam grubu antibiyotiklerin genel molekül yapısı

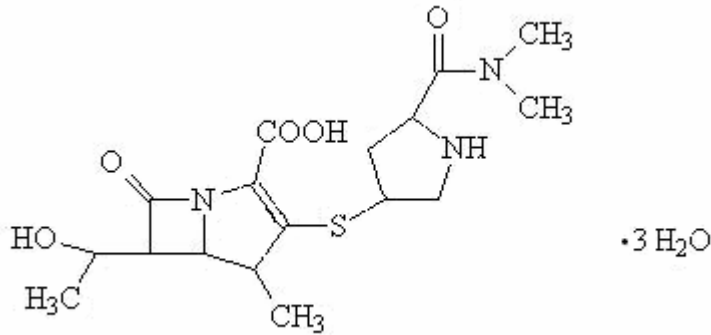
Bu tez çalışmasında; beta-laktam grubu antibiyotikler ailesinden ikisi penisilin ve biri de karbapenem alt sınıfına dahil olan üç ilaç etkin maddesinde ışınlama sonucunda oluşan ara ürünler ESR yöntemi ile incelenmiştir.

2.4.1. Karbapenemler

Karbapenemler sentetik β -laktam antibiyotiklerdir ve penisilinlerden farkları tiyazodilin halkasında taşıdıkları kükürt atomunun dışı döner bir karbon atomu ile yer değiştirmesidir. Karbapenemler mevcut beta laktam ailesi antibiyotikleri arasında etki spektrumu en geniş olan grubu oluştururlar. Diğer beta laktam antibiyotiklerde olduğu gibi bakteri hücre duvarına atak yaparak bakterisidal etki yaratırlar.

2.4.1.1. Meropenem trihidrat (MPT)

Beta laktam antibiyotik ailesinin karbapenemler grubu üyesi olan meropenem trihidrat $C_{17}H_{25}N_3O_5S \cdot 3H_2O$ kapalı formülüne sahiptir ve açık formülü Şekil 2.2'deki gibidir. Molekül ağırlığı 437.51 g olan MPT, beyazdan açık sarıya kaçan bir renkte çok küçük kristallerden oluşan bir görünüme sahiptir. Çoklu antibiyotik dirence sahip bakterilerce oluşturulan ve daha çok hastanelerde gözlenen karmaşık enfeksiyonların tedavilerinde kullanılmaları tavsiye edilen bu antibiyotiğin rutin hallerde kullanımından kaçınılması gerekmektedir.



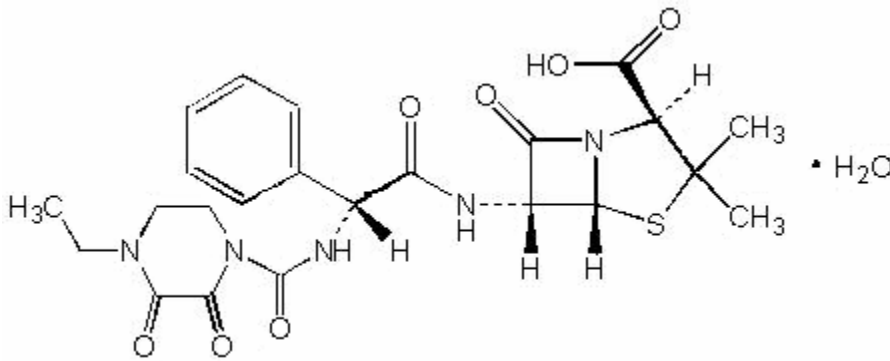
Şekil 2.2. Meropenem trihidratın molekül yapısı

2.4.2. Penisilinler

Penisilinler en geniş etkiye sahip antibiyotiklerdir ve toksik etkileri çok azdır. Bu grup üyeleri arasındaki fark, 6-aminopenisilonik aside bağlanan R grubundan kaynaklanır. Bu yan zincirin yapısı, penisilin antimikrobiyal spektrumunu, mide asidine dayanıklılığını ve bakterilerin parçalayıcı enzimlerine (β -laktamazlar) karşı duyarlılığını belirler. Penisilinler bakterinin hücre duvarı sentezinin son basamağını engelleyerek ozmotik açıdan zayıf olan hücre zarı oluşumuna neden olurlar. Bunun sonucu olarak hücre parçalanır ve bakterisidal etki ortaya çıkar.

2.4.2.1. Piperasilin monohydrate (PPM)

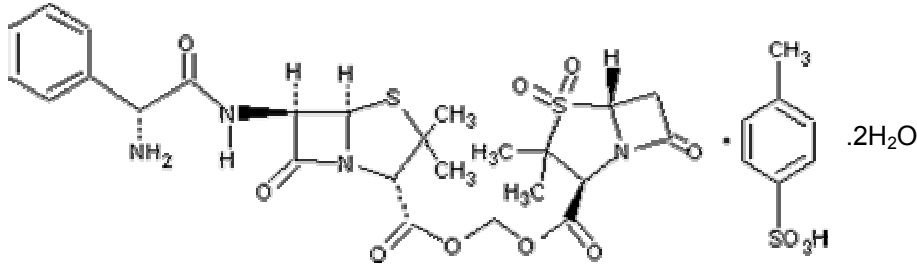
Piperasilin geniş spektrumlu bir penisilindir ve 'antipsödomonal penisilinler' grubu içinde yer alır. $C_{23}H_{27}N_5O_7S \cdot H_2O$ kapalı formülüne sahip olan piperasilinin açık formülü Şekil 2.3'de verilmiştir. Molekül ağırlığı 535.57 g olan PPM çok küçük boyutlardaki beyaz kristallerden oluşur ve %5 oranında suya sahiptir. Işıktan korunarak 5 °C'ın altında saklanmalıdır. Değişik enfeksiyonların tedavisinde kullanılır.



Şekil 2.3. Piperasilin monohidratın molekül yapısı

2.4.2.2. Sultamisilin tosilat (SULT)

Geniş spektrumlu bir antibiyotik olan sultamisilin tosilat $C_{25}H_{30}N_4O_9S_2 \cdot C_7H_8O_3S \cdot 2H_2O$ kapalı formülüne sahiptir ve açık formülü Şekil 2.4'de verilmiştir. Molekül ağırlığı 802.88 g olan SULT beyaz çok küçük kristallerden oluşur. β -laktamaz inhibitörü olarak ampisilin türevlerine eklenir ve antienfeksiyon amaçlı kullanılır.



Şekil 2.4. Sultamisilin tosilatın molekül yapısı

2.5. Penisilinler Ve Radyasyonla Sterilizasyon

Tez çalışmasının bu kısmında, literatürde penisilinlerin radyasyonla sterilizasyonu konusunda yürütülen araştırmalara ve bu araştırmalar sonunda elde edilen bulgulara kısaca değinilecektir.

Sodyum benzil penisilinin sulu çözeltisinin radyasyonla sterilizasyonu sonucunda radyoliz gözlenmiştir. Bu bozunmanın penisilin yan zincirindeki benzen halkasının suyun radyolizi ile oluşan OH grubu ile tepkimeye girerek hidroksi benzil penisilin oluşumu veya OH grubunun β -laktam halkasını parçalayarak benzilpenilloik ve benzilpenisillonik asit oluşumu şeklinde gerçekleştiği öne sürülmüştür (Philips et. al., 1973). Sonuç olarak; ışınlama ile penisilin molekülü elektron dağılımında ortaya çıkan yeniden düzenlenmeler nedeniyle bozunma ürünlerinin oluştuğu ve buna bağlı olarak benzil penisilinin sulu çözeltisinin radyasyonla sterilizasyonunun mümkün olmadığı sonucuna varılmıştır.

Penisilin G üzerinde yapılan bir çalışmada ise, 40 kGy'lik radyasyon dozu aşılnca %1-2 oranında bir bozunma gözleendiği belirlenmiştir. Radyoliz ürünleri olarak benzilpenilloaldehit ve benzilpenaldikasinin oluştuğu sonucuna varılmıştır (Tsuji et. al., 1979).

Dziegilewski ve arkadaşları (Dziegilewski et. al., 1973) benzilpenisilin potasyum ve prokain tuzları üzerinde yürüttükleri radyosterilizasyon çalışmaları sonucunda bu bileşiklerin G değerleri için sırasıyla 2.2 ve 9.5 rakamlarını elde ederken serbest asidin G değeri için 28.8 sayısını elde etmişlerdir. Bu G değerlerine dayanarak, penisilin tuzlarının radyasyona karşı duyarlılıklarının serbest aside göre çok daha yüksek olduğu yargısına varılmıştır.

Dimitrova ve arkadaşlarının (Dimitrova et. al., 1983) yaptığı bir başka çalışmada; DMSO içindeki amoksisilin trihidrat çözeltileri 5-1000 kGy doz aralığında gama radyasyonu ile ışınlanmış 25 kGy'lik bir radyasyon dozunun, amoksisilin biyolojik etkinliğinde bir kayba neden olmadığı ve dolayısı ile bu doz değerinin bu bileşik için uygun bir sterilizasyon dozu olduğu sonucuna varmışlardır.

Bir diğer çalışmada ise, 50 kGy'lik doz değerinde ışınlanmış benzilpenisilin mikrobiyal etkinliğinde kayıp olmadığı gözlenmiştir (Fleurette et. al., 1975). 50 kGy doz değerinde ışınlanan toz haldeki ampisilin, metampisilin, karbesilin ve tikarsilin de radyasyona karşı duyarlı oldukları bulunmuştur.

Susuz ampisilin, ampisilin trihidrat, sodyum ampisilin, oksasilin sodyum, kloksasilin sodyum, dikloksasilin sodyum, hetasillin potasyum ve karbenisilin disodyum gibi yarısentetik penisilinlerin 25 kGy'lik doz değerinde ışınlanması sonucunda bu bileşiklerin radyasyona karşı kararlı oldukları sonucuna varılmıştır (Dziegilewski, 1975). Dziegilewski'ye göre ampisilin radyasyona karşı kararlılığı susuz, iki veya üç sulu oluşuna veya tuz halinde olup olmasına bağlıdır. Bir başka çalışmada ise beş değişik yarısentetik penisilin yine 25 kGy doz değerinde ışınlanmış, piperasilin sodyum ve karfesillin sodyumun bu doz değerinde güvenle ışınlanabilecekleri yargısına varılmış, buna karşın azlosillin sodyum, mazlosillin sodyum ve tikarsilin sodyumda etkinlik azalması gözlenmiştir (Jacobs, 1980, 1982).

Jacobs (Jacobs, 1984, 1985) ampisilin ve esterleri üzerinde yaptığı çalışmada; 25 ve 50 kGy'lik radyasyon dozu uyguladığı ampisilin sodyum, pivampisilin, talampisilin'in mikrobiyolojik ve kimyasal özelliklerindeki değişimleri incelemiş ve bir miktar radyoliz gözlemlene bile düşük dozların dekontaminasyon için uygun olduğu sonucuna varmıştır.

Bir diğer çalışmasında, Jacobs (Jacobs, 1979, 1977) 50 kGy radyasyon dozu uygulanan amoksisilin trihidrat, flucloksillin sodyum ve metisillin sodyum gibi yarısentetik penisilinlerde çok az bir radyasyon bozunmasının ortaya çıktığını belirlemiştir. Bu bileşiklere göre radyasyona karşı çok daha duyarlı olmasına karşın 10 kGy doz değerine kadar ışınlanmış karbenisilin sodyumun da çok az bozunma gösterdiğini saptamıştır. Bir diğer çalışmada, 100 kGy dozda ışınlanan mesillinam ve nafsillin sodyumun minimal bozunma gösterdiği bulunmuştur (Jacobs, 1979,1980).

Basova (Gaughran and Gouide, 1978) yaptığı çalışmada; ışınlanmış yarısentetik penisilinlerde oluşan radikal yapıdaki ürünleri karşılaştırmış ve bu tür ürünlerin daha çok amorf örneklerde ve yapısında kristal suyu içeren örneklerde oluştuğunu gözlemiştir. Depolama sürecinde yeniden birleşmeleri nedeniyle radikal derişimlerinin azaldığı saptanmıştır.

Amoksisilin, ampisilin, cefaloridin ve hetasillin'in sulu çözeltileri üzerinde Rhee (Rhee et. al.,1977) tarafından yürütülen radyosterilizasyon çalışmalarında 0.5 kGy'e kadar olan dozlarda %90 inaktivite gözlenmiş ve bu limitin cloxasillin erythromisin ve cephalixin gibi örneklerde 5 kGy ve kanomisin için de 15 kGy olduğu belirlenmiştir. Katı formda ise, tüm antibiyotiklerin 50 kGy doz değerine kadar kararlılıklarını korudukları bulunmuştur (Jacobs, 1985).

2.6. Elektron Spin Rezonans (ESR) Spektroskopisi

Elektron spin rezonans spektroskopisi net elektronik manyetik momente sahip olan birimlerden oluşmuş sistemlere uygulanabilen bir tekniktir (Wertz, Bolton, 1972). 1945 yılında E.Zavoisky tarafından geliştirilmiştir (Atherton, 1973). Elektronik manyetik momente yörünge ve spin hareketlerinden katkı gelir. Manyetik momente sahip birim, atom, molekül, molekül parçası, iyon veya katı örgü içindeki bir kusur olabilir. Bu birimlerin örnek içindeki konumları, etkileşmeleri, dinamik yapıları ESR spektroskopisi yardımı ile incelenebilir. Dışardan statik bir manyetik alan uygulanmadığı sürece manyetik momentleri arasındaki etkileşmelerin zayıf olduğu örneklerde, başka deyimle paramanyetik örneklerde, bu manyetik momentlerin yönelimleri gelişigüzel gösterir. Manyetik alan uygulandığında ise manyetik momentler enerjilerini minimum yapmak için manyetik alan yönünde yönelmeye çalışırlar. Ancak termal etki bunu engellemeye çalışır. Buna karşın örnek manyetik alan yönünde yönelmiş net bir mıknatıslanmaya sahip olur. Örneğin sahip olduğu mıknatıslanma dışarıdan uygulanan statik manyetik alan etrafında presesyon hareketi yapar.

Elektronik manyetik moment, $\vec{J} = \vec{L} + \vec{S}$ şeklinde tanımlanan, toplam elektronik açısal momentuma, g spektroskopik yarıma çarpanı, μ_β de Bohr magnetonu olmak üzere,

$$\vec{\mu} = -g\mu_\beta \vec{J} \quad (2.1)$$

ifadesi ile bağlıdır. Serbest radikallerde olduğu gibi yörünge katkısının olmadığı durumlarda bu ifade

$$\vec{\mu} = -g\mu_\beta \vec{S} \quad (2.2)$$

'ye dönüşür. Kuantum mekaniği açısından bakıldığında, böyle bir manyetik moment bir dış alana konduğunda spin kuantum sayısı $M_s = \pm 1/2$ olacak şekilde iki farklı yönelime sahip olur. H uygulanan dış manyetik alan olmak üzere bu yönelimlere karşı gelen enerjiler

$$E_+ = +\frac{1}{2}g\mu_B H \quad (2.3)$$

$$E_- = -\frac{1}{2}g\mu_B H \quad (2.4)$$

ifadeleri ile tanımlanır. Bu enerjilerin manyetik alana bağlı değişimleri Şekil 2.5a'da gösterilmiştir. Zeeman enerji düzeyleri de denilen bu enerji düzeyleri arasındaki fark

$$\Delta E = E_+ - E_- = g\mu_B H_r \quad (2.5)$$

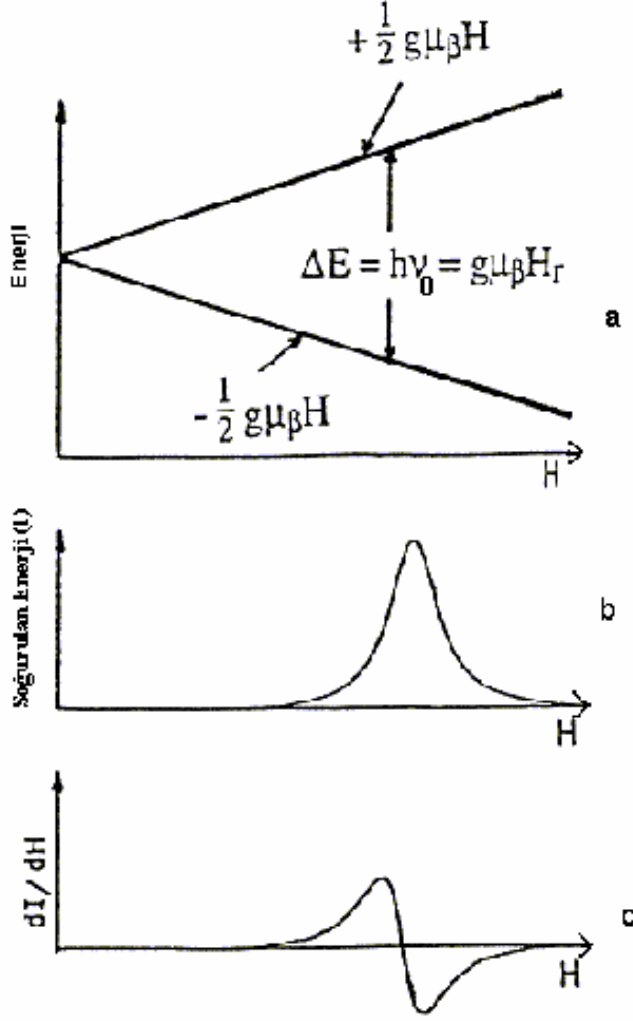
bağıntısı ile verilir ve uygulanan dış manyetik alanın değerine çizgisel olarak bağlıdır.

E_- alt enerji düzeyinde bulunan bir elektronun E_+ üst enerji düzeyine geçebilmesi için ΔE enerji farkına eşit bir foton enerjisi soğurması gerekir. Bu durumda

$$h\nu_0 = g\mu_B H_r \quad (2.6)$$

eşitliği sağlanır ve rezonans koşuluna erişilir. Bu bağıntıdaki ν_0 , uygulanan elektromanyetik dalganın frekansını, h Planck sabiti'ni ve H_r rezonansın gerçekleştiği manyetik alan değerini gösterir.

$h\nu_0 = g\mu_B H_r$ rezonans koşulu elektromanyetik dalganın frekansı ile magnetik alanı birbirine bağlayan çizgisel bir bağıntı olduğu için pratikte paramanyetik örnek tarafından soğurulan enerjiyi algılamak için iki yaklaşım vardır. Ya uygulanan manyetik alan değeri sabit tutulup Zeeman enerji düzeyleri arasındaki fark sabit kılınarak rezonans soğurması olana dek mikrodalga frekansı değiştirilir, veya mikrodalga frekansı sabit tutulup magnetik alan değiştirilir. Deneysel zorluklardan kaynaklanan birtakım nedenler yüzünden pratikte ikinci yöntem tercih edilir (Wertz, Bolton, 1972).



Şekil 2.5. a) Bir serbest elektronun manyetik alan içindeki enerji düzeyleri, b) Soğurulan enerjinin manyetik alana göre değişimi, c) Soğurma eğrisinin birinci türevi.

Spinlerin E_+ ve E_- enerji düzeyleri arasındaki dağılımı Boltzman yasasına uyar ve

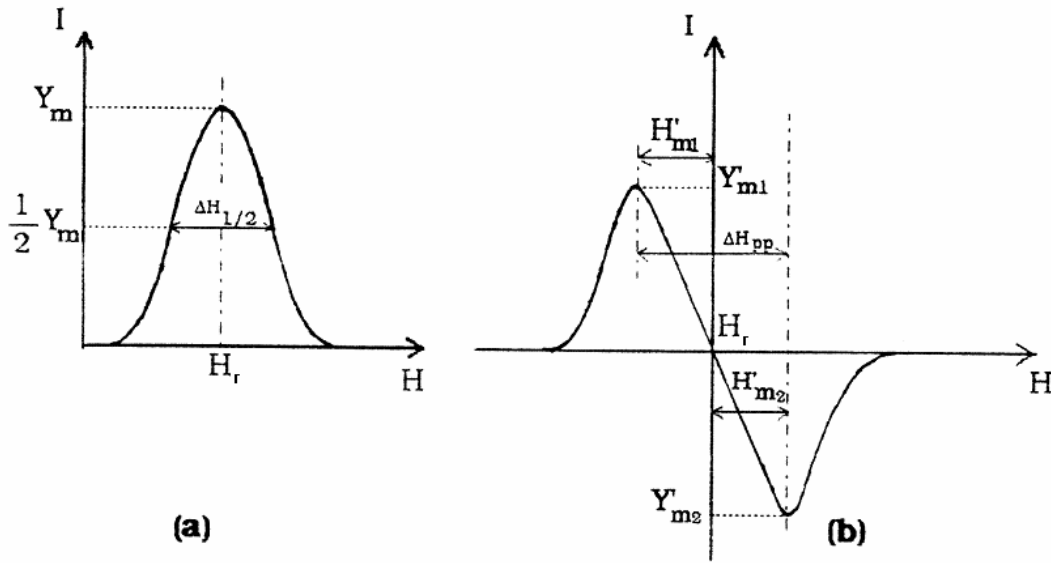
$$\frac{N_-}{N_+} = \exp\left(\frac{E_+ - E_-}{kT}\right) = \exp\left(\frac{h\nu}{kT}\right) \quad (2.7)$$

ifadesi ile verilir. Bu bağıntıdaki k Boltzman sabiti, T 'de mutlak sıcaklıktır.

Bu eşitlikten de görüldüğü gibi sabit bir mikrodalga frekansında ve sıcaklık düşürüldükçe $h\nu/kT$ oranı büyür, yani E_- enerji düzeyinde bulunan spinlerin sayısı artar. ESR çalışmaları için 9-10 GHz yüksek frekans değerinin seçilmesinin ve

genellikle düşük sıcaklıklarda şiddetli ESR sinyalinin elde edilmesinin nedeni de bu eşitliğin öngördüğü bir sonuçtur.

ESR spektrumu; çözücülüğün artırılması, gürültü düzeyinin düşürülmesi gibi nedenlerden dolayı soğurma eğrisinin birinci türevi şeklinde kaydedilir (Pilbrow, 1996). Soğurma eğrisi ve bunun birinci türevi alınarak elde edilen eğrinin karakteristik özellikleri Şekil 2.6a ve 2.6b' de verilmiştir.



Şekil 2.6. Tek çizgili bir ESR spektrumunun karakteristik özellikleri

a) soğurma , b) birinci türev

Şekildeki H_r incelenen örneğin rezonans alan değerini, ΔH_{pp} tepeden-tepeye çizgi genişliğini, Y_m ise sinyal şiddetini göstermektedir. Soğurma eğrisinin altında kalan alan veya çizgi genişliğinin sabit olması durumunda birinci türev eğrisinin tepeden tepeye yüksekliği, örneğin sahip olduğu manyetik birimlerin sayısı ile orantılıdır (Poole, 1967). Gauss ve Lorentz türündeki soğurma eğrileri altında kalan alanlar, sırası ile, (2.8) ve (2.9) bağıntıları ile verilmiştir.

$$A_G = (2\pi e)^{1/2} \cdot \left(\frac{1}{2} \Delta H_{pp}\right)^2 \cdot Y'_m \quad (\text{Gauss eğrisi}) \quad (2.8)$$

$$A_L = \frac{2\pi}{3} \cdot (\Delta H_{pp})^2 \cdot Y'_m \quad (\text{Lorentz eğrisi}) \quad (2.9)$$

2.6.1. Spektroskopik yarıлма çarpanı

Bir örnek içindeki manyetik birimlerin çiftlenimsiz elektrondan kaynaklanan manyetik momentlerinin büyüklüğü aynı ise, ν frekansında elektromanyetik dalga üreten kaynağa sahip bir spektrometrede tüm birimlerin aynı alan değerinde rezonansa girmeleri beklenir. Bu alan değeri

$$H_r = \frac{h\nu}{g\mu_\beta} \quad (2.10)$$

ifadesi ile verilir. Bir örnekten diğerine bu alan değerinin değiştiği görülmüş, başka deyimle farklı manyetik birimler için farklı manyetik alan değerlerinde sinyallerin ortaya çıktığı belirlenmiştir. Bu da değişik elektronik çevrenemeye sahip çiftlenimsiz elektronların farklı g değerlerine sahip olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Çünkü manyetik bir birimin magnetik momenti sadece spinden kaynaklanmamakta elektronun yörüngesel hareketi de, manyetik momente katkı getirmektedir. Başka deyimle, bir manyetik birimdeki spin-yörünge etkileşmesi spektrumun manyetik alan ekseninin hangi bölgesinde ortaya çıkacağını belirler. Bu da g spektroskopisi yarıлма çarpanı şeklinde deneysel spektruma yansır (Ikeya,1993).

Serbest bir atom için, başka deyimle atomun içinde bulunduğu molekülsele ya da kristal yapı tarafından oluşturulan dış alanlardan etkilenmediği durumlarda atomun spin açısai momentumu ile yörünge açısai momentumu toplam açısai momentumu oluşturmak üzere bağlaşırlar. Bu durumda atomun toplam açısai momentumu, $\vec{J} = \vec{L} + \vec{S}$ bağıntısı ile verilir ve atomun spektroskopik yarıлма çarpanı;

$$g = \frac{1 + J(J + 1) + S(S + 1) - L(L + 1)}{2J(J + 1)} \quad (2.11)$$

ifadesine sahiptir (Atherton, 1973).

Kristal örgü içinde bulunan manyetik birimlerin veya kusur merkezlerinin g faktörleri, statik manyetik alanın uygulama yönüne bağlı olarak değişir. Ortorombik simetride, g çarpanı artık tensör özelliğine sahiptir ve g_{xx}, g_{yy}, g_{zz} bileşenleriyle belirtilir. Bu durumda; manyetik alanın yönüne ve yaptığı açığa bağlı olarak g faktörü şu şekilde ifade edilir;

$$g(\theta, \phi) = (g_{zz}^2 \cos^2 \theta + g_{xx}^2 \sin^2 \theta \cos^2 \phi + g_{yy}^2 \sin^2 \theta \sin^2 \phi)^{1/2} \quad (2.12)$$

Bağıntıda geçen θ , magnetik alan ile z eksenini arasındaki açı, ϕ ise magnetik alanın xy düzlemindeki izdüşümü ile x eksenini arasındaki açıdır. Eksenel simetri durumunda; g faktörü manyetik alana paralel (g_{\parallel}) ve dik (g_{\perp}) ($g_{\parallel} = g_{zz}$, $g_{\perp} = g_{xx} = g_{yy}$) bileşenleriyle açıklanır ve şöyle ifade edilir;

$$g(\theta) = (g_{\parallel}^2 \cos^2 \theta + g_{\perp}^2 \sin^2 \theta)^{1/2} \quad (2.13)$$

Eksenel simetriye sahip manyetik birimlerden oluşmuş toz örneklerde, birimlerin yönelimlerdeki gelişigüzellik nedeniyle, g faktörü artık bir ortalama değere sahiptir ve bu ortalama değer (2.14) bağıntısı

$$g_{ort} = [(2g_{\perp} + g_{\parallel}^2)/3]^{1/2} \quad (2.14)$$

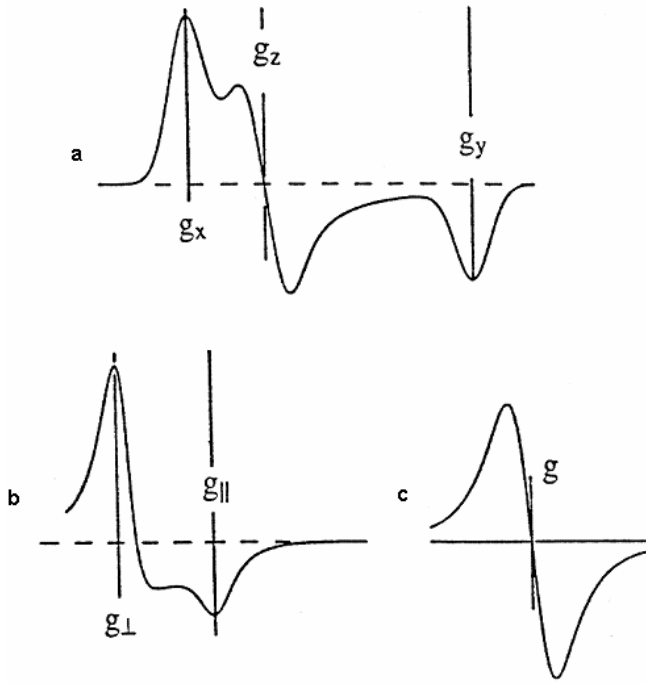
ile belirlenmiştir. Üç farklı simetri için elde edilen toz örnek spektrumları Şekil 2.7'de gösterilmiştir (Çetin, 1994).

2.6.2. Aşırı ince yapı etkileşmesi

Elektronik manyetik moment hem ait olduğu atomun hem de komşu atom veya atomların çekirdek manyetik momentleri ile etkileşir. Bu da elektronik enerji düzeylerinin yarılmasına dolayısı ile çok sayıda yeni rezonans geçişlerinin ortaya çıkmasına neden olur. İsmine aşırı ince yapı etkileşmesi de denilen elektronik ve çekirdek manyetik momentleri arasındaki bu etkileşme iki spin arasındaki dipol-dipol etkileşmesi olarak değerlendirildiğinde, çekirdeğin elektronun bulunduğu yerde oluşturduğu yerel magnetik alanın, dışardan uygulanan statik manyetik alan doğrultusundaki, başka deyimle z doğrultusundaki bileşeni

$$H_{yz} \propto \mu_{nz} \frac{3 \cos^2 \theta - 1}{r^3} \quad (2.15)$$

ifadesine sahip olur. Bu bağıntıdaki μ_{nz} , çekirdek manyetik momentinin z doğrultusundaki bileşeni, θ z doğrultusu ile çekirdeği elektrona birleştiren doğru arasındaki açı ve r de bu ikisi arasındaki uzaklıktır.



Şekil 2.7. Üç farklı simetri durumunda toz örnekler için elde edilen ESR spektrumları. a) ortorombik, b) eksenel, c) kübik.

(2.15) bağıntısına göre çekirdeğin oluşturduğu yerel magnetik alanın değeri büyük ölçüde yönelmeye bağlıdır. Doğası gereği elektron uzayda belli bir noktada yerleşik olmadığı için, elektronun etkisinde kaldığı toplam yerel magnetik alan, onun uzaydaki tüm konumları üzerinden alınan ortalama bir değer olacaktır. s atomik orbitalinde olduğu gibi, elektronun bulunma olasılığının küresel simetriye sahip olması durumunda $\langle 3 \cos^2 \theta - 1 \rangle = 0$ olacağı için elektronun göreceği yerel manyetik alan sıfır olacaktır. Elektronu 1s orbitalinde bulunmasına karşın hidrojen

atomu aşırı ince yapı etkileşmesi gösterir. Bu aşırı ince yapı, dipol-dipol etkileşmesinden değil yönelmeden bağımsız olan Fermi etkileşmesinden ya da diğer ismiyle spin-spin bağlaşımından kaynaklanır.

Yönsemez aşırı ince yapı etkileşmesi;

$$\mathcal{H} = \frac{8\pi}{3} g_{\mu_B} g_n \mu_{Bn} |\Psi(0)|^2 SI \quad (2.16)$$

enerji Hamiltoniyeni ile tanımlanır. Bağıntıda geçen $|\Psi(0)|^2$ elektronun çekirdekte bulunma olasılığıdır (Apaydın, 1996). s atomik orbitalleri için $|\Psi(0)|^2$ terimi sıfırdan farklı iken yönser aşırı ince yapı etkileşmesi gösteren p,d,f atomik orbitalleri çekirdeğin bulunduğu yerde daima bir düğüm noktası oluşturduklarından $|\Psi(0)|^2$ terimi sıfırdır.

Genel anlamda bakıldığında aşırı ince yapının oluşumuna yönser ve yönsemez aşırı ince yapı etkileşmeleri katkı getirirler ve toplam aşırı ince yapı sabiti;

$$A = A_s + A_p(3\cos^2\theta - 1) \quad (2.17)$$

ifadesine sahiptir. Bu bağıntıdaki A_s ve A_p , sırasıyla yönsemez ve yönser aşırı ince yapı sabitleri, θ uygulanan manyetik alanın yönü ile çiftlenimsiz elektronun üzerinde konumlandığı p orbitali arasındaki açıdır. θ değeri 0° ve 90° olduğunda, başka bir deyişle manyetik alan p orbitaline paralel ve dik olduğunda, aşırı ince yapı sabiti sırasıyla;

$$A_{||} = A_s + 2A_p \quad (2.18)$$

$$A_{\perp} = A_s - A_p \quad (2.19)$$

değerlerini alır. Diğer yönelim durumlarında A , $A_{||}$ ve A_{\perp} değerleri arasında değerler alır.

A_s , elektronun çekirdekteki bulunma olasılığına, A_p ise elektron ve çekirdek spinleri arasındaki dipol-dipol etkileşmesine bağlı olduğundan şu şekilde ifade edilebilirler (Ikeya, 1993);

$$A_s = \left(\frac{2\pi}{3}\right) g_n \mu_{Bn} |\psi(0)|^2 \quad (2.20)$$

$$A_p = \left(\frac{2}{5}\right) g_n \mu_{Bn} \langle r^{-3} \rangle \langle 3\cos^2\theta - 1 \rangle \quad (2.21)$$

Daha önce de bahsedildiği gibi $|\psi(0)|^2$ çekirdek merkezinde elektronun bulunma olasılığı, r de çekirdek ile elektron arasındaki uzaklıktır. $\langle r^{-3} \rangle$ ve $\langle 3\cos^2\theta - 1 \rangle$ terimleri uzaysal elektron yoğunluğu kullanılarak alınan ortalamalardır (Ikeya, 1993).

l, m, n yön kosinüslerine sahip bir eksene göre yönser aşırı ince yapı sabiti A^d , ana eksen değerleri A_{xx}, A_{yy}, A_{zz} olmak üzere, şu şekilde ifade edilir: (Ikeya, 1993).

$$A^d = [A_{xx}^2 l^2 + A_{yy}^2 m^2 + A_{zz}^2 n^2]^{1/2} \quad (2.22)$$

Molekülser serbest kökçelerin hemen hemen tümünde gözlenen yönser aşırı ince yapı yarılması, elektron spininin, bağlaşımına giren atomun p yörüngesinde yoğunlaşmasından kaynaklanır. Bu tür serbest kökçelerde aşırı ince yapı yarılması p yörüngesine göre ekstenel simetri gösterir. z ekseni simetri ekseni olmak üzere $A_z = A_{||}$ ve $A_x = A_y = A_{\perp}$ dir. θ , z simetri ekseni ile uygulanan manyetik alan arasındaki açı olmak üzere A^d ;

$$A^d = [A_{||}^2 \cos^2\theta + A_{\perp}^2 \sin^2\theta]^{1/2} \quad (2.23)$$

ifadesine sahiptir. Aynı manyetik birimde hem Fermi etkileşmesi, hem de dipol-dipol etkileşmesi ortaya çıkabilir. Ekstenel simetri durumunda A 'nın asal değerleri

$$A_{||} = A^s + A_{||}^d \quad (2.24)$$

$$A_{\perp} = A^s + A_{\perp}^d \quad (2.25)$$

ifadelerine sahiptir. Bu bilgiler birlikte değerlendirildiğinde θ açısı altındaki yönelim durumunda aşırı ince yapı sabiti için

$$A(\theta) = [(A^s + A_{||}^d)^2 \cos^2\theta + (A^s + A_{\perp}^d)^2 \sin^2\theta]^{1/2} \quad (2.26)$$

ifadesi elde edilir (Apaydın, 1996).

2.6.3. Çizgi genişliği ve sinyal şiddeti

ESR soğurması, $h\nu = g\mu_B H_r$ eşitliğinin öngördüğü H_r rezonans alan değerinde gözlenir. Bir başka deyişle, bu bağıntıya göre rezonansın gerçekleştiği manyetik alan değerinde genişliği olmayan bir rezonans geçişinin gözlenmesi gerekir. Ancak deneysel olarak gözlenen tüm rezonans çizgileri belirli bir yarı eğri genişliğine sahiptir. Bunun nedeni, manyetik momentlerin yalnızca dışardan uygulanan manyetik alanın içinde olmamaları, komşu manyetik momentlerin oluşturdukları manyetik alanların da içinde bulunmalarındandır. Dolayısı ile örneği oluşturan tüm manyetik momentler aynı manyetik alanı görmezler, bunun sonucu olarak rezonans geçişleri bir alan bölgesine yayılır. Bu da rezonans eğrisine bir genişlik kazandırır. Ayrıca rezonans geçişlerinin gerçekleştiği enerji düzeylerindeki belirsizliğin de bu genişlemeye katkı getirdiğini belirtmek gerekir. Rezonans çizgilerinin şekillerinde ve şiddetlerinde zamanla ortaya çıkan değişimler radikallerin diğer birimlerle girdikleri etkileşmelerin mekanizmaları ve radikalin zamanla sönümü veya oluşumu üzerine bilgi verir. Çizgi şekilleri ve konumları aynı kalırken, zamanla şiddetlerde gözlenen azalma sönüm olarak tanımlanır.

Bir örneğin içerdiği farklı serbest radikallerin çiftlenimsiz elektronları farklı yerel manyetik alana maruz kalır ve herhangi bir alan değerinde yalnız bir grup spin rezonansa girerse, rezonans çizgisi homojen olmayan genişleme gösterir. Gözlenen çizgi, ayrı ayrı spin paketlerinin birbirine göre kaymış olarak oluşturdukları bir rezonans çizgileri paketidir ve bu paket çizgi gaussian bir görünüme sahiptir. Yönser spektroskopik yarıma çarpanı ve aşırı ince yapı yarıma etkileşmelerinin sonucu yerel manyetik alanın homojenliği büyük ölçüde bozulur ve sinyal daha geniş bir manyetik alan bölgesine yayılır. Ayrıca çözümlenmemiş aşırı ince yapının da homojen olmayan genişlemeye neden olduğunu söylemek gerekir (Poole, 1972).

Tersine, örneği oluşturan manyetik birimlerin aynı ya da çok yakın alan değerlerini görmeleri durumunda homojen genişleme görülür. Bu durumda tüm manyetik birimler için çizgi şekli aynıdır ve gözlenen eğri şekli bir Lorentziendir. Benzer spinler arasındaki dipol-dipol etkileşmeleri ve spin-örgü süreçleri homojen genişlemeye neden olurlar.

2.6.4. Spin hamiltoniyeni ve çok bileşenli ESR spektrumları

Bir örneğe uygulanan manyetik alanın örneğin elektronlarının enerji düzeyleri üzerine olan etkisi spin Hamiltoniyen'in çözümleri ile nitelenir. Atomların ve moleküllerin elektronları çeşitli manyetik etkileşmelere maruz kalırlar ve bu etkileşmeler Zeeman düzeylerinin kaymasına ve yarılmasına yol açabilir. Bu sonuçlar incelenen örneğin ESR spektrumuna yansır. ESR spektrumu; sadece spin operatörleri içeren enerji Hamiltoniyeninin özfonksiyonları ile ifade edilen enerji seviyeleri arasındaki geçişler ile anlatılır. Etkin spin Hamiltoniyeni içindeki farklı spin işlemci terimleri spektrumda ölçülen parametrelerle anlatılır ve ESR spektroskopisinin elektronik yapıyı araştırmadaki başarısını, spin Hamiltoniyenin gözlenen parametreleri ile moleküler elektronik yapının teorik modelinden hesaplanan değerler arasındaki uyumun sonuçları belirler (Atherton, 1973).

Sistemi niteleyen etkin spin Hamiltoniyen, organik bileşiklerde, ışınlama ya da kimyasal tepkime sonucu oluşan serbest kökçeler dikkate alındığında

$$\mathcal{H} = g\mu_B \mathbf{H}_0 \cdot \mathbf{S} + hA \mathbf{S} \cdot \mathbf{I} \quad (2.27)$$

ifadesine sahip olur (Apaydın, 1996). Bu bağıntıdaki \mathbf{S} ve \mathbf{I} , sırasıyla, elektronik ve çekirdek spin işlemcileridir. Elektronik Zeeman ve aşırı ince yapı etkileşmelerini dikkate alan bu spin Hamiltoniyeninin enerji özdeğeri, M_S ve M_I sırasıyla elektronik ve çekirdek spin kuantum sayıları, g spektroskopik yarıma çarpanı, A da aşırı ince yapı sabiti olmak üzere,

$$E = g\mu_B H_0 M_S + A M_S M_I \quad (2.28)$$

ifadesine sahiptir. Bu enerji düzeyleri arasındaki izinli ESR geçişleri $\Delta M_S = \pm 1$ ve $\Delta M_I = 0$ şartını sağlar. Çiftlenimsiz elektron, çekirdek spin kuantum sayısı $I = 1/2$ olan n tane özdeş çekirdek ile etkileştiğinde $(n+1)$ tane çizgi sayısı gözlenir. Bu çizgilerin şiddet oranları Pascal üçgenine uyar. Çiftlenimsiz elektronun etkileşmeye girdiği çekirdek sayısı arttıkça ESR spektrumu daha karmaşık hale gelir.

2.6.5. ESR spektroskopisinin radikal analizinde kullanılması

Serbest radikaller, atomik ya da moleküler orbitallerinde çiftlenimsiz bir veya daha çok elektron bulunduran molekül ya da molekül parçalarıdır. Serbest radikaller kararlı yapıları nedeniyle uzun ömürlü olabildikleri gibi, kimyasal tepkimeye girme eğilimleri yüksek olduğunda genelde kararsız bir eğilim sergileyerek sönmeye uğrarlar. Hem çözeltilerde ve hem de katı ortamlarda kararlı olan radikaller vardır. Ancak çözeltilerdeki kökçeler yüksek hareket serbestileri nedeniyle genelde çok uzun ömürlü değildir. Doğal yollardan oluşmuş serbest radikallerin yanında mekanik etki, sıcaklık etkisi ve kimyasal etkiler sonucu veya görünür ışık, UV, X veya γ -ışınları yardımı ile de serbest radikal oluşturmak mümkündür.

Çiftlenimsiz elektrona sahip olmaları nedeniyle, serbest radikaller manyetik özellik gösterirler. Bu özelliğe duyarlı olan ESR spektroskopisi, serbest radikalleri ve bunların katıldığı tepkimeleri dinamik yolla incelemede kullanılan bir yöntemdir. ESR yöntemiyle, serbest radikallerin şu özellikleri belirlenebilir:

- Radikallerin sahip olduğu çiftlenimsiz elektronla ilgili, bir anlamda radikali karakterize eden spektroskopik yarıma çarpanı g ,
- Çiftlenimsiz elektronun üzerinde lokalize olduğu çekirdek ve komşu çekirdeklerle etkileşmelerinin büyüklüğünü gösteren aşırı ince yapı sabiti A ,
- Komşu çiftlenimsiz elektronların kendi aralarındaki etkileşmeler,
- Radikal konsantrasyonları ve bu radikallerin yaşam süreleri,

Spektroskopik yarıma çarpanı, spektrum çizgilerinin rezonans alan değerlerinden yararlanarak, aşırı ince yapı sabiti rezonans çizgileri arasındaki uzaklığın ölçülmesi ile, çiftlenimsiz elektron ile etkileşmeye giren çekirdeklerin sayıları ve türleri ise rezonans çizgi sayısı ve şiddet oranlarının hesaplanmasıyla belirlenir. Sinyal şiddeti örnek içerisinde bulunan radikal miktarı hakkında, çizgilerin genişlikleri ve şiddetlerinde zamanla ortaya çıkan değişimler de radikallerin durulma ve diğer moleküllerle olan etkileşme mekanizmaları üzerine bilgi verir. Belirlenen bu özellikler yardımı ile radikallerin türleri, yapıları ve dinamik özelliklerine ilişkin bilgiler elde edilebilir.

2.7. ESR Spektroskopisinin Radyasyonla Sterilizasyon İşleminde Kullanılması

Radyasyonun madde ile etkileşmesi sonucu oluşan ürünler; uyarılmış moleküller, iyonlar ve serbest radikallerdir. Yeterli kararlılıkta olması durumunda serbest radikallerin türleri, özellikleri ve miktarları ESR tekniği ile belirlenebilir. Standart bir örnek kullanılarak yaklaşık 10^{14} sayıdaki serbest radikali bu teknikle algılamak olanaklıdır.

Radyasyonla sterilize edilen farmasötiklerin aldıkları doz miktarının belirlenmesinde, ESR tekniği hızlı, doğru, duyarlı ve tekrarlanabilir şekilde doz ölçümü yapmaya olanak verir (Basly et. al.,1997b; Nagy,2000). Bu bağlamda, doz-cevap eğrileri oluşturularak ışınlama dozu tayin edilebilir (Duroux et.al.,1996). Bir ilacın ışınlanıp ışınlanmadığını da ESR tekniği ile belirlemek mümkündür. Bu teknikte, yaklaşık 30 mg kadar örneğe gereksinim duyulur ve ölçüm sırasında örnek zarar görmediğinden ölçümler tekrarlanabilir. Duyarlılığı yüksek ve algılama zamanı kısadır.

ESR spektroskopisi sterilizasyon işlemlerinde, çevre radyasyon dozunu ölçmede, ışınlanmış gıdaların analizinde, radyoterapide sağlık güvenliği açısından radyasyon doz ölçümünde, görüntülemeye, malzeme biliminde, arkeolojik ve antropolojik tarihlemeye ve radyasyon haritasının oluşturulmasında yaygın olarak kullanılan bir ölçüm tekniğidir (Scharman,1996; Lunsford and Devries,1997).

3. DENEYSEL YÖNTEM

3.1. Örneklerin Temin Edilmeleri ve Hazırlanmaları

Bu tez çalışmasında, β -laktam antibiyotikler ailesi içinde yer alan penisilinler grubundan toz halindeki piperasilin monohidrat (PPM), sultamisilin tosilat (SULT) ve karbapenemler grubundan gene toz halindeki meropenem trihidrat (MPT) bileşikleri incelenmiştir. Antibakteriyel penisilin ve karbapenem grubu ilaçların etkin maddeleri olan bu bileşiklerin seçilmelerinin nedeni, geniş spektrumlu antibiyotikler olmaları nedeniyle solunum, üriner, deri, kemik ve eklem gibi birçok enfeksiyonun tedavisinde sık kullanımlarıdır. Geniş spektrumlu ve sık kullanılan bu ilaçların güvenilir bir biçimde sterilize edilmiş olmalarını gerekmektedir. Birçok β -laktam grubu antibiyotiğin radyasyonla sterilize edilip edilemeyeceği incelenmiş olmasına karşın penisilin ve karbapenem grubu ilaçların etkin maddelerini oluşturan PPM, SULT ve MPT gibi saf bileşiklerin radyasyon duyarlılıkları ve radyasyon verimleri konularında araştırmalar yapılmamıştır.

PPM ve SULT bileşikleri Eczacıbaşı ilaç firmasından, MPT bileşiği ise Astra Zeneca ilaç firmasından temin edilmiştir. Deneyler süresince bileşikler ışık görmeyecek şekilde oda sıcaklığında tüp ağızları kapalı olarak muhafaza edilmiş ve üzerlerinde hiçbir fiziksel ve kimyasal işlem yapılmadan oldukları gibi kullanılmışlardır.

3.2. İncelenen Bileşiklerin İçerikleri

İncelenen bileşiklerin üretici firmalardan temin edilen analiz sertifikaları aşağıda verilmiştir.

Bileşik:Meropenem trihidrat

ANALİZLER

1. TANIMA (IR)

SONUÇLAR

Uygun

(HPLC)	Uygun
2. SU (susuz)	999 µg/mg
3. İLGİLİ MADDELER	
UK-1 (H-4295)	< % 0,05
UK-2 (H-4296)	% 0,12
Diğer (Toplam)	% 0,06
(Herbiri)	≤ % 0,1 herbiri
4. ARTIK ÇÖZÜCÜ	% 0,02
5. pH	5,1
6. SPESİFİK OPTİK ÇEVİRME (susuz)	-19,0°
7. AĞIR METALLER	≤ 10 ppm
8. STERİLİTE	Uygun
9. BAKTERİYEL ENDOTOKSİN	< 0,06 IU/mg
10. PARTİKÜL BÜYÜKLÜĞÜ	25 µm
11. MİKROSKOPİ	Uygun

Bileşik: Piperasilin monohidrat

ANALİZLER	LİMİTLER	SONUÇLAR
1. GÖRÜNÜŞ	Beyaz ve kremi beyaz kristalize toz	Uygun
2. TANIMA (FTIR)	Std.eğriye uyar	Uygun
3. SU (K.F.)	max.% 2,0 - 4 ,0	% 3,6
4. AĞIR METALLER	max.20 ppm	Uygun
5. SPESİFİK OPTİK ÇEVİRME	(+155°)-(+175°)	(+165,9°)
6. İLGİLİ SAFSIZLIKLAR		
TEST1		
Ampisilin trihidrat	max.% 0,2	% 0,03
Piperasilin A	max.% 1,0	%0,46
Piperasilin B	max.% 0,2	% 0,06

TEST 2

Piperasilin D	max.% 2,0	% 1,09
Toplam Safsızlık	max.% 3,8	% 1,69
7. MİKTAR TAYİNİ (HPLC)	960-1030 mcg/mg (susuz)	990 mcg/mg (susuz)
8. BAKTERİYEL ENDOTOKSİN	max.0,07 IU/mg	Uygun

Bileşik: Sultamisilin tosilate

ANALİZLER	LİMİTLER	SONUÇLAR
1. GÖRÜNÜŞ	Beyaz-kirli ve beyaz renkli kristal toz	Uygun
2. TANIMA (FTIR)	Std.eğriye uyar	Uygun
TANIMA (HPLC)	Standart ile aynı alıkonma zamanı	Uygun
3. SU (K.F.)	en fazla % 6,0	% 4,50
4. İYOT REAKTİF MADDELER	en fazla % 3,0	% 1,5
5. SPESİFİK OPTİK ÇEVİRME	(+173°)-(+187°)	(+180,1°)
6. AĞIR METAL	en fazla 20 ppm	Uygun
7. İLGİLİ SAFSIZLIKLAR		
Sulbaktam	en fazla % 0,8	% 0,17
Ampisilin	en fazla % 2,5	% 0,4
PTSA	% 21,3 - 23,5	% 22,6
8. SÜLFAT KÜLÜ	en fazla % 0,2	% 0,05
9. MİKTAR TAYİNİ (HPLC)	en az % 70,0 (anhydrous)	% 77,4
10.ARTIK ÇÖZÜCÜ		
Etil Asetat	en fazla 20000 ppm	13513 ppm
Isopropil alkol	en fazla 5000 ppm	Tespit edilmedi
Ether	en fazla 5000 ppm	Tespit edilmedi
Aseton	en fazla 3000 ppm	Tespit edilmedi
11.PARTİKÜL BÜYÜKLÜĞÜ	% 25 - % 65 > 100 mesh	% 89,4 < 140 mesh
	% 35 - % 75 > 140 mesh	

3.3. Örneklerin Işınlanması

Işınlama işlemleri, Türkiye Atom Enerjisi Kurumu (TAEK)'nin Sarayköy Tesislerinde, ^{60}Co γ -kaynağı kullanılarak oda sıcaklığında yapıldı. Kaynağın doz hızının, ışınlamanın yapıldığı 10-Ekim-2004 tarihi itibarıyla, 1.83 kGy/saat olduğu belirlendi. Işınlama cihazlarında kullanılan ^{60}Co kaynakları, doğal ^{59}Co 'un nötron bombardımanı sonucunda yapay olarak elde edilir. Radyoaktif olan ^{60}Co çekirdeği bozunarak bir beta (β) parçacığı ile enerjileri 1.17 ve 1.33 MeV olan iki foton enerjisine sahip gama ışını yayınlamaya kararlı ^{60}Ni elementine dönüşür. Beta parçacıkları kaynak kapsülünde tutulduğundan ışınlama işlemi, çok girici olan, gama ışınları ile yapılır.

İncelenen örnekler 1,3,6,10 ve 15 kGy doz değerlerinde ışınlandılar. Çalışmada bu doz değerlerinin seçilmesinin nedeni, ilaç sterilizasyonu için genel olarak kabul edilen doz üst limiti 25 kGy olmasına rağmen; birçok farmasötik ışınlamanın ürüne verebileceği zararı en aza indirmek için daha düşük doz değerlerinde steril edilebilir olması ve literatürde düşük doz değerlerinde sterilizasyonun olanaklı olduğunu gösteren çalışmaların olmasıdır (Özalp, 2003; Razem et al., 1990). Düşük dozlar (5 kGy ve daha düşük) ilaç endüstrisinde etkin madde ve yardımcı maddelerde depolama sırasında oluşabilecek mikroorganizmalardan kurtulmak için kullanılmaktadır.

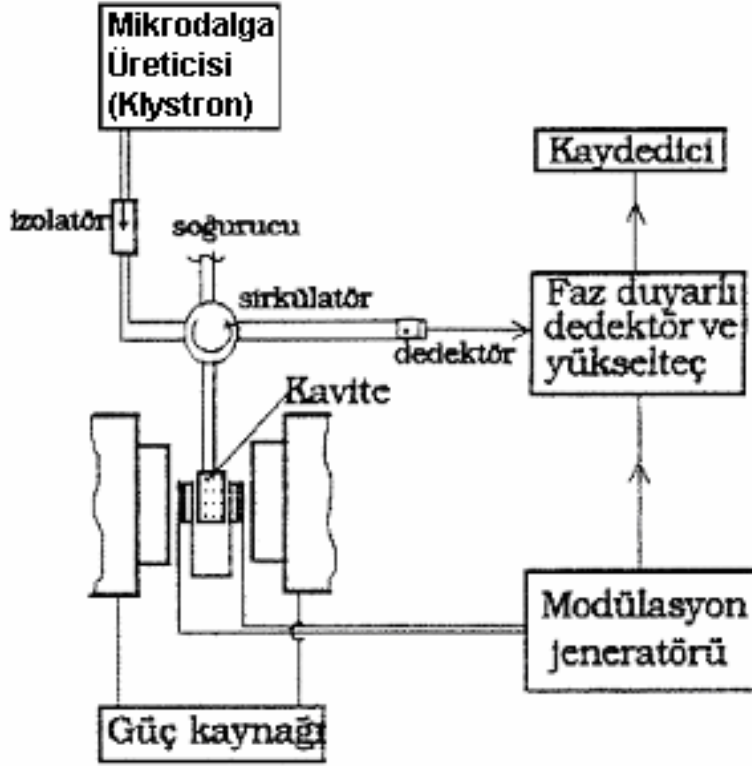
3.4. Kullanılan Ölçüm Tekniği

Bu çalışmada; farklı doz değerlerinde ışınlanmış olan beta laktam grubu ilaç etkin maddelerinde ışınlama sonucu oluşan ara ürünlerin karakterizasyonları amaçlandığından, ESR spektroskopisi ölçüm tekniği olarak kullanılmıştır. Daha önce de vurgulandığı gibi, çiftlenimsiz elektrona sahip ara ürünlerin türlerini, yapılarını, miktarlarını ve dinamik özelliklerini incelemeye, ESR spektroskopisi öncelikli olarak başvurulan bir ölçüm tekniğidir.

3.4.1. Kullanılan ESR spektrometreleri ve özellikleri

Ölçümler, Varian X-bant E-L 9" ve Bruker EMX-131 ESR spektrometreleri kullanılarak yapılmıştır. Bu spektrometrelerin çalışma ilkesini gösteren çok genel bir diyagram Şekil 3.1'de verilmiştir. Bu spektrometrelere ait elektromıknatıslarla değeri $1.8 \cdot 10^4$ G'a kadar çıkan alan oluşturulabilmektedir. Manyetik alan 0.2 G ile 10.000 G arasında çizgisel olarak taranabilmekte, tarama süresi ise 0.5 dakika ile 16 saat arasında ayarlanabilmektedir. Modülasyon alanının genliği ise $0.5 \cdot 10^{-2}$ ile 40 G arasında değiştirilebilmektedir. Mıknatısın güç kaynakları sistemlere 40 A'e kadar çıkabilen akım sürebilmektedir. Mikrodalga üretici olarak klystron kullanılmakta ve bunların oluşturdukları mikrodalğanın frekansı 8.8-9.6 GHz arasında gücü ise 0-200 mW arasında değiştirilebilmektedir. Kullanılan spektrometrelerin çalışma ilkeleri çok benzerdir. Bu nedenle, aşağıda, çalışma süresince ağırlıklı olarak kullanılan Varian X-bant E-L 9" spektrometresi ile ilgili genel bilgiler verilmekle yetinilecektir.

Bir ESR spektrometresi, genel olarak, sabit frekansta ve değiştirilebilir genlikte mikrodalga (MD) oluşturabilen bir üreteç, MD'yi örnek üzerine ve örnekten yansıyan dalgayı da kristal dedektöre taşıyabilen bir dalga kılavuzu, dalga kılavuzu boyunca taşınan MD'yi incelenecek örnek üzerinde yoğunlaştıran bir kavite, değeri çizgisel olarak değiştirilebilen durgun dış manyetik alan yaratan bir elektromıknatıs, MD'yi algılayan bir kristal dedektör, bir çift modülasyon bobini, bir yükselteç, bir faz duyarlı dedektör ile bir kaydediciden oluşur. Şekil 3.1.'de görüldüğü gibi, elektromıknatısın kutupları arasında, örneğin içine konulduğu ve yan yüzlerine modülasyon bobinleri yerleştirilmiş, MD kavitesi bulunmaktadır ve kavite dalga kılavuzu aracılığı ile dört kollu köprüye bağlıdır. Kaynağın ürettiği MD, bir ucunda kristal dedektör, diğer ucunda örneğin bulunduğu kavite bulunan dört kollu MD köprüsüne gönderilir. Rezonans yokken dengede olan köprü, rezonansa erişildiğinde, kavite içindeki örneğin MD enerjisi soğurması nedeniyle, dengeden çıkar. Köprü dengede iken, MD gelmediğinden, kristal detektörde akım oluşmaz.



Şekil 3.1. Kullanılan ESR spektrometrelerinin şematik diyagramı

Ancak rezonans durumunda köprünün dengesi bozulur ve kaviteden yansıyıp gelen MD nedeniyle kristal detektörde bir akım oluşur, bu akım değişiminin neden olduğu sinyal yükseltilerek faz duyarlı detektöre gönderilir. Burada, gelen sinyal modülasyon sinyaliyle kıyaslanır ve sonuç kaydediciye gönderilir.

ESR spektrometrelerinde, genelde, MD frekansı sabit tutulup durgun alan belirli aralıkta taranarak soğurma eğrisinin birinci türevi çizdirilir. Tüm spektrumlar şu spektrometre koşullarında kaydedilmiştir. MD frekansı 9.25 GHz; modülasyon frekansı : 100 kHz; modülasyon genliği : 2 G; zaman sabiti : 1 s; merkezi alan : 3280 G; tarama alanı : 200 G; tarama zamanı : 4 dak.; mikrodalga gücü : 1 mW. Doyum durumundan uzak kalmak için mikrodalga gücü olanaklar ölçüsünde düşük tutulmuş ve özellikle düşük sıcaklık çalışmalarında bu noktaya özen gösterilmiştir. Spektrometre çalışma koşullarında kontrol edilemeyen, özellikle iris ayarlanmasından kaynaklanan değişimlerden etkilenmemek için her kaydedilen spektrumdan hemen sonra birinci kavitede bulunan standardın da spektrumu

kaydedilmiş ve çalışmalar kıyaslamalı bir bazda yürütülmüştür. Spektroskopi yarılma çarpanları, (3.1) bağıntısı esas alınarak hesaplanmıştır. Örnek ve standard spektrumları merkez alan değerleri H_0 ve H_s spektrum kağıdından belirlenmiş ve kullanılan standard için $g=2.0028$ değeri de dikkate alınarak örneğin spektroskopik yarılma çarpanı hesaplanmıştır.

$$g_0 = g_s(H_s/H_0) \quad (3.1)$$

Deneylerde; örneklere ve standarda ait sinyal şiddetleri, spektroskopi yarılma çarpanları, yarı eğri genişlikleri ve olası aşırı ince yapı sabitleri spektrumlardan belirlenmiştir. Sinyal şiddeti bulguları kıyaslamalı bazda yürütülmüş, yani örneklerin sinyal şiddetleri her defasında, standardın sinyal şiddetine, örnek kütlesine ve örnek ile standardın spektrumlarının kaydedildiği kazanç değerine normalize edilmiştir.

Değişik sıcaklıklardaki incelemeler, örneğin sıcaklığını, üzerinden geçen soğutulmuş veya ısıtılmış azot gazı ile kontrol eden, Bruker VT-111 tipi sayısal sıcaklık kontrol sistemi kullanılarak yürütülmüştür. Bu sistem ile örneğin sıcaklığını 100 - 410 K aralığında, ± 1 °C duyarlıkla kontrol etmek olanaklıdır.

İncelenen tüm örneklerin kütleleri tartılmış ve ESR tüplerinin en çok iki cm'lik bir kısmını dolduracak şekilde kütle miktarları ayarlanmıştır. Örneklerin MD kavitesine yerleştirilmesine özel bir önem gösterilerek, tüpe konan örneğin tümünün MD kavitesi içerisinde kalmasına dikkat edilmiştir. Çalışmalarda TE_{104} modunda titreşen bir MD çift kavitesi kullanılmıştır. Spektroskopik yarılma çarpanı 2.0028 olan standart örnek ön kaviteye, incelenen örnek de arka kaviteye konulmuştur. Spektrometre kavite modülasyon modu değiştirilerek, önce incelemesi yapılan örneğin daha sonra da ön kavitede bulunan standardın spektrumu alınmıştır.

4. DENEYSEL BULGULAR

Bu bölümde,incelenen örnekler için kaydedilen ESR spektrumlarından elde edilen deneysel bulgulara yer verilecektir.

4.1. Meropenem Trihidrat (MPT) İçin Elde Edilen Bulgular

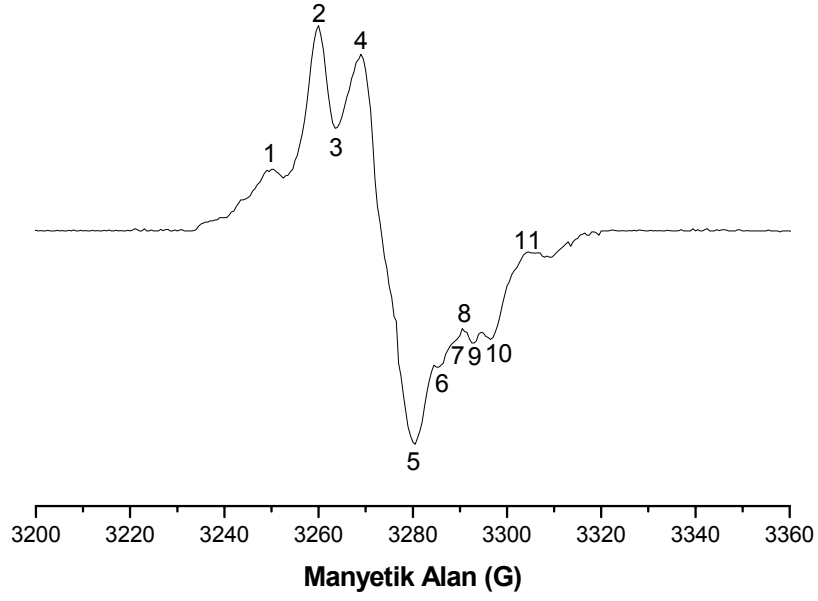
4.1.1. Oda sıcaklığında elde edilen bulgular

4.1.1.1. Işınlanmamış MPT ESR spektrumu

Işınlanmamış MPT örneğinin ESR sinyali vermediği gözlenmiştir.Ayrıca, oda sıcaklığında normal koşullarda uzun süre bekletilen örneklerin de sinyal vermedikleri belirlenmiştir.

4.1.1.2. Işınlanmış MPT ESR spektrumu

Toz halindeki MPT örnekleri TAEK-Sarayköy tesislerinde 1,3,6,10 ve 15 kGy doz değerlerinde oda sıcaklığında ışınlanmış ve mümkün olan en kısa sürede ESR spektrometresinin bulunduğu yere taşındıktan sonra tartılıp spektrumları kaydedilmiştir. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış bir MPT örneği için elde edilen ESR spektrumu Şekil 4.1.'de verilmiştir. Işınlanmamış örneklerde sinyal gözlenmediği halde ışınlanmış olanlarda bir sinyalin gözlenmesi bu örneklerde ışınlama ile çiftlenimsiz elektrona sahip birimlerin oluştuğu biçiminde değerlendirilmiştir. Şekil 4.1'de verilen spektrumdan da görüldüğü gibi, ışınlanmış MPT örneği çok sayıda karakteristik rezonans tepesinden oluşan bir ESR spektrumuna sahiptir. Bu tepelere karşılık gelen spektroskopik yarıma çarpanlarının, tepe numarası sırasına göre, $g_1= 2.0203$, $g_2= 2.0145$, $g_4= 2.0091$, $g_5= 2.0016$ olduğu ve spektrumun 75 G'luk bir alan bölgesine yayıldığı belirlenmiştir. 1, 2, 4, 5, 10 ve 11 nolu tepeler belirgin oldukları halde diğerlerinin çok belirgin olmadıkları hatta gürültü düzeyinde kaldıkları gözlenmektedir. Belirgin



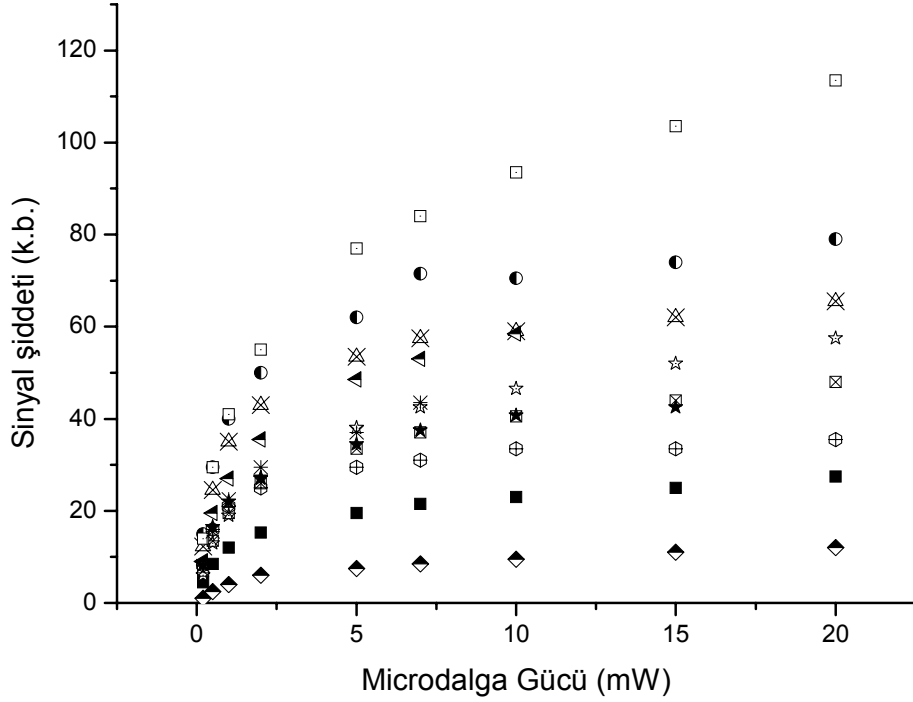
Şekil 4.1. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış bir MPT örneği için oda sıcaklığında kaydedilen ESR spektrumu

olmayan tepelerin örneğin manyetik alan içindeki yönelimi ile ilgili olup olmadığı araştırıldı ve tüm örnek yönelimleri için bu tepelerin aynı manyetik alan değerlerinde ortaya çıktıkları belirlendi. Rezonans tepelerine karşılık gelen sinyal şiddetleri spektrum temel çizgisine göre hesaplandı ve elde edilen değerler spektrometre kazancına, örnek kütlesine ve standardın sinyal şiddetine bölünerek normalize edilip incelemede öncelik sinyal şiddetinin değişik koşullardaki değişimine verildi.

4.1.1.3. Sinyal şiddetinin mikrodalga gücüne bağlı değişimi

Işınlanmış MPT örneği ESR spektrumuna katkı getiren olası kökçe türlerinin mikrodalga doyum özelliklerinin farklı olabileceği ve bu özelliklerin de kökçe türlerini belirlemede yardımcı olabileceği düşüncesinden hareketle, 15 kGy doz değerinde ışınlanmış bir MPT örneğinin 0.2-20 mW mikrodalga gücü aralığında

spektrumları oda sıcaklığında kaydedildi. Bu spektrumlar değerlendirilerek mikrodalga doyum bulguları elde edildi. Sonuçlar Şekil 4.2.'de verilmiştir. Şekilden de görüldüğü gibi, ışınlanmış MPT örneğinde gözlenen tüm rezonans tepeleri homojen olmayan genişleme karakteri gösteren rezonans çizgilerinin özelliklerine sahiptir.

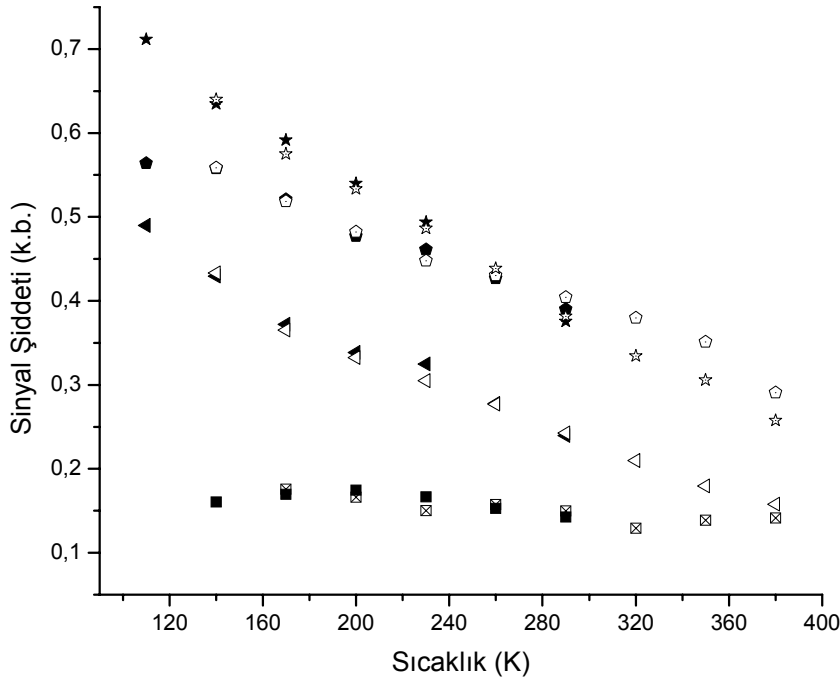


Şekil 4.2. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış bir MPT örneği rezonans tepeleri için oda sıcaklığında elde edilen mikrodalga doyum bulguları [■ (1); ● (2); ☆ (3); ✕ (4); □ (5); ▲ (6); ※ (7); ⊠ (8); ★ (9); ⊕ (10); ◆ (11)]

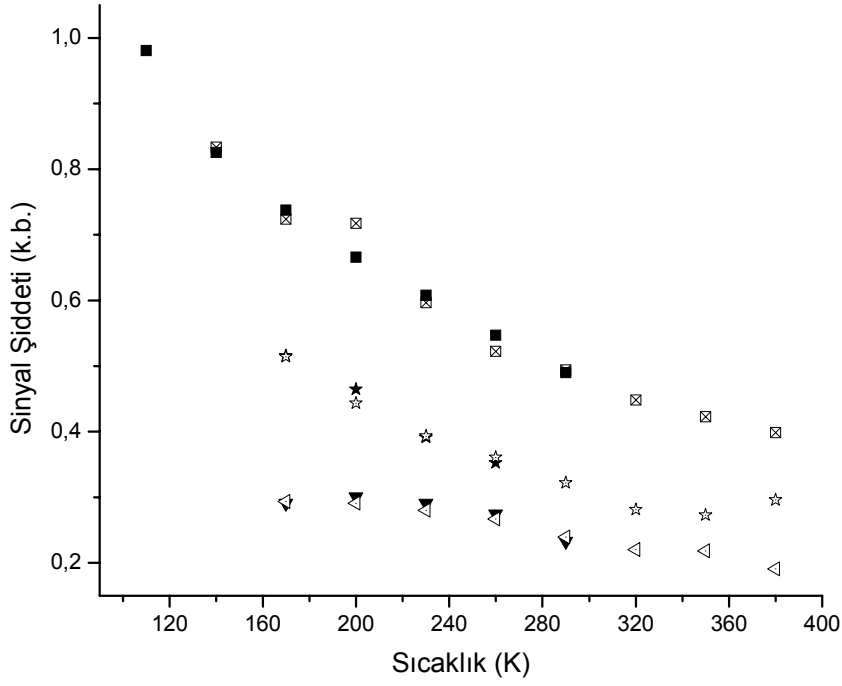
Elde edilen doyum bulguları; 1,10 ve 11 nolu tepelerin yaklaşık 5 mW'lık mikrodalga gücünde, 2 ve 4 nolu tepelerin ise yaklaşık 10 mW'lık mikrodalga gücünde doyuma eriştiklerini göstermektedir. Buna karşın, 3 ve 5 nolu tepelerin sinyal şiddetlerindeki artışın,incelemenin yürütüldüğü güç aralığında, devam ettiği gözlenmektedir. Bu sonuçlar, ışınlanmış MPT örneği ESR spektrumuna birden fazla kökçenin katkı getirdiğini göstermektedir.

4.1.2. Değişik sıcaklıklarda elde edilen bulgular

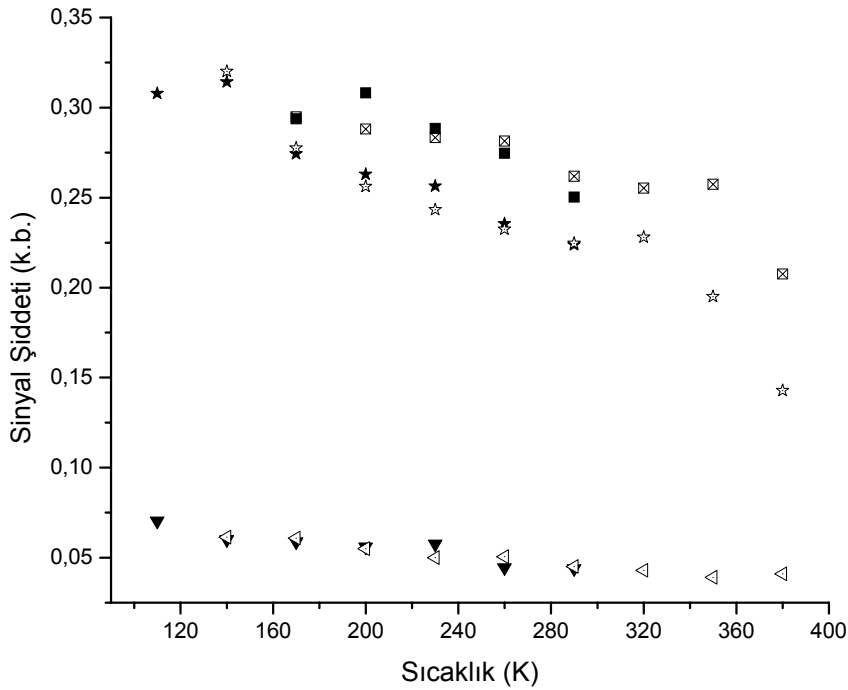
Işınlama ile örnek içerisinde oluşan radikal veya radikallerin sayılarında ve yapılarında sıcaklık değişimi ile ortaya çıkabilecek olası değişimleri belirlemek için 15 kGy doz değerinde ışınlanmış bir MPT örneğinin spektrumu geniş bir sıcaklık aralığında incelendi. Bu amaç doğrultusunda, oda sıcaklığında ışınlanmış bir örneğin, 290 K'den başlanarak belirli adımlarla sıcaklığı 110 K'e kadar düşürülerek spektrumları kaydedildi. Daha sonra, 110 K'den başlanarak sıcaklık aynı adımlarla artırılarak örnek oda sıcaklığına kadar ısıtılırken her adımda yeniden spektrumları kaydedildi. Aynı işlemler oda sıcaklığı (290 K) ile 380 K sıcaklık aralığında tekrarlanarak örneğin geniş bir aralıkta sıcaklık değişimine karşı gösterdiği davranış incelendi. Kaydedilen spektrumlardan elde edilen sinyal şiddeti bulguları değerlendirilerek incelenen rezonans tepeleri için Şekil 4.3.,4.4. ve 4.5.'de verilen sonuçlar elde edildi.



Şekil 4.3. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış MPT örneği 1,2,3 ve 4 nolu rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinin 110-380 K aralığında sıcaklık değişimleri [■ (1); ● (2); ▲ (3); ★ (4)] soğutma; [□ (1); ○ (2); △ (3); ☆ (4)]; ısıtma



Şekil 4.4. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış MPT örneği 5, 6 ve 8 nolu rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinin 110 - 380 K aralığında sıcaklıkla değişimleri [■ (5); ★ (6); ◄ (8)] soğutma; [⊠ (5); ☆ (6); ◁ (8)]; ısıtma



Şekil 4.5. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış MPT örneği 9, 10 ve 11 nolu rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinin 110 - 380 K aralığında sıcaklıkla değişimleri [■ (9); ★ (10); ◄ (11)] soğutma; [⊠ (9); ☆ (10); ◁ (11)]; ısıtma

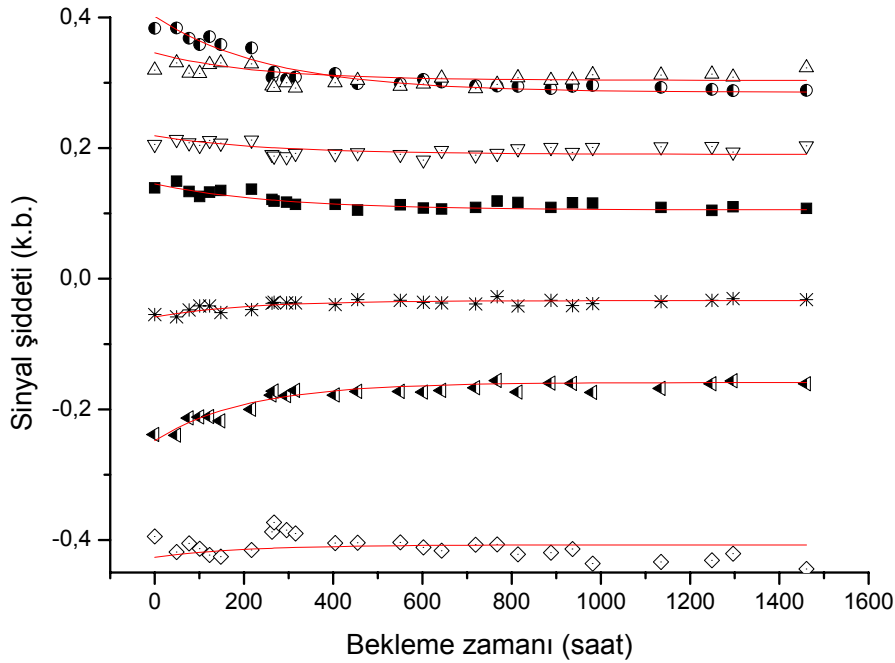
Şekillerden de görüldüğü gibi; örnek sıcaklığı oda sıcaklığından başlanarak düşürüldüğünde, 1, 8, 9 ve 11 nolu tepelerle ilgili zayıf sinyal şiddetleri de dahil olmak üzere, tüm sinyal şiddetleri sıcaklık azaldıkça artmaktadır. Bu da, ESR spektrumuna katkı getiren tüm radikal türlerinin 110 K'de bile, ölçümlerin gerçekleştirildiği 1 mW güç değerinde, doyuma gitmediklerinin bir işareti olarak değerlendirildi. Ayrıca, 110 K'den yeniden oda sıcaklığına çıkarken elde edilen sonuçların sıcaklığı düşürürken elde edilen sonuçlarla tüm sıcaklıklarda deneysel yanılı sınırları içerisinde çok benzer olması, kökçelerin bu sıcaklık aralığında tersinir bir davranış sergilediklerinin bir işareti olarak görüldü. Bu durum radikal dönüşümünden çok sıcaklık değişimi ile enerji düzeylerindeki popülasyonların değişimlerinden kaynaklandığı sonucuna varıldı.

Işınlama ile MPT örneğinde oluşan kökçelerin yüksek sıcaklıklardaki davranışlarına da bakıldı. 290 K'den başlanarak sıcaklık 410 K'e kadar artırıldığında 1, 8 ve 11 nolu rezonans tepelerinde düşük düzeylerde ve diğer tüm tepelerin sinyal şiddetlerinde çok belirgin azalmaların ortaya çıktığı gözlemlendi. Ayrıca, 9 nolu tepenin 310 K'den ve 10 nolu tepenin ise 320 K'den sonra sinyal şiddetlerinde çok daha büyük azalmaların ortaya çıktığı görüldü. Sıcaklık 410 K'e çıkarıldığında spektrumda yalnız 5 nolu tepenin gözlenebildiği saptanmıştır. Sıcaklık yeniden oda sıcaklığına düşürüldüğünde yine yalnız 5 nolu tepenin gözlenebildiği buna karşın diğer tüm tepelerin gözlenemediği belirlenmiştir. Bu gözleme dayanarak örneğin sıcaklığının artırılması ile deneysel spektruma katkı getiren kökçelerin çoğunun söndüğü, geri kalanların da sıcaklığa dayanıklı olanlar olduğu başka deyimle yüksek sıcaklıkta bile kararlı yapılarını koruyan türler olduğu değerlendirildi.

4.1.3. Sinyal şiddetinin normal koşullardaki sönümü

Işınlama ile örnek içerisinde oluşan kökçe veya kökçelerin sayılarında, yapılarında ve türlerinde zamanla ortaya çıkabilecek olası değişimleri incelemek için 6 kGy doz değerinde ışınlanan örnek oda koşullarında, ışık görmeyecek şekilde ve ağzı kapalı bekletilerek 60 gün boyunca belirli zaman aralıkları ile ESR spektrumları

kaydedildi. Bu spektrumlar kullanılarak deneysel olarak gözlenen onbir karakteristik rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinin zamanla nasıl değiştikleri belirlendi. Bu yolla elde edilen bulgular kullanılarak tüm rezonans tepeleri için sinyal şiddetlerinin zamanla değişim grafikleri oluşturuldu. Sonuçlar Şekil 4.6.'da toplu olarak verilmiştir. Bu şekilden de görüldüğü gibi, ışınlanmış MPT örneği sinyal şiddetlerinde zamanla çok fazla değişiklikler olmamakta, ışınlamadan sonraki günlerde yalnız 2 ve 10 no'lu tepelerin şiddetlerinde diğerlerine göre daha belirgin değişiklikler olduğu gözlenmektedir.



Şekil 4.6. 6 kGy doz değerinde ışınlanmış MPT örneği için belirlenen rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinin normal koşullarda zamanla değişimleri [semboller (deneysel): ■ (1); ● (2); ▽ (3); △ (4); ◇ (5); ◀ (10); * (11); sürekli çizgiler (kuramsal)]

1, 4 ve 5 no'lu tepelerin şiddetlerinde ilk günlerde gözlenen değişimlerin yanılıgı sınırları içinde kaldıkları, bunların anlamlı değişimler olarak görülemeyecekleri saptandı. Sinyal şiddetlerinde bekleme zamanına bağlı olarak ortaya çıkan sönüm bulgularına en iyi uyan kuramsal fonksiyonlar araştırıldı. Bu amaca yönelik olarak,

rezonans tepelerinin oluşumlarına birden çok kökçenin değişik ağırlıklarla katkı getirebilecekleri olgusu dikkate alınarak, birinci dereceden dört sönüm fonksiyonunu değişik ağırlık oranlarında içeren ve eşitlik 4.1'deki gibi tanımlanmış bir toplam fonksiyon kullanılarak veri uyarlama işlemleri yapıldı.

$$I = \sum_{i=1}^n (I_{0i} e^{-k_i t}) \quad (4.1)$$

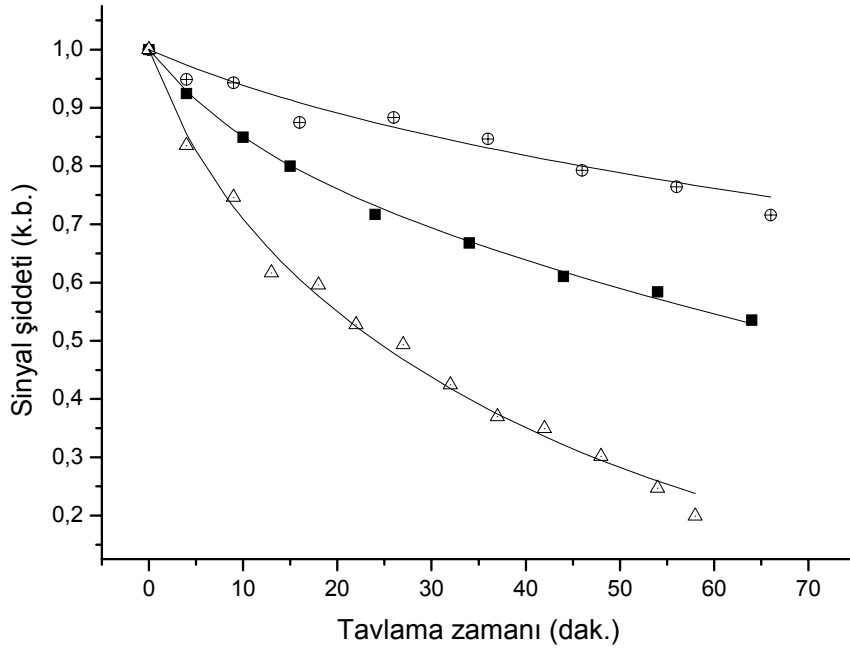
Eşitlik 4.1'de, I_{0i} ve k_i parametreleri, sırasıyla, sinyal şiddetine birinci dereceden katkı getiren i nolu birimle ilgili başlangıçtaki sinyal şiddeti ve sönüm sabitidir. Şiddetleri güvenilir bir biçimde ölçülebilen 1, 2, 3, 4, 5, 10 ve 11 tepeleri için elde edilen bulgular kullanılarak yapılan veri uyarlama işlemi sonucunda deneysel spektrumun oluşumuna ayrı sönüm sabitine sahip dört kökçenin katkı getirdiği, bunların tümünün de birinci dereceden sönüm davranışı gösterdikleri belirlendi. Katkı getiren kökçe türleri için belirlenen sönüm sabitleri ve katılım ağırlık oranları Çizelge 4.1'de verilmiştir.

4.1.4. Sinyal şiddetinin yüksek sıcaklıklardaki sönümü

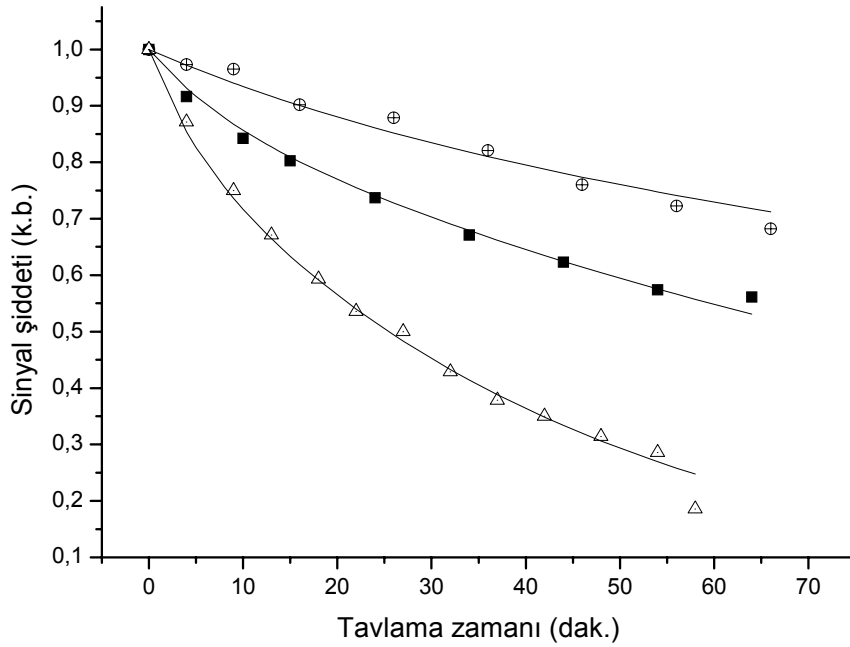
Işınlanmış MPT örneği ESR spektrumunda gözlenen karakteristik rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinin oda sıcaklığında aynı şekilde sönüme uğramamaları, ışınlama ile MPT'de oluşan kökçelerin farklı tür sönüm kinetiklerine sahip olduklarını göstermektedir. Sönümün farklı sıcaklıklardaki davranışını incelemek ve bu şekilde kökçelerin sönüm kinetiklerini ve aktivasyon enerjilerini belirlemek için 15 kGy doz değerinde ışınlanmış MPT'den altı değişik örnek hazırlandı ve bunlar 360 K, 370 K, 380 K, 385 K, 390 K ve 400 K sıcaklıklarda değişik sürelerle tavlandıktan sonra spektrumları kaydedildi. Spektrumlardan gözlenebilen tüm rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetleri ölçülerek yüksek sıcaklık sönüm eğrileri oluşturuldu. 400 K sıcaklığında, en kısa tavlama süresinde bile, tüm karakteristik rezonans tepelerinin artık ölçülemeyecek düzeyde şiddet sönümüne uğradıkları belirlendi. 2, 4 ve 5 no'lu karakteristik rezonans tepeleri için elde edilen bulgular, sırasıyla, Şekil 4.7., 4.8. ve 4.9.'da verilmiştir.

Çizelge 4.1. Işınlanmış MPT örneği ESR spektrumunun oluşumuna katkı getiren kökçelerin oda sıcaklığındaki sönüm sabitleri ve incelenen rezonans tepelerine bu kökçelerin katılım ağırlık oranları

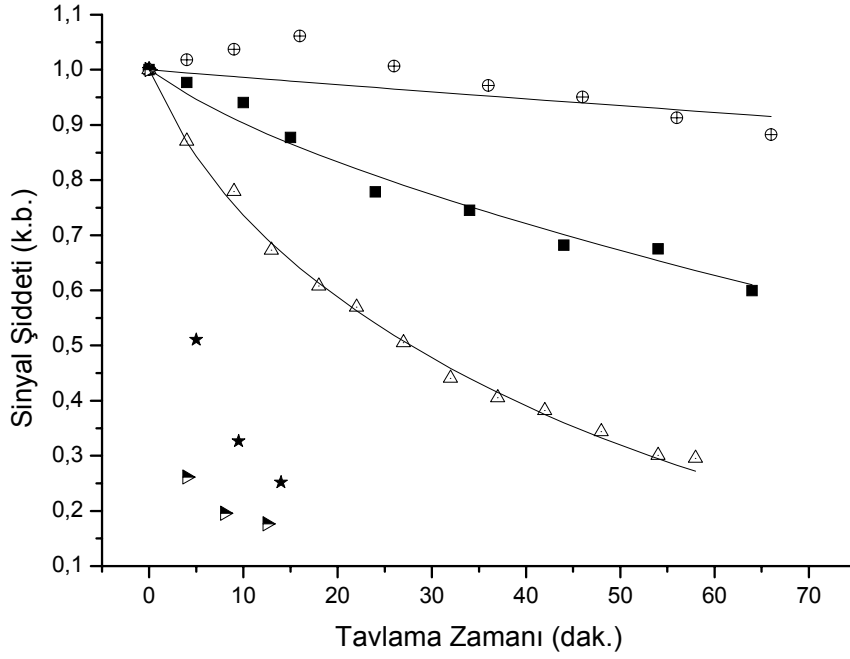
Kökçe	Sönüm türü	Sönüm sabiti $k \times 10^5$ (saat ⁻¹)	İncelenen tepelere katılım ağırlık oranları						
			1	2	3	4	5	10	11
A	1.derece	0,260	0,000	0,007	0,002	0,005	0,000	-0,013	-0,003
B	1.derece	503,000	0,000	0,017	0,003	0,022	-0,018	-0,079	-0,025
C	1.derece	369,000	0,040	0,100	0,025	0,021	0,000	-0,010	0,000
D	1.derece	0,000	0,105	0,278	0,180	0,298	-0,407	-0,146	0,031



Şekil 4.7. İki nolu rezonans tepesi ile ilgili, bire normalize edilmiş, sinyal şiddetinin üç değişik sıcaklıkta tavlama zamanına bağlı değişimi [semboller (deneysel): \oplus (360 K); \blacksquare (370 K); \triangle (380 K); sürekli çizgiler (kuramsal)]



Şekil 4.8. Dört nolu rezonans tepesi ile ilgili, bire normalize edilmiş, sinyal şiddetinin üç değişik sıcaklıkta tavlama zamanına bağlı değişimi [semboller (deneysel): \oplus (360 K); \blacksquare (370 K); \triangle (380 K); sürekli çizgiler (kuramsal)]



Şekil 4.9. Beş nolu rezonans tepesi ile ilgili, bire normalize edilmiş, sinyal şiddetinin üç değişik sıcaklıkta tavlama zamanına bağlı değişimi [semboller (deneysel): ⊕ (360 K); ■ (370 K); △ (380 K); ★ (385 K); ► (390 K); sürekli çizgiler (kuramsal)]

Tavlama bulgularından da görüldüğü gibi, beklenene uygun olarak, sıcaklık arttıkça sinyal şiddetlerindeki değişimler daha hızlı olmaktadır. Hatta 385 K ve 390 K sıcaklıklarındaki tavlama işlemlerinin ilk birkaç dakikası içerisinde yüzde ellinin üzerinde sinyal şiddeti kayıplarının ortaya çıktığı görülmektedir. Hızlı sönüm nedeniyle 385 ve 390 K sıcaklıklarında 1, 2 ve 4 nolu tepelerle ilgili ölçümler ancak çok kısa süreli tavlama zamanları için olanaklı olduğu halde 5 nolu tepe için bunun daha rahat olduğu, dolayısı ile 5 nolu tepeye katkı getiren kökçelerden hiç değilse biri veya birkaçının kararlılıklarının yüksek olduğu anlaşılmaktadır. İzlenen rezonans tepelerinin oluşumlarına, değişik sönüm karakteristiklerine sahip farklı türde birden çok kökçenin katkı getirdiği düşünüldü. Tüm rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinin yüksek sıcaklıklardaki değişimlerini birlikte en iyi betimleyen kökçe tür ve sönüm modelleri eşitlik 4.1.'de de verilen türde fonksiyonlar kullanılarak veri uyarlama yoluyla belirlendi. Bu yöntemle, en az üç değişik sıcaklıkta, katkı getiren kökçe türlerinin k sönüm sabitleri hesaplandı. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Işınlanmış MPT örneği ESR spektrumuna katkı getiren kökçe türleri için üç değişik sıcaklıkta hesaplanan k sönüm sabitleri

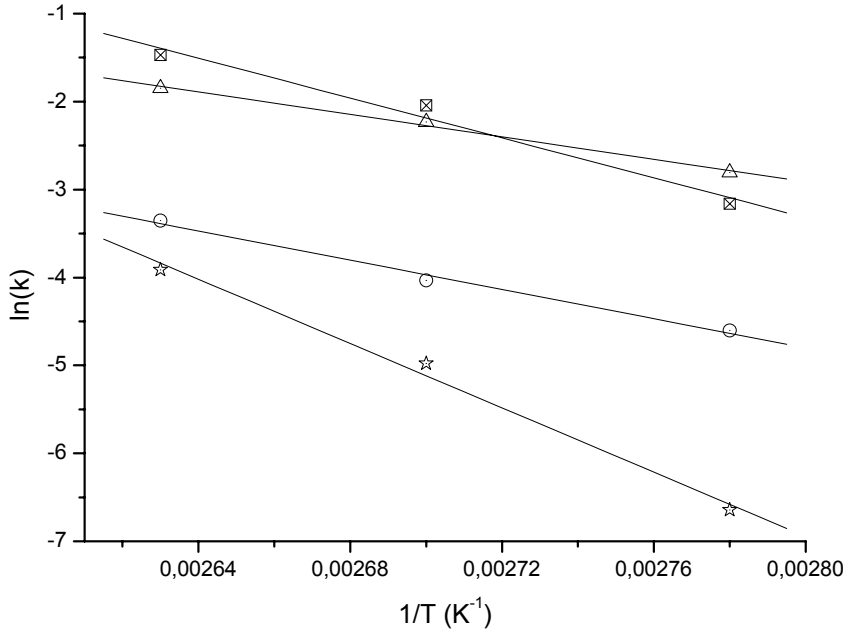
Kökçe	Sıcaklık (K)	Sönüm durumu	Sönüm sabiti $k \times 10^4$ (dak⁻¹)
A	360	1.derece	424
	370	1.derece	1297
	380	1.derece	2300
B	360	1.derece	605
	370	1.derece	1073
	380	1.derece	1577
C	360	1.derece	100
	370	1.derece	177
	380	1.derece	350
D	360	1.derece	13
	370	1.derece	69
	380	1.derece	200

4.1.5. Işınlanmış MPT için kökçe sönüm aktivasyon enerjileri

Bir kökçenin aktivasyon enerjisi, sıcaklıkla değişmesi beklenen sönüm sabiti k 'ya Arrhenius eşitliği ile, başka deyimle, 4.2 eşitliği ile bağlıdır:

$$k = k_0 e^{-(\Delta E/RT)} \quad (4.2)$$

Bu bağıntıda geçen R gaz sabiti, T mutlak sıcaklık ve ΔE de sönüm aktivasyon enerjisidir. Bu üstel değişim olgusundan hareketle $\ln(k)-1/T$ grafikleri oluşturularak deneysel ESR spektrumunun oluşumuna katkı getiren kökçe türlerinin aktivasyon enerjileri hesaplanır. Gözlenen rezonans tepeleri için yüksek sıcaklıklardaki tavlama deneylerinden elde edilen sönüm sabiti bulguları kullanılarak $\ln(k)-1/T$ grafiği oluşturuldu.



Şekil 4.10. Spektruma katkı getiren kökçeler için oluşturulan $\ln(k) - 1/T$ grafiği [semboller (deneysel): \boxtimes (A); \triangle (B); \circ (C); \star (D)]; sürekli çizgiler (kuramsal)]

Bu grafiklere en iyi uyan doğrular veri uyarlama işlemleri yardımı ile bulunarak, deneysel spektrumun oluşumuna katkı getiren kökçe türlerinin aktivasyon enerjileri hesaplandı. Sonuçlar Çizelge 4.3'de verilmiştir.

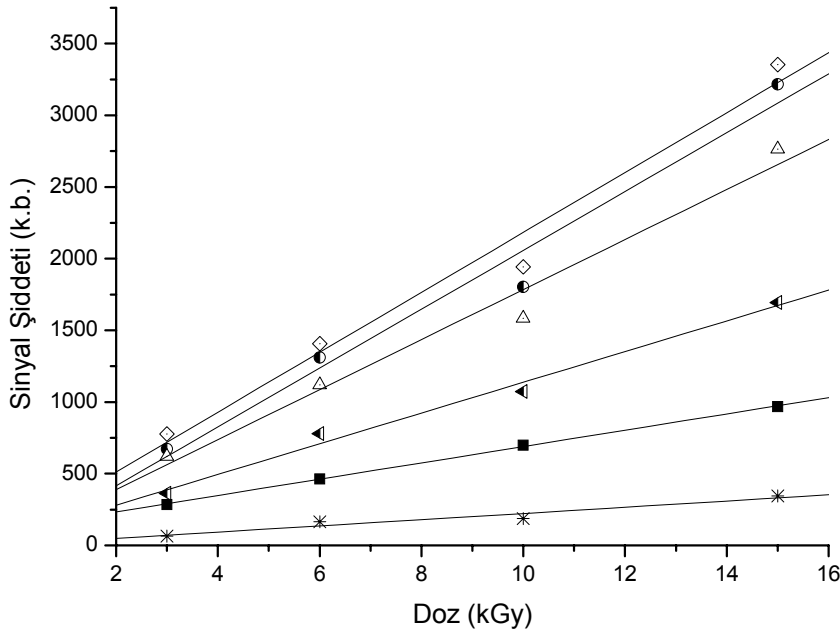
Çizelge 4.3. Işınlanmış MPT ESR spektrumuna katkı getiren kökçeler için hesaplanan sönüm aktivasyon enerjileri

Kökçe	Aktivasyon enerjisi (kJ/mol)
A	94,3 ± 13,8
B	53,2 ± 4,0
C	69,2 ± 6,2
D	152,0 ± 13,5

4.1.6. MPT örneği doz-cevap eğrileri

Özellikle 5 nolu rezonans tepesinin oda ve yüksek sıcaklıklardaki kararlılığı dikkate alınarak MPT bileşiğinin dozimetrik amaçlı malzeme olarak kullanılıp kullanılmayacağı araştırıldı. Bu amaca yönelik olarak farklı doz değerlerinde ışınlanan MPT örnekleri karakteristik rezonans tepelerine karşılık gelen sinyal

şiddetlerinin, uygulanan doza bağlı olarak nasıl değiştikleri belirlendi. Bu yolla, 3-15 kGy doz aralığında oluşturulan doz-cevap eğrileri Şekil 4.11'de verilmiştir. Ölçümleri daha basitçe ve daha güvenilir bir biçimde yapılabilen 1, 2, 4, 5, 10 ve 11 nolu rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinin uygulanan dozla değişim bulgularını en iyi bir biçimde betimleyebilen değişik matematiksel fonksiyonların neler olabilecekleri araştırıldı. Üç değişik fonksiyon için elde edilen bulgular Çizelge 4.4'de verilmiştir. Sıfırdan geçme zorlaması yapılmayan bu fonksiyonlardan en uygun olanının çizgisel bir fonksiyon olduğu ve ölçümleri yapılan tüm rezonans tepelerini aynı ölçekte iyi tanımladığı belirlendi.



Şekil 4.11. Işınlanmış MPT örneği karakteristik rezonans tepelerine karşılık gelen sinyal şiddetlerinin uygulanan radyasyon dozuna bağlı değişimleri [semboller (deneysel) ■ (1); ● (2); △ (4); ◇ (5); ◀ (6); * (7); sürekli çizgiler ($I=k + I \cdot D$ fonksiyonundan elde edilen kuramsal değerler)]

Çizelge 4.4. MPT örneği doz-cevap eğrilerine uydurulmaya çalışılan matematiksel fonksiyonlar. Parantez içindeki sayılar R² değerlerini göstermektedir.

Fonksiyon		Rezonans tepesi					
		1	2	4	5	10	11
I=k+ℓD	k	119,963	5,506	39,407	93,222	65,320	5,387
	ℓ	56,942 (0,999)	205,234 (0,987)	174,481 (0,989)	208,944 (0,989)	107,198 (0,994)	21,731 (0,970)
I=m+nD+pD ²	m	94,845	443,154	421,659	521,207	90,962	38,125
	n	64,301	77,021	62,497	83,562	99,682	12,140
	p	-0,404 (0,999)	7,050 (0,988)	6,158 (0,993)	6,895 (0,991)	0,413 (0,989)	0,527 (0,948)
I=rD ^g	r	116,681	187,067	172,692	228,865	135,546	22,863
	g	0,779 (0,999)	1,038 (0,975)	1,012 (0,977)	0,980 (0,976)	0,927 (0,989)	0,989 (0,941)
I=s(1-e ^{-dD})	s	1794,43	59858,000	212562,000	32476,640	9137,300	14815,890
	d	0,06 (0,995)	0,003 (0,973)	0,001 (0,974)	0,007 (0,974)	0,013 (0,988)	0,002 (0,940)
I=I _A (1-e ^{-d_AD}) + I _B (1-e ^{-d_BD})	I _A	1196,100	26551,970	14346,580	16622,840	4031,150	6477,390
	d _A	0,025	0,004	0,006	0,007	0,016	0,002
	I _B	905,56	26622,310	14346,210	16619,730	3797,900	6740,690
	d _B	0,068 (0,995)	0,004 (0,972)	0,006 (0,975)	0,007 (0,974)	0,016 (0,988)	0,002 (0,940)

4.2. Piperasilin Monohidrat (PPM) İle İlgili Bulgular

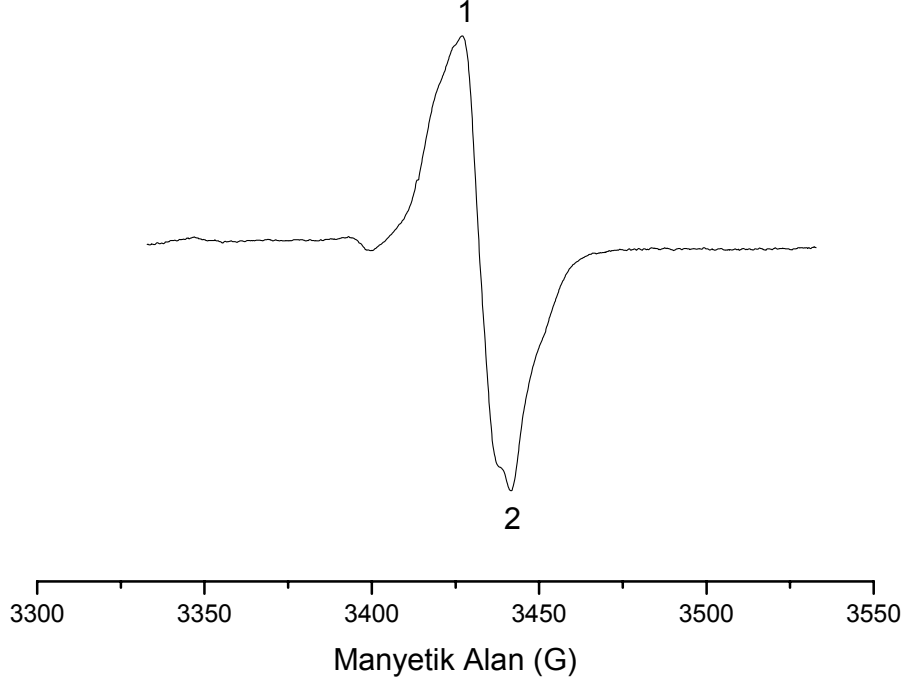
4.2.1. Oda sıcaklığında elde edilen bulgular

4.2.1.1. Işınlanmamış PPM ESR spektrumu

Işınlanmamış PPM'nin ESR sinyali vermediği belirlenmiştir. Uzun süre normal koşullarda bekletilen örneklerde de herhangi bir manyetik merkezin oluşmadığı gözlenmiştir.

4.2.1.2. Işınlanmış PPM ESR spektrumu

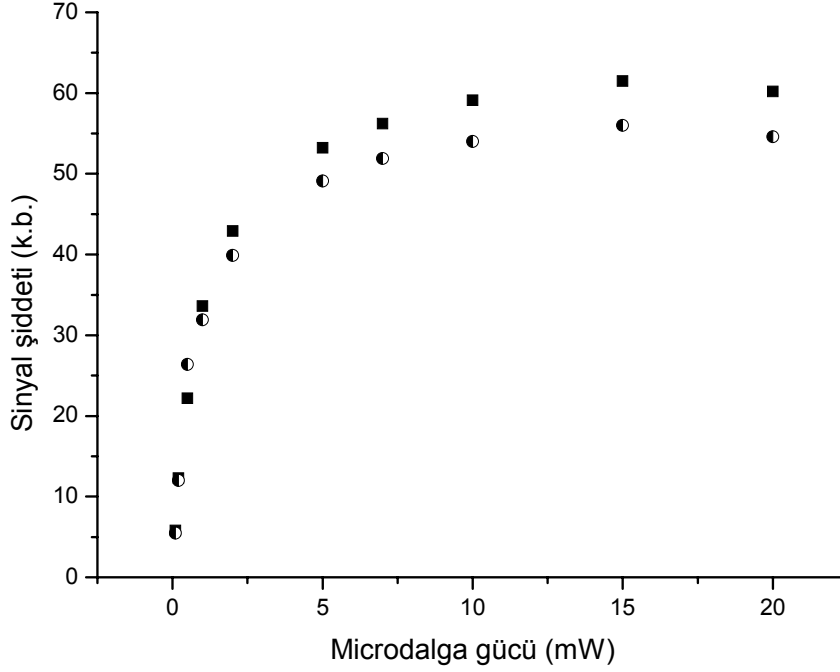
Toz halindeki PPM örnekleri, MPT örneğinde olduğu gibi, 1, 3, 6, 10 ve 15 kGy doz değerlerinde ışınlandı ve ışınlamadan yaklaşık bir saat sonra ESR spektrumları kaydedildi. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış bir PPM örneği için 1 mW güç değerinde elde edilen ESR spektrumu Şekil 4.12.'de verilmiştir. Şekilden de görüldüğü gibi ışınlanmış PPM örneği ESR spektrumu iki ana rezonans tepesinin hakim olduğu tek çizgili bir sinyal görünümündedir. Bu rezonans tepelerine karşılık gelen spektroskopik yarıлма çarpanlarının; $g_1=2.0080$ ve $g_2=1.9995$ ve tepeden tepeye yarı eğri genişliğinin de $\Delta H_{PP}=14.2$ G olduğu belirlenmiştir. Düşük manyetik alan değerlerinde gözlenen çok zayıf rezonans çizgilerinin düşük ışınlama dozlarında gözlenemedikleri, dolayısı ile bu tepelerden sorumlu kökçe türlerinin oluşumlarının ancak oldukça yüksek sayılabilecek doz değerlerinde olanaklı olduğu anlaşılmaktadır.



Şekil 4.12. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış bir PPM örneği için oda sıcaklığında kaydedilen ESR spektrumu

4.2.1.3. Sinyal şiddetinin mikrodalga gücüne bağlı değişimi

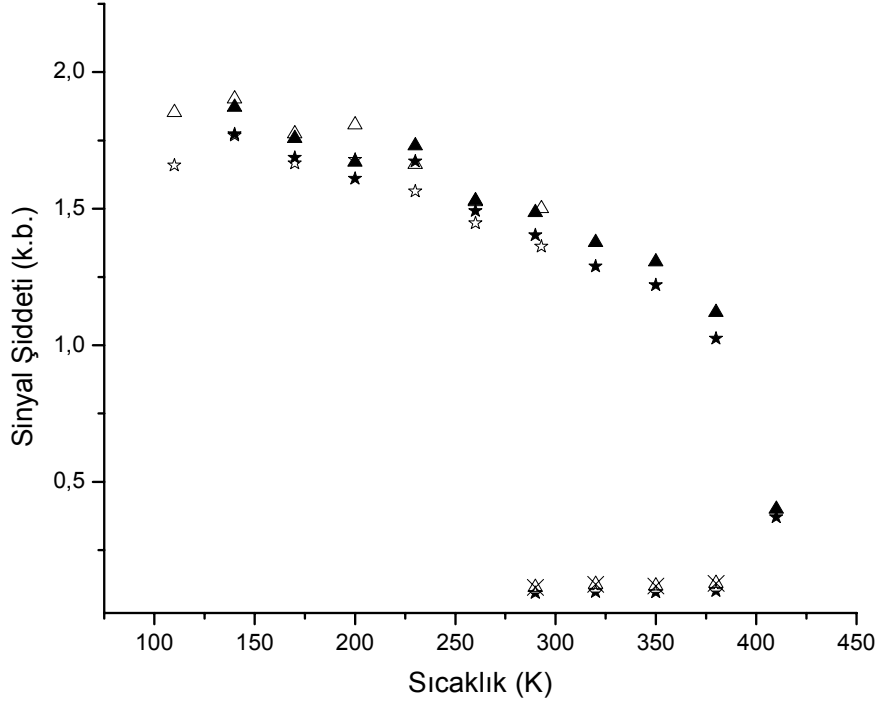
PPM örneği ESR spektrumuna katkı getiren olası kökçe türlerinin özelliklerini belirlemek amacıyla 15 kGy doz değerinde ışınlanmış bir örneğin mikrodalga doyum durumu da araştırıldı ve Şekil 4.13.'de verilen sonuçlar elde edildi. Şekilden de görüldüğü gibi her iki rezonans tepesi de homojen olmayan davranışı sergilemekte ve aynı mikrodalga gücü değerinde (yaklaşık 5 mW) doyuma erişmektedir. Bu sonuç, 1 ve 2 nolu rezonans tepelerinin oluşumlarını ağırlıklı olarak tek türde bir kökçenin yönlendirdiği biçiminde değerlendirildi.



Şekil 4.13. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış PPM örneği 1 ve 2 nolu rezonans tepeleri için oda sıcaklığında elde edilen mikrodalga doyum bulguları [■ (1); ● (2)]

4.2.2. Değişik sıcaklıklarda elde edilen bulgular

Işınlama sonucu örnek içerisinde oluşan kökçelerin olası davranış farklılıklarından yararlanarak bunların türleri ile ilgili bilgiler elde edebilmek için, ışınlanan PPM örneklerinin, geniş bir sıcaklık aralığında spektrumları kaydedildi. Bu amaçla, önce 290 K'den başlanarak örnek sıcaklığı belirli adımlarla 110 K'e kadar düşürülerek spektrumları kaydedildi. Daha sonra 110 K'den 410 K'e kadar yine aynı adımlarla sıcaklık artırılarak spektrumlar kaydedildi ve son olarak sıcaklık 410 K'den oda sıcaklığına belirlenen adımlarla düşürülerek yine spektrumlar kaydedildi. Bu spektrumlardan yararlanarak 1 ve 2 nolu karakteristik rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetleri belirlendi ve normalize şiddet değerleri hesaplandı. Elde edilen bulgular Şekil 4.14.'de verilmiştir.

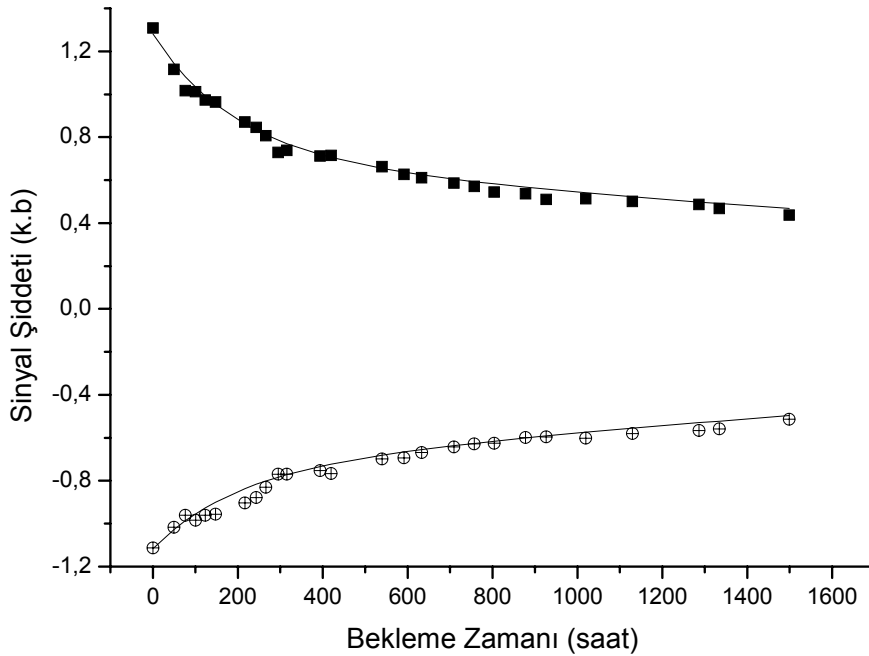


Şekil 4.14. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış bir PPM örneği 1 ve 2 nolu rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinin 110-410 K aralığındaki sıcaklıkla değişimleri ([☆ (1); △ (2)] soğutma; [★ (1); ▲ (2)] ısıtma; [☆ (1); ✕ (2)] yeniden soğutma)

Örnek oda sıcaklığından başlanarak soğutulduğunda her iki rezonans tepesi ile ilgili sinyal şiddetleri artmaktadır. Ancak, sinyal şiddetindeki bu artış, 120 K civarında hızını kaybetmekte, hatta daha düşük sıcaklıklarda, doyum durumunu işaret eden, bir azalma eğilimine girmektedir. 110 K'den başlanarak örnek sıcaklığı artırıldığında sinyal şiddetleri, soğutma durumundakine benzer bir davranış göstererek oda sıcaklığında soğutulmadan önceki değerlerine ulaşmaktadırlar. Örnek oda sıcaklığı üzerinde ısıtılmaya devam edildiğinde sinyal şiddetlerini 380 K'e kadar belirli bir hızla azalmaya devam ettiği 380 K'in üzerine çıkıldığında ise çok hızlı bir sinyal şiddeti azalmasının ortaya çıktığı gözlenmektedir. 410 K'e kadar ısıtılmış örnekte ortaya çıkan şiddet değişimlerinin dönüşümlü olmadığı, başka deyimle kalıcı kökçe sönümlerinin ortaya çıktığı gözlenmektedir. 410 K'de spektrum kaydetme sürecinde (yaklaşık 4 dak.) bile hızlı kökçe sönümlerinin ortaya çıktığı dikkate alındığında yeniden soğutma sürecinde gözlenen sinyal şiddeti düşüşünün anlaşılır olduğunu belirtmek gerekir.

4.2.3. Sinyal şiddetinin normal koşullardaki sönümü

Oda sıcaklığında ışınlanan örnek içinde oluşan kökçe veya kökçelerin sayısı ve yapılarında zamanla ortaya çıkabilecek değişimleri incelemek amacıyla 6 kGy doz değerinde ışınlanan örnekler normal koşullarda bekletilerek yaklaşık 2 ay süresince belirli zaman aralıklarında spektrumları kaydedildi. Bu spektrumlardan 1 ve 2 nolu rezonans tepeleri sinyal şiddetlerinde zamanla ortaya çıkan değişimler belirlendi ve Şekil 4.15'de verilen bulgular elde edildi. Şekil 4.15'den de görüldüğü gibi, ışınlamadan hemen sonraki günlerde rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetleri hızla azalmakta ve 400 saatlik bekletme zamanı aşıldığında bu azalma ritmi başka bir evreye girerek daha yavaş bir seyir izlediği anlaşılmaktadır.



Şekil 4.15. 6 kGy doz değerinde ışınlanmış bir PPM örneği 1 ve 2 nolu rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinin normal koşullardaki zamanla değişimleri [semboller (deneysel): ■ (1); ⊕ (2); sürekli çizgiler (kuramsal)]

6 kGy doz değerinde ışınlanmış bir örneğin 1 ve 2 nolu rezonans tepeleri için elde edilen sönüm bulguları kullanılarak bu tepelere sönüm durumları farklı iki ayrı kökçenin katkı getirdikleri ve bunların birinci dereceden sönüm kinetiğine (Eş.4.1.) uydukları varsayımından hareketle veri uyarılma işlemleri yapıldı. Bu yolla kökçelerin 1 ve 2 nolu tepelere olan katkı ağırlık oranları ve sönüm sabitleri

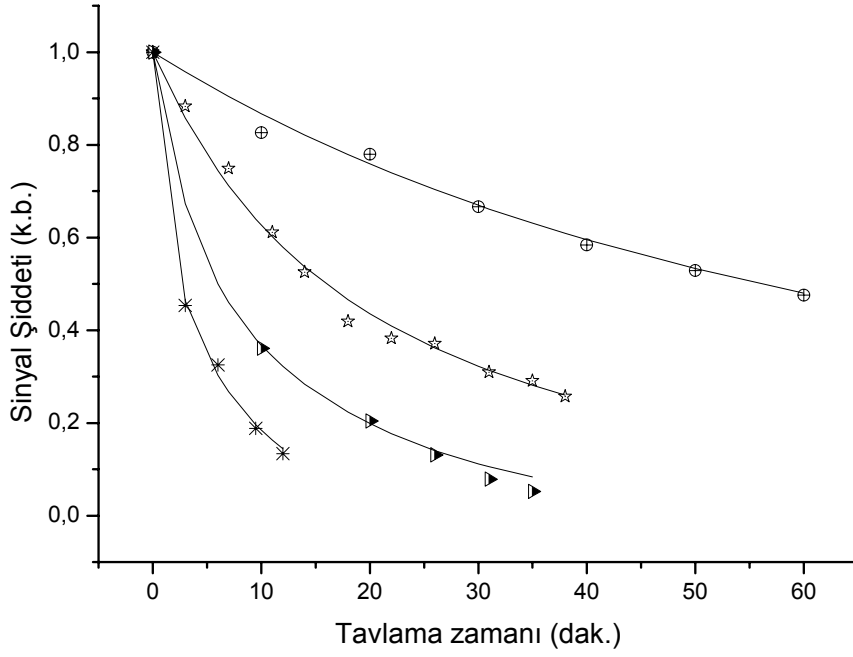
hesaplandı. Hesaplanan değerler Çizelge 4.5'de ve bu değerler kullanılarak oluşturulan kuramsal eğriler de Şekil 4.15'de karşigelen deneysel ölçüm değerleri ile birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.5. Işınlanmış PPM ESR spektrumunun oluşumuna katkı getiren kökçe türleri için hesaplanan oda sıcaklığı sönüm sabitleri ve katılım ağırlık oranları

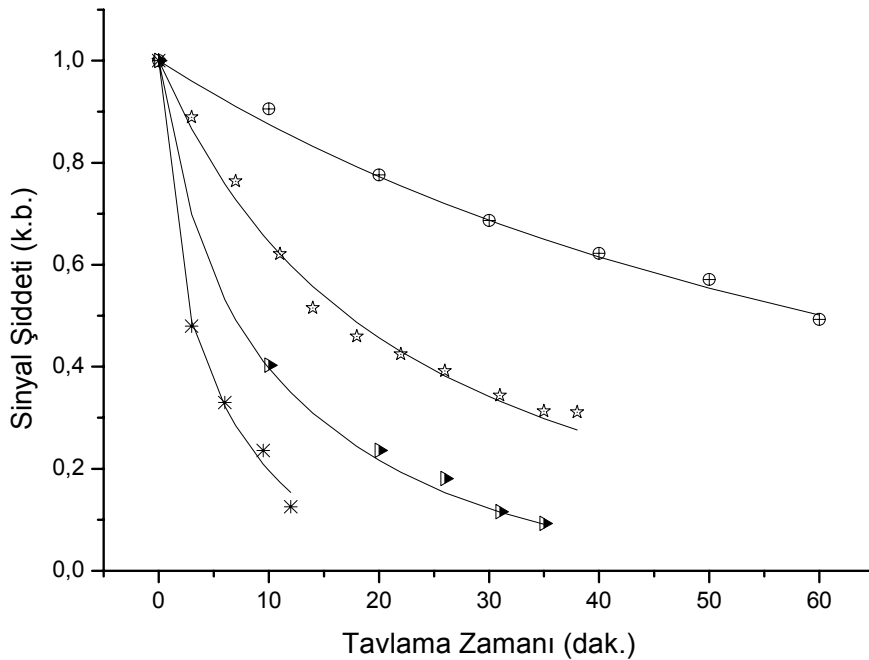
Kökçe	Sönüm türü	Sönüm sabiti $k \times 10^5$ (saat ⁻¹)	İncelenen rezonans tepelerine katılım ağırlık oranları	
			1	2
A	1.derece	30	0.7298	0.0052
B	1.derece	523	-0.7762	-0.3400

4.2.4. Sinyal şiddetinin yüksek sıcaklıklardaki sönümü

Işınlanmış PPM örneği sinyal şiddetinin yüksek sıcaklıklarda sönümünü incelemek ve böylelikle örneğin ESR spektrumuna kaynaklık eden kökçe veya kökçelerin sönüm aktivasyon enerjilerini belirlemek amacıyla, MPT örneğinde olduğu gibi, 15 kGy doz değerinde ışınlanmış örnekler değişik sıcaklıklarda (350 K, 370 K, 380 K, 390 K ve 400 K), değişik sürelerle tavlandıktan sonra spektrumları kaydedildi. Bu spektrumlardan 1 ve 2 nolu rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetleri belirlenerek bunların tavlama sürelerine bağlı değişimleri incelendi. Elde edilen bulgular Şekil 4.16., Şekil 4.17.'de verilmiştir. Farklı sönüm sabitlerine sahip iki birinci dereceden sönüm teriminin toplaması ile elde edilen bir fonksiyon kullanılarak birinci ve ikinci rezonans tepelerine katkı getiren kökçelerin değişik sıcaklıklardaki sönüm sabitleri hesaplandı. Elde edilen bulgular Çizelge 4.6.'da toplu olarak verilmiştir.



Şekil 4.16. Bir nolu rezonans tepesi ile ilgili, bire normalize edilmiş, sinyal şiddetinin dört değişik sıcaklıkta tavlama zamanına bağlı değişimi [semboller (deneysel): ⊕ (370); ☆ (380); ► (390); * (400); sürekli çizgiler (kuramsal)]



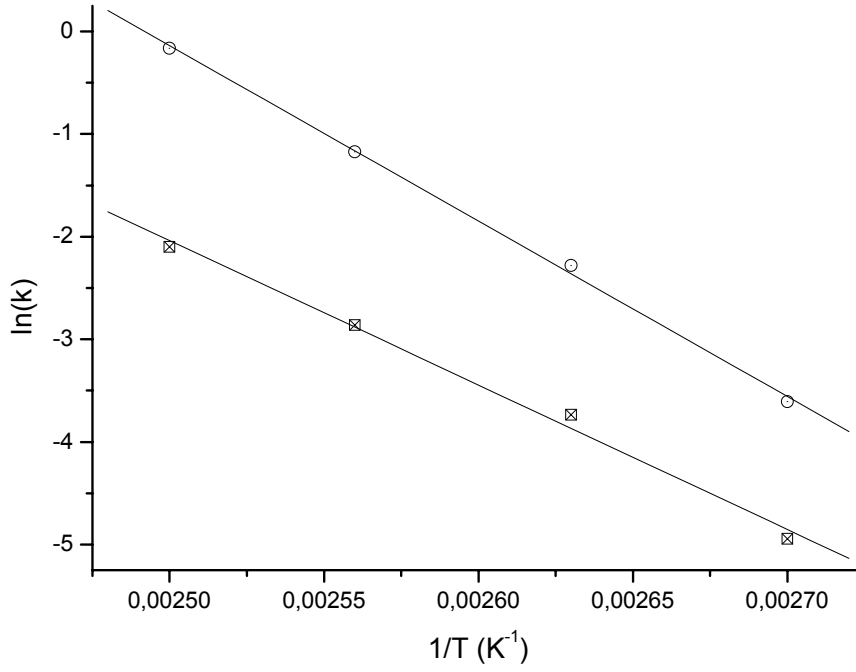
Şekil 4.17. İki nolu rezonans tepesi ile ilgili, bire normalize edilmiş, sinyal şiddetinin dört değişik sıcaklıkta tavlama zamanına bağlı değişimi [semboller (deneysel): ⊕ (370); ☆ (380); ► (390); * (400); sürekli çizgiler (kuramsal)]

Çizelge 4.6. Işınlanmış PPM örneği ESR spektrumuna katkı getiren kökçeler için değişik sıcaklıklarda hesaplanan k sönüm sabitleri

Kökçe	Sıcaklık (K)	Sönüm durumu	Sönüm sabiti $k \times 10^4$ (dak ⁻¹)
A	370	1.derece	71
	380	1.derece	239
	390	1.derece	572
	400	1.derece	1225
B	370	1.derece	271
	380	1.derece	1022
	390	1.derece	3100
	400	1.derece	8500

4.2.5. Işınlanmış PPM İçin kökçe sönüm aktivasyon enerjileri

Işınlanmış PPM örneğinde oluşan kökçelerin aktivasyon enerjileri, MPT örneğinde olduğu gibi, (4.2) bağıntısı kullanılarak hesaplandı. Bu amaçla oluşturulan $\ln(k) - 1/T$ grafikleri oluşturuldu ve bu grafiklerdeki verilere en iyi uyan doğrular belirlenip bu doğruların eğimlerinden katkı getiren kökçelerin sönüm aktivasyon enerjileri hesaplandı. Oluşturulan grafik Şekil 4.18'de ve elde edilen sönüm aktivasyon enerjileri de Çizelge 4.7'de verilmiştir.



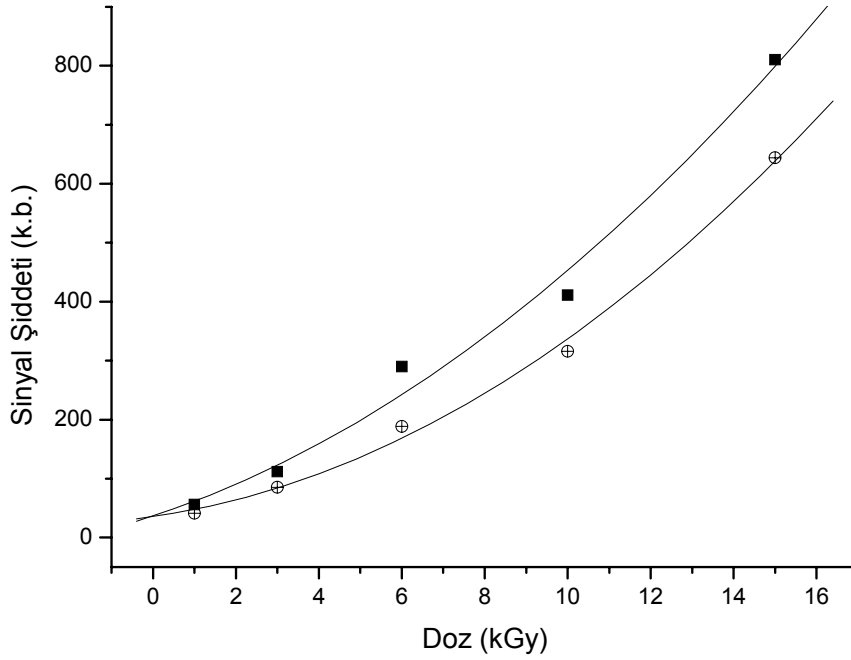
Şekil 4.18. Spektruma katkı getiren kökçeler için oluşturulan $\ln(k)$ - $1/T$ grafiği [semboller (deneysel): □ (A); ○(B); sürekli çizgiler (kuramsal)]

Çizelge 4.7. Işınlanmış PPM örneği ESR spektrumuna katkı getiren kökçeler için hesaplanan sönm aktivasyon enerjileri

Kökçe	Aktivasyon enerjisi
	(kJ/mol)
A	117.0 ± 6.8
B	142.1 ± 3.8

4.2.6. PPM örneği doz-cevap eğrileri

PPM örneğinin dozimetrik potansiyelinin belirlenmesi amacıyla da incelemeler yapıldı. Bunun için 1 ve 2 nolu rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinin uygulanan radyasyon dozuna bağlı olarak nasıl değiştiği araştırıldı. Başka deyimle, PPM örneği doz-cevap eğrileri oluşturularak PPM'nin radyasyon veriminin belirlenmesine çalışıldı. Elde edilen bulgular Şekil 4.19'da verilmiştir. Bu deneysel verileri en iyi betimleyen matematiksel fonksiyonları bulmak amacı ile uygulanan doza çizgisel, kare Şeklinde ve üstel olarak bağlı olan fonksiyonlar denendi. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.8'de verilmiştir.



Şekil 4.19. Işınlanmış PPM örneği karakteristik rezonans tepelerine karşılık gelen sinyal şiddetlerinin soğurulan radyasyon dozuna bağlı değişimleri [semboller (deneysel): ■ (1); ⊕ (2); sürekli çizgiler ($I=m+nD+pD^2$ fonksiyonundan elde edilen kuramsal değerler)]

Çizelge 4.8. PPM örneği doz-cevap eğrilerine uydurulmaya çalışılan matematiksel fonksiyonlar. Parantez içindeki sayılar R^2 değerlerini göstermektedir.

Fonksiyon		Rezonans tepesi	
		1	2
$I=k+\ell d$	k	-33,337	-40,852
	ℓ	52,732 (0,984)	42,266 (0,980)
$I=m+nD+pD^2$	m	36,740	35,721
	n	23,241	10,042
	p	1,837 (0,988)	2,008 (0,996)
$I=rD^g$	r	26,826	13,783
	g	1,247 (0,981)	1,411 (0,986)
$I=s(1-e^{-dD})$	s	30640,380	44753,257
	d	0,002 (0,963)	0,001 (0,948)
$I=I_A(1-e^{-d_A D}) + I_B(1-e^{-d_B D})$	I_A	14876,330	2427,350
	d_A	0,002	0,008
	I_B	14876,330	2427,460
	d_B	0,002 (0,963)	0,008 (0,939)

4.3. Sultamisilin Tosilat (SULT) İle İlgili Bulgular

4.3.1. Oda sıcaklığında elde edilen bulgular

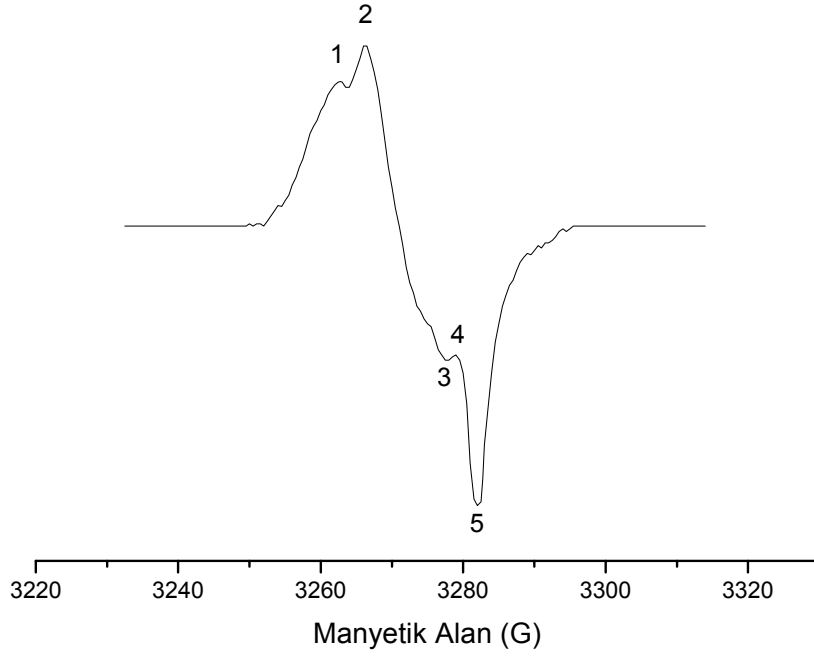
4.3.1.1. Işınlanmamış SULT ESR spektrumu

Işınlanmamış SULT'un ESR sinyali vermediği belirlenmiştir. Ayrıca normal koşullarda uzun süre bekletilen örneklerde de herhangi bir manyetik merkezin oluşmadığı gözlenmiştir.

4.3.1.2. Işınlanmış SULT ESR spektrumu

Toz halindeki SULT örnekleri 1, 3, 6, 10 ve 15 kGy doz değerlerinde ışınlandı ve mümkün olan en kısa zamanda ESR spektrometresine taşınarak spektrumları kaydedildi. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış bir SULT örneği ESR spektrumu Şekil 4.20'de verilmiştir. Bu şekilde de görüldüğü gibi ışınlanmış SULT ESR spektrumu beş karakteristik rezonans tepesine sahiptir.

Işınlama dozu arttıkça bu rezonans tepelerinin daha belirginleştikleri ve özellikle 10 kGy ve 15 kGy doz değerlerinde ışınlanmış örneklerde bu rezonans tepeleri ile ilgili farkların ortaya çıktığı belirlenmiştir. SULT örneği karakteristik rezonans tepelerinin $g_1=2.0130$, $g_2=2.0105$, $g_3=2.0034$ ve $g_5=2.0010$ gibi spektroskopik

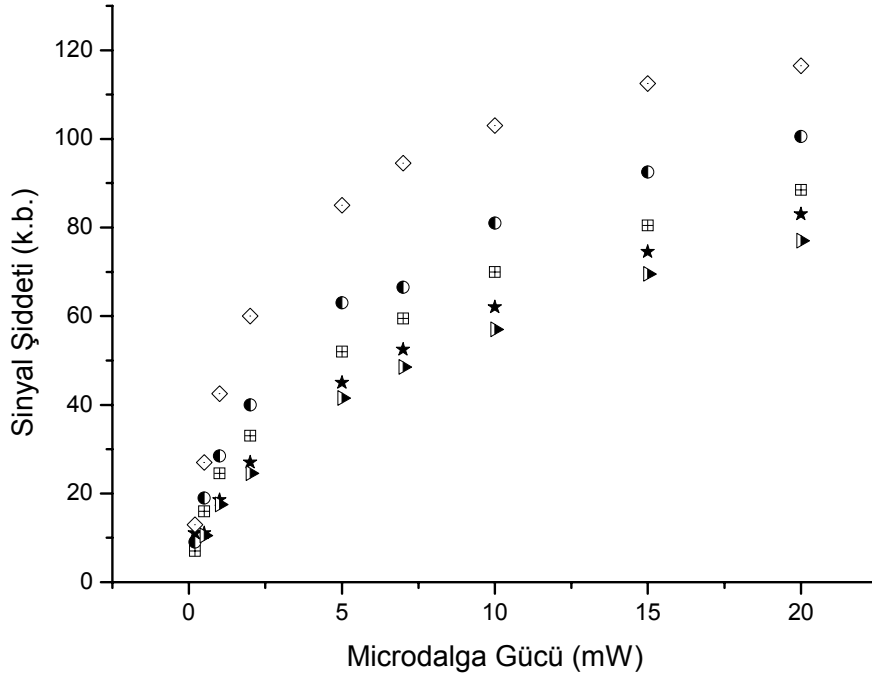


Şekil 4.20. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış SULT örneği için oda sıcaklığında kaydedilen ESR spektrumu

yarılma çarpanı değerlerine sahip oldukları ve en şiddetli tepeler başka deyimle 2 ve 5 nolu tepeler arasındaki alan farkının da 15.5 G civarında olduğu hesaplanmıştır.

4.3.1.3. Sinyal şiddetinin mikrodalga gücüne bağlı değişimi

ESR spektrumuna katkı getiren kökçe türlerinin özelliklerine ışık tutabileceği düşüncesi ile 15 kGy doz değerinde ışınlanmış bir SULT örneğinin mikrodalga doyum davranışı incelendi. Elde edilen bulgular Şekil 4.21'deki grafikte verilmiştir.



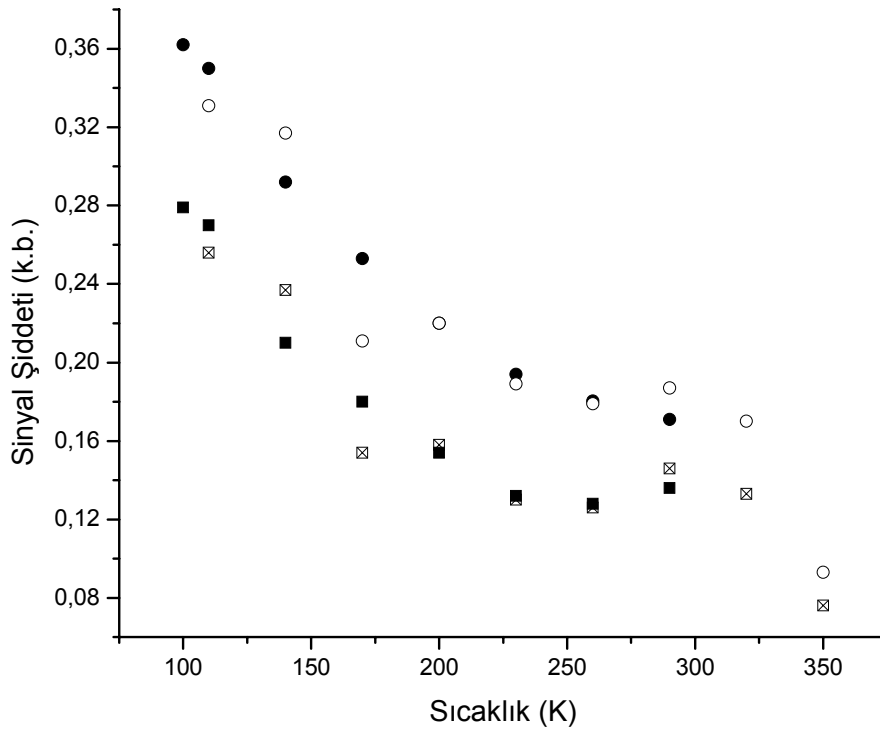
Şekil 4.21. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış bir SULT örneği karakteristik rezonans tepeleri için oda sıcaklığında elde edilen mikrodalga doyum bulguları (□ (1); ● (2); ★ (3); ▶ (4); ◇ (5))

Bu grafikten de görüldüğü gibi incelenen tüm rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetleri, 5 mW güç değerine kadar, hızlı bir artış seyri sergilemektedirler. 5 mW güç değerinin üstünde bu artış ritmi gittikçe azalarak 20 mW güç değerinde nerdeyse doyum durumuna erişmektedir. Doyum durumu 5 nolu tepe için çok belirgin olmasına rağmen aynı şeyleri 1, 3 ve 4 nolu rezonans tepeleri için söylemek güçtür. Bu saptama, ışınlanmış SULT örneği ESR spektrumunun oluşumuna birden çok kökçenin katkı getirdiği şeklinde değerlendirildi.

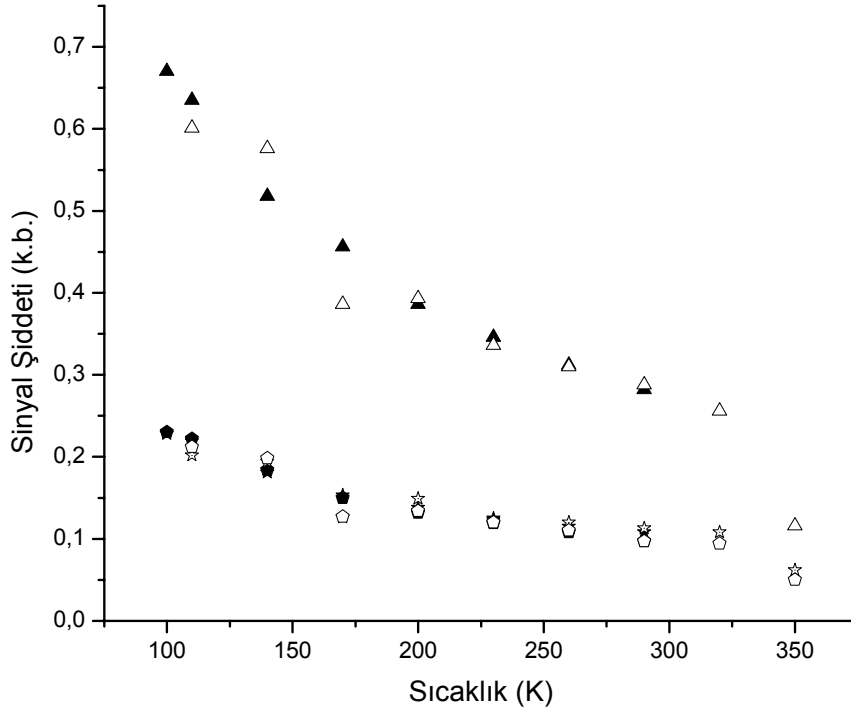
Ayrıca, üstel olarak artan fonksiyonlar kullanılarak veri uyarlama işlemleri yapıldı ve incelenen rezonans tepeleri ile ilgili şiddetlerin mikrodalga gücü ile artış ritimlerinin çok farklı oldukları ve bu artış ritimlerinin iki ayrı grup altında toplanabilecekleri belirlendi.

4.3.2. Değişik sıcaklıklarda elde edilen bulgular

İncelenen MPT ve PPM örneklerinde olduğu gibi, ışınlanmış bir SULT örneğinin ESR spektrumu geniş bir sıcaklık aralığında kaydedilerek izlenen rezonans tepelerinin sıcaklık değişimine karşı davranışları belirlenmeye çalışıldı. Elde edilen bulgular Şekil 4.22 ve 4.23'de toplu olarak verilmiştir. Verilen şekillerden de görüldüğü gibi, beklenene uygun olarak, sıcaklık azaldıkça tüm tepelerle ilgili sinyal şiddetleri artmaktadır. En düşük sıcaklıkta bile (100 K) doyumu işaret eden bir davranış sergilenmediği gözlenmektedir. Bu da izlenen rezonans tepelerinden sorumlu olan kökçe türlerinin 100-290 K sıcaklık aralığındaki mikrodalga doyum davranışlarının birbirlerinden farklı olmadığını göstermektedir. Ancak aynı sıcaklık aralığında sinyal şiddetindeki artışların 1, 2, 3 ve 5 nolu tepeler için sırasıyla % 104; % 112; % 115 ve % 146 olduğu hesaplanmıştır.



Şekil 4.22. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış SULT örneği 1 ve 2 nolu rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinin 100-350 K aralığında sıcaklıkla değişimleri [■ (1); ● (2)] soğutma; [⊠ (1); ○ (2)] ısıtma



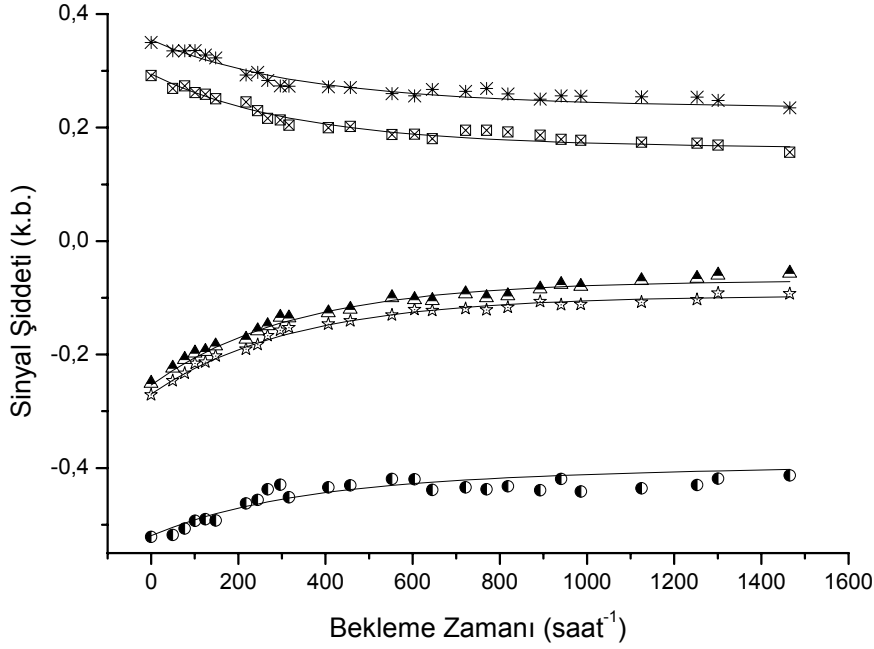
Şekil 4.23. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış SULT örneği 3, 4 ve 5 nolu rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinin 100-350 K aralığında sıcaklıkla değişimleri [★ (3); ◆ (4); ▲ (5)] soğutma; [☆ (3); ◇ (4); △ (5)] ısıtma

Bu sonuç, rezonans tepelerinin sıcaklıkla değişimlerinin çok farklı olduğunu dolayısıyla bu tepelerin oluşumlarından sorumlu birden çok kökçe türünün ışınlanmış SULT örneğinde oluştuğuna işaret etmektedir. Rezonans tepeleri sinyal şiddetlerinin oda sıcaklığı üstünde de farklılık göstermesi bu görüşü destekler niteliktedir. 325 K üzerindeki sıcaklıklarda sinyal şiddetlerinde gözlenen ani azalmalar SULT bileşiği yapısında bu sıcaklığın üzerinde ortaya çıkan kararsızlıklar ve bozulmalar sonucunda moleküler hareketlerin arttığına ve dolayısı ile kökçe sönümlerinin hızlandığına işaret eden bir olgu olarak ortaya çıkmaktadır.

4.3.3. Sinyal şiddetinin normal koşullardaki sönümü

Işınlama ile örnek içerisinde oluşan kökçe veya kökçelerin sayılarında, yapılarında ve türlerinde zamanla ortaya çıkabilecek olası değişimleri incelemek amacıyla 15 kGy doz değerinde ışınlanmış bir SULT örneği oda koşullarında bekletilerek belirli

aralıklarla ESR spektrumları kaydedildi. Bu spektrumlar kullanılarak örneğe ait karakteristik rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinde ortaya çıkabilecek değişimler yaklaşık iki ay süre ile incelendi. Elde edilen bulgular Şekil 4.24'de verilmiştir.



Şekil 4.24. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış bir SULT örneği için belirlenen rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinin normal koşullardaki zamanla değişimleri [semboller (deneysel): □ (1); * (2); ☆ (3); ▲ (4); ● (5); sürekli çizgiler (kuramsal)]

Bu şekilden de görüldüğü gibi, MPT ve PPM örneklerinden farklı olarak, SULT örneği sinyal şiddetlerinde ışınlanmadan sonraki ilk 13 gün içinde hızlı azalmalar gerçekleşmekte ve daha sonraki günlerde ise bu azalmaların ritmi düşmektedir.

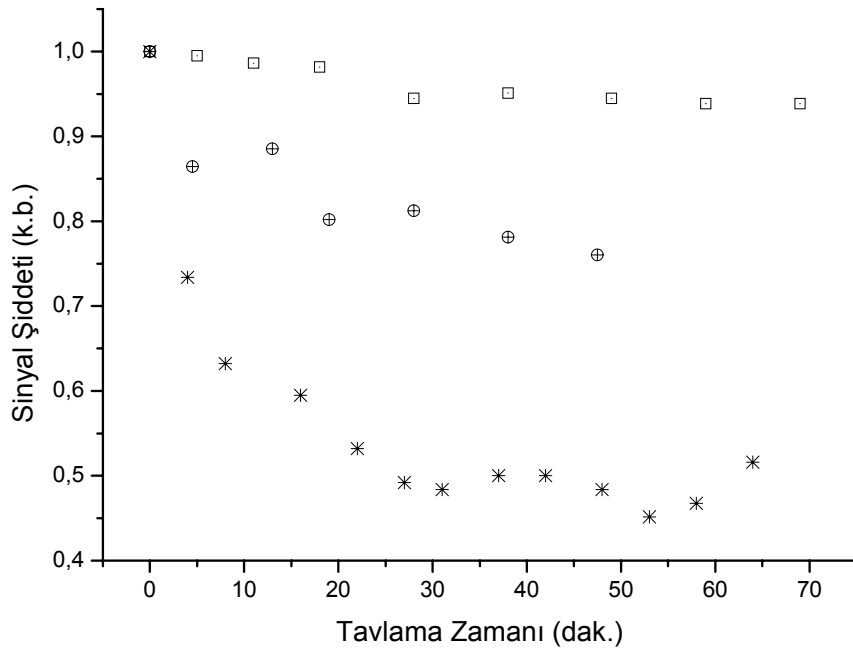
Birinci dereceden sönüme sahip ancak sönüm sabitleri farklı olan iki kökçe varsayımından hareketle 4.1. eşitliği ile verilen iki fonksiyon tanımlayıp bunlar yardımı ile veri uyarlama işlemleri yapıldı ve ESR spektrumunun oluşumuna katkı getiren kökçelerin katılım ağırlık oranları ile oda sıcaklığındaki sönüm sabitleri hesaplandı. Elde edilen bulgular Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Işınlanmış SULT örneği ESR spektrumunun oluşumuna katkı getiren kökçelerin oda sıcaklığındaki sönüm sabitleri ve incelenen rezonans tepelerine bu kökçelerin katılım ağırlık oranları

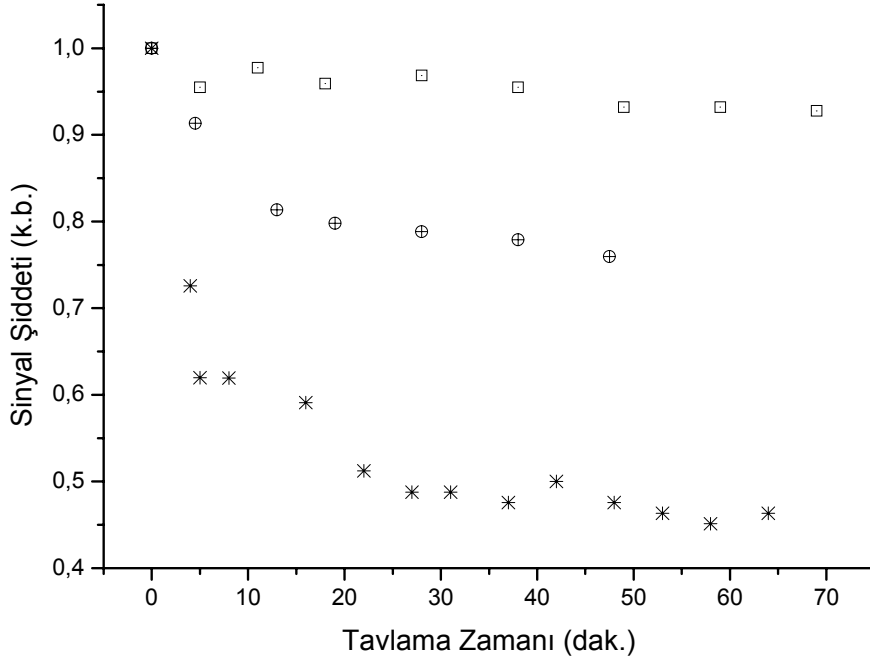
Kökçe	Sönüm türü	Sönüm sabiti $k \times 10^5$ (saat ⁻¹)	İncelenen tepelere katılım ağırlık oranları				
			1	2	3	4	5
A	1.derece	3	0,172	0,247	-0,100	-0,072	-0,419
B	1.derece	306	0,122	0,107	-0,169	-0,181	-0,100

4.3.4. Sinyal şiddetinin yüksek sıcaklıklardaki sönümü

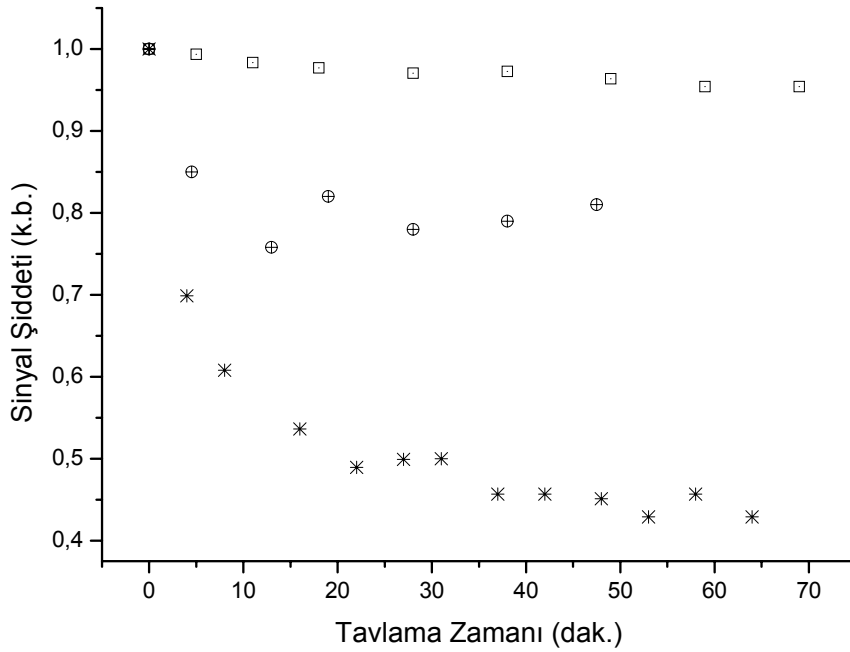
İşinlanmış SULT örneği karakteristik rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinin yüksek sıcaklıklarda tavlama sıcaklığına ve tavlama zamanına bağlı değişimleri de incelendi. Üç değişik sıcaklıkta, yani 340, 345 ve 350 K sıcaklıklarında değişik sürelerle tavlanan örneklerin spektrumları kaydedildi ve sinyal şiddetlerinde ortaya çıkan değişimler belirlendi. 3 ve 4 nolu tepelerin öngörülen tavlama sıcaklıklarında en küçük tavlama süreleri için bile belirginliklerine kaybettiklerinden bu tepelerle ilgili sağlıklı ölçümler yapılamadı. Bunun sonucu olarak incelemeler 1, 2 ve 5 nolu tepeler için gerçekleştirildi. Elde edilen bulgular Şekil 4.25, 4.26 ve 4.27'de verilmiştir.



Şekil 4.25. Bir nolu rezonans tepesi ile ilgili, bire normalize edilmiş, sinyal şiddetinin üç değişik sıcaklıkta tavlama zamanına bağlı değişimi [semboller (deneysel): □ (340); ⊕ (345); * (350)]



Şekil 4.26. İki nolu rezonans tepesi ile ilgili, bire normalize edilmiş, sinyal şiddetinin üç değişik sıcaklıkta tavlama zamanına bağlı değişimi [semboller (deneysel): □ (340); ⊕ (345); * (350)]

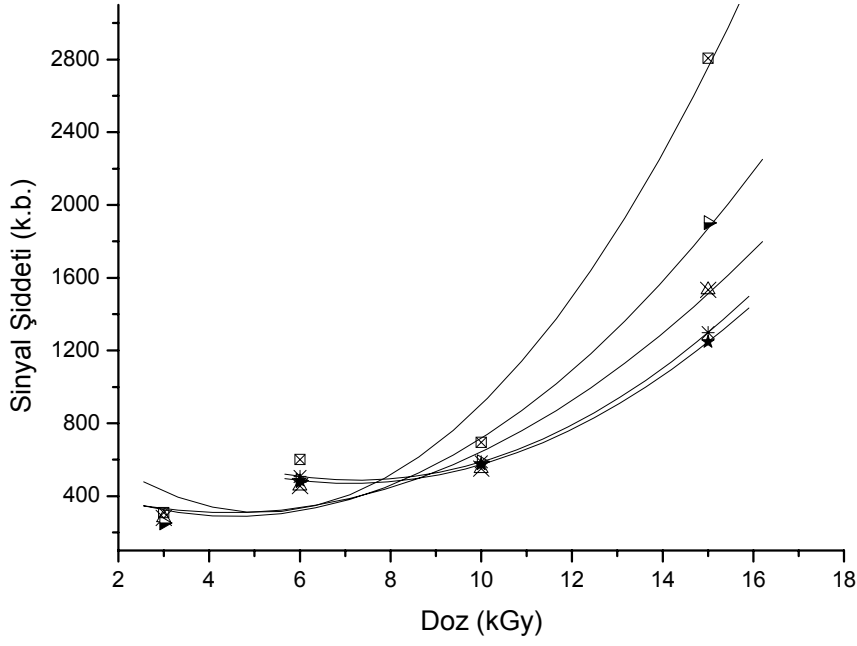


Şekil 4.27. Beş nolu rezonans tepesi ile ilgili, bire normalize edilmiş, sinyal şiddetinin üç değişik sıcaklıkta tavlama zamanına bağlı değişimi [semboller (deneysel): □ (340); ⊕ (345); * (350)]

Sinyal şiddetinin tavlama sıcaklığına ve tavlama zamanına bağlı değişim grafiklerinden de anlaşılacağı gibi, SULT örneği sinyal şiddetleri, MPT ve PPM örneklerinden farklı olarak, çok daha düşük sıcaklıklarda hızlı bir biçimde sönmeye uğramaktadırlar. 350 K'deki tavlama durumunda, izlenen tüm rezonans tepelerinin ilk 20 dakikalık tavlama sonunda yaklaşık % 50'lik bir kayba uğradıkları görülmektedir. Oysa bu mertebede bir sinyal şiddeti azalması MPT ve PPM örneklerinde çok daha yüksek sıcaklıklarda ve çok daha uzun tavlama zamanlarında ortaya çıktığı gözlenmektedir. İki farklı kökçenin deneysel spektrumun oluşumuna katkı getirdikleri ve bunların tavlama işlemlerinin yürütüldüğü sıcaklıklarda da, aynen oda sıcaklığında olduğu gibi, birinci dereceden sönmüme kinetiğine sahip oldukları varsayımı yapılarak veri uyarlama işlemleri yapılmaya çalışıldı. Ancak, anlamlı sayılabilecek sonuçlar elde edilemedi.

4.3.5. SULT örneği doz-cevap eğrileri

SULT örneğinin de dozimetrik özellikleri belirlendi. Bunun için, incelenen diğer iki örnekte olduğu gibi, izlenen rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetleri ve uygulanan doz değerleri kullanılarak Şekil 4.28'de verilen doz-cevap eğrileri oluşturuldu. Bu eğrileri en iyi sağlayan matematiksel fonksiyonlar araştırıldı ve bu amaçla Çizelge 4.11'de verilen fonksiyonlar denendi. Veri uyarlama işlemleri ile bu fonksiyonların katsayıları hesaplandı ve Çizelge 4.11'de verilen değerler elde edildi.



Şekil 4.28. Işınlanmış SULT örneği karakteristik rezonans tepelerine karşılık gelen sinyal şiddetlerinin soğurulan doza bağlı değişimleri [semboller (deneysel): \boxtimes (1); \blacktriangleright (2); $*$ (3); \star (4); \boxplus (5); sürekli çizgiler $I=m+nD+pD^2$ fonksiyonundan elde edilen kuramsal değerler]

Çizelge 4.10. SULT örneği doz-cevap eğrilerine uydurulmaya çalışılan matematiksel fonksiyonlar. Parantez içindeki sayılar R^2 değerlerini göstermektedir.

Fonksiyon		Rezonans tepesi				
		1	2	3	4	5
$I=k+\ell D$	k	-147,611	-310,540	-132,000	-126,934	-585,210
	ℓ	100,278 (0,924)	131,400 (0,918)	90,000 (0,933)	86,607 (0,938)	198,525 (0,899)
$I=m+nD+pD^2$	m	519,838	588,880	1201,333	1103,667	973,918
	n	-95,260	-132,093	-196,889	-178,178	-258,237
	p	10,752 (0,973)	14,490 (0,969)	13,556 (1,000)	12,511 (1,000)	25,120 (0,966)
$I=rD^g$	r	19,167	7,563	36,943	36,126	2,190
	g	1,600 (0,903)	2,030 (0,925)	1,300 (0,891)	1,294 (0,900)	2,636 (0,933)
$I=s(1-e^{-dD})$	s	38565,585	6948,400	19470,900	4165,900	18191,600
	d	0,002 (0,830)	0,016 (0,761)	0,004 (0,848)	0,020 (0,830)	0,008 (0,715)
$I=I_A(1-e^{-d_A D}) + I_B(1-e^{-d_B D})$	I_A	6134,780	8899,450	3067,850	3787,370	19676,260
	d_A	0,007	0,006	0,014	0,011	0,004
	I_B	6134,750	8899,530	3067,850	3787,370	19676,260
	d_B	0,007 (0,821)	0,006 (0,781)	0,014 (0,830)	0,011 (0,846)	0,004 (0,724)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışması kapsamında incelenen üç değişik antibiyotiğin ortak özelliği bakteri hücre duvarındaki biyosentezi engellemeleri ve bu yolla hücre ölümüne neden olmalarıdır. Bu engelleme, moleküler yapılarında bulunan beta-laktam halkaları yardımı ile olur. Penisilin grubuna giren PPM ve SULT antibiyotiklerinde 6-aminopenisilonik aside bağlanan (Şekil 2.1.) grubun yapısına bağlı olarak bu bileşiklerin antimikrobiyal spektrumu genişler, mide asidine ve bakterilerin ürettikleri parçalayıcı enzimlere karşı dayanıklılıkları düşük veya yüksek olur. MPT antibiyotiğine gelince, karbapenem grubuna giren sentetik bir beta-laktam antibiyotiğidir. Başka deyimle MPT'de beta-laktam halkasına sahiptir. Penisilinlerden farkı, tiyazodilin halkasında bulunan kükürt atomunun dışa dönerek bir karbon atomu ile yerdeğiştirmesidir. Çoklu antibiyotik direncine sahip bakteriler tarafından oluşturulan karmaşık enfeksiyonların tedavilerinde kullanılır.

Beta-laktam halkası içeren tüm antibiyotiklerin ortak özellikleri, klasik sterilizasyon teknikleri için öngörülen sıcaklıklarda bozunmaya uğramaları ve dolayısı ile bu tekniklerle sterilizasyonlarının etkin olarak yapılamamasıdır. Sıcaklığı yükseltmeyen bir teknikle bunların sterilize edilmeleri gerekir. Bu nedenle, bu antibiyotikler için en uygun sterilizasyon yöntemi, soğuk bir teknik olarak da bilinen radyasyonla sterilizasyondur. Ancak mikroorganizmaların inaktive edilmesinin amaçlandığı bir işlemde, olanaklı ise bileşiğe hiç zarar verilmemesi ya da olanaklı değilse minimum düzeyde zarar verilmesi hedeflenmelidir. Bunun için, sterilizasyon işlemi sonunda ortaya çıkan ara ürünlerin türlerinin, yapılarının, kararlılıklarının ve miktarlarının bilinmesi ve kontrol edilmesi gerekir. Bu tez çalışmasında, bu hedef doğrultusunda üç beta-laktam antibiyotiği üzerinde ESR çalışması yürütülmüştür. Elde edilen sonuçların değerlendirmesi ve tartışması spektrumu basit olan örnekten daha karmaşık olana doğru aşağıda verilmiştir.

5.1 Genel Değerlendirme

- Aynı koşullarda ve aynı doz değerlerinde ışınlanmış örneklerin ESR spektrumlarının çok farklı olması (Şekil 4.1., Şekil 4.12., Şekil 4.20.) ışınlama sonucunda oluşan çiftlenimsiz elektrona sahip birimlerin yalnızca bu antibiyotiklerin ortak alt birim olan beta-laktam halkasından kaynaklanmadığını, bu grup dışında kalan diğer kimyasal yan gruplarında radyolitik araürün oluşumunda rol aldıklarını göstermektedir.

- SULT ve MPT'ye göre daha uzun ve iki altılı halka içeren bir yan zincire sahip olmasına rağmen, PPM bileşiği ESR spektrumu en basit yapıya sahiptir.

- SULT bileşiği moleküler yapısında dörtlü ve beşli halkaların oluşturduğu alt gruptan iki tane bulunmasına rağmen spektrumu MPT bileşiğinininkine göre daha basit sayılabilecek bir yapıya sahiptir.

- MPT bileşiği en çok rezonans çizgisi içeren en karmaşık ESR spektumuna sahiptir.

- Her üç bileşiğin spektrumları da ilk bakışta basitçe değerlendirilebilecek bir görünümünden uzaktır.

- Her üç bileşiğin spektrumları simetrik olmayan bir yapıya sahiptir. Bu durum, incelenen antibiyotiklerde ışınlama sonucunda, g değerleri serbest kökçe bölgesine düşen ancak diğer spektroskopik özellikleri farklı olan birden çok kökçenin oluştuğuna işaret etmektedir.

- Spektrumların, MPT'de ~80 G'luk, PPM'de ~70 G'luk ve SULT antibiyotiğinde de ~45 G'luk manyetik alan bölgelerine yayılmış olmaları, incelenen antibiyotiklerin spektrumlarının genişlemesinde, aşırı ince yapı yanında, katkı getiren kökçelerin spektroskopik yarıma çarpanlarındaki anizotropilerin de önemli ölçüde belirleyici olduğunu göstermektedir.

- Radyasyona karşı duyarlık açısından bakıldığında, aynı doz değerinde ışınlanmış örneklerin normalize sinyal şiddetleri kıyaslandığında MPT'nin en duyarlı, SULT'un ikinci ve PPM'nin de üçüncü duyarlık sırasında olduğu

görülmektedir. Ancak her üç bileşiğin de radyasyon verimlerinin düşük olduğu ve dolayısıyla radyasyonla sterilize edilebilecekleri belirlenmiştir.

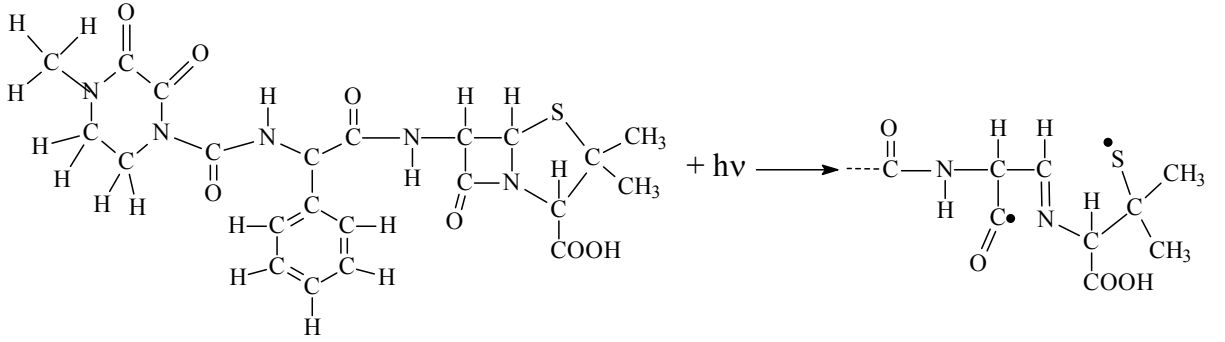
5.2. Piperasilin Monohidrat (PPM)

Penisilin grubuna giren geniş spektrumlu yarı sentetik bşr antibiyotik olan PPM2nin özellikleri in vitro ve in vivo koşullarda geniş bir biçimde incelenmiştir (Boday and LeBlanc, 1978; Kuck and Redin, 1978). Özellikle farmakokinetiği (Evans et. al., 1978), metabolizması (Iida et. al., 1978), toksik etkileri (Takai et. al., 1977), antibakteriyel etkileri (Mandell, 1985) ve klinik kullanımı (Saito, 1977) alanlarında ayrıntılı incelemeler yapılmış olmasına karşın radyasyonla sterilize edilip edilemeyeceği dolayısı ile radyasyona karşı duyarlılığı hiç incelenmemiştir.

Işınlanmamış PPM'de ESR sinyali gözlenmediği halde ışınlanmış olanda sinyal gözlenmesi PPM molekülünün radyasyona karşı duyarlı olduğunu göstermektedir. Işınlama ile PPM molekülünün parçalandığı ve bunun sonucunda çiftlenimsiz elektrona sahip birimlerin oluştuğu anlaşılmaktadır. Bu birimlerin, oldukça basit sayılabilecek ve ikisi çok şiddetli ikisi de çok zayıf toplam dört rezonans tepesinden oluşan bir ESR spektrumunun (Şekil 4.12.) oluşumuna kaynaklık ettikleri görülmektedir. Çok benzer bir spektrumun, PPM ile benzer molekül yapısına sahip olan, ışınlanmış susuz ampisilin asit için elde edilmesi dikkat çekicidir (Gibella et. al.,2000). Zayıf rezonans tepelerini daha çok yüksek ışınlama dozlarında ortaya çıkması, bu tepelerin oluşumuna kaynaklık eden ve daha çok kükürt kaynaklı olduğu tahmin edilen (Gibella et. al.,2000) kökçe türünün spektrometre duyarlık sınırları içersine girebilecek miktarlarda oluşturulabilmesinin zor olduğunu göstermektedir. Şiddetli rezonans tepelerinin yani 1 ve 2 nolu tepelerin (Şekil 4.12.) aynı mikrodalga doyum özelliği göstermeleri (Şekil 4.13.) bu tepelerin oluşumuna daha çok tek tür bir kökçenin kaynaklık ettiği bu tepeler arasında gözlenen omuzun se bu kökçenin spektroskopik yarıлма çarpanının anizotropik olmasından ileri geldiği izlenimi elde edilmektedir. 1 ve 2 nolu tepelerle ilgili sinyal şiddetlerinin 110-410 K sıcaklık aralığında benzer davranış göstermeleri (Şekil 4.14.) bugörüşü destekler niteliktedir. Ancak gözlemlerin diğer bulgularla doğrulanması gerekir. Nitekim her iki tepe ile ilgili sinyal şiddetlerinin normal

koşullardaki sönümleri ile ilgili olarak elde edilen bulgular (Şekil 4.15 ve Çizelge 4.5.) bu tepelerin oluşumlarına, katılım ağırlık oranları ve sönüm sabitleri farklı olan ancak her ikisi de birinci dereceden sönüm kinetiğine uyan, iki farklı kökçenin katkı getirdiğine işaret etmektedir. Başka deyimle mikrodalga doyum davranışları benzer olan bu kökçelerin sönümlerinin çok farklı olduğu gerçeği ortaya çıkmaktadır. Yüksek sıcaklıklardaki sönüm bulguları da iki farklı kökçe türünün deneysel spektrumun oluşumunu yönlendirdiği görüşünü destekler nitelikte (Çizelge 4.6.) olduğu anlaşılmaktadır. Yüksek sıcaklıklardaki birinci dereceden sönüm kinetiğine uyan bu kökçelerin sönüm sabitlerinin, oda sıcaklığındaki sönümde olduğu gibi, farklı olduğu görülmektedir (Çizelge 4.6.). Arrhenius eşitliği kullanılarak katkı getiren kökçeler için $117,0 \pm 6,8$ kJ/mol ve $142,1 \pm 3,8$ kJ/mol aktivasyon enerji değerlerinin elde edilmesi, bu kökçelerin moleküler yapılarının ve kinetiklerinin anlamlı sayılacak ölçülerde farklı olduğunu göstermektedir. Korelasyon sabitlerine bakarak değerlendirildiğinde, ırlanmış PPM örneği doz-cevap eğrisinin çizgisel bir fonksiyona karesel bir terimin eklenmesi ile elde edilen $I = m + nD + pD^2$ türünde bir matematiksel fonksiyonla çok iyi bir biçimde betimlenebileceği anlaşılmaktadır. Ancak bu fonksiyonun düşük doz değerlerinde kullanılmasının uygun olmayacağı görülmektedir. Çünkü dozun sıfır olduğu durumda fonksiyonun sıfırdan geçmemesi bir sorun olarak ortaya çıkmaktadır. 1 ve 2 nolu tepelerin doz ölçümü için kullanılabilecekleri ancak 2 nolu tepenin doz ölçümü için daha uygun olduğu, hatta 3-15 kGy doz aralığında, uygulanan dozun en kötü olasılıkla %10 yanığı ile belirlenebileceği ortaya çıkmaktadır. 2 nolu tepenin oda sıcaklığındaki sönüm hızının 1 nolu tepeninkine göre daha yavaş olması PPM'nin dozimetrik malzeme olarak kullanılması sözkonusu olduğunda 2 nolu tepeden yararlanılmasının daha doğru olacağını göstermektedir.

Elde edilen tüm deneysel bulgular birlikte değerlendirildiğinde, PPM'nin gama ışınları ile ışınlanması sonucunda laktam halkasındaki bir karbon-azot ve beşli tiyazodilin halkası ile laktam halkası arasındaki karbon-kükürt bağının açılması ile aşağıdaki türde ikili kökçelerin oluştuğu düşüncesindeyiz.



Çiftlenimsiz elektronun karbonun üzerinde yerleştiği uçta, bu elektronun beta konumunda bulunan karbona bağlı bir hidrojenle aşırı ince yapı yarılmasına girerek bir ikili oluşturduğu ancak bu uçla ilgili aşırı ince yapının ve g 'nin izotropik olduğuna inanıyoruz. Çiftlenimsiz elektronun kükürt atomunun üzerine yerleşmesi ile oluşan $\bullet S - R$ türündeki kökçenin ise, g değeri izotropik olmayan tek çizgili bir spektruma kaynaklık ettiğini sanıyoruz. PPM spektrumundan belirlenen deneysel spektroskopik yarılma çarpanı ($g_1=2,0080$, $g_2=1.9995$) ve yarı eğri genişliği (14,2 G) değerlerinin karbon ve kükürt atomu üzerine yerleşmiş kökçeler için gözlenen (Gibella et. al., 2000; Miyazaki et. al., 1994; Basly et. al., 1998; Yürüş et. al., 2004) değerlere çok benzer olması bu önerilerimizi desteklemektedir. Ancak bu modelin spektrum simülasyonu tekniği ile desteklenmesi önerilerimize kesinlik kazandırması açısından gereklidir. Bu tür hesaplamaların daha sonraki aşamalarda yapılması planlanmaktadır.

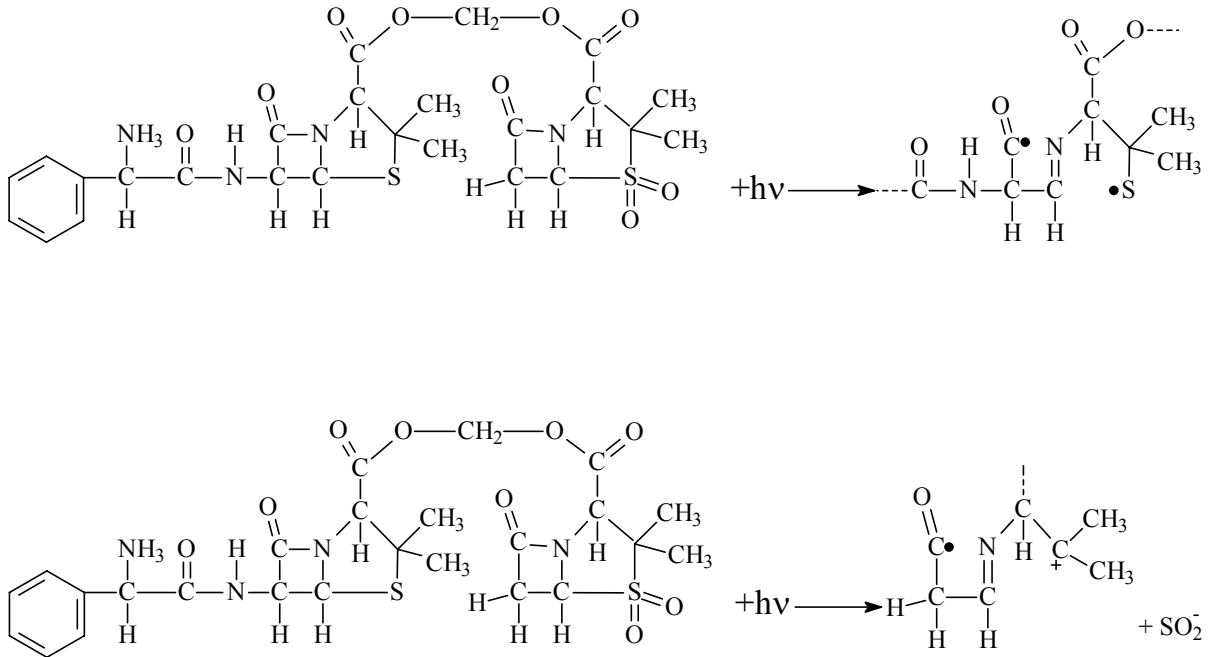
5.3. Sultamisilin Tosilat (SULT)

Penisilin grubuna giren bu antibiyotik de tüm özellikleri, PPM'de olduğu gibi, ayrıntılı olarak incelenmiş (Baltzet et. al., 1980; Roger et. al., 1983; Chan et. al., 1993; Friedel, 1989) olmasına karşın radyasyon duyarlılığı, dolayısı ile bu antibiyotik radyasyonla sterilizasyona uygun olup olmadığı araştırılmamıştır.

Işınlanmamış SULT'un ESR sinyaline sahip olmadığı halde ışınlanmış olanın sinyal vermesi (Şekil 4.20.) gama ışınlarının SULT molekülünün parçalanmasına neden olduğu şeklinde değerlendirildi. Düşük doz değerlerinde bu sinyal geniş sayılabilecek tek çizgili bir görünüm sergilediği halde yüksek doz değerlerinde rezonans tepelerinin çok daha belirgin olduğu bir görünüme eriştiği gözlenmektedir (Şekil 4.20.). Üç belirgin tepenin hakim olduğu bu spektrumun, g değeri açısından, serbest kökçe bölgesine düştüğü görülmektedir ($g_1=2,0130$; $g_2=2,0105$; $g_3=2,0034$; $g_5=2,0010$). En şiddetli tepeler arasındaki alan farkının 15,5 G olması ve spektrum şeklinin belirgin bir aşırı ince yapı formatına uymaması, deneysel spektrum oluşumunu birden çok kökçenin oluşturduğu izlenimi vermektedir. İzlenen beş rezonans tepesinin 1-20 mW mikrodalga gücü aralığındaki doyum davranışları (Şekil 4.21.) pek farklı olmadığı halde, 100-350 K aralığında sıcaklıkla değişimlerinin farklı olması (Şekil 4.22., Şekil 4.23.) bu tepelerin oluşumlarına birden çok kökçenin katkı getirdiğinin bir başka göstergesi olarak algılandı. PPM antibiyotiğinden farklı olarak, SULT antibiyotiği sinyal şiddetlerinin 325 K'den başlayarak hızlı bir düşüş göstermesi ışınlama ile SULT örneğinde oluşan kökçelerin PPM'de oluşan kökçelere göre daha az kararlı olduğunu göstermektedir. Bu durumun, her iki örnekte oluşan kökçelerin farklı karakterlere ve farklı sterik etkilere sahip olmalarından ileri geldiği düşünüldü. İzlenen rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinin normal koşullarda, PPM örneği için elde edilen bulgulardan farklı olarak, ilk 13 gün içinde hızlı bir azalma ritmi izlemesi ve daha sonra bu ritmin düşmesi gerçeği, ışınlama sonucunda bu iki örnekte oluşan kökçelerin farklı karakterlere sahip olduklarının bir başka göstergesi olarak değerlendirildi. Birinci dereceden sönüme sahip ancak sönüm sabitleri farklı olan iki kökçeli bir model üzerine kurulan hesaplamaların normal koşullardaki sönümü betimlemede çok başarılı olduğu belirlendi (Şekil 4.24., Çizelge 4.9.). Kökçelerin izlenen rezonans tepelerine değişik ağırlık oranlarında katkı getirdikleri ve normal koşullardaki sönüm sabitlerinin de çok farklı olduğu bulundu ($k_A=3\times 10^{-5}$ saat⁻¹; $k_B=360\times 10^{-5}$ saat⁻¹). Sönüm sabiti büyük olan türün ilk 13 gündeki hızlı sönümü yönlendirdiği sonucuna erişildi. Yüksek sıcaklıklardaki tavlama deneyleri ile ilgili bulguların belirli bir matematiksel formata oturtularak değerlendirilememesi, büyük olasılıkla, sönümün çok kritik olduğu sıcaklıklarda yeteri derecede veri elde edilememiş olmasından ve elde edilenlerin de güvenilir olmamasından kaynaklandığını sanıyoruz. Deneyin gerçekleştirildiği 3-15 kGy doz aralığında

izlenen tüm rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinin sürekli artış eğilimi içersinde olmaları, kökçelerden en az birinin ancak yüksek doz değerlerinde oluştuğuna işaret etmektedir. Düşük doz değerlerinde elde edilen spektrumun yüksek doz değerlerinde elde edilenden çok farklı olması bu görüşü destekler niteliktedir. Korelasyon katsayıları açısından değerlendirildiğinde, ışınlanmış SULT örneğinin doz-cevap eğrileri, PPM örneğinde olduğu gibi, $I=m+nD+pD^2$ türünde bir fonksiyonla daha iyi betimlenebildiği anlaşılmaktadır. Ancak hem sinyal şiddetlerindeki hızlı sönüm ve hem de betimleme korrelasyon katsayılarının düşük olması SULT bileşiğinin iyi bir dozimetrik malzeme olarak kullanılamayacağını göstermektedir. Ancak radyasyon duyarlılığının yüksek olmaması nedeniyle uluslararası kabul gören doz limitleri arasında radyasyonla sterilizasyonun yapılabileceği anlaşılmaktadır.

SULT antibiyotiğinin ışınlanması ile, PPM antibiyotiğinde olduğu gibi, karbon ve kükürt atomu üzerine yerleşmiş serbest elektronlara sahip kökçelerin oluştuğu inancını taşıyoruz. Ayrıca ikinci laktam halkasına bağlı kükürt ve bağlı oksijen atomlarının yapıdan ayrılması ile SO_2^- iyonik kökçesinin oluştuğu düşünülmektedir. Aşağıda bu kökçelerin oluşum tepkimeleri verilmiştir.



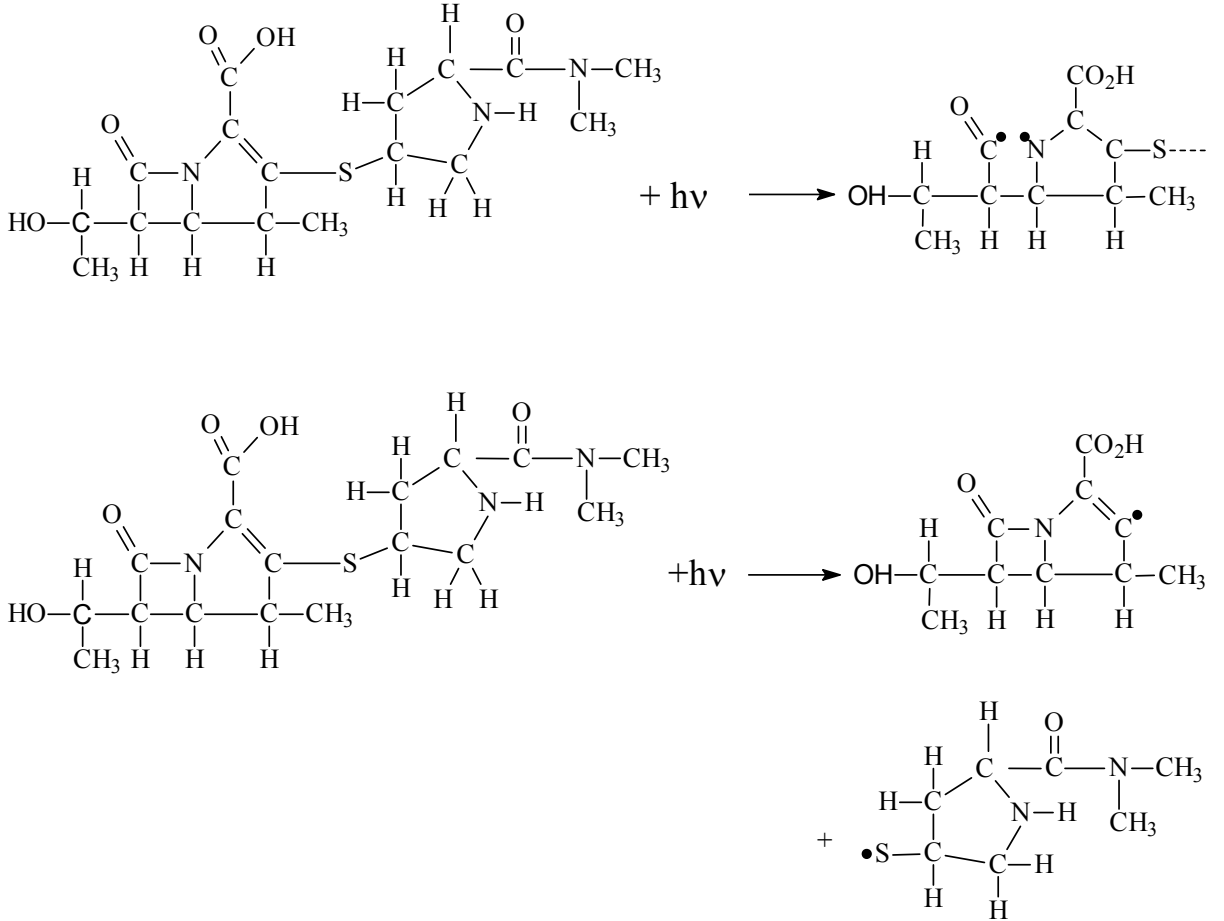
Her iki tepkime ile oluşan ve karbon atomu üzerinde serbest elektronun yerelleşmesi sonucunda ortaya çıkan kökçelerin kendi aralarında ve kükürt üzerine serbest elektronun yerelleşmesi ile ortaya çıkan $\bullet S-R$ türündeki kökçe ile SO_2^- iyonik kökçesinin de kendi aralarında spektroskopik özellikleri açılarından eşdeğer olduklarını söylemek yanıltıcı olmaz. $\bullet S-R$ kökçesi izotropik olmayan yarıлма çarpanına sahipken SO_2^- iyonik kökçesi izotropik bir g değerine sahiptir ve bu g değeri $\bullet S-R$ kökçesinin g değerlerinin bir ortalamasıdır. Benzer kökçe türleri literatürde kükürt içeren bileşikler için de elde edilmiştir (Bershov et. al., 1975; Huzimura, 1979; Barbas at.al., 1992; Kai and Miki, 1992; Çolak and Korkmaz, 2003). Yakın gelecekte yapılacak spektrum similasyon hesaplamaları ile önerilen iki farklı kökçenin oluşturduğu modelin ışınlanmış SULT antibiyotiği deneysel ESR spektrumunu betimlemede ne denli başarılı olacağı araştırılacaktır.

5.4. Meropenem Trihidrat (MPT)

PPM ve SULT antibiyotiklerinde olduğu gibi MPT antibiyotiğinin radyasyon duyarlığı dışındaki tüm özellikleri literatürde ayrıntılı olarak incelenmiştir (Sunagawa et. al., 1990; Yanagi et. al., 1992; Wise et. al., 1990). MPT bu tez çerçevesinde incelenen üç antibiyotikten radyasyona karşı duyarlığı en yüksek olanıdır. ESR spektrumu çok sayıda rezonans tepesine sahiptir (Şekil 4.1.) ve bu tepelerle ilgili g değerlerinin serbest kökçe bölgesine düştüğü belirlenmiştir ($g_1=2,0203$; $g_2=2,0145$; $g_4=2,0041$; $g_5=2,0016$). Spektrumun 75 G'luk bir alan bölgesine yayılmış olması ve antisimetrik olması, spektrum genişlemesine aşırı ince yapı etkileşmesi yanında, katılım getiren kökçelerin g değerlerinin izotropik olmamasından ileri gelen katkıların da olduğuna işaret etmektedir. İzlenen tüm rezonans tepelerinin homojen olmayan mikrodalga doyum davranışı sergilemeleri bu tepelerin oluşumuna birden çok kökçe türünün katkı getirdiğini göstermektedir. 110-380 K aralığında gerçekleştirilen sürekli sıcaklık incelemesinde düşük sıcaklıklara gidildikçe bazı rezonans tepeleri ile ilgili sinyal şiddetlerinin doyum davranışı sergilemeleri (Şekil 4.3; Şekil 4.4; Şekil 4.5) spektrum oluşumuna katkı getiren birden çok kökçenin var olduğuna işaret eden bir başka kanıt olarak karşımıza çıkmaktadır. Normal koşullardaki sinyal sönümü ile ilgili hesaplamalar

oda ve yüksek sıcaklıklardaki sinyal şiddeti ile ilgili sönüm bulguları (Şekil 4.6.; Şekil 4.7.; Şekil 4.8.; Şekil 4.9.) birlikte değerlendirilerek, izlenen rezonans tepelerine birinci dereceden sönüme sahip değişik türde dört serbest kökçenin katkı getirdiğinin belirlenmiş olması (Çizelge 4.1., Çizelge 4.2.) gözlenen deneysel spektrumun incelenen diğer antibiyotiklere göre neden daha karmaşık bir yapıya sahip olduğunun bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Bu kökçelerin sönüm sabitleri, oda sıcaklığında, 0-503 saat⁻¹ aralığında değişirken, tavlama işlemlerinin yürütüldüğü en yüksek sıcaklık olan 380 K'de 200-300×10⁻⁴ dakika⁻¹ aralığında değişmesi katkı getiren kökçelerin kararlılıklarının sıcaklığa çok bağlı olduğunu gösteren bir kanıt olarak algılanmıştır. Değişik spektroskopik yarıma çarpanlarına ve/veya aşırı ince yapılara sahip olmaları beklenen bu kökçelerin izlenen rezonans tepelerine katılım ağırlık oranlarının da, beklendiği gibi, çok farklı olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.1.). Oda sıcaklığındaki sönüm sabiti en küçük olan kökçe türünün en yüksek ağırlık oranı ile (-0,407) 5 nolu tepeye katkı getirmesi ve sönüm sabitleri 0,26 ve 369,00 saat⁻¹ olan türlerin hiç katkı getirmemeleri ve sönüm sabiti 503,00 saat⁻¹ olan türün de çok küçük bir katılım ağırlık oranına (-0,018) sahip olması 5 nolu rezonans tepesinin doz ölçümü için kullanılabileceğinin bir göstergesi (Çizelge 4.1.) olduğu saptandı. Önerilen kökçe türlerinden ikisi için hesaplanan 53,2±4,0 ve 94,3±13,0 kJ/mol değerindeki aktivasyon enerjileri tiyazodilin halkasının açılması ile oluşan kökçelerin aktivasyon enerjilerine çok yakın oldukları saptanmıştır (Yürüş ve Korkmaz, 2004). Işınlanmış MPT'nin doz-cevap eğrilerini betimlemek için yapılan değerlendirmeler, en belirgin olan ve daha kararlı görünüm sergileyen 2, 4 ve 5 nolu rezonans tepelerinin çizgisel veya dozun karesi ile değişen bir terim eklenmesi sonucunda elde edilen matematiksel fonksiyonlarla yapılabileceğini göstermiştir. 5 nolu tepeye, en ağırlıklı katkıyı, sönüm sabiti çok küçük olan kökçe türünün getirmiş olması ve düşük doz değerlerinde bile bu tepe ile ilgili sinyal şiddetinin güvenilebilir bir biçimde ölçülebilir olması, MPT'nin incelemelerin yürütüldüğü doz aralığında yani 3-15 kGy doz aralığında, iyi bir dozimetrik malzeme olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Yapılan hesaplar 5 nolu rezonans tepesi ile uyumlu çizgisel matematiksel fonksiyon kullanılarak dozun en kötü olasılıkla %5'lik bir yanılğı payı ile belirlenebileceğini göstermiştir. Anca düşük doz değerlerine gidildiğinde, sözgelimi 3 kGy doz değeri civarında, bu oranın biraz yükseldiği hesaplanmıştır.

PPM ve SULT antibiyotikleri ile olan ortak moleküler yapısı da dikkate alınarak, gama ışınlarına tutulmuş MPT'de aşağıda belirtilen radyoliz mekanizmaları sonucunda oluşan kökçelerin deneysel ESR spektrumun oluşumuna kaynaklık ettikleri düşünülmektedir.



Karbon üzerine yerleşmiş elektronların muhtemelen tek bir hidrojenle aşırı ince yapı etkileşmesine girdikleri ve g değerlerinin çok yakın olduğu tahmin edilmektedir. Azot üzerine yerleşmiş çiftlenimsiz elektronun ise kendi azot çekirdeği ve bir hidrojen atomuyla aşırı ince yapı etkileşmesine girmesi sözkonusudur. Kükürt atomu üzerine yerleşmiş çiftlenimsiz elektronun ise tek çizgili veya bir dublete kaynaklık etmesi beklenir. Ancak dört farklı kökçe türüne oturtulan bu modelin kesinlik kazanabilmesi için spektrum simülasyon hesaplarının yapılmasına gereksinim var. Bu tür hesapların yakın gelecekte yapılması planlanmaktadır.

6.KAYNAKLAR DİZİNİ

- Alkan, H., 2003, Türkiye'de Endüstriyel Gama Işınlanması Uygulamaları, Gama-Pak Sterilizasyon A.Ş., İstanbul.
- Antibakteriyel Kemoterapi, Bölüm 2, Türk İnfeksiyon Web Sitesi Ders Kitapları, <http://www.infeksiyon.com/detail.asp?ctg=12&Article=220>.
- Antibiyotik Kullanımı Kontrol Alt Komitesi, 2000, Antibiyotik Kullanımı, İnfeksiyon Kontrol Komitesi Yayını: 3, GATA Basımevi, Ankara.
- Apaydın,F., 1996, Magnetik Rezonans, H.Ü. Mühendislik Fak. Ders Kitapları No:3, Ankara
- Atherton,N.M., 1973, Electron Spin Resonance: theory and applications, Chister [Eng.] Horwood: Halsted Press, Newyork.
- Baltzer, B., Binderup, E., Von Daehne, W., Godtfredsen, W.O., Hansen, K., Nielsen, B., Sorensen, H., Vongedal, S., 1980, Mutual pro-drugs of beta-lactam antibiotics and beta-lactamase inhibitors, J. Antibiot. (Tokyo), 33, 10, 1183-1192.
- Barbarin, N., Rollmann, B. And Tilquin B., 1999, Role of residual solvents in the formation of volatile compounds after radiosterilization of cefotaxime, Int J.Pharm., 178, 203-212.
- Barbarin, N., Tilquin, B., de Hoffmann, E., 2001, Radiosterilization of cefotaxime: Investigation of potential degradation compounds by liquid chromatography - electrospray mass spectrometry, J. Chromotogr. A., 929, 51-61.
- Barbas, M., Bach, A., Mudelsee, R., Mangini, A., 1992, General properties of the paramagnetic center at $g=2.0006$ in carbonates, Q. Sci. Rev., 11, 165-171.
- Basly, J.P., Duroux, J.L. and Bernard, M., 1996a, Gamma irradiation sterilization of orciprenaline and fenoterol, Int. J. Pharm., 142, 125-128.
- Basly, J.P., Duroux, J.L. and Bernard, M., 1996b, Radiosterilization dosimetry by ESR Spectroscopy: Application to Terbutaline, Int. J. Pharm., 142, 247-249.
- Basly, J.P., Longy, I., Bernard, M., 1997a, Radiation Sterilization of formoterol, Pharmaceutical Research 14, 810-814.
- Basly, J.P., Longy, I. and Bernard, M., 1997b, Radiation effects on dopamine and norepinephrine, Pharmaceutical Research, 14, 9, 1192-1196.
- Basly, J.P., Longy, I., Bernard, M., 1998, Radiosterilization Dosimetry by Electron Spin Resonance Spectroscopy: Cefotetan, Anal. Chim. Acta, 359, 107-113.

- Basly, J.P., Longy, I., Bernard, M., 1998, Electron Spin Resonance Identification of Irradiated Ascorbic Acid: Dosimetry and Influence of Powder Fineness, *Analy. Chimica Acta*, 372, 373-378.
- Başgöl, M., 1995, Radyasyonun Farmasotikler Üzerine Etkileri, TAEK – Endüstride Radyasyonla Sterilizasyonda Kalite Kontrolü ve Kalite Temini Uygulamalı Kursu.
- Berk, F., Özer, A.Y., 1999, Radyasyonla Sterilizasyon: I. Radyasyonla Sterilizasyonun Tıbbi Aletlerde Kullanımı, *FABAD J.Pharm. Sci.*, 24, 223-232s.
- Bershov, L.V., Martirasyon, V.O., Marfunin, A.S., Sperankii, A.V., 1975, EPR and structure models for radical ions in anhydrite crystals, *Fortschr. Miner.*, 52, 591-604.
- British Pharmacopeia, 1993, Exposure to Ionizing Radiation Appendix III, A198p.
- Bögl, W., 1985, Radiation Sterilization of Pharmaceuticals-Chemical Changes and Consequences, *Radiat. Phys. Chem.*, 25, 1-3, 425-435.
- Bögl, W., 1989, Identification of Irradiated Foods - Methods, Development and Concepts, *Appl. Radiat. Isot.*, 40, 1203-1210.
- Bussey, D.M., Kane, M.P., Tsuji, K., 1982, Sterilization of Corticosteroids by ⁶⁰Co Irradiation, *J. Parenter Sci. Technol.*, 37, 51-54.
- Crucq, A-S., 1994, Etude de mécanismes radicalaires de médicaments, Irradiés. *Chim. Nouv.*, 12, 1356-1359.
- Crucq, A., Tilquin, B. And Hickelb, B., 1995, Radical Mechanism of Cephalosporins: a Pulse Radiolysis Study, *Free Radical Biology and Medicine*, 18, 5, 841-847.
- Controulis, J., Lawrence, C.A. and Brownells L.E., 1954, The effect of Gamma Radiation on Some Pharmaceutical Products, *Journal of The American Pharmaceutical Association*, XLII, 2, 65-69.
- Çetin, O., 1994, Models of The $g=2.0006$ ESR Signal Growth Curve in Carbonates, METU, Ankara.
- Çolak, Ş., Korkmaz, M., 2003, Investigation of structural and dynamic features of the radicals produced in gamma irradiated sulfanilamide: an EPR study, *Int. J. Pharm.*, 267, 49-58.
- Çolak, Ş., Korkmaz, M., 2004a, Spectroscopic features of radiolytic intermediates induced in gamma irradiated sulfatiazole: an ESR study, *Int. J. Pharmaceutics*, 285, 1-11.
- Çolak, Ş., Korkmaz, M., 2004b, Investigation of radiosterilization and dosimetric features of sulfacetamide sodium, *J.Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 36, 791-798.

- Desrosiers, M.F., Simic, M.G., 1988, Postirradiation Dosimetry of Meat by Electron Spin Resonance Spectroscopy of Bones, *J. Agric. Food Chem.*, 36, 601-603.
- Dimitrova, D., Kalinkova, G., Kunova, K., Oucharova, G., 1983, Effect of gamma rays on the properties of amoxicillin trihydrate, *Farmotsiya*, 33, 5, 38-42.
- Dood, N.J.F., Swallow, A.J., Lea, F.J., 1985, Use of ESR to Identify Irradiated Food, *Radiat. Phys. Chem.*, 26, 451-453.
- Duroux, J.L., Basly, J.P., Penicout, B. and Bernard, M., 1996, ESR spectroscopy applied to the study of rugs radiosterilization: case of three nitroimidazoles, *Appl. Radiat. Isot.*, 47, 11/12, 1565-1568.
- Dusaucy, A.C. and Tilquin B., 1991, Selectivity in Dehydromerisation of Amids: Final Product Analysis From Radiolysis in the Liquid Phase, *Radiat. Chem. Phys.*, 37, 217-220.
- Dziegielewski, J.O., Jesowska-Trzebiatowska Kalencinska, E., Siemlon, I.Z., Kalencinski, J., Nawojka, J., 1973, Gamma radiolysis of 6-aminopenicillonic acid and its derivatives, *Nucleonika*, 18, 513-523.
- Dziegielewski, J.O., 1975, Gamma-Radiation Decomposition yields in Dehydrated and Hydrated Aminobenzyl Penicillin and Basic Radiation Chemical Processes., *Int. J. Radiat. Phys. Chem.*, 7, 507-518.
- Evans, M.A., Wilson, P., Leung, T., Williams, J.D., 1978, Pharmacokinetics of piperacillin following intravenous administration, *J. Antimicrob. Chemother.*, 4, 255-261.
- Farkas, J., 1989, Microbiological of irradiated foods, *Int. J. Microbial.*, 9, 1-45.
- Fauconnet, A.L., Basly, J.P. and Bernard, M., 1996, Gamma Radiation Induced Effects on Isoproterenol, *Int. J. Pharm.*, 144, 123-125.
- Fluerette, J., Madres, S., Transy, M.J., 1975, Active bacteriostatique de differents antibiotiques opres irradiation par rayons gamma, in radiosterilization of medical products IAEA, Vienna, 247-251.
- Friedel, H.A., Campoli-Richards, D.M., Goa, K.L., 1989, Sultamicillin: a review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use, *Drugs*, 37, 491-522.
- Gaughran, E.R. and Goudie, A.S., 1978, Eds. Sterilization by Ionizing Radiation, vol.11, Multiscience Publications Montreal.
- Gibella, M., Crucq, A-S., Tilquin, B., 1993, Détection RPE de l'irradiation l'irradiation de médicaments, *J. Chim. Phys.*, 90, 1041-1053.
- Gibella, M., Crucq, A.S., Tilquin, B., Stocker, D., Lesgards, G. and Raffi, J., 2000, ESR Studies of Some Irradiated Pharmaceuticals, *Radiat. Phys. Chem.*, 58, 69-76.

- Gopal, N.G.S., 1978, Radiation Sterilization of Pharmaceuticals and Polymers, *Radiat. Phys. Chem.*, 12, 35-50.
- Gopal, N.G.S., 1995, Radiation Sterilization and Treatment of Medical Products: Current Practices, Regulations and Standards, IAEA. Consultants 'Meeting Training Guidelines for industrial Radiation Sterilization ', Jerusalem.
- Hayes, R., Fletcher, G., Davies, D.J.G., 1980, The Effect of Ionizing Radiation on Beclamethazone Dipropionate, *J.Pharm. Pharmacol.*, 32, 48-50.
- Huzimura, R., 1979, ESR studies of radical ion centers in irradiated CaSO₄, *Jpn. J. Appl. Phys.*, 18, 2031-2032.
- IAEA, 1990, Technical Report No: 539, IAEA, Vienna.
- Ikeya, New Applications of ESR Dating, Dosimetry and Microscopy, 1993, Word Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.
- Jacobs, G.P., 1977, *Pharm. Acta. Helv.*, 52, 302.
- Jacobs, G.P., 1979, *J. Pharm. Pharmacol.*, 31, 56.
- Jacobs, G.P., 1980, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 6, 547.
- Jacobs, G.P., 1982, Proceedings of the PMA Seminar on radiation sterilization, PMA, Washington, D.C., 139.
- Jacobs, G.P., 1984, Gamma-radiolysis of sodium ampicillin and its esters, *Int. J. Appl. Radiat. Isot.*, 35, 11, 1023-1027.
- Jacobs, G.P., 1985, A review: irradiation Sterilization of Pharmaceuticals, *Radiat. Phys. Chem.*, 26, 2, 133-142.
- Kai, A. and Miki, T., 1992, Electron spin resonance of sulfite radicals in irradiated calcite and aragonite, *Rad. Phys. Chem.*, 40, 469-476.
- Kılıç, Soner, ESR spectra of certain gamma-irradiated organic crystals, 1980, METU, Ankara.
- Korkmaz, M., Polat, M., 2000, Free radical kinetics of irradiated durum wheat, *Radiat. Phys. Chem.*, 58, 169-179.
- Korkmaz, M., Polat, M., 2001, Radical kinetics and characterization of the Free Radicals in Gamma Irradiated Red Pepper., *Radiat. Phys. Chem.*, 62, 411-421.
- Kuck, N.A. and Redim, G.S., 1978, In vitro and in vivo activity of piperacillin, *J.Antibiot.*, 31, 1175.
- Lawrence, J.R. and Skauen D.M., 1967, Effect of γ Radiation on Selected Pharmaceuticals, *J.Pharm.Sci.*, 56, 6.

- Lunsford, R. and Devries, K.L., 1997, Degradation of natural rubber in aggressive environments, J. Undergraduate Research, University of Utah, 8, 1.
- Mandell, G.L., 1985, Clin. Ther. 7, Suppl. B., 28-35.
- Mathews, R.W., Sangster, D.F., 1965, Measurement by benzoate radiolytic decarboxylation of relative rate constants for hydroxyl radical reactions, J.Phys. Chem., 69, 1938-1946.
- Miyazaki, T., Kaneko, K., Yoshimura, T., Crucq, A.S., Tilquin, B., 1994, Electron spin resonance study of radiosterilization of antibiotics: Ceftazidime, J. Pharm. Sci., 83, 68-71.
- Miyazaki, T., Arai, J., Kaneko, K., Yamamoto, K., Gibella, M., Tilquin, B., 1994, Estimation of Irradiation Dose of Radiosterilized Antibiotics by ESR: Ampicillin, J. Pharm. Sci., 83, 1643-1644.
- Mycek, M.J., Harvey, R.A. and Champe, P.C., 1997, Pharmacology, Second Edition, Lippincott - Raven Publishers, Philadelphia.
- Nagy, V., 2000, Accuracy considerations in EPR Dosimetry, Appl.Radiat. Isot., 52, 1039-1050.
- Naki, N., Özer, A.Y., 2002, Kozmetik Ürünlerde ve Kozmetik Ürün Hammaddelerinde Kontaminasyon ve Gama Radyasyonla Sterilizasyon, Dekontaminasyon, H.Ü. Ecz. Fak. Dergisi, 22, 81-202s.
- Olguner, G., Özer, A.Y., 2000, Radyasyonla Sterilizasyon: II. İlaçların Radyasyonla Sterilizasyonu, FABAD J.Pharm. Sci., 25, 53-73s.
- Onori, S., Pantoloni, M., Fattibene, P., Ciranni Signoretti, E., Valvo, L. and Santucci, M., 1996, ESR Identification of Irradiated Antibiotics: Cephalosporins, Appl. Radiat. Isot., 47, 11/12, 1569-1572.
- Özalp, M., 2003, Bazı İlaçların ve Kozmetiklerin Gama Radyasyonla Sterilizasyonu ve Mikrobiyolojik Olarak Değerlendirilmesi, H.Ü. Eczacılık Fak. Farmasotik AD, Ankara.
- Özer, A.Y., 2003, Gama Radyasyon ve Gama Radyasyonla Sterilizasyon, H.Ü. Eczacılık Fak., Ecz. Tekn. Bölümü, Radyoformesi A.D., Ankara.
- Pilbrow, J.R., 1996, ESR Fundamentals, Appl. Radiat. Isot., 47, 11/12, 1465-1470.
- Pharmacopeia, 1992, Commission des Communautés Européennes, Bonnes pratiques de fabrication des médicaments; la réglementation des médicaments dans la Communauté Européenne.
- Pharmacopeia, 1993, British Pharmacopeia, Appendix XVIII, A197-A199.
- Pharmacopeia, 1995, United States Pharmacopeia, XXIII, 1976-1981.

- Philips, G.O., Power, D.M. and Sewart, M.C.G., 1973, Effect of gamma irradiation on sodium sulfonamides, *Radiat. Res.*, 53, 204-215.
- Polat, M., Korkmaz, M., Dulkan, B., Korkmaz, Ö., 1997, Detection of Irradiated Chicken and Dosimetric Properties of Drumstick Bones, *Radiat. Phys. Chem.*, 49, 363-369.
- Poole, C.P., 1967, *Electron Spin Resonance*, A Division of John Wiley, New York.
- Poole, C.P. and Farach, H.A., 1972, *The Theory of Magnetic Resonance*, John Wiley, New York.
- Products, Taizhou Nova Medicine Chemistry Co. Ltd.,
<http://www.xinxinchem.com/products-e3.htm>
- Pshezhetskii, S.Ya, Kotov, A.G., 1974, *EPR of Free Radicals in Radiation Chemistry*, Wiley, New York.
- Raffi, J.J., 1992, *Electron Spin Resonance Intercomparison Studies on Irradiated Foodstuffs.*, Commission of the European Communities, Luxemburg, Belgium, EUR 13630 EN, 1992.
- Ražem, D., Ražem, K.B., Starčević, M. and Galeković, B., 1990, Radiation Decontamination of Pharmaceutical Raw Materials as an Integral Part of the Good Pharmaceutical Manufacturing Practice (GPMP), *Radiat. Phys. Chem.*, 35, 1-3, 377-381.
- Rhee, K.S., Chun, K.J., Kim, K.S., 1975, Radiosterilization of medical products (II), Effect of gamma irradiation (^{60}Co) on tetracycline hydrochlorides, *Misaengmul Hakhoe. Chi.*, 13, 64-70., in *C.A.*, 84, 1699634e, 1976.
- Roger, H.J., Bradbrook, I.D., Morrison, P.J., Spectar, R.G., Cox, D.A., Lees, L.J., 1983, Pharmacokinetics and bioavailability of sultamicillin estimated by high performance liquid chromatography, *J. Antimicrob. Chemother.*, 11, 435-445.
- Russell, A.D., Hugo W.B. and Ayliffe G.A.J., 1982, *Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization*, Blackwell Scientific Publications, London.
- Saint-Lebe L., Raffi, J., 1995, Le traitement ionisant des aliments, *Cah. Nutri. Diété.*, Paris, 30 (2), 117-123.
- Saito, Y. And Yamada, Y., 1977, Excretion in bile and clinical study of T-1220 (piperacillin) in biliary tract diseases (author's transl.), 30, 835-839.
- Scharmann, A., 1996, Past and present of ESR in radiation applications, *Appl. Radiat. Isot.*, 47, 11/12, 1151-1153.
- Selecting A Sterilization Method, 2001, Sungate Technologies Incorporated,
<http://www.engineeringreference.com/sterilization/select%20sterilization.htm>

- Signoretto, E.C., Onori, S., Volvo, L., Fattibene, P., Savella, A.L., De Sena, C. and Alimonti, S., 1993, Ionizing Radiation Induced Effects on Cephadrine, Influence of Sample Moisture Content, Irradiation Dose and Storage Conditions, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 19, 14, 1693-1708.
- Signoretto, E.C., Volvo L., Fattibene P., Onori, S. and Pantoloni, M., 1994, Gamma Radiation Induced Effects on Cefuroxime and Cefotaxime, Investigation on Degradation and Syn-Anti Isomerization, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 20, 16, 2493-2508.
- Sunagawa, M., Matsumura, H., Inoue, T., Fukasawa, M., Kato, M., 1990, A novel carbapenem antibiotic, SM-7338 : structure activity relationships, *J. Antibiot.*, 43, 519-532.
- Swartz, H.M., Bolton, J.r., Borg, D.C., 1972, *Biological Applications of Electron Spin Resonance*, A Division of John Wiley, USA.
- Taner, A.C., 1995, Gama Işınlama Tesisi, TAEK- Endüstride Radyasyonla Sterilizasyonda Kalite Kontrolü ve Kalite Temini Uygulamalı Kursu.
- Todar, K., 2001, *The Control of Microbiological Growth*, Bacteriology at UW-Madison.
- Tsuji, K., Goetz, J.F., Vanmeter, W., 1979, Effect of ^{60}Co Irradiation of Penicilin G.procaïne in Veterinary Mastitis Product, *J.Pharm. Sci.*, 68, 1075-1080.
- United States Pharmacopeia (USP XXII), 1985, Appendix 1, 1707-1709p, USA.
- Varshney, L. and Patel, K.M., 1994, Effects of Ionizing Radiations on a Pharmaceutical Compound, Chloramphenicol, *Radiat. Phys. and Chem.*, 43, 5, 471-480.
- Yanagi, K., Takeuchi, Y., Sunagawa, M., 1992, Structure of a novel carbapenem antibiotic, meropenem, *Acta Crystallogr. C*48, 1737-1739.
- Yürüş, S., Özbey, T., Korkmaz, M., 2004, ESR investigation of gamma irradiated sulbactam sodium, *J. Pharmaceutical Bio. Anay.*, 35, 971-978.
- Yürüş, S., Korkmaz, M., 2005, Kinetics of the radiation induced radicals in gamma irradiated solid cefazolin sodium, *Radiation Effects and Defects in Solids*, 160, 11-22.
- Wertz, J.E and Bolton, J.R., 1972, *Electron Spin Resonance - Elementary Theory and Practical Applications*, McGraw - Hill Book Company ,USA.
- Whitby, J.L., 1993, Microbiological aspects relating to the choice of radiation sterilization dose, *Radiat. Phys. Chem.*, 42, 577-580.
- Wise, R., Logan, M., Cooper, M., Ashby, J.P., Andrews, J.M., 1990, Meropenem pharmacokinetics and penetration into an inflammatory exudate, *Antimicrob. Ag. Chemother.*, 34, 1515-1517.

Wogl, W., 1985, Radiation Sterilization of Pharmaceuticals, Chemical Changes and Consequences, Radiat. Phys. Chem., 25, 425.

Zeegers, F., Crucq, A-S., Gibella, M., Tilquin B., 1993, Radyolyse et radiostérilization des médicaments, J. Chim. Phys., 90, 1029-1040.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Semra Tepe

Doğum Yeri : Eskişehir

Doğum Yılı : 23-10-1979

Medeni Hali : Bekar

Eğitim ve Akademik Durumu :

Lise 1993-1997 Eskişehir Hoca Ahmed Yesevi Lisesi

Lisans 1997-2002 ODTÜ Fizik Bölümü

Yabancı Dil : İngilizce

İş Tecrübesi : 2002- Araştırma Görevlisi (H.Ü. Fizik Mühendisliği Bölümü)

