T.C
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI ANTİKANSER İLAÇLARDA VE DOĞAL AMİNO ASİT BİLEŞİKLERİNDE GAMA RADYASYONUNUN OLUŞTURDUĞU YAPISAL BOZUKLUKLARIN EPR TEKNİĞİ İLE DOZİMETRİK İNCELENMESİ

YUNUS EMRE OSMANOĞLU

DOKTORA TEZİ

FİZİK ANABİLİMDALI

DİYARBAKIR
Ocak 2016

T.C. DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
DİYARBAKIR

Yunus Emre Osmanoğlu tarafından yapılan ‘‘Bazı Antikanser İlaçlarda ve Doğal Amino Asit Bileşiklerinde Gama Radyasyonunun Oluşturduğu Yapısal Bozuklukların EPR Tekniği ile Dozimetrik İncelenmesi’’ konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Fizik Anabilim Dalında DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan : Doç. Dr. Murat AYDIN

Üye : Doç. Dr. M. Halim BAŞKAN

Üye : Doç. Dr. Sezai ASUBAY

Üye : Yrd. Doç. Dr. İbrahim DOLAK

Üye : Yrd. Doç. Dr. Nazenin İPEK IŞIKÇI

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 04/12/2015

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

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

Doç. Dr. Mehmet YILDIRIM

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının gerçekleştirilmesinde çok değerli bilgi ve deneyimlerinden yaralandığım, hoşgörü ve sabrı ile bana destek olan Sayın Prof. Dr. Şemsettin OSMANOĞLU'na,

Her zaman desteğini gördüğüm ve değerli bilgilerinden yararlandığım Sayın Doç. Dr. M. Halim Başkan'a,

Tez süresince değerli fikir ve önerilerinden yararlanma fırsatı bulduğum Sayın Doç. Dr. Sezai Asubay ve Sayın Yrd. Doç. Dr. İbrahim DOLAK'a

Çalışmamın tüm aşamalarında desteğini gördüğüm Yrd. Doç. Dr. Kerem Sütçü'ye,

İlgi, destek ve sevgilerini her zaman hissettiren aileme,

içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEŞEKKÜR……. I

İÇİNDEKİLER……..... II

ÖZET……..... V

ABSTRACT……..... VI

ÇİZELGE LİSTESİ……..... VII

ŞEKİL LİSTESİ……..... VII

KISALTMA VE SİMGELER……. XI

1. GİRİŞ..…… 1

1.1. Gama Radyasyonunun Madde ile Etkileşmesi…….**.....** 4

1.2. Elektron Paramanyetik Rezonans Kuramı (EPR)…..……... 5

1.2.1. Elektronun Spin ve Yörünge Manyetik Momenti.....…….…… 5

1.2.2. Bir Dipolün Manyetik Alanla Etkileşmesi…….. 8

1.2.3. EPR spektrumlarının İzotropik ve Anizotropik Olması…….. 12

1.3. EPR Spektroskopisi ile Radikal Belirlenmesi ……..…….. 13

1.4 Spin Hamiltoniyeni …….**.....** 15

1.4.1 Elektron Zeeman ve Spin-Yörünge Etkileşmesi …….. 16

1.4.2. Aşırı İnce Yapı Etkileşmesi ……..……... 17

1.4.3. İzotropik Aşırı İnce Yapı Etkileşmesi …….. 19

1.4.4. Çizgi Sayısı ve Şiddet Dağılımları …….. 21

2. KAYNAK ÖZETLERİ…….. 25

2.1. Radyasyonun İlaçlarda Oluşturduğu Serbest Radikaller…….. 25

2.2. Radyasyonun Amino Asitlerde Oluşturduğu Serbest Radikaller……..... 30

3. MATERYAL VE METOD……..... 33

3.1. EPR Spektrometresi……. 33

3.3. Spektrumların Alınması, Ölçümler ve Hesaplamalar…….. 37

4. BULGULAR VE TARTIŞMA…….. 39

4.1. Gama ile Işınlanmış Busulfan, 5-Florourasil, Megestrol Asetat ve Sodyum-2-Merkapto Ethan Sulfonat İlaç Hammadelerinin EPR ile Dozimetrik İncelenmesi……

4.1.1. Örneklerin Hazırlanması ……... 39

4.1.2. Işınlanmamış Busulfan Örneğinin EPR Spektrumları ……...……. 39

4.1.3. Gama ile Işınlanmış Busulfan Toz Kristallerinin EPR Spektrumu ……....… 40

4.1.4. Oda Sıcaklığında Mikrodalga Doyum Davranışı ...……. 41

4.1.5. Busulfan Örneğinin Doz Cevap Eğrileri …...…….. 42

4.1.6. Busulfan Örneğinin Sinyal Şiddetinin Normal Koşullardaki Sönümü ……... 44

4.1.7. Işınlanmamış 5-Florourasil Örneğinin EPR Spektrumları …….. 45

4.1.8. Gama ile Işınlanmış 5-Florourasil Toz Kristallerinin EPR Spektrumu……... 46

4.1.9. Oda Sıcaklığında Mikrodalga Doyum Davranışı ……...…. 48

4.1.10. 5-Florourasil Örneğinin Doz Cevap Eğrileri ……... 48

4.1.11 5-Florourasil Örneğinin Sinyal Şiddetinin Normal Koşullardaki Sönümü…..…. 50

4.1.12. Işınlanmamış Megestrol Asetat EPR Spektrumları ……..…... 52

4.1.13. Gama ile Işınlanmış Megestrol Asetat Toz Kristallerinin EPR Spektrumu …… 52

4.1.14. EPR Sinyal Şiddetinin Mikrodalga Gücü ile Değişimi ……...… 54

4.1.15. Megestrol Asetat Örneğinin Doz Cevap Eğrisi ……... 55

4.1.16. Megestrol Asetat Örneğinin Sinyal Şiddetinin Normal Koşullardaki Sönümü…….. 57

4.1.17. Işınlanmamış Sodyum-2-Merkaptoethan Sulfonat EPR Spektrumları 58

4.1.18. Gama ile Işınlanmış Sodyum-2-Merkapto ethan Sulfonat Toz Kristallerinin EPR Spektrumu……... 58

4.1.19 EPR Sinyal Şiddetinin Mikrodalga Gücü ile Değişimi..... 60

4.1.20. Sodyum-2-Merkapto Ethan Sulfonat Örneğinin Doz Cevap Eğrisi 61

4.1.21. Sodyum-2-Merkapto Ethan Sulfonat Örneğinin Sinyal Şiddetinin Normal Koşullardaki Sönümü ……..……... 63

4.2. Gama ile Işınlanmış L-sıtrullin, 3 Floro-DL-Valin, α-metil-DL-serin, N-Asetil-L-sistein örneklerinin EPR İncelenmesi ……..……. 65

4.2.1. Işınlanmamış L-Sıtrullin'in EPR Spektrumu……...…….. 65

4.2.3. Gama ile Işınlanmamış 3-Floro-DL-Valin Toz Kristallerinin EPR Spektrumu.. 68

4.2.4. Gama ile ışınlanmış 3-Floro-DL-Valin Toz Kristallerinin EPR Spektrumu.….. 69

4.2.5. Gama ile Işınlanmamış α-Metil-DL-Serin Toz Kristallerinin EPR Spektrumu... 71

4.2.6. Gama ile Işınlanmış α-metil-DL-serin Toz Kristallerinin EPR Spektrumu….... 71

4.2.7. Gama ile Işınlanmamış N-Asetil-L-Sistein Toz Kristallerinin EPR Spektrumu 74

4.2.8. Gama ile Işınlanmış N-Asetil-L-Sistein Toz Kristallerinin EPR Spektrumu..... 74

5. SONUÇ VE ÖNERİLER..... 79

6. KAYNAKLAR..... 89

ÖZGEÇMİŞ…….... 95

ÖZET

BAZI ANTİKANSER İLAÇLARDA VE DOĞAL AMİNO ASİT BİLEŞİKLERİNDE GAMA RADYASYONUNUN OLUŞTURDUĞU YAPISAL BOZUKLUKLARIN EPR TEKNİĞİ İLE DOZİMETRİK İNCELENMESİ

DOKTORA TEZİ

Yunus Emre OSMANOĞLU

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ATOM VE MOLEKÜL FİZİĞİ ANABİLİM DALI

2015

Bu tez iki kısımdan oluşmaktadır. Birinci kısımda, gama radyasyonunun dört farklı antikanser ilacında oluşturduğu serbest radikallerin miktarlarının ve kararlılıklarının absorbe edilen radyasyona bağlı değişimleri incelenmiştir. İncelenen ilaç örnekleri oda sıcaklığında 0-20 kGy doz aralığında ışınlanmıştır.

Işınlanmamış örneklerde EPR (Elektron Paramanyetik Rezonans) sinyali gözlenmezken ışınlanan örneklerde ise ışınlama dozuna bağlı sinyaller gözlenmiştir. İlk olarak ilaç örneklerinin oda sıcaklığındaki mikrodalga güç saturasyonu incelenmiştir. Işınlanmış örneklerin doz-cevap eğrilerini tanımlayan çok sayıda matematiksel fonksiyonlar arasından bu eğrileri en iyi tanımlayan fonksiyonlar belirlenmiştir. EPR sinyalleri incelenerek absorbe edilen dozla sinyal şiddeti arasındaki uyumu belirleyen korelasyon katsayıları tespit edildi. On iki ay boyunca saklanan ışınlanmış örneklerin sinyal şiddetlerindeki değişim yüzdeleri hesaplandı.

Tezin ikinci kısmında; dört farklı doğal amino asit bileşikleri gama radyasyonu ile ışınlandı. Işınlama sonucu örneklerde oluşan paramanyetik merkezler belirlendi. Tüm örneklerin EPR spektrumları McKelvey simülasyon programı kullanılarak elde edildi. Örneklerin; paramanyetik merkezleri, aşırı ince yapı sabitleri ve g değerleri hesaplandı.

Anahtar Kelimeler : Elektron Paramanyetik Rezonans (EPR), Serbest Radikal, İlaç, Amino Asit Bileşikleri

ABSTRACT

DOSIMETRIC INVESTIGATION OF RADIATON DAMAGE CENTERS INDUCED BY GAMMA RADIATON IN SOME ANTICANCER DRUGS AND NATURAL AMINO ACID DERRIVATİVES USING EPR TECHNIQUE

PhD THESIS

Yunus Emre OSMANOĞLU

DEPARTMENT OF ATOMIC AND MOLECULAR PHYSICS
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF DICLE

2015

This thesis consists of two parts. In the first part; the behaviour of the free radicals induced by gamma irradiation in four different anticancer drugs studied by Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy (EPR) to characterize the amounts and stability of these radicals, on the absorbed dose. Samples of drugs were irradiated by gamma rays at room temperature in the dose range of 0-20 kGy.

While the EPR (Electron Paramagnetic Resonance) spectra of unirradiated drug samples show no signal, signals dependent on the irradiation dose observed with irradiated samples. Firstly microwave saturation of the irradiated samples was studied at room temperature. Several mathematical functions were tried to describe the dose-response curves obtained for irradiated samples and best functions describing the curves were determined. Correlation coefficients between absorbed doses and their corresponding EPR signals were identified from EPR signals. Storage at room temperature over 12 months was performed. The evolutions of the percentage of signal intensities were calculated.

In the second part; four different powder crystals of amino acid derrivatives were irradiated with gamma rays. Paramagnetic centers resuleted in the samples were determined. EPR spectra of the samples were determined by Mc Kelvey simulation program. Paramagnetic centers, hyperfine structure constanst and g values were calculated.

Keywords: Electron Paramagnetic Resonance (EPR), Free Radical, Drug, Amino Acid Derrivatives

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge No		Sayfa
Çizelge 1.1.	Farklı sayıda çekirdek gruplarının, değişik çekirdek spin durumları için çizgi şiddet dağılımları.	23
Çizelge 3.1.	Değişik frekans bandlarının frekans ve dalga uzunluğu cinsinden değerleri	33
Çizelge 4.1.	Busulfan örneğinin kimyasal yapısı, kapalı formülü, molekül ağırlığı ve kimyasal yapısı	41
Çizelge 4.2.	Deneysel doz cevap eğrilerinin benzetişimi için önerilen matematiksel modeller ve benzetişim sonucu elde edilen parametre değerleri	44
Çizelge 4.3.	5-Florourasil örneğinin kimyasal yapısı, kapalı formülü, molekül ağırlığı ve kimyasal yapısı	47
Çizelge 4.4.	Merkezi rezonans sinyal şiddeti (I) değerleri kullanılarak denenen dört farklı matematiksel fonksiyon için hesaplanan parametre değerleri ve uyum katsayıları.	50
Çizelge 4.5.	Megestrol Asetat örneğinin kimyasal yapısı, kapalı formülü ve molekül ağırlığı	52
Çizelge 4.6.	Tepeden tepeye ölçülen sinyal şiddeti değerleri kullanılarak dört değişik matematiksel fonksiyon için hesaplanan parametre değerler	57
Çizelge 4.7.	Sodyum-2-merkapto ethan sulfonat örneğinin kimyasal yapısı, kapalı formülü ve molekül ağırlığı	59
Çizelge 4.8.	Tepeden tepeye ölçülen sinyal şiddeti değerleri kullanılarak dört değişik matematiksel fonksiyon için hesaplanan parametre değerleri	63
Çizelge 4.9.	L-sıtrullin molekülünün kimyasal yapısı, molekül ağırlığı, kapalı formülü	65
Çizelge 4.10	3-Floro-DL-Valin örneğinin molekül yapısı, molekül ağırlığı ve kapalı formülü.	69
Çizelge 4.11.	α-metil-DL-serin örneğinin molekül yapısı, molekül ağırlığı, kapalı formülü.	72
Çizelge 4.12.	N-Asetil-L-sistein örneğinin molekül yapısı, molekül ağırlığı ve kapalı ve formülü	75

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No		Sayfa
Şekil 1.1.	a_o yarıçaplı yörüngede v çizgisel hızı ile hareket eden *q* yüklü parçacığın L açısal momentumu ve μ yörüngesel manyetik momenti gösterimi.……	7
Şekil 1.2.	Manyetik alan ve dipol momenti arasında θ açısının bir fonksiyonu olarak klasik manyetik bir dipolün enerjisi……..	9
Şekil 1.3.	Elektron spin vektörünün m_s = ½ ve m_s = -½ için manyetik alanda yönelimi ……...……	10
Şekil 1.4.	a) Elektronun dış manyetik alan içindeki enerji seviyelerinin yarılması. b) Rezonans koşulu sağlandığı zaman gözlenen soğurma sinyali, c) Soğurma sinyalinin birinci türevi……...……..	11
Şekil 1.5.	Tek çizgili bir EPR spektrumunu karakteristik özellikleri a) soğurma b) birinci türev eğrisi..……..	12
Şekil 1.6.	Elektronun spini ile çekirdek spini arasında meydana gelen dipolar etkileşme……..	18
Şekil 1.7.	Çekirdek spinleri *I=1/2* olan çekirdekler için n=3 değerine kadar, a) özdeş çekirdekler, b) özdeş olmayan üç çekirdek için çizgi sayısı ve şiddet dağılımı……..	22
Şekil 3.1	X bandında çalışan bir EPR spektrometresinin şeması……...	36
Şekil 1.9.	Elektronun spini ile çekirdek spini arasında meydana gelen dipolar etkileşme	20
Şekil 1.10.	Çekirdek spinleri *I=1/2* olan çekirdekler için n=3 değerine kadar a) özdeş çekirdekler b) özdeş olmayan üç çekirdek için çizgi sayısı ve şiddet dağılımı……	23
Şekil 3.1.	X bandında çalışan bir EPR spektrometresinin şeması…….	47
Şekil 4.1.	(a) 15 kGy doz değerinde ışınlanmış Busulfan 'ın deneysel spektrumu (b) Simüle Spektrum……...	41
Şekil 4.2.	1 kGy doz değerinde ışınlanmış Busulfan örneğinde gözlenen merkezi rezonans sinyal şiddetinin uygulanan mikrodalga gücüne bağlı değişimi…….....	42
Şekil 4.3.	Busulfan örneğinin merkezi rezonans sinyali için 3 mW mikrodalga gücünde oluşturulan doz-cevap eğrisi…..……	43
Şekil 4.4.	15 kGy doz değerinde ışınlanmış Busulfan örneğinde gözlenen sinyal şiddetlerinin zamanla değişimi…..……	45
Şekil 4.5.	(a) 15 kGy doz değerinde ışınlanmış 5-Florourasil 'in deneysel spektrumu (b) Simüle Spektrum……..	47

Şekil 4.6. Merkezi rezonans sinyal şiddetinin oda sıcaklığında uygulanan mikrodalga gücüne bağlı olarak değişimi...…… 48

Şekil 4.7. Florourasil örneğinin merkezi rezonans sinyali için 2 mW mikrodalga gücünde oluşturulan doz-cevap eğrisi……. 49

Şekil 4.8. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış 5-Florourasil örneğin merkezi sinyal şiddetinin zamanla değişimi …… 51

Şekil 4.9. (a) 15 kGy doz değerinde ışınlanmış Megestrol Asetat'ın EPR spektrum
(b) Simüle spektrum……... 54

Şekil 4.10. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış Megestrol Asetat örneğinin sinyal şiddetinin mikrodalga gücüne bağlı değişimleri……. 55

Şekil 4.11. 1-20 kGy doz aralığında ışınlanmış sinyal şiddetinin uygulanan doza bağlı değişimi …… 56

Şekil 4.12. Oda sıcaklığında bekletilen Megestrol Asetat örneğinin sönüm davranışı…… 58

Şekil 4.13. (a) 15 kGy doz değerinde ışınlanmış sodyum-2-merkapto ethan sulfonat 'ın EPR spektrumu
(b) Simüle spektrumu…….. 60

Şekil 4.14. 10 kGy doz değerinde ışınlanmış sodyum-2-merkapto ethan sulfonat örneğinin EPR sinyal şiddetinin MD gücüne bağlı değişimi…… 61

Şekil 4.15. Normalize edilmiş rezonans sinyali için oluşturulan doz-cevap eğrisi... 62

Şekil 4.16. Oda sıcaklığında bekletilen sodyum-2-merkapto ethan sulfonat örneğinin sönüm davranışı ……...…… 64

Şekil 4.17. Oda sıcaklığında 10 kGy doz değerinde ışınlanmış, L-sıtrullin örneği için oda sıcaklığında kaydedilmiş
a) EPR spektrumu
b) simüle spektrum ve simüle spektrum için a.i.y. değerleri; a^1_{β}= a^2_{β} =1.34 mT, a_N= 0.72 mT ve çizgi genişliği ΔH= 0.4 mT olarak alınmıştır…… 68

Şekil 4.18. Oda sıcaklığında 20 kGy doz değerinde ışınlama sonucu L-sıtrullin'de oluştuğu düşünülen radikalin yapısı…… 69

Şekil 4.19. a) 20 kGy doz değerinde oda sıcaklığında ışınlanan 3-floro- DL-valin
b) simülasyon metodu kullanılarak elde edilen simüle spektrum…….. 71

Şekil 4.20. 20 kGy doz değerinde oda sıcaklığında ışınlanan 3-floro- DL-valin örneğinde oluştuğu düşünülen radikalin yapısı……... 71

Şekil 4.21. Oda sıcaklığında 20 kGy doz değerinde ışınlanmış α-metil-DL-serin için a) deneysel spektrum, b) simülasyon sonucu elde edilen simüle spektrum……..... 73

Şekil 4.22. 20 kGy doz değerinde oda sıcaklığında ışınlanan α-metil-DL-serin örneğinde oluştuğu düşünülen radikalin yapısı……... 74

Şekil 4.23. Oda sıcaklığında 20 kGy doz değerinde ışınlanmış N-Asetil-L-sistein için
a) deneysel spektrum
b) simülasyon sonucu elde edilen simüle spektrum……. 76

Şekil 4.24. 10 kGy doz değerinde oda sıcaklığında ışınlanan N-Asetil-L-sistein örneğinde oluştuğu düşünülen radikalin yapısı……... 76

KISALTMA VE SİMGELER

EPR : Elektron Paramanyetik Rezonans

ESR : Elektron Spin Rezonans

NMR : Nükleer Manyetik Rezonans

β : Bohr manyetonu ($9.27 \times 10^{-24} J.T^{-1}$)

h : Planck sabiti ($6.62 \times 10^{-34} J.s$)

ν : Frekans

G : Gauss

mT : Militesla

H_0 : Dışarıdan uygulanan manyetik alan

a : Aşırı ince yapı sabiti

g : Spektroskopik yarılma çarpanı

I : Çekirdek spin açısal momentumu

S : Elektron spin açısal momentumu

L : Elektron yörünge açısal momentumu

J : Elektron toplam açısal momentumu

H : Enerji Hamiltoniyeni

μ_e : Elektron dipol momenti

μ_L : Elektron yörünge dipol momenti

μ_I : Çekirdek dipol momenti

μ_s : Elektron spin dipol momenti

ω : Mikrodalga frekansı

ω_0 : Larmour frekansı

1. GİRİŞ

Tüm spektroskopi çeşitleri maddelerin, elektromanyetik dalga ile etkileşmesi esasına dayanır. Spektroskopi maddeyi ihtiva eden moleküllerin, atomların ve çekirdeklerin enerji düzeylerinin belirlenmesi ilkesine dayanır. Bu enerji düzeyleri madde ve ışınım arasında oluşan etkileşmelerle ilişkilidir. Elektromanyetik ışıma, moleküle, atoma, çekirdeğe veya elektrona etki ettiğinde enerji değişimine neden olur. Radyasyon absorblandığında molekülün enerji düzeyi yükselir, yayınlandığında ise molekülün enerji düzeyi alçalır. Enerji, radyasyon alanından absorblanabilir (absorbsiyon spektrumu) veya yayınlanabilir (emisyon spektrumu) (Walker ve Straw 1961). Elektromagnetik ışımanın yapısı ve etkileşme türü spektroskopinin farklı bölgelerinde çalışmayı mümkün kılar.

Işık-madde etkileşmesinde, meydana gelen soğurulma için iki şart yerine getirilmelidir: (a) Kuantum enerjisi molekülün enerji düzeyleri arasındaki farka karşılık gelmelidir. (b) Titreşen elektrik alan bileşeni moleküldeki titreşen elektrik dipolünü uyarabilmelidir (Wertz ve Bolton 1972). Elektromanyetik ışımaya, yayılma doğrultusuna ve birbirine dik titreşen bağlaşımlı elektrik ve manyetik alanlar olarak bakılabilir. Genel olarak moleküllerle etkileşen elektrik alan bileşenidir. Benzer biçimde manyetik dipoller içeren bir molekül mikrodalga ışımasının manyetik alan bileşeni ile etkileşmesi beklenebilir. Manyetik alana içine yerleştirilen bir örnekte, bir yada daha fazla karakteristik frekanslarda manyetik dipol geçişleri gözlenebilir. Manyetik alanın yokluğunda enerji düzeyleri rasgeledir. Manyetik dipoller net elektronik ya da çekirdek açısal momentumdan kaynaklanır. Elektronlara atfedilen manyetik dipoller net spin veya net yörüngesel açısal momentum veya bunların birleşmesinden meydana gelir (Yerli 2002). Elektrik dipol veya manyetik dipole sahip bir molekül veya atom elektrik veya manyetik alan içine konulursa, molekülün veya atomun dipol momentleri uygulanan alan ile etkileşmesi sonucunda ortaya çıkan enerji türleri spektroskopik olarak incelenebilir. Bu spektroskopiler, İnfrared Spektroskopisi (IR), Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (NMR) veya Elektron Paramagnetik Rezonans Spektroskopisi (EPR) yöntemlerinin konusuna girer (Atherton 1973). Madde üzerine gönderilen elektromanyetik dalga, mikrodalga bölgesinde ise kullanılan tekniğin adı

Elektron Paramagnetik Rezonans (EPR) veya Elektron Spin Rezonans (ESR) tekniğidir ve bu teknik elektron spinini konu alır, radyo dalgası bölgesinde ise Nükleer Magnetik

Rezonans tekniği adına alır ve bu teknik çekirdek spinini konu alır. Her sistemin doğal bir titreşim frekansı vardır. Dışarıdan sistem üzerine aynı frekans değerinde ve aynı fazda bir etki uygulandığında maksimum titreşim gözlenir. Bu olaya rezonans denir (Çalışkan 2006).

Elektron Paramagnetik Rezonans (EPR), bir manyetik alanda, eşlenmemiş elektron spinleriyle mikrodalganının rezonans absorbsiyonunu gözlenmesine dayanan bir fiziksel yöntemdir. EPR, yörüngeler-arası geçişleri yaptıramaz, çünkü enerjisi oldukça küçüktür, (10μeV-140μeV), sadece spin durumları arasındaki geçişlerle ilgilenir. Elektron Paramagnetik Rezonans 1945'te Rus fizikçi E. Zavoisky tarafından keşfedilidi (Weil ve ark. 1994). İlk yıllarda yalnızca temel fizikteki bazı sorunları çözmede kullanılan Elektron Paramanyetik Rezonans tekniği 1940'lı yılların sonlarına doğru, değişik simetri gösteren kristallerdeki paramanyetik merkezin elektronik yapılarının ayrıntılı biçimde çözümlenmelerinde kullanılmaya başlamıştır. 1950'li yıllarda ise paramanyetik maddelerin kimyasal ve yapısal özelliklerini anlamak üzere kimyada kullanılmaya başlanmıştır. 1950'lerden sonra da EPR tekniği ile kimyasal tepkimeler veya ışınlama yolu ile kimyasal bileşiklerde oluşturulan paramanyetik merkez rolü oynayan serbest radikallerin tanımlanması ve yapılarının çözümlenmesi gibi yapıya ilişkin özellikleri incelemeye çalışılmıştır. Bu incelemeler sonucunda paramanyetik merkezin simetrisi, kimyasal bağ yapıları ve kimyasal tepkime süreçleri hakkında bilgiler elde edilmiştir. 1960'lı yıllarda ise büyük moleküller içeren biyolojik sistemleri örnek alarak inceleme alanını genişleten EPR tekniği ile daha sonraları canlı organlardan alınan örnekler incelenmeye başlanmıştır. Özellikle normal ve kanserli dokulardan alınan örneklerde g-spektroskopik yarılma çarpanı ve spin yoğunluğu ölçümleri üzerine birçok çalışma yapılmış ve nitel sonuçlar alınmıştır (Breit ve Rabi. 1961). Son yıllarda yapılan çalışmalar EPR tekniğinin farklı çalışma alanlarına doğru kaydığını göstermektedir. EPR serbest ve paramanyetik merkezlerin doğrudan tesbit edilmesinde etkili bir yöntem olduğu için spektroskopik yöntemler içinde önemini korumaktadır (Zavoısky 1945). Bu özelliği ile 1970 li yıllardan sonra EPR, yiyecek ve içecek maddelerinde değişik etkiler ile oluşturulan radikallerin ve paramanyetik

merkezin tespitinde kullanılmaktadır. Üretim anında kullanılan hormonlar, gübreler, tohumlar ve besinlerin uzun süre tazeliğini koruyabilmesi için radyasyona maruz bırakılması sonucu oluşan radikallerin tespiti için EPR çalışmaları yapılmaktadır (Apaydın 1991). Ayrıca EPR spektroskopisinde radyosterilizasyon sonucunda oluşan ve eşlenmemiş elektrona sahip serbest radikallerin oluşma mekanizmalarını, türlerini, yapılarını, miktarlarını ve bunların kararlılıklarını incelemede kullanılabilecek en duyarlı tekniktir (Bozkurt 2008). EPR tekniği kullanılarak çok sayıda ilacın radyasyon duyarlılığı literatürde incelenmiştir (Basly ve ark. 1998, Crucq ve ark. 1995, Damian 2002, Damian ve ark. 2005, Dimitrova ve ark. 1983, Duroux ve ark. 1966, Dziegielewski 1973, Fauconnet ve ark. 1996, Gibella 2000,1993, Hayes ve ark. 1980, Jacobs 1984, Miyazaki ve ark. 1994, Onori ve ark. 1996, Philips ve ark. 1973, Petrişor ve ark. 2007, Signoretti ve ark. 1993,1994, Cozar ve ark. 1997, Latonsinska ve ark. 2003, Miller-Mizia 1986). Paramanyetik olmayan, büyük biyolojik moleküller spin etiketleme tekniği ile de incelenebilmektedir. Bu yöntemde, moleküle herhangi bir serbest radikalin bağlanması sağlanarak, incelenecek molekül paramanyetik hale getirilir. Böylece molekülün çevresi hakkında önemli bilgiler elde edilir.

Bu çalışmada, kanserli hastalıkların tedavisinde ilaç etken maddesi olarak kullanılan busulfon, 5-florurasil, Megestrol Asetat ve Sodyum-2-Merkapto ethan Sulfonat gibi dört bileşiğin radyasyon duyarlılıkları ve gama ışınlaması sonucunda oluşan serbest radikallerin yapı karakterizasyonları Elektron Paramanyetik Rezonans spektroskopisi kullanılarak belirlendi. Ayrıca biyolojik olarak büyük öneme sahip L-sıtrullin, 3-floro-DL-valin, α-metil-DL-serin ve N-asetil-L-sistein amino grup asit bileşiklerinin toz kristalleri gama ile ışınlandı. Işınlama sonucu oluşan serbest radikaller, EPR tekniği ile incelendi ve spin hamiltoniyeni parametreleri belirlendi.

1.1. Gama Radyasyonunun Madde ile Etkileşmesi

Elektomanyetik ışınım ve parçacık özellikli, bütün radyasyon çeşitlerinin madde ile farklı etkileşmeleri olabilir. Yüksek enerjili elektromanyetik ışımanın madde ile etkileşmi üç temel şekilde gerçekleştiği bilinmektedir.

1) Atomun iç yörünge (sıkı bağlı) elektronlarıyla etkileşerek Fotoelektrik olayı, Bu olay sırasında gelen fotonun enerjisinin bir kısmı elektronu bağlı olduğu atomdan koparabilmek için harcanır, geri kalan kısmı ise koparılan elektrona kinetik enerji olarak aktarılır. Kurşun için foto-elektrik olay, 1 MeV'e kadar olan fotonlarla oluşabilir. Foton, elektron çarpışmaları düşük enerjilerde dış, yüksek enerjilerde iç yörüngelerde görülür (Kaçar 2006).

2) Atomun dış yörünge (zayıf bağlı ya da serbest) elektronlarıyla etkileşerek Compton Saçılması, şeklinde gerçekleşir. 0.6 ile 4 MeV enerjili bir foton serbest veya yörünge elektronu ile çarpışarak enerjisinin bir kısmını elektrona aktararak yön değiştirir. Enerji aktarılan elektron nedeni ile atom uyarılır veya iyonlaşır. Böylece meydana gelen elektrona Compton elektronu, bu olaya da Compton olayı denir. Elektron kütleli bir parçacık olduğu için fotonun bütün enerjisini absorblaması momentumun korunumu gereği mümkün değildir. Dolayısıyla foton, enerjisinin bir kısmını elektrona aktarıp saçılıma uğrayarak yoluna devam eder. Foton ile elektron arasında oluşan açı fotonun enerjisine bağlıdır.

3) Çift oluşum atomun çekirdek bölgesinde gerçekleşir ve enerjisi 1.022 MeV olan bir foton atom çekirdeğinin çok yakınından geçerse, kütlesi olmayan fotonun enerjisinden çekirdek yakınında aynı anda biri negatif yüklü elektron diğeri pozitif yüklü pozitron olmak üzere iki parçacık yaratılır. Böylece elektromanyetik bir dalgadan madde oluşur.

Bu üç olayın olma olasılığı fotonun enerjisine ve etkileştikleri maddenin atom numarasına bağlı olarak değişir. Bu olaylar sonucunda foton ya soğurulur ya da enerjisinin bir kısmını maddede bırakarak saçılır veya hiç enerji bırakmadan yön değiştirir (Khan 2003, Yülek 1992).

γ, X ve β ışımaları, bazı inorganik maddelerde tersinir veya kalıcı olmayan hasarlar doğururken, Organik maddelerde ise, örneğin gıda maddeleri, ilaçlar ve polimerler gibi

maddelerde çok önemli ve kalıcı hasarlara neden olabilir (Alpen 1990, TAEK Gıda Işınlama Kursu 2002, Özalpan 2001).

Farmasotikler 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 ara ürünlerin oluşmasına sebep olurlar (Gopal 1978). Uyarılmış moleküllerin ve radikallerin yerel konsantrasyonları ışınlama sonucu oluşan serbest elektronların yerel konsantrasyonuna bağlıdır. Yüksek enerjili radyasyonun madde ile etkileşmesi sonucu maddede oluşan kimyasal ve fiziksel değişikliklerin karekterizasyonlarının yapılması başka bir deyimle bu radikallerin türleri, yapıları, miktarları, sönüm mekanizmaları, yarı ömürleri EPR yöntemi ile belirlenebilir.

Elektron Paramanyetik Rezonans (EPR) yöntemi (McLaughlin, 1993; Angelis ve ark. 2000; Bogushevich ve Ugolev, 2000) başlıca doz ölçme teknikleridir. Geniş bir aralıkta doz ölçümüne imkân vermesi, güvenilir ve kesin sonuca götürmesi, aynı madde üzerinde çok sayıda ölçüm yapılmasına imkân vermesi, EPR yöntemini daha avantajlı bir duruma getirmiştir. Işınlanan maddenin soğurduğu doz miktarı ve ışınlama sonucunda meydan gelen eşlenmemiş elektrona sahip moleküler radikallerin, yapıları kararlılıkları ve miktarları EPR spektroskopisi yardımıyla belirlenebilir (Dood ve ark. 1985; Bassly ve ark. 1998; Onori ve ark. 1996; Desrosiers ve Simie 1998; Raffi 1992; Bögl 1998).

1.2. Elektron Paramanyetik Rezonans (EPR) Kuramı

1.2.1. Elektronun Spin ve Yörünge Manyetik Momenti

Ölçülebilen tüm niceliklerde olduğu gibi klasik fizikte, açısal momentumun da sürekli değerler alabileceği, v hızı ile dönen *m* kütleli bir parçacığın açısal momentum vektörünün her zaman dönme düzlemine dik olacağını söyler. Kuantum mekaniği ise açısal momentumun kuantumlu ve sadece kesikli belirli değerler alabilen vektörel bir nicelik olduğunu söyler.

Göreli olmayan ve *xy*-düzleminde bir v hızı ile dönen *m* kütleli parçacığın klasik açısal momentumu,

$$|\mathbf{L_z}| = |(\mathbf{a_o} \text{x } m\mathbf{v})| = mva_o \tag{1.1}$$

biçimindedir. Bu denklemde, *m* parçacığın kütlesi, v hızı ve a_o parçacığın dönme yarıçapıdır. Eğer bu parçacık bir *q* elektrik yüküne sahip ise, parçacığın yörüngede hareketinden dolayı meydana gelen akım,

$$I = \frac{q}{T} = qv \quad , \quad I = \frac{qv}{2\pi a_0} \tag{1.2}$$

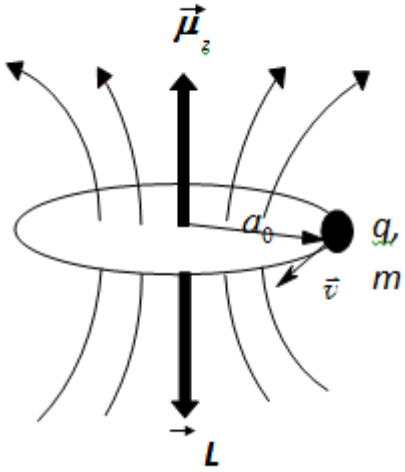
olur. Bu akım da, dönme düzlemine dik doğrultuda bir manyetik alan meydana getirir, bu da manyetik dipol momentine eşdeğerdir (Şekil 1.1). Parçacığın yörünge düzlemi içinde kalan alanı *A* ile gösterilirse, parçacığın manyetik dipol momenti,

$$\boldsymbol{\mu_z} = \mathbf{IA} \tag{1.3}$$

$$\mu_z = \frac{qv}{2\pi a_0}\pi a_0^2 = \frac{qva_0}{2} \tag{1.4}$$

olur. Denk. 1.8 *m* ile çarpılıp bölündüğünde,

$$\mu_z = \frac{qmva_0}{2m} \tag{1.5}$$



Şekil 1.1. a_o yarıçaplı yörüngede **v** çizgisel hızı ile hareket eden q yüklü parçacığın **L** açısal momentumu ve **μ** manyetik dipol momenti gösterimi.

$$\mu_z = \frac{q}{2m} L_z \tag{1.6}$$

şeklinde yazılabilir. ß= qħ/2m tanımından yararlanarak Denk. 1.10,

$$\mu_z = \beta \frac{L_z}{\hbar} \tag{1.7}$$

biçiminde yazılır. Yörünge açısal momentumun *z* bileşeni kuantumlu olup, L_z bileşeninin büyüklüğü,

$$L_z = m_\ell \hbar \tag{1.8}$$

dır. Burada m_ℓ , $+\ell$ den $-\ell$ ye kadar $(2\ell+1)$ tane değer alır ve yörüngesel manyetik açısal kuantum sayısı olarak bilinir. Denk. 1.12, Denk. 1.11 de yerine yazılırsa,

$$\mu_z = ßm_\ell \tag{1.9}$$

olur. Elektronun spin dipol momenti, kendi içindeki yük dağılımından kaynaklanır. Yörüngesel dipol moment yaklaşımı esas alınır ve spin kuantum sayısı *s*=1/2 deneysel sonucu kullanılırsa, spin açısal momentumunun büyüklüğü,

$$|\mathbf{S}| = [s(s+1)]^{1/2} \hbar \tag{1.10}$$

olur. Spin açısal momentumunun *z* bileşeni de,

$$S_z = m_s\hbar \tag{1.11}$$

biçiminde tanımlanır. Spin manyetik momenti ile spin açısal momentumu arasındaki ilişki, yörünge durumuna benzer olarak ele alındığında,

$$\boldsymbol{\mu} = -g\, e\hbar\mathbf{S}/2m_e = -g\beta\mathbf{S} \tag{1.12}$$

olur. Spin manyetik momentin z bileşeni ise,

$$\mu_{sz} = -g\beta m_s \tag{1.13}$$

biçiminde olur. Burada m_s spin kuantum sayısı olup $+S$ den $-S$ ye kadar $(2S+1)$ tane değer alır. Yörüngesel hareket içermeyen sadece elektron spin açısal momentum durumunda $g = 2$ olup, boyutsuzdur (Bransden 1989). Toplam manyetik momente, hem yörünge hem de spin açısal momentumdan katkı gelir. *Landé g* faktörü veya spektroskopik yarılma faktörü olarak isimlendirilen *g*, bu katkıları içerir ve elektronun dolandığı elektronik yörünge hakkında bilgi verir. Elektronun ve çekirdeğin manyetik momentleri için Denk.1.16, elektronun yükü $-e$ ve çekirdeğin yükü $+e$ olmak üzere,

$$\boldsymbol{\mu_e} = -g\,\underline{e\hbar}\,\mathbf{S}/2m_e = -g\beta\mathbf{S} \tag{1.14a}$$

$$\boldsymbol{\mu_N} = +g_N\, e\hbar\,\mathbf{I}/\,2m_p = +g\beta_N\mathbf{I} \tag{1.14b}$$

biçiminde yazılabilir. Denk. 1.18a ve 1.18b eşitliklerinde, **S** ve **I** sırasıyla elektron ve çekirdeğin spin açısal momentum vektörleri, m_e ve m_p elektron ve protonun kütleleri β ve β_N ise elektron ve çekirdeğin Bohr manyetonları olup değerleri $\beta = 9.27408\text{x}10^{-21}$ erg/G ve $\beta_N = 5.05095\text{x}10^{-24}$ erg/G' tur. Çekirdek ile elektronun yükleri zıt işaretli olduğundan manyetik momentleri de buna bağlı olarak zıt işaretlidir.

1.2.2. Bir Dipolün Manyetik Alanla Etkileşmesi

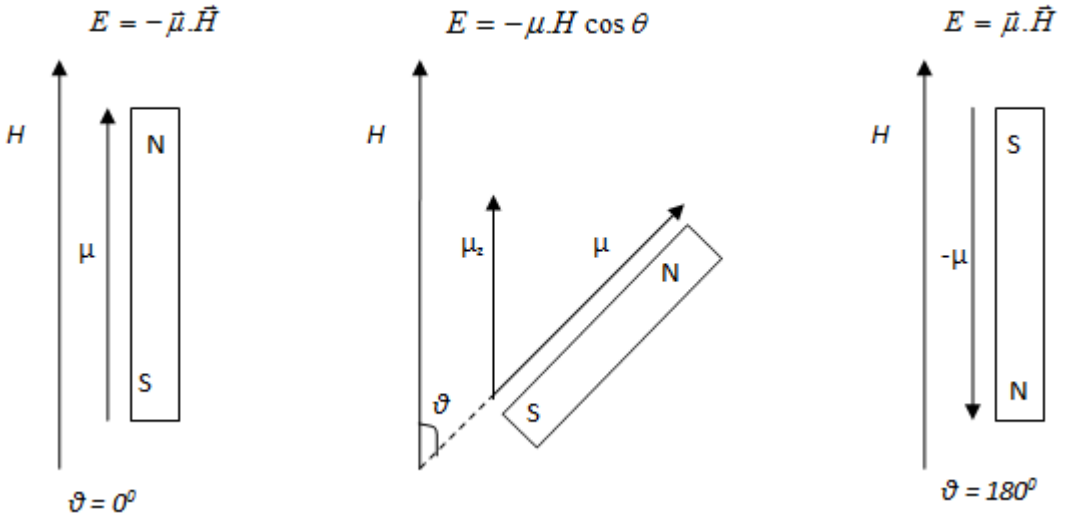
H şiddetinde bir manyetik alan içine manyetik dipol momenti **μ** olan bir sistem konulduğunda sisteme,

$$\boldsymbol{\tau} = \boldsymbol{\mu}\mathbf{x}\mathbf{H} \tag{1.15}$$

biçiminde bir tork etki eder. Bunun yaptığı iş, yani manyetik dipol momentiyle alan arasındaki etkileşme enerjisi,

$$E = -\boldsymbol{\mu}.\mathbf{H} = \mu H\cos\theta \tag{1.16}$$

şeklindedir. Burada θ, manyetik alan vektörü **H** ile manyetik moment vektörü **μ** arasındaki açıdır. EPR nin ilk tanımlarının çoğunda serbest elektron, bir **H** manyetik alanına konulan ve **μ** manyetik momentine sahip küçük bir mıknatıs çubuğuna benzetilir (Şekil 1.2) (Wertz ve Bolton. 1972). Denk. 1.16' daki manyetik moment elektronun spininden ileri geliyorsa, Denk. 1.18a kullanılarak enerji,



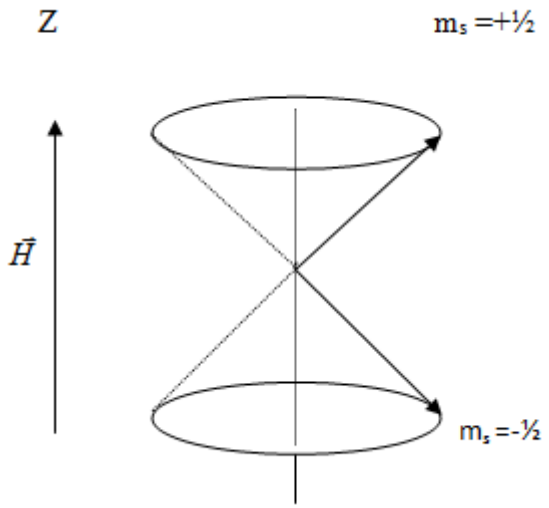
Şekil 1.2 Manyetik alan ve dipol momenti arasında θ açısının bir fonksiyonu olarak klasik manyetik bir dipolün enerjisi.

$$E = -(-g\beta\mathbf{S}).\mathbf{H} = g\beta\mathbf{S}.\mathbf{H} \qquad (1.17)$$

olur. Manyetik alan +z yönünde seçilirse yani $\mathbf{H} = \mathbf{H_z k}$ durumunda, elektron spini z doğrultusunda kuantumlanacaktır. Spini S=1/2 olan elektron için S_z bileşeni m_s ile gösterilir ve m_s = -S, -S+1, ... , S-1, +S = 2S+1 olduğundan, enerji seviyesi sayısı çokluktan 2(1/2)+1= 2 bulunur, m_s = -½, +½ olmak üzere iki değer alır (Şekil 1.3). Bu durumda Denk. 1.21

$$E_{ms} = g\beta H_z S_z = g\beta H z m_s \qquad (1.18)$$

şeklinde yazılır.



Şekil 1.3 Elektron spin vektörünün $m_s = ½$ ve $m_s = -½$ için manyetik alanda yönelimi.

Spin vektörü manyetik alan etrafında bir koni yüzeyi süpürecek biçimde bir presesyon hareketi yapar ve alan doğrultusundaki izdüşümü, $S_z = \pm½\hbar$ dır. Elektron spininin kuantumlu enerjisi,

$$E_{+1/2} = g\beta H_z(+½) = (+½)\, g\beta H_z \qquad (1.19a)$$

$$E_{-1/2} = g\beta H_z(-½) = (-½)\, g\beta H_z \qquad (1.19b)$$

biçiminde elde edilir. Bu enerji seviyeleri manyetik alan uygulanmadan önce katmerlidir. Manyetik alan uygulandığında katmerlilik ortadan kalkar ve uygulanan alanla orantılı olarak enerji seviyelerinin arası ayrılır. Denk. 1.23a ve 1.23b deki iki enerji seviyesi arasındaki fark,

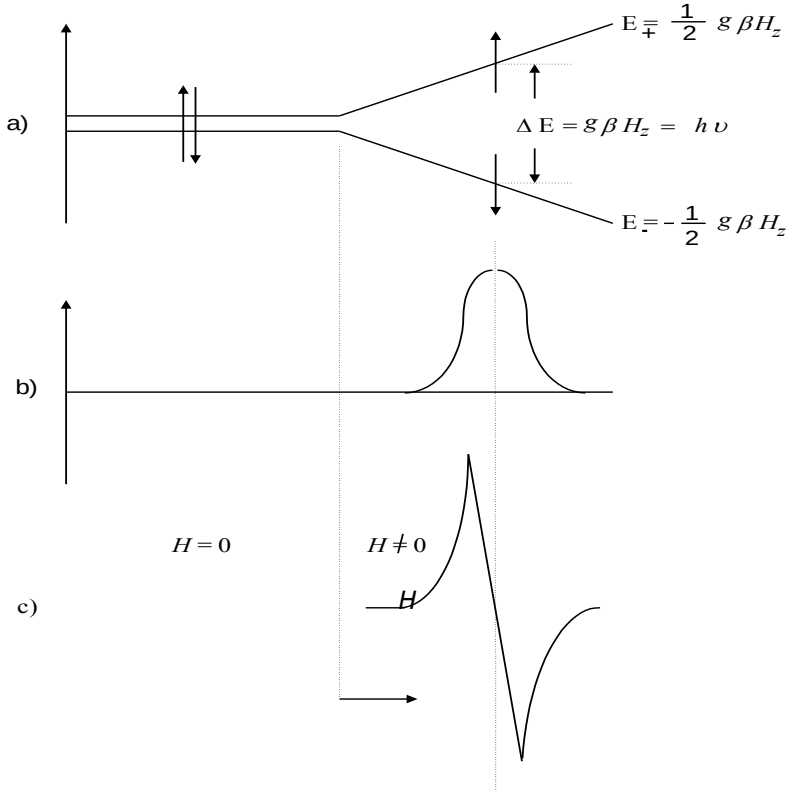
$$\Delta E = E_{+1/2} - E_{-1/2} = (+½)\, g\beta H_z - (-½)\, g\beta H_z = g\beta H_z \qquad (1.20)$$

olur (Atherton 1973). Elektrona, bu seviyeler arası enerji farkına eşit, $\Delta E = h\nu$ kadar enerji taşıyan bir elektromanyetik dalga (mikro dalga) gönderilirse,

$$h\nu = g\beta H_z \qquad (1.21)$$

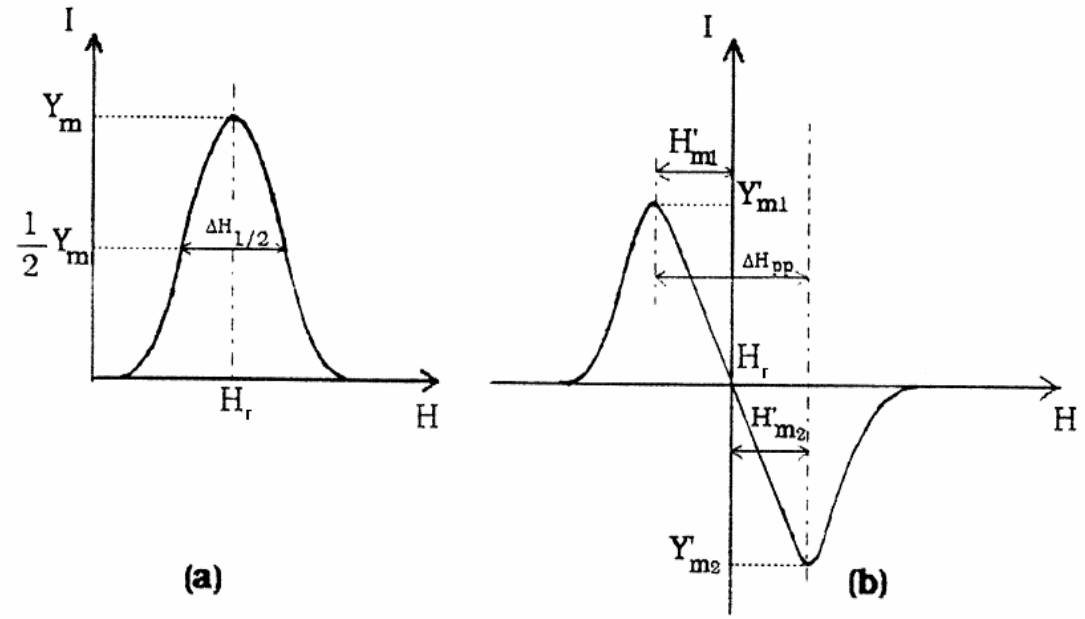
elektron üst enerji seviyesine uyarılır. Yani iki Zeeman enerji seviyesindeki spinlerin Boltzman dağılımına mikrodalga alanları geçişler yaptırır. Bu esnada elektron enerji soğurduğundan bir sinyal gözlenir. İşte bu *Elektron Paramanyetik Rezonans*'ın gerekli ve yeterli şartıdır. Teknik nedenlerden dolayı genellikle soğurmanın birinci türev veya

ikinci türev eğrisi çizdirilir (Şekil 1.4) (Başkan 2004). EPR geçişleri rezonans koşulunun sağlandığı H_z manyetik alanı ve ν frekansında gözlenir. Serbest elektron için g = 2.0023 olup ν = 9.4 GHz frekanslı bir mikrodalga için EPR geçişi, H_z = 3354 Gauss'ta gözlenir (Wertz ve Bolton 1972, Assenheim 1966).



Şekil 1.4 a) Elektronun dış manyetik alan içindeki enerji seviyelerinin yarılması.
b) Rezonans koşulu sağlandığı zaman gözlenen soğurma sinyali,
c) Soğurma sinyalinin birinci türevi.

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 1.5a ve 1.5b' de verilmiştir.



Şekil 1.5 Tek çizgili bir ESR spektrumunu karakteristik özellikleri
a) soğurma b) birinci türev eğrisi.

Şekildeki Hr incelenen örneğin rezonans alan değerini, ΔHpp 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, (1.26) ve (1.27) bağıntıları ile verilmiştir.

$$A=(2\pi e)^{1/2}.(\tfrac{1}{2}\,\Delta Hpp)^2\, Y'm \qquad \text{(Gauss Eğrisi)} \qquad (1.22)$$

$$A_L=2\pi/3.\,(\Delta Hpp)^2\, Y'm \qquad \text{(Lorentz Eğrisi)} \qquad (1.23)$$

1.2.3. EPR Spektrumlarının İzotropik veya Anizotropik Olması

Spektrumda ölçülen spektroskopik a ve g değerleri kristalin eksenleri ile manyetik alan arasındaki açıya bağlı olarak değişmiyorsa bu türden olan örneklere izotropik, açıya bağlı bir değişim söz konusu ise bu türden örneklere de anizoropik denir. İzotropik veya anizotropik özelikler molekülün kristal simetrisine bağlıdır. Oktahedral, tetrahedral ve küp simetriye sahip yapılarda üç asal eksen değerleri aynı ($g_x= g_y= g_z$) olduğundan izotropik durum olarak bilinir. Bu tür örneklerde tek kristal ile toz spektrumları arasında bir fark yoktur. Çünkü toz kristalleri çeşitli yönlerde

yönlenmiş küçük kristallerden meydana gelmiştir. Bu durumda radikal manyetik alanda çeşitli yönelimler gösterdiği için spektrum zarf halindedir. Ortalaması hep aynı değerdedir. Toz kristallerin içine bir paramanyetik iyon ilave edilirse veya ışınlama ile paramanyetik merkez oluşturulursa elde edilen spektrum ile madde hakkında bilği sahibi olabiliriz. İki asal eksen değeri eşit fakat diğeri farklı ise, $g_{\perp} = g_x = g_y$, $g_{//} = g_z$ bu durum g' nin eksensel simetri durumuna karşılık gelir. Burada $g_{//}$, manyetik alan simetri eksenine paralel olduğunda, $g_{\perp}$ ise dik doğrultuda ölçülen esas eksen değeridir. $a_{//}$ değeri, çizgi grubu varsa ve çizgi genişliği aşırı ince yapı etkileşme değerinden küçükse hesaplanabilir. $a_{\perp}$ ve $g_{\perp}$ değerlerini ise şiddeti büyük olan çizgi ve çizgi grubundan hesaplayabiliriz. $a_{\perp}$ değerini de $a_{//}$ değeri gibi buluruz. İzotropik a ve g değerleri,

$$g_{izo} = 1/3\ (g_{//} + 2g_{\perp}) \tag{1.24}$$

$$a_{izo} = 1/3\ (a_{//} + 2a_{\perp}) \tag{1.25}$$

olarak bulunur. $a_{\perp}$ ve $g_{\perp}$ değerlerinin iki ile çarpılmasının sebebi iki tane dik eksen olduğundan dolayıdır. Üç asal eksen değeri de birbirinden farklı ise bu yapıya rombik yapı denir. Bu durumda,

$$g_{izo} = 1/3\ (g_x + g_y + g_z) \tag{1.26}$$

olarak bulunur. Aşırı ince yapı yarılması değeri varsa a_{izo} değerini ise,

$$a_{izo} = 1/3\ (a_x + a_y + a_z) \tag{1.27}$$

ifadesi ile bulabiliriz. Bu spektrumlardan, spektroskopik yarılma faktörü, aşırı ince yapı etkileşmesi, eşlenmemiş elektronla, etkileşen manyetik çekirdeğin sayısını, çizgiler arasındaki mesafe ve spektrumun ortasının manyetik alan cinsinden değerini, örnekteki radikal yoğunluğu, dönme hareketi, spin-örgü durulma zamanı gibi fiziksel nicelikler tesbit edilebilir.

1.3. EPR Spektroskopisi ile Radikal Belirlenmesi

İyonlayıcı radyasyon ile uyarılan moleküller kararsız hale geçerler ve bu kararsızlıktan kurtulmak için parçalanarak enerjilerini kaybederler. Bu ara ürünler çoğunlukla tepkimeye girme eğilimleri yüksek olan birimlerdir ki bazıları eşlenmemiş elektrona sahiptirler. Eşlenmemiş elektrona sahip olan bu birimlere serbest radikal adını

vermiştik. Serbest radikaller, atomik ya da moleküler yörüngelerinden birisinde eşlenmemiş elektron içeren yüksek oranda kararsız (reaktif) kimyasal ürünlerdir (Southarn ve Powi 1993). Aşırı kararsız (reaktif) olan bu maddeler diğer atom ve moleküllerle elektron alışverişine girerek, onların kimyasal yapılarını değiştirip kararsız bir atom haline getirme eğilimindedirler. Bu nedenle radikaller, başka moleküllerle birkaç mekanizma ile reaksiyona girerek onları da kararsız yapılar haline getirirler (Thomas 1995). Karbon merkezli radikallerin DNA ile etkileşen kararsız (reaktif) türler olduğu bilinmektedir (Augusto 1993). Serbest radikaller kararlı yapıları nedeniyle uzun ömürlü olabildikleri gibi, kimyasal tepkimeye girme eğilimleri yüksek olduğunda genelde karasız bir eğilim sergileyerek sönüme uğrarlar. Gaz fazında tetrametil kurşunun ısıtılmasıyla oluşan metil radikalinin ömrü 10^{-3} s dir. Bunun gibi ömrü kısa olan radikaller gaz fazında elde edilemez; bunlar ancak radikal reaksiyonlarında ara ürün olarak meydana gelir ve kararsız radikaller olarak bilinirler. Azot atmosferinde hatta havada bile uzun süre saklanabilen kristalik katı radikallerde elde edilmiştir; bunlara da kararlı radikaller denir (Tüzün 1999). Hem katı ortamlarda hem çözeltilerde kararlı olan radikaller bulunmaktadır. Ancak çözeltilerdeki radikaller yüksek hareket serbestileri nedeniyle genel olarak çok uzun ömürlü değillerdir.

Serbest radikallerin fiziksel ve kimyasal özelliklerini şöyle sıralayabiliriz;

a) Halojenler, oksijen, NO, NO_2 gibi radikal niteliğinde olan bileşiklerle kolay reaksiyon verirler.

b) Tek elektronun bir spin manyetik momenti vardır ve küçük bir mıknatıs gibidir; bunun sonucu olarak; güçlü mıknatıslarla çekilir (paramanyetik özellik) ve yüksek frekanslı manyetik alanda enerji soğurarak "elektron paramanyetik rezonans" (EPR) spektrumları elde edilebilir,

c) Tek elektron, görünür bölge spektrumunda (λ=400-700 nm) seçimli olarak ışık soğurması yapar ve renkli olmasını sonuçlar. Bunun nedeni, EPR nin uyarılma frekansının mikrodalga bölgesinde bulunması ve bunun üst harmoniklerinin görünen bölgeye düşmesidir. Harmonikler de ışığı soğurur ve buda renkliliğe neden olur. Klor, brom ve iyodun renkli olması oda sıcaklığında bile serbest radikallerin bulunduğunu gösterir. NO_2 renklidir, NO nun renksiz olmasının nedeni soğurmanın UV bölgesinde

olmasındandır (Bozkurt 2008, Tüzün 1999). Eşlenmemiş elektrona sahip olmaları nedeniyle, serbest radikaller manyetik özellik sergilerler. Manyetik özelliğe duyarlı olan EPR spektroskopisi, serbest radikalleri ve serbest radikallerin neden olduğu tepkimeleri dinamik yolla incelemede kullanılan en hassas yöntemdir. EPR yöntemi kullanılarak serbest radikallere ait en çok kullanılan ve yararlı bilgiler veren değişkenler:

a) radikallerin sahip olduğu eşlenmemiş elektronla ilgili olarak radikali karakterize eden spektroskopik yarılma çarpanı g (çizginin yeri),

b) eşlenmemiş elektronun üzerinde lokalize olduğu çekirdek ve komşu çekirdeklerle etkileşmelerinin büyüklüğünü gösteren aşırı ince yapı etkileşme sabiti a (çizgiler arası uzaklık),

c) aşırı ince yapı veren çekirdek sayısı (çizgi sayısı),

d) rezonans çizgisi altında kalan alan (çizgi şiddeti),

e) radikal konsantrasyonları ve bu radikallerin yaşam süreleri,

spektroskopik yarılma çarpanı g, spektrum çizgilerinin rezonans alan değerleri ile, aşırı ince yapı sabiti a rezonans çizgileri arasındaki uzaklığın ölçülmesi ile, eşlenmemiş elektron ile etkileşmeye giren çekirdeklerin sayıları ve türleri de rezonans çizgi sayısı ve şiddet oranlarının hesaplanmasıyla elde edilir. Sinyal şiddeti örnek içerisinde bulunan radikal miktarı hakkında, çizgilerin genişlikleri ve şiddetlerinde zamanla ortaya çıkan değişimlerde radikallerin diğer moleküllerle olan etkileşme ve saturasyon (durulma) mekanizmaları hakkında bilgi verir. Tüm bu özellikler yardımı ile radikallerin türleri, yapıları ve dinamik özelliklerine ilişkin bilgiler elde edilebilir. Işınlama sonucunda örneklerde oluşan serbest radikallerin miktarları ile ilgili bilgi edinebilmek için EPR doz-cevap eğrileri oluşturulur ve bu serbest radikallerin zaman içerisindeki sönüm mekanizmaları incelenerek yarı ömürleri tayin edilir. Bu bağlamda EPR spektroskopisi doz tayininde kullanılabilecek en uygun ve güvenilir tekniklerden biridir.

1.4. Spin Hamiltoniyeni

Spin Hamiltoniyeni, sadece elektron-zeeman etkileşmesi dikkate alınarak. ilk olarak 1951 yılında Abraham ve Pryce tarafından kullanılmıştır (Birey 1989). Ancak,

kristal içindeki paramanyetik merkezin veya iyonun manyetik alan içindeki enerjisini ifade eden hamiltoniyen, çeşitli terimlerden meydana gelmiştir. EPR için önemli olan hamiltoniyen terimleri,

$$H = ß\mathbf{H.g.S} - ß_N\mathbf{H.g_N.I} + \mathbf{S.A.I} + \mathbf{S.D.S} + \mathbf{I.Q.I} + \lambda(r)\mathbf{L.S} + \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots(1.28)$$

şeklindedir. Denk. 1.28 deki birinci terim dış manyetik alan ile elektron spini arasındaki etkileşmeyi temsil eden *elektron Zeeman* terimidir. İkinci terim dış manyetik alan ile çekirdek spini arasındaki etkileşmeyi temsil eden *çekirdek Zeeman* terimidir. Üçüncü terim elektron spini ile çekirdek spini arasındaki etkileşmeyi temsil eden *aşırı ince yapı* terimidir. Dördüncü terim iki veya daha fazla elektron spinleri arasındaki etkileşmeyi temsil eden *ince yapı* terimidir. Beşinci terim çekirdek spinleri arasındaki *çekirdek dört kutup (kuadrupole)* terimidir. Altıncı terim *spin-yörünge* etkileşmesini temsil eder.

Bazı özel durumlarda bu terimlere ek olarak, sıcaklığa bağlı *spin-dönme, manyetik alan-yörünge* ve *kristal alanı* gibi terimler de eklenebilir. İlgilenilen konuya bağlı olarak uygun terimler göz önüne alınır, diğerleri ihmal edilir. Bu seçim tamamen problemin niteliğine bağlıdır.

EPR spektroskopisinden elde edilen bilgiler, yukarıda belirtilen spin hamiltoniyenindeki çeşitli değişkenler ve bu değişkenlerin özelliklerine bağlı olarak elde edilir.

1.4.1. Elektron Zeeman ve Spin-Yörünge Etkileşmesi

Atomların çoğunda, elektronların yörünge hareketinden dolayı bir **μ** manyetik momentleri vardır. Bu durumdaki bir atoma bir **H** dış manyetik alanı uygulanırsa, atomun enerji seviyelerinde **–μ.H** kadar bir değişme olur. Dış manyetik alan yardımı ile atomların spektrumlarının yarılması olayına *Zeeman Olayı* denir.

Elektron paramanyetik rezonansta *g* çarpanı, yerel alanla örneğe uygulanan *H* manyetik alanı arasındaki farkın bir ölçüsüdür. Bu nedenle paramanyetik moleküllerdeki eşlenmemiş elektronun *g* çarpanı farklı olur. Bir serbest elektron için rezonans koşulu $h\nu = g_e ßH$ dır ve $g_e = 2$ dir. Bir radikal veya komplekste olduğu gibi bir ortamda elektron, uygulanan *H* alanından başka yerel alanlardan da etkilenmesi nedeniyle *g*-çarpanı spektroskopik yarılma çarpanı olur. Uygulanan alan ile yerel alan

arasındaki fark *g*-çarpanı içinde saklıdır ve rezonans koşulunda g_e yerine g yazılır. Böylece, eğer elektron moleküler bir yörüngede değilse, $g = g_e$ ve elektron bir atoma ait ise, $g = g_j$ yani *Lande g çarpanı* olur.

Elektron zeeman veya manyetik alan elektron spini etkileşim hamiltoniyeni,

$$H_{SH} = g\beta \mathbf{H.S} \qquad (1.29)$$

şeklinde olur. Burada, saf spin hareketi için g faktörü $g = 2$ değerini alır. Serbest bir elektronunu yörüngesi olmadığından $g_e = 2$ olması gerekirken, göreceli hareketin etkisi nedeniyle $g_e = 2.0023$ olur. Göreceli Dirac denklemlerinin çözümü sonucu bu değerler teorik olarak $g_e = 2.002319288$ olarak bulunmuştur (Harriman 1978).

1.4.2. Aşırı İnce Yapı Etkileşmesi

Bir paramanyetik merkez ya da radikalde eşlenmemiş elektron, sadece dışarıdan uygulanan bir manyetik alanla etkileştiğinde, EPR spektrumunda tek bir çizgi gözlenir. Bu durum, spektrumda sadece yapının g değeri hakkında bilgi verir. Eğer spektrumda birden fazla çizgi varsa, bu spektrumun oluşmasını sağlayan farklı etkilerin olduğunu gösterir. Bu etkileşmelerin varlığını açıklayabilmek için bir tek eşlenmemiş elektron içeren molekül göz önüne alınır. Böyle bir moleküldeki elektron için ilk etkileşme yakınındaki çekirdeklerden kaynaklanır. Bu çekirdekler açısal momentumuna sahip olduklarından çekirdek spin kuantum sayıları 0, 1/2, 1, 3/2,...değerlerinden biri olacaktır.

Eşlenmemiş elektronun yanında $I \neq 0$ olan bir çekirdek varsa, çekirdeğin sahip olduğu manyetik momentten dolayı manyetik alan meydana getirecektir. Bundan dolayı molekül içindeki elektron sadece dışardan uygulanan manyetik alanın etkisinde değil, aynı zamanda çekirdeğin oluşturduğu yerel manyetik alanın etkisinde de kalacaktır. Böylece elektrona etki eden toplam manyetik alan,

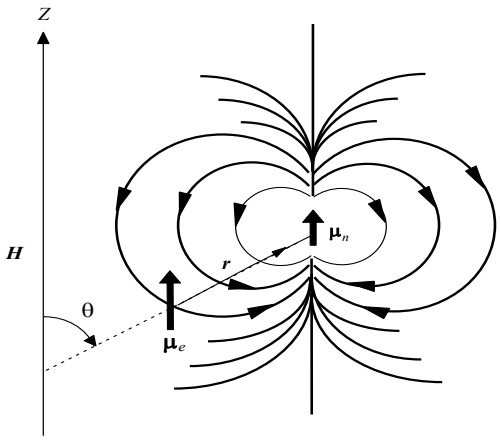
$$H_{et} = H + H_{ç} \qquad (1.30)$$

olur. Burada H, dışardan uygulanan, $H_{ç}$ ise çekirdeğin oluşturduğu yerel manyetik alandır. Eşlenmemiş elektron ile çekirdek arasındaki bu etkileşmeye *aşırı ince yapı etkileşmesi* denir.

Elektron ile çekirdek arasındaki aşırı ince yapı (a.i.y.) etkileşmesi, iki spin arasındaki dipol-dipol etkileşmesi olarak düşünülürse; çekirdeğin, elektronun bulunduğu yerde oluşturduğu yerel manyetik alanın dış manyetik alan doğrultusundaki bileşeni;

$$H_{yz} \propto \mu_{Nz} \frac{3\cos^2\theta}{r^3} \qquad (1.31)$$

olacaktır. Burada μ_{Nz}, çekirdeğin manyetik momentinin *z* doğrultusundaki bileşeni, θ, *z*-ekseni ile çekirdek-elektron doğrultusu arasındaki açı ve *r* ise çekirdek ile elektron arasındaki uzaklıktır (Şekil 1.6). Şekildeki eğriler manyetik akı çizgileridir.



Şekil 1.6 Elektronun spini ile çekirdek spini arasında meydana gelen dipolar etkileşme.

Yerel manyetik alan, Denk.1.52'ya göre büyük ölçüde yönelime bağlıdır. Eğer elektron, *s* atomik yörüngesinde olduğu gibi, eşit yönelmelere sahip ise

$$\left\langle 3cos^2\,\theta - 1 \right\rangle = \frac{\int_0^{2\pi}\int_0^{\pi}\left(3\cos^2\theta - 1\right)\sin\theta\; d\theta\; d\phi}{\int_0^{2\pi}\int_0^{\pi}\sin\theta\; d\theta\; d\phi} = 0 \qquad (1.32)$$

olduğundan yerel manyetik alan sıfırdır. O halde hidrojen atomunda eşlenmemiş elektron 1*s* yörüngesinde olduğu için protonun oluşturduğu ortalama yerel manyetik alan sıfır olacak ve aşırı ince yapı yarılması gözlenmeyecektir. Fakat aşırı ince yapı yarılmasının yönelimden bağımsız sıfırdan farklı bir sabit bileşeni vardır. Bu yarılmanın kaynağı dipolar etkileşme olamaz. Bir eşlenmemiş elektron ile bir proton arasında, yönelimden bağımsız olarak ortaya çıkan etkileşmeye *izotropik spin- spin etkileşmesi* ya da *Fermi etkileşmesi* denir.

Aşırı ince yapı etkileşmesi izotropik olabileceği gibi, anizotropik (eşlenmemiş elektron ile çekirdek arasındaki dipol-dipol etkileşmesinin yönelime bağlı olduğu durum) de olabilir.

1.4.3. İzotropik Aşırı İnce Yapı Etkileşmesi

Elektron ile çekirdek arasındaki aşırı ince yapı etkileşmesi, iki spin sistemi arasındaki dipol-dipol etkileşmesi olduğundan, manyetik momentleri μ_1 ve μ_2 olan iki dipol gözönüne alınırsa; klasik elektromanyetik teoriye göre, bu manyetik momentlerden biri diğerinin bulunduğu yerde bir manyetik alan oluşturacaktır. Bu iki dipol arasındaki etkileşme Hamiltoniyeni,

$$H = \boldsymbol{\mu_1.\mu_2/r^3 - 3/r^5\,(\mu_1.r_1)(\mu_2.r_2)} \qquad (1.33)$$

ifadesiyle yazılır. Sistemde N tane dipol olduğunda, bu dipollerin tümünün oluşturduğu yerel alanın toplamı gözönüne alınır. Böyle bir sistemdeki dipol-dipol etkileşmesine karşılık gelen enerji;

$$E = \mathbf{H.\mu_z} \qquad (1.34)$$

$$H_{yerel} = \frac{3\cos^2\theta}{r^3}\,\mu_{Iz}$$

olduğundan,

$$E = \frac{3\cos^2\theta\ \mu_{lz}\mu_z}{r^3} \qquad (1.35)$$

olacaktır. Elektron üzerine yerel alanın katkısı θ açısına bağlı olarak dış alana ilave veya fark şeklinde olabilir. Denk.1.55 'a göre yerel manyetik alan büyük ölçüde yönelime bağlıdır. Elektron uzayda bir noktada yerleşik olmadığı için elektronun etkisinde kaldığı toplam yerel manyetik alan, onun tüm uzaydaki yönelimleri üzerinden alınması durumunda ortalama değere yakın olacaktır.

Eğer elektron s atomik yörüngesinde olduğu gibi eşit yönelmelere sahip ise ortalama yerel alanın değeri için, bir küre yüzeyi üzerinden $\cos^2\theta$'nın ortalaması,

$$<\cos^2\theta> = \frac{\int_0^{2\pi}\int_0^{\pi}\cos^2\theta\sin\theta d\theta d\phi}{\int_0^{2\pi}\int_0^{\pi}\sin\theta d\theta d\phi} = \frac{1}{3} \qquad (1.36)$$

olur. Denk. 1.55 de bu değerler yerine yazılırsa H_{yerel} ortadan kalkar. Buradan da *s* yörüngesindeki elektron dağılımı küresel simetrik olduğundan a.i.y. yarılmasının kaynağının dipolar etkileşme olmadığı söylenebilir.

Fermi etkileşmesinin oluşabilmesi için elektronun, çekirdeğin yanında bulunabilme olasılığının sıfırdan farklı olması gerekir. Elektronun *s* atomik yörüngeleri bu koşulu sağlar. Ancak elektronun *p, d, f,* ... atomik yörüngelerde bulunması bu koşulu sağlamaz. Çünkü *p, d ,f,...* yörüngelerinin hepsi çekirdekte düğümlere sahiptir. Fermi, bir elektronlu sistemler için izotropik etkileşme enerjisinin

$$E_{izotropik} = -8\pi/3\ \ \mu_N.\mu_e|\psi_{(0)}|^2 \qquad (1.37)$$

ile verildiğini göstermiştir. $|\psi_{(0)}|^2$, elektronun çekirdekte bulunma olasılığıdır. Elektron ve çekirdeğin manyetik dipol momentlerinin etkileşme enerjisi, spin vektörleri cinsinden,

$$\mu_N = g_N\beta_N\mathbf{I} \text{ ve } \boldsymbol{\mu}=-g\beta\mathbf{S} \qquad (1.38)$$

$$H^f_{SI} = 8\pi/3\ \ g\ g_N\ \beta\beta_N\ |\psi_{(0)}|^2\mathbf{S.I} \qquad (1.39)$$

olur. Sabitler *a* ile gösterilirse

$$H^{f}sı = a\ \mathbf{S.I} \qquad (1.40)$$

olur. *a* izotropik a.i.y.etkileşmesidir ve elektronun çekirdek içinde bulunma olasılığı $|\psi_{(0)}|^2$ ile orantılıdır. Bu değer, aşırı ince yapı etkileşmesinin varlığında ardışık geçişler arası farkın bir ölçüsüdür.

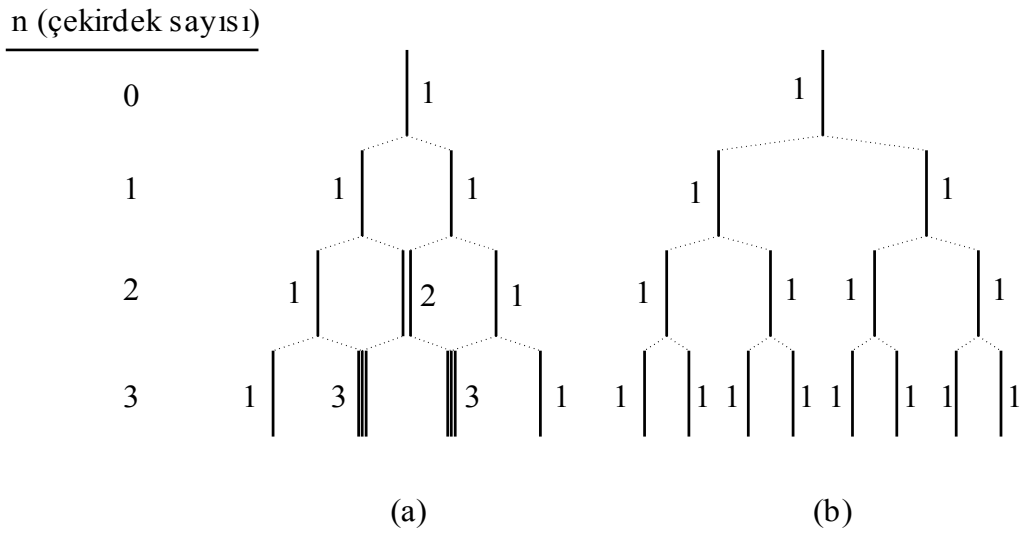
Teorik olarak birçok paramanyetik iyonda ve serbest radikallerde izotropik ince yapı etkileşmesinin gözlenmemesi gerekir. Fakat bir manyetik sistemi belirleyen taban düzeyi; elektronlar arasındaki karşılıklı itme kuvveti nedeniyle, sistemin uyarılmış düzeyi ile bir etkileşmeye girerse, bu manyetik sistemde yapısal etkileşme olarak ortaya çıkar. Bu yapısal etkileşme neticesinde uyarılmış düzeyde az da olsa bir elektron dağılımı oluşur. Manyetik sistemin uyarılmış düzeyi *s* atomik yörüngesine benzemesi durumunda izotropik ince yapı yarılması ortaya çıkar (Gordy 1981).

1.4.4. Çizgi Sayısı ve Şiddet Dağılımları

EPR de izinli geçişler dikkate alındığında, eşlenmemiş elektronun çekirdek spini *I* olan bir çekirdekle etkileştiğinde şiddet dağılımı özdeş $2I+1$ tane çizgi verecektir. Eğer elektronun etkileştiği özdeş *n* tane çekirdek varsa bu durumda şiddetleri özdeş olmayan, $2nI+1$ tane çizgi ortaya çıkar. Ortamda birinci grupla özdeş olmayan, ikinci bir çekirdek grubunun daha bulunması çizgi sayısını $(2n_1I_1+1)(2n_2I_2+1)$ şeklinde değiştirecektir. Burada n_1 ve I_1 birinci grubun, n_2 ve I_2 ise ikinci grubun çekirdek sayılarını ve çekirdek spinlerini göstermektedir. Dolayısıyla ortamda elektronun etkileşebileceği birçok çekirdek grubunun bulunması durumunda çizgi sayısı,

$$(2n_1I_1+1)(2n_2I_2+1).....(2n_NI_N+1) \qquad (1.41)$$

olur. Çekirdek spinleri $I = ½$ olan üç çekirdeğe kadar bu çizgilerin ortaya çıkışı özdeş ve özdeş olmayan gruplar için Şekil 1.7 de verilmiştir. $I = ½$ için şiddet dağılımı binom dağılımına uyar. Farklı çekirdek spin durumları için, farklı sayıda çekirdek gruplarının çizgi şiddet dağılımları çizelge 1.1 de verilmiştir.



Şekil 1.7 Çekirdek spinleri *I=1/2* olan çekirdekler için n=3 değerine kadar,
a) özdeş çekirdekler,
b) özdeş olmayan üç çekirdek için çizgi sayısı ve şiddet dağılımı.

Çizelge1.1 Farklı sayıda çekirdek gruplarının, değişik çekirdek spin durumlari için çizgi şiddet dağılımları.

Çekirdek spini (I)	Çekirdek sayısı (n)	Çizgi şiddet dağılımları	Çizgi sayısı
0	n=1,2,3,...	1	1
1/2	1	1 1	2
"	2	1 2 1	3
"	3	1 3 3 1	4
"	4	1 4 6 4 1	5
"	5	1 5 10 10 5 1	6
"	6	1 6 15 20 15 6 1	7
"	7	1 7 21 35 35 21 7 1	8
"	8	1 8 28 56 70 56 28 8 1	9
"	9	1 9 36 84 126 126 84 36 9 1	10
"	10	1 10 45 120 210 252 210 120 45 10 1	11
"	11	1 11 55 165 330 462 462 330 165 55 11 1	12
1	1	1 1 1	3
"	2	1 2 3 2 1	5
"	3	1 3 6 7 6 3 1	7
"	4	1 4 10 16 19 16 10 4 1	9
3/2	1	1 1 1 1	4
"	2	1 2 3 4 3 2 1	7
"	3	1 3 6 10 12 12 10 6 3 1	10
"	4	1 4 10 20 31 40 44 40 40 31 20 10 4 1	14
2	1	1 1 1 1 1	5
"	2	1 2 3 4 5 4 3 2 1	9
"	3	1 3 6 10 15 18 19 18 15 10 6 3 1	13
"	4	1 4 10 20 35 52 68 80 85 80 68 52 35 20 10 4 1	17
5/2	1	1 1 1 1 1 1	11
"	2	1 2 3 4 5 6 5 4 3 2 1	6
3	1	1 1 1 1 1 1 1	7
"	2	1 2 3 4 5 6 7 6 5 4 3 2 1	13
7/2	1	1 1 1 1 1 1 1 1	8
"	2	1 2 3 4 5 6 7 8 7 6 5 4 3 2 1	14

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Radyasyonun İlaçlarda Oluşturduğu Serbest Radikaller

Işınlama sonucu alanin örneğinde oluşan serbest radikalin kararlılığı ve yüksek hassasiyeti ile alanin iyi bir dozimetrik malzeme olmuştur. 3-10^4 Gy aralığında çizgisel bir doz-cevap eğrisine sahip olmaktadır ancak ışınlanmadan önce ölçülen sinyal şiddetinin 3 Gy'lik doza karşılık geldiğinden düşük dozlarda etkin kullanılmamaktadır. Alanin örneğine olası radyasyon kazalarında ulaşımın güç olmasından dolayı kaza dozimetresi olarak kullanılması zordur (İkeya 1993, Aydın 1994)

Köseoğlu ve arkadaşları (2003) nörolojik hastalıkların tedavisinde kullanılan bazı ilaçların gama radyasyonuna maruz bırakıldıktan sonra bu ilaçlarda oluşan kararlı yapılara sahip serbest radikalleri ESR tekniği ile incelemişlerdir. Oda sıcaklığında alınan ESR spektrumlarından a.i.y değerlerini ve g-değerlerini hesaplamışlardır. Işınlama sonucunda dokuz örnekte oluşan serbest radikallere ait g-değerleri 2.0024'ten 2.0044'e kadar farklı değerler almıştır.

Ambroz ve ark. (2000) yapmış oldukları çalışmada; mikrokristal toz formundaki bir dizi ilaç gama radyasyonuna maruz bırakılmıştır. 4 ve 8 haftalık bir depolama süresinden sonra hepsinin çeşitli paramanyetik merkezler içerdiği ESR ölçümleriyle belirlenmiştir. Işınlanmamış ve 10 kGy doz değerinde ışınlanmış örneklerin ESR spektrumları kaydedilmiştir. Işınlanmamış üç tane polikristal örneği (Nitrendipin, Nifedipin, Azatioprin) çok zayıf ESR sinyalleri göstermiştir. En yüksek radikal konsantrasyonu 2,1 x 10^6 spin/gram ile nimodipin örneğinde gözlenmiştir. Sekiz hafta sonra yapılan ölçümlerde EPR sinyal şiddetlerinin eşit oranda azaldığı gözlenmiştir. Bu durum sonucunda örneklerde yalnızca bir tane kararlı radikal türünün oluşabileceği düşüncesine varılmıştır. Radikallere Çalışılan örneklerin radikallerine ait g- değerleri izotropik olan örnekler 2.0012-2.0110 arasında farklı değerler almıştır. Çizgi genişlikleri ise 9.1 G ve 23.2 G aralığında değişen değerler olmuştur.

Damain (2003) çalışmasında anti-emetik ilaçlar gama ışınları ile ışınlanmış ve oda sıcaklığında ESR spektrumları kaydedilmiştir. Bazı spektroskopik özellikler, radikal yapısı ve absorblanmış doza bağlı olarak ESR sinyallerinin analizinden doz cevap eğrisi elde edilmiştir. Alınan spektrumlardan tek bir sinyal gözlenmiş, çizgi

genişliği 0.2 mT ve g = 2.0047 olarak hesaplanmıştır. Simülasyon çalışmaları sonucu hesaplanan spektroskopik parametre değerleri metoklopramid örneğinde oluşan tek radikal için g=2.0047 olarak hesaplanmıştır. Odensetron örneğinin ESR spektrumunda ise üç radikalden hesaplanan g değerleri sırasıyla; 2.0031, 2,0035 ve 2.009 olarak hesaplanmıştır.

Basly ve ark. (1997), 0-50 kGy aralığında ritodrin hidroklorürü gama ile ışınlayarak, ESR spektroskopisi yöntemiyle dozimetrik olarak çalışmışlardır. Işınlanan örneğin uzun erimli sönüm bulgularının incelenmesi sonucu sönümün iki fazlı davranış gösterdiğini, 30 gün sonunda sönüm eğrisinin lineer olduğunu ve serbest radikal sayısının da %38 azalma gösterdiğini belirtmişlerdir. Başka bir çalışmalarında (J.P.Basly ve M.Bernard.1997) ise elde ettikleri bu bulguları tertbutalin, fenoterol, orsiprenalin ve salbutamol ile karşılaştırarak depolama ömürlerinin sıcaklığa bağlı olup olmadıklarını incelemişlerdir. Bu ilaçları, gama ile ışınlayarak birkaç ay bozulmadan saklanabileceğini göstermişlerdir. İlaçların sterilizasyonu için kullanılan en iyi tekniğin iyonize radyasyon olduğunu ESR spektroskopini kullanarak belirlemişlerdir. Bu ilaçların, gama ile ışınlanarak birkaç ay bozulmadan saklanabileceğini göstermişlerdir.

Wilczynski ve ark. hazırlamış olduğu bir çalışmada 25 kGy dozda gama ışınları ile ışınlanmış antibiyotiklerde (Sisomisin, tobramisin, paromomisin) oluşan serbest radikalleri ESR spektroskopisi ile çalışmışlardır. Havada ve argonda depolanan örnekler için ESR spektrumları kaydedilmiştir. Spektrum analizlerinden g-değerleri sisomisin için g=2.0036; tobramisin için g=2.0040 ve paromomisin için g=2.0046 olarak hesaplanmıştır. Sinyal şiddetlerinin zamanla değişim grafikleri oluşturulan antibiyotiklerde deneysel verilere en uyumlu fonksiyon bi-exponansiyel fonksiyon olarak belirlenmiştir.

Basly ve ark. (1997) latamoksef ve seftriakson adlı ilaçlar için radyosterilizasyon dozimetrik çalışması yapmışlardır. (5-20 kGy aralığında) 25 kGy deki radyasyondan sonra serbest radikallerin algılama sınırları latamoksef için 140 gün; seftriakson için 115 gün olarak belirlenmiştir.

Aydaş ve ark. (2008) dozimetrik potansiyelini belirlemek amacıyla 1-25 kGy doz aralığnda ışınlanmış süspansiyon ve kapsül haldeki sefadroksil monohidrat (SM) örneklerini ESR tekniği ile incelemişlerdir. Işınlanmamış örneklerde hiçbir ESR sinyali

gözlenmemiştir. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış örnekler için 100 günlük bekletme zamanı sonunda alınan spektrumların sinyal piklerinde çok az azalmalar gözlenmiştir. Radyasyon dozuyla orantılı olarak artış gösteren sinyal şiddetlerine ait doz cevap eğrileri ve radikallerin sönüm zaman eğrilerinin incelenmesi ile SM örneğinin her iki halde de (kapsül ve süspansiyon) normal ve kaza dozimetrisinde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

ExtraVit M adlı besin takviyesi 1-10 kGy doz aralığında gama ışınlarıyla ışınlandıktan sonra ESR spektroskopisi ile çalışılmıştır (Pedrişor ve ark. 2008). Yüksek düzeyde şeker, vitamin C ve selüloz içeren ilaçlar veya besin takviyeleri için tipikal olan Extravit M nin ışınlanmış örneklerine ait ESR spektrumlarından serbest radikaller tespit edilmiştir. ExtraVit M ESR spekrumunda örnekteki selüloz askorbat ve şeker radikallerine benzer ana radikal türlerinin üst üste binmesi nedeniyle karışık sinyaller gözlenmiştir.

J.P.Basly ve M.Bernard, 0-50 kGy aralığında ritodrin hidroklorürü gama ile ışınlayarak, ritodrin hidroklorür ile ilgili radyosterilizasyon dozimetrik EPR çalışmalarını tertbutalin, fenoterol, orsiprenalin ve salbutamol ile karşılaştırarak depolama ömürlerinin sıcaklığa bağlı olup olmadıklarını incelemişler (J.P.Basly ve M.Bernard 1997). Bu ilaçları, gama ile ışınlayarak birkaç ay bozulmadan saklanabileceğini göstermişlerdir. Ayrıca bu çalışmada, ilaçların sterilizasyonu için kullanılan en iyi tekniğin iyonize radyasyon olduğunu EPR spektroskopini kullanarak belirlemişlerdir. Depolama ömrü ile ilgili radikal sönümünü bi-exponansiyel fonksiyon kullanarak göstermişlerdir.

Bir başka çalışmada, oda sıcaklığında gama ile ışınlanan thiazide bileşiklerinde oluşan radikal tipleri incelenmiş ve molekül içindeki spin yoğunluğu üzerine atom gruplarının etkisi araştırılmıştır (Latosinska ve Pietrzak 2004). Işınlama sonucu thiazide bileşiklerinde C-3 karbon atomuna bağlı bir hidrojen atomunun ayrılmasıyla serbest radikallerin oluştuğu alınan spektrumlardan belirlenmiştir. Bu bileşiklerdeki a.i.y. sabitleri sırasıyla, a_N^1= 1.18 mT, a_N^2 = 1.18 mT, a_N^3 = 1.1 mT, a_N^4 = 1.11 mT ve g değerleri CTZ için g = 2.0038; HCTZ için g = 2.0038; ATZ için g = 2.0036; TCTZ için g = 2.0034 olarak hesaplanmıştır.

Başka bir çalışmada, anti-emetik ilaçlar gama ile ışınlanmış ve oda sıcaklığında EPR spektrumları kaydedilmiştir (Damain 2003). Bazı spektroskopik özellikler, radikal yapısı ve absorblanmış doza bağlı olarak EPR sinyallerinin analizinden doz cevap eğrisi elde edilmiştir. Alınan spektrumlardan tek bir sinyal gözlenmiş, çizgi genişliği 0.2 mT ve g = 2.0047 olarak hesaplanmıştır.

J.P.Basly ve arkadaşları, Sefotetan antibiyotiği ile ilgili radyosterilizasyon dozimetrik çalışmalarını 5-20 kGy aralığında yapmışlardır. Kaydedilen EPR spektrumlarından radyasyon dozuna bağlı olarak anti-simetrik sinyaller elde edilmiş ve spektrum analizlerinden radikal konsantrasyonunun 20 kGy de satüre olduğu görülmüştür. 341.5- 346.4 mT aralığında tek bir sinyal gözlenmiştir. Bu çalışmada, örneğin doz-cevap eğrisi ve sönüm grafiği belirlenmiştir (Basly ve ark. 1998).

Ambroz ve ark. (2000) tarafından15 ilaç, 5-20 kGy/ h arasında gama ile ışınlanmış ve EPR ölçümleri normal koşullarda oda sıcaklığında 4 ve 8 haftalık bir bekleme süresinden sonra alınmış ve örneklerden, ifosamid'in 4 haftalık süre sonunda hala kararlı olduğu, nimodipin'nin ise kararsız olduğu gözlenmiştir. Diğer örneklerde 8 haftalık saklamadan sonra alınan ölçümlerden radikal konsantrasyonunun $2x10^{16}$ spin g^{-1} den $45x10^{16}$ spin g^{-1}'e kadar değiştiği tesbit edilmiştir. İlaçlardaki radikallerin kararlılığı hastalar tarafından alındığında uzun süre vücut içinde kalması anlamına geldiğinden çok önemli olduğu vurgulanmış, böyle bir durumda vücut sıvısı içinde felaketleri olabilir denilmiştir. Bazı ilaçlar silindirik simetri gösterdiğinden anizotropik bir spektrum gözlenmiş bu spektrumdan ölçülen g değerleri : NT için $g_{\perp} = 2.0096$, $g = 1.9845$; NF için $g_{\perp} = 2.0097$, $g_{\parallel} = 1.9848$; NM için $g_{\perp} = 2.0097$, $g_{\parallel} = 1.9852$; MP için $g_{\parallel} = 2.0236$, $g_{\perp} = 2.0048$ dır.

1974 yılında yapılan bir çalışmaya göre, ışınlanmış antibiyotiklerin büyük bir kısmında 50 kGy doz değerinde bile bir bozunma gözlenmezken bazılarının ise 25 kGy doz değerinde ışınlandıklarında antibakteriyel etkilerinin azaldığı belirlenmiştir. Bazı penisilinlerin 200 kGy gibi yüksek doz değerinde ışınlanması sonucunda β-laktam ve tiazolidin halkalarının kırıldığı ve karboksil grubunun, aromatik halkanın ve metil gruplarının yapıdan ayrılmasına neden olduğu bulunmuştur (Dzięgielewski ve Trzebitowska 1974).

1978 yılında yapılan bir çalışmada ışınlanmış yarısentetik penisilinlerde oluşan radikalik yapıdaki ürünler karşılaştırmış ve bu tür ürünlerin daha çok amorf örneklerde ve yapısında kristal suyu içeren örneklerde oluştuğunu gözlemiştir. Depolama sürecinde yeniden birleşmeleri nedeniyle radikal konsantrasyonlarıda azalma saptanmıştır (Gaughran ve Gouide 1978).

Flurette ve arkadaşlarının 1974 yılında yaptıkları bir çalışmada da amfoterisin B, sefaloridin, klorampenikol, glistin, eritromisin, gentamisin, linkomisin, nalidik asit'in 100 kGy doz değerine kadar katı halde ışınlandıklarında antibakteriyel aktivitelerini yitirmedikleri, ancak amfoterisin B, sefaloridin ve glistinin 25 kGy'de ışınlanan sulu çözeltilerinin antibakteriyel etkilerini yitirdikleri sonucuna ulaşılmıştır. Aynı çalışmada sefalotin 25 kGy'de yaklaşık %2, 100 kGy'de ise yaklaşık %13, neomisin sülfat 100 kGy'de yaklaşık %15 aktivite kaybıyla ışınlanırken sulu çözeltisi ise 25 kGy'de aktivitesini tamamen yitirdiği bulunmuştur. (Fleurette ve ark 1974).

Bir başka çalışmada ise sefadroksil, sefolenan ve sefoksitin sodyum 50 kGy'e kadar ışınlanmıştır. Sefadroksil monohidrat 25 kGy'de radyasyondan olumsuz etkilenmezken, 50 kGy'de az da olsa bir bozunmaya uğradığı, sefaleksin monohidratın 10 kGy de %1, 25 kGy de %3, 50 kGy de ise %7'lik bir bozunma gösterdiği, sefoksitinin ise 50 kGy doz değerinde %97.8 oranında saflığını koruduğu belirlenmiştir (Jacobs 1978,1983).

1994 yılında Zegota ve arkadaşları 46.8 kGy'de ışınlanmış sefotaksim ve sefuroksim örnekleri konu almışlardır ve bu örneklerin yapısında ışınlama sonucu sırasıyla %1 ve % 4.4'lük değişim olduğu belirlenmiştir (Zegota ve ark. 1994).

Amoksilin, ampisilin, sefaloridin ve hetasillin'in sulu çözeltileri üzerinde yapılan radyosterilizasyon çalışmaları sonucunda düşük doz değerlerinde (0.5kGy) %90 inaktiflik gözlenmiş ve bu değerin cloxasillin erythromisin ve cephalexin gibi örneklerde 5 kGy kadar, kanomisin için de 15 kGy kadar çıktığı gözlenmştir. (Jacobs 1985).

Tsuji ve arkadaşlarını 1979 yılında Penisilin G üzerinde yaptıkları çalışmanını sonucuna göre ise, 40 kGy'lik radyasyon dozu aşılınca %1-2 oranında bir bozunma gözlendiği görülmüştür. Radyolitik ara ürün olarakta benzilpenilloaldehit ve benzilpenaldikasidin oluştuğu belirlenmiştir (Tsuji ve ark. 1979).

H.B.Ambroz ve ardaşlarının bir başka çalışması, elektron bombardımanına tutulmuş, antikanser terapide kullanılan flutamide, ifosfamide ve aminoglutethimide, gibi ilaçların radikal bozunumu (sönümü) ile ilgili çalışmada, radikal bozunumu kinetiğini ve oluşan araürünlerin yapısının belirlenmesidir. Flutamide de çok kararlı karbon merkezli ve az kararlı azot merkezli iki farklı radikal tanımlanmış aynı radikaller ifosfamide de görülmüştür. Alınan spektrumlar bombardımandan birkaç gün ve ay sonra spektrumlar alınmış, bu süre içinde yoğunluk ve şekil değişikliği olmuştur. Oluşan bu radikallerin yapısı ve bozulma (sönüm) mekanizmaları incelenmiştir. Radikal konsantrasyonlarında, 6 günün sonunda %25 azalma ve 5 ayın sonunda ise % 40 azalmanın olduğu hesaplanan sönüm grafiğinde gözlenmiştir. Karbon merkezli radikaller için ölçülen g değeri, g = 2.0046 diğer radikaller için anizotropik g değeri g = 2.0050 dir. α ve β protonları için a.i.y. sabitleri, a_α = 1.8 mT ve a_β = 0.55 mT olarak hesaplanmıştır (Ambroz ve ark. 2000).

2.2. Radyasyonun Amino Asit Bileşiklerinde Oluşturduğu Serbest Radikaller

X ve γ ışınlarına tutulan amino asitlerde oluşan serbest radikaller üzerine birçok çalışma yapılmıştır.Bu çalışmaların ilkinde Ghosh ve arkadaşları glisin tek kristallerini gama ışınlarına tutarak EPR spektrumlarını oda sıcaklığında kaydetmişlerdir. Spektrum analizinden, ışınlama sonucu yapıda oluştuğu düşünülen paramanyetik merkez NH_3+-CH-COO- radikaline atfetmişlerdir. Eşleşmemiş elektronun azot'ta bağlı üç proton ile izotropik, α protonu ile anizotropik olarak etkileştiğini göstermişlerdir. Aşırı ince yapı (a.i.y.) sabitlerini, a_N = 0.35 mT, a_{NH} = 1.89 mT, a_α = 2.68 mT olarak hesaplamışlardır (Ghosh ve ark. 1959).

Bir başka çalışmada, gama ile ışınlanmış L-alanin tek kristalleri EPR tekniğiyle incelenmiştir. Spektrumların incelenmesinden yapıda oluştuğu düşünülen paramanyetik merkez CH_3ĊHCCOOH radikaline atfedilmiştir. Eşleşmemiş elektronun α protonu ile anizotropik, metil protonları ile izotropik etkileştiği ve izotropik a.i.y. sabitleri, a_α= 1.96 mT ve CH_3= 2.51 mT olarak hesaplanmıştır (Morton ve ark. 1961-a).

Morton ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, adipik asidin tek kristallerini gama ile ışınlayarak EPR spektrumlarını kaydetmişlerdir. Spektrumların incelenmesinden ışınlama sonucu yapıda oluştuğu düşünülen paramanyetik merkez HOOCĊH$(CH_2)_3$COOH radikaline atfedilmiştir. Eşleşmemiş elektronun α protonu ile

anizotropik, $\beta^{(1)}$ ve $\beta^{(2)}$ protonları ile yaklaşık izotropik etkileştiğini tespit etmişler ve izotropik a.i.y. sabitlerini a_α= 15.6 G, $a_\beta^{(1)}$= 40.0 G, $a_\beta^{(2)}$= 26.4 G ve g = 2.0031 olarak hesaplamışlardır (Morton ve ark., 1961-b).

Bir başka çalışmada, McConnell ve arkadaşları, malonik asit tek kristallerinde ışınlama sonucu oluşan bozukluğu EPR tekniği ile incelemişlerdir. EPR spektrumlarının ölçümü yardımıyla, ışınlama sonucu yapıda oluşan radikalin kimliğini $\dot{C}H(COOH)_2$ şeklinde ifade etmişlerdir. Eşleşmemiş elektronun α protonu ile etkileşiminin anizotropik olduğunu ve izotropik aşırı ince yapı sabitini a = 22.5 G olarak ölçmüşlerdir. Radikalin g değerinin çok az anizotropik olduğu görülmüş ve g_{or} = 2.0031 olarak bulunmuştur. Eşlenmemiş elektronun α karbon atomu üzerindeki spin yoğunluğu, $a_\alpha = Q\rho_\alpha$ denkleminde Q = 22.5 G ve buradan spin yoğunluğunu $\rho_\alpha \approx 1$ olarak bulmuşlardır(McConnell ve ark. 1960).

Horsfield ve arkadaşları L-α-alanin tek kristallerini gama ile ışınlayarak 77 K de EPR spektrumlarını kaydetmişlerdir. Spektrumların 1:1:2:2:1:1:1:1:2:2:1:1 şiddet dağılımına sahip on iki çizgiden oluştuğunu görmüşler ve ışınlama sonucu oluştuğu düşünülen radikalin $CH_3\dot{C}HCOOH$ olduğunu düşünmüşlerdir. Metil protonlarının manyetik olarak özdeş olmadığını belirlemişler ve izotropik a.i.y sabitlerini $a_\beta^{(1)}$ = 42.8 G, $a_\beta^{(2)}$= 27.1 G, $a_\beta^{(3)}$= 5 G ve α protonunun izotropik a.i.y. sabitini a_α = 22.1 G olarak ölçmüşlerdir. 100 K ve 200 K de yapılan çalışmada L-α-alanin tek kristallerinde benzer radikal gözlenmiştir (Horsfield ve ark. 1961-a, 1962).

Bir başka çalışmada, α-amino izobutrik asitin tek kristallerinde ışınlama sonucu oluşan bozukluklar EPR tekniği ile incelenmiştir. Işınlama sonucu yapıda oluşan bozukluk $(CH_3)_2\dot{C}COOH$ radikaline atfedilmiştir. Eşlenmemiş elektronun metil grubundaki altı özdeş proton ile yaklaşık izotropik olarak etkileştiği ve a.i.y. sabiti a_{CH3} = 23.4 G olarak bulunmuştur. Ayrıca, radikalin g değerinin çok az anizotropiklik gösterdiği belirlenmiş ve g_{ort} = 2.0029 olarak hesaplanmıştır (Horsfield ve ark., 1961-b).

Başka bir çalışmada metil malonik asitin tek kristalleri X- ışınlarıyla ışınlanmış ve EPR spektrumları 4.2 K, 77 K ve oda sıcaklığında kaydedilmiştir. Spektrumların analizinden ışınlama sonucu yapıda, $CH_3\dot{C}H(COOH)_2$ (I) ve $CH_3\dot{C}H(COOH)$ (II) radikallerinin oluştuğu düşünülmüş. (I) radikalinde eşleşmemiş elektronun özdeş üç metil protonu ile etkileştiği tespit edilmiş, a.i.y. sabiti a_{CH3} = 25.3 G ve g = 2.0035

olarak hesaplanmıştır. (II) radikalinde eşleşmemiş elektronun özdeş üç metil protonu ve α protonu ile etkileştiği belirlenmiş, a.i.y. sabitleri a_α = 26.3 G, a_{CH3} = 25.3 G ve g = 2.0035 olarak ölçülmüştür (Heller,1962).

Rao ve arkadaşları yaptıkları çalışmada bazı organik bileşiklerin tek kristallerini gama ışılarına maruz bırakıp EPR spektrumlarını incelemişlerdir. Spektrumların analizinden monoamonium malate'nin yapısında oluştuğu düşünülen radikal, $NH_4OOCCH_2\dot{C}OHCOOH$ olarak belirlenmiş ve izotropik a.i.y. sabitleri $a_\beta^{(1)}$ = 34.3 G, $a_\beta^{(2)}$= 8.9 G olarak ölçülmüştür. Monoamonium malate monohidratın yapısında oluştuğu düşünülen radikalin de $NH_4OOCCH_2\dot{C}OHCOOH$ olduğu belirlenmiş. Ancak bu radikalde eşleşmemiş elektronun OH grubu protonları ile de etkileştiği görülmüş ve izotopik a.i.y. sabitleri $a_\beta^{(1)}$ = 34.1 G, $a_\beta^{(2)}$= 14.7 G a_{OH} = 2.3 G olarak ölçülmüştür (Rao ve ark. 1965).

Başka bir çalışmada, X- ışınları ile ışınlanan DL- valine, D-valine ve L-valine tek kristallerinde ışınlama sonucu oluşan paramanyetik merkezler EPR tekniğiyle incelenmişdir. Işınlama sonucu yapıda oluşan radikalin kimliği $(CH_3)_2\dot{C}CH(^+NH_3)COO^-$ olarak belirlenmiştir. Metil grubunun a.i.y. sabitinin yaklaşık izotropik olduğunu ve değerinin 22.4-24.4G arasında değiştiğini ölçmüşlerdir. Azot çekirdeğinin a.i.y. sabitinin ve g değerinin oldukça az anizotropik özellik gösterdiğini ve izotropik değerlerini a_N = 7.7 G, g_{or} = 2.0032 olarak hesaplamışlardır (Shields ve ark.1967).

Sinclair ve arkadaşlarının yapmış olduğu araştırmada, L-alanin tek kristalleri X-ışınlarıyla ışınlanmış ve yapıda oluşan paramanyetik merkez düşük sıcaklıkta ve oda sıcaklığında EPR spektrometresiyle. Spektrumların analizinden ışınlama sonucu yapıda oluştuğu düşünülen paramanyetik merkez, $CH_3\dot{C}HCOOH$ radikaline atfedilmiştir. Düşük sıcaklıkta eşlenmemiş elektronun bir α protonu ile anizotropik, bir metil protonu ile izotropik etkileştiğini belirlemişler ve izotropik a.i.y. sabitlerini a_α= 15.1 G ve $a_\beta^{(1)}$= 18.8 G olarak ölçmüşlerdir. Oda sıcaklığında ise α protonun a.i.y. sabitinin anizotropik özellik gösterdiği, metil protonlarının a.i.y. sabitinin izotropik olduğu görülmüş ve izotropik değerleri a_α= 19.0G, a_β= 25.8G olarak hesaplanmıştır.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. EPR Spektrometresi

Bir EPR spektrometresi $h\nu = g\beta H$ koşulunu sağlayacak şekilde tasarlanmış olmalıdır. EPR geçişleri 3-40 GHz arası mikrodalga frekanslarında olduğundan manyetik alnında buna uygun olması gerekir. Rezonans koşulunda değişkenler mikrodalga frekansı ve manyetik alandır. Teknik nedenlerden dolayı sürekli dalga EPR spektrometrelerinde frekans sabit tutulur ve manyetik alan değiştirilerek geçişler gözlenir. Çünkü manyetik alanı oldukça yüksek hassasiyetle değiştirmek kolayken, mikrodalga frekansını sürekli değiştirebilmek oldukça zordur. EPR spektrometreleri belirli bir frekans aralığında sabit frekansta mikrodalga yayınlayabilen bir mikrodalga kaynağı ve değişken bir manyetik alan kaynağı bulundururlar. EPR spektrometreleri çeşitli frekans bandlarında yapılırlar (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 Değişik frekans bandlarının frekans ve dalga uzunluğu cinsinden değerleri.

Band	S	X	K	Q	E
Uygun Frekans (GHz)	3	9	24	35	70
Uygun Dalga Uzunluğu (mm)	90	30	12	8	4
g = 2 için Uygun Alan (KG)	1.1	3.3	8.5	12.5	25

Çizelge 3.1'de bir sürekli dalga EPR spektrometresinin şeması verilmiştir. Şemada gösterilen elemanların çalışma prensipleri ve görevleri kısaca şunlardır:

Elektromıknatıs; kutupları arasında düzgün, çizgisel ve kararlı manyetik alan üreten ferromanyetik çekirdekler üzerine sarılmış bir çift bobinden oluşur. Bir yüksek akım kaynağı bu bobinlere değiştirilebilen akım sağlar.

Klystron; düşük güçte ve dar band aralığında kararlı mikrodalga üreten bir elektron tüpüdür. Çalışma ilkesi, bir potansiyel farkı altında hızlandırılan elektronların hızlarının mikrodalga bölgesindeki bir frekansta modülasyonuna dayanır. Hızları artıp azalan elektronlar, bu frekansta bir elektromanyetik dalga yayarlar. Frekans, klystronun kavite boyutları değiştirilerek belirlenir. Bu kavitenin etkin hacminin mekanik olarak değiştirilmesiyle küçük bir frekans aralığında frekans değiştirilebilir. Bu işlem rezonans kavitesinin içine konulan örneğe göre az da olsa değişebilen rezonans frekansı ile uyuşumu için gereklidir.

Dalga kılavuzu; Mikrodalga iletim elemanıdır. Amaca göre değişik geometrik kesitlerde, iyi iletken metal veya alaşımlardan yapılırlar. En çok kullanılan ve verimli dalga kılavuzları dikdörtgen kesitli olanlarıdır.

Ferrit yalıtıcı; klystronu dalga kılavuzuna bağlayan tek yönlü bir mikrodalga elemanıdır ve kılavuz- kavite sisteminden yansıyan gürültünün klystrona geri gitmesini engeller.

Değişken zayıflatıcı; kılavuz sistemine eklenen bir mikrodalga yutucudan oluşur. Kılavuz sisteminin içine daldırılarak rezonans kavitesine giden mikrodalganın gücünüzayıflatır. Güç zayıflatması dB biriminde ölçülür. Klystronun ürettiği mikrodalga gücü P_K ise ve örnek üzerine P_δ gücü gönderilmek isteniyorsa,

$$dB = 10 \log_{10} Pk/ P_\delta \qquad (3.1)$$

olur.

Sihirli T veya dalga döndürücü; klystrondan gelen mikrodalganın kaviteye yönelmesini ve kavitede örnekle etkileştikten sonra geri dönen dalganın da algılayıcıya doğru yönelmesini sağlar.

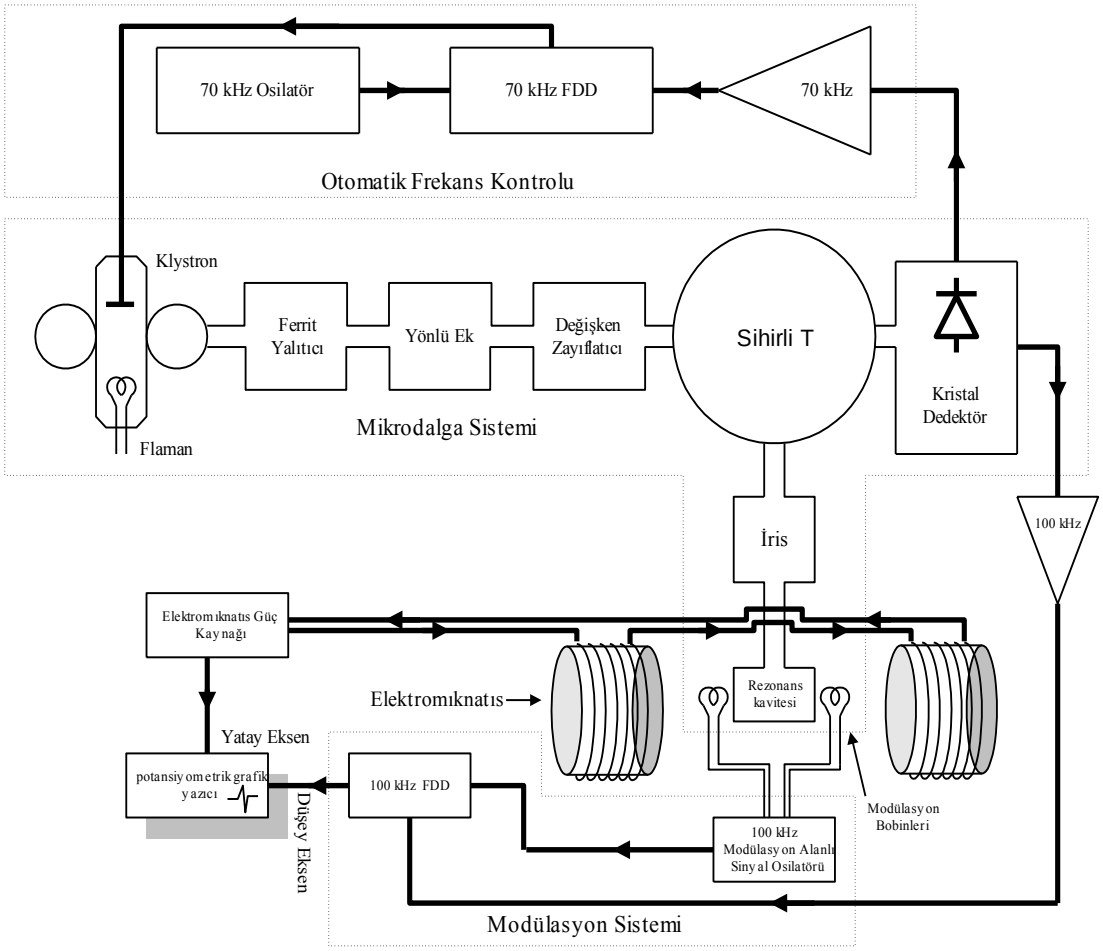
Vidalı akordlayıcı veya iris; dalga kılavuzu sistemi ile kavite arasındaki empedans uyuşumunu sağlayan bir elemandır. İletken bir vida, kılavuz- kavite arasındaki açıklığa istenildiği kadar daldırılarak empedans uyuşumu sağlanır.

Rezonans kavitesi; örneğin içine konduğu dikdörtgen prizma biçimli bir elemandır (başka geometrilerde de olabilir). Kılavuz sisteminden gelen polarize mikrodalga kavitenin duvarlarından yansıyarak T_{102} modunda duran dalga oluşturur. Duran dalganın manyetik alan bileşeni dış manyetik alana dik doğrultudadır. Kavite boyutları ses dalgası boyutlarında olduğundan, mikrodalga yanında ses dalgaları da kavitede

rezonansa gelerek kavite duvarlarının titreşmesine ve mikrofonik gürültülere neden olur. Bu nedenle kavite duvarları ince ve esnek olmalıdır. Kavite, örneğin soğutulup ısıtılmasına ve örneğin kavite içinde ışınlanmasına uygun, yapıldığı maddenin sıcaklık genleşim katsayısı çok küçük fakat iyi iletkenden yapılmalıdır. Kavitenin verimini gösteren kalite çarpanı Q,

$$Q = \frac{2\pi(\text{Kavite içinde maksimum mikrodalga gücü})}{(\text{Dönü başaşı kayıa enerji})} \tag{3.2}$$

olması gerekli ve bu değer yeterince yüksek olmalıdır (Weil ve ark. 1994).



Şekil 3.1 X bandında çalışan bir EPR spektrometresinin şeması.

Manyetik alan modülasyonu; durgun manyetik alana paralel doğrultuda uygulanan alternatif manyetik alandır ve kavitenin iki yanındaki küçük bobinlerle sağlanır. Küçük genlikli (1 mG - 50 G arası) ve düşük frekanslı (25 kHz - 100 kHz) bu alan, durgun manyetik alan içinde spinlerin doyuma gitmesini önlemek için gereklidir. Alan modülasyonu, kavitede örnek ile etkileştikten sonra yansıyan mikrodalganın modülasyon frekansında modüleli olmasına neden olur.

Kristal algılayıcı; katkılandırılmış yarı-iletken kristalden yapılmış olup, üzerine düşen mikrodalgayı akıma çevirir. Üzerine düşen mikrodalga alan modülasyonu ve AFC sinyali frekanslarında modüleli olduğundan çıkış akımı da bu frekanslarda alternatif akımdır.

Otomatik frekans kontrolü (AFC); klystronun sabit frekansta mikrodalga üretmesini sağlar. Klystronun hızlandırma plakasına 70 kHz frekanslı bir sinyal uygulanır ve

mikrodalganın bu frekansta modüle olmasına neden olur. Kristal detektör çıkış akımından bir band geçiren süzgeç yardımıyla ayrılan bu sinyal FDD girişlerinden birine uygulanır. FDD, diğer girişine uygulanan esas AFC sinyali ile algılayıcı çıkış sinyali arasındaki faz kaymasına orantılı bir DC voltajı verir ve bu voltaj klystronun hızlandırma plakasına uygulanarak mikrodalga frekansındaki kaymalar önlenir.

Faz duyarlı algılayıcı (FDD); iki girişli ve tek çıkışlı elektronik devredir. Frekansları aynı olan giriş sinyallerinin arasındaki faz farkına orantılı bir DC çıkış voltajı verir. EPR spektrometrelerinde biri AFC sisteminde, diğeri de alan modülasyon sisteminde olmak üzere iki tane vardır. Alan modülasyon sistemine bağlı olan FDD çıkışı spektrometrenin çıkış birimine bağlıdır.

Çıkış birimleri; spektrumların gözlendiği bir ossiloskop, potansiyometrik bir grafik çizici veya bir bilgisayar olabilir. Çıkış sinyalini veren FDD nin girişlerinden birisi modülasyon alanı sinyal üretecine, diğeri de kristal algılayıcıdan bir band geçiren süzgeç yardımıyla ayrılan modülasyon frekansındaki sinyale bağlıdır.

Rezonans kavitesinde örnek rezonans alan değeri etrafında Gaussian veya Loretzian dağılımına uyan mikrodalga soğurulur. Bu yüzden kristal algılayıcı çıkış sinyalinin genliği de rezonans alanı etrafında Gaussian veya Lorentzian dağılımına uygun değişir. Fakat FDD nin diğer giriş sinyalinin genliği sürekli sabittir. Bununla birlikte soğurulma eğrisinin yükselen kenarında iki sinyal arasındaki faz farkı 0^0 iken, alçalan kenarda faz farkı 180^0 olur. Sonuçta FDD çıkış DC voltajı soğurma eğrisinin aynısı olacaktır.

3.2. Spektrumların Alınması, Ölçümler ve Hesaplamalar

EPR spektrometresi ile deney yapılırken, örneğin toz ya da tek kristal olmasına bakılır. Toz örnekler 4-5 mm çaplı kuartz tüp içerisine konularak spektrumları alınır. Tek kristaller ise 360^o dönebilen ve 1^o bölmeli bir goniyometrenin diyamanyetik çubuğu ucuna paramanyetik olmayan tutkalla yapıştırılarak kaviteye yerleştirilir. Havadan nem çekici veya tutkalla etkileşen kristaller, ince parafinle veya plastikle kaplandıktan sonra goniyometreye takılır. Spektrumlar tek kristallerin birbirine dik üç eksen etrafında, örnek maddenin anizotropluğuna göre 5^o veya 10^o aralıklarla 0^o - 180^o döndürülmek suretiyle kaydedilir.

Bu çalışmada kullanılan bütün örnekler için mikrodalganın aralığında 2 ile 200 mW aralığında güç taraması yapıldı. Uygun modülasyon alan genliği, uygun tarama alan ve hızı seçilerek optimum şartlarda spektrumlar kaydedildi.

Spektrometrenin mikrodalga frekansındaki, kaymalarının düzeltmeleri DPPH (Diphenylpicrylhydrazyl) radikalinin g değeri ($g = 2.0036$) referans alınarak düzeltildi.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu tez iki bölümden oluşmaktadır. Birinci bölümde, kanser tedavisinde kullanılan Busulfan, 5-Florourasil, Megestrol asetat ve Sodyum-2-merkapto ethan sulfonat ilaç hammaddelerinin EPR spektrumları dozimetrik olarak incelenmiştir.

İkinci bölümde ise L-sıtrullin (LS), 3-Floro-DL-Valin (3FDLV), α-metil-DL-serin (αMDLS) ve N-asetil-L-sistein (NALS) amino asit toz kristallerinde gama radyasyonu ile oluşturulan paramanyetik merkezler incelenerek oluşan radikallerin kimlikleri tespit edilmiştir. Örneklerin oda sıcaklığında kaydedilen deneysel EPR spektrumları ve McKelvey (McKelvey, 1987) simülasyon programı kullanılarak elde edilen simüle spektrumları karşılaştırılarak örneklerin spin Hamiltoniyen değerleri hesaplanmıştır.

4.1. Gama ile Işınlanmış Busulfan, 5-Florourasil, Megestrol Asetat ve Sodyum-2-Merkapto Ethan Sulfonat İlaç Hammadelerinin EPR ile Dozimetrik İncelenmesi

4.1.1. Örneklerin Hazırlanması

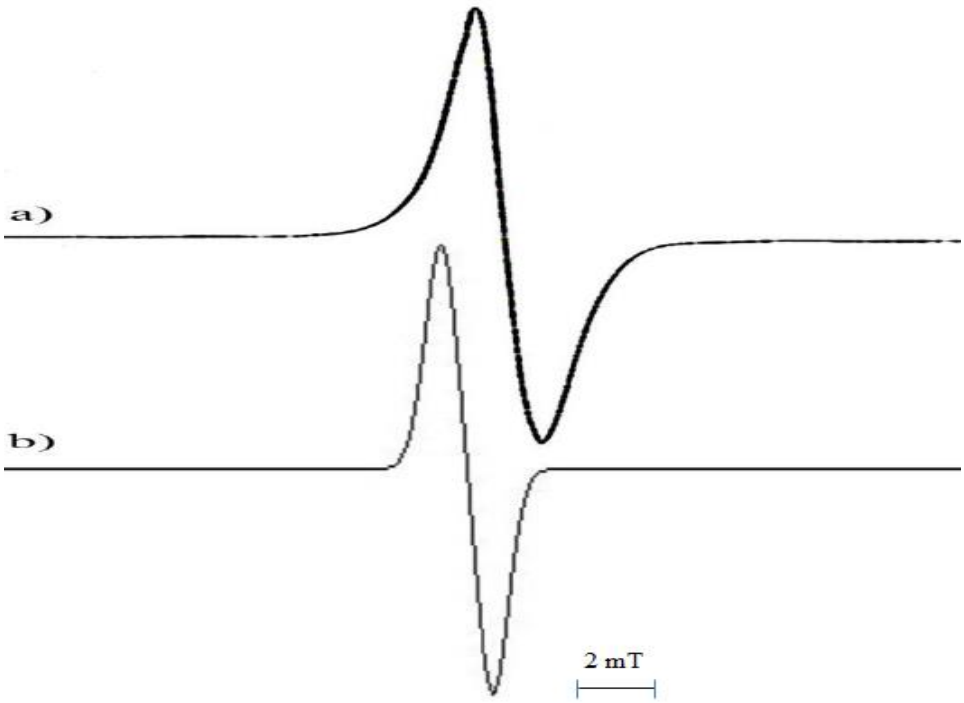
Tez çalışmasında kullanılan tüm ilaç hammaddeleri Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü desteğiyle temin edilmiştir. Örnekler oda sıcaklığında Türkiye Atom Enerjsi (TAEK) kurumunda 1-25 kGy doz aralığında gama kaynağı ile ışınlanmıştır. Işınlama sonrasında tüm örnekler oda sıcaklığında ağzı kapalı ve ışık görmeyecek biçimde muhafaza edilmiştir. İncelenen tüm örneklerin kütleleri hesaplanmış, iç çapı 4mm dış çapı 5mm olan kuartz tüplerin en fazla 2 cm'lik bir kısmını oluşturacak şekilde örnek miktarları belirlenmiştir. Işınlanmış örneklerin mümkün olan en kısa süre içerisinde EPR spektrumları kaydedilmiştir.

4.1.2. Işınlanmamış Busulfan Örneğinin EPR Spektrumları

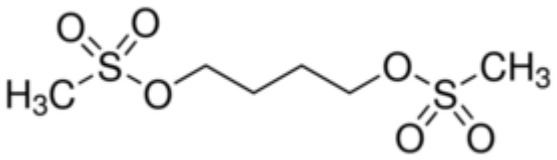
Işınlanmamış Busulfan örneğinin oda koşullarında kaydedilen EPR spektrumlarında herhangi bir sinyal gözlenmemiştir. Ayrıca, oda sıcaklığında, ağzı kapalı ve ışık almayacak şekilde depolanan örneklerdede herhangi bir EPR sinyali kaydedilememiştir.

4.1.3. Gama ile Işınlanmış Busulfan Toz Kristallerinin EPR Spektrumu

Kronik miyelositik lösemi ve polisitemi rubra tedavisinde kullanılan, nitrozoüre grubundan, alkilleştirici antineoplastik ilaçtır. Busulfanın kapalı formülü $C_6H_{14}O_6S_2$ ve molekül ağırlığı 246.30 g/mol ve kimyasal adı 1,4-di (metilsulfonil) butan olarak bilinmektedir. Busulfanın örneğinin bazı kimyasal özellikleri çizelge 4.1'de verilmiştir. Herhangi bir işlem görmemiş Busulfan örneği 0.5-10.5 kGy doz aralığında ışınlandı ve EPR spektrumları kaydedildi. Işınlanmamış Busulfan herhangi bir EPR sinyali vermezken, ışınlanmış Busulfan örneği geniş singlet yapıda bir EPR spektrumu verdiği kaydedilmiştir. Yüksek dozlarda ışınlanmış örneklerdeki rezonans sinyallerinin daha belirgin oldukları Şekil 4.1'de verilmiştir. Işınlanma öncesi Busulfan örneğinde herhangi bir EPR sinyali gözlenmezken ışınlama sonrası belirgin EPR sinyali gözlenmesi bu örnekte ışınlama yoluyla eşlenmemiş elektronlar oluştuğunu göstermektedir. Şekil 4.1'de incelendiğinde, g değeri 2.0030 olan ve 1.5 mT'lık bir alana yayılan geniş singlet yapıda bir EPR spektrumu gözlenmektedir. Simülasyon programı yardımıyla aşırı ince yapı sabitleri, a^1= 0.6 mT, a^2 = 0.6 mT ve çizgi genişliği, 0.36 mT olarak hesaplanmıştır. Bu değerler $\dot{C}H_2$ radikalinin oluştuğunu göstermektedir. Işınlanmış Busulfan örneğine ait simulasyon hesapları Mc Kelvey simülasyon programı yardımıyla yapıldı. Hesaplanan spektroskopik parametre değerleri, deneysel spektrumla karşılaştırıldı. Belirgin olmayan tepelerin örneğin manyetik alan içindeki yönelimi ile alakalı olup olmadığına bakıldı ve tüm örnek yönelimleri için bu tepelerin aynı manyetik alan değerlerinde ortaya çıktıkları belirlendi. Sağlıklı ve güvenilir bir ölçüm için merkezdeki şiddetli tek sinyal dikkate alınarak ölçümler yapıldı. Işınlama dozu 10 kGy den 15 kGy'e artıkça rezonans tepesinin daha da belirginleştiği belirlenmiştir. Rezonans tepesine karşılık gelen sinyal şiddetleri spektrumun temel çizgisine göre hesaplandı ve elde edilen veriler spektrometre kazancına, örnek kütlesine ve standartın sinyal şiddetine bölünerek normalize edilip öncelik sinyal şiddetinin değişik koşullardaki değişimine atfedildi.



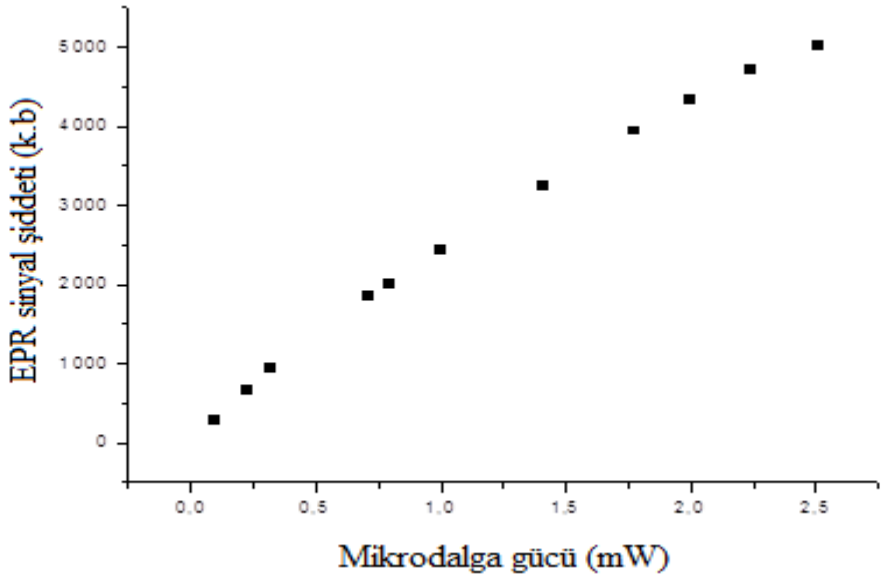
Şekil 4.1 (a) 15 kGy doz değerinde ışınlanmış Busulfan 'ın deneysel spektrumu
(b) Simüle Spektrum

Çizelge 4.1 Busulfan örneğinin kimyasal yapısı, kapalı formülü, molekül ağırlığı ve kimyasal yapısı	
	
Busulfan Toz Kristallerinin 2 Boyutlu Kimyasal Yapısı	
Kapalı Formülü	$C_6H_{14}O_6S_2$
Molekül Ağırlığı	246.30 g/mol
Kimyasal Adı	1,4-di (metilsulfonil) butan

4.1.4 Oda Sıcaklığında Mikrodalga Doyum Davranışı

EPR sinyal şiddetlerinin mikrodalga gücüne bağlı değişimlerini incelemek, deneylerin mikrodalga doyum bölgesinin altındaki güç değerlerinde yapılması açısından önemlidir. Oda sıcaklığı mikrodalga (MD) çalışmasına ait veriler Şekil 4.2'de

verilmiştir. 1 kGy doz değerinde ışınlanmış Busulfan örneğinin 0.01-5 mW aralığında değişen mikrodalga güçlerinde EPR spektrumları alınarak sinyal şiddetlerinin değişimine bakılmıştır (Şekil 4.2). Bu değişimler dikkatle incelendiğinde sinyalin 3 mW mikrodalga güç değerinden sonra doyuma ulaştığı görülmektedir.



Şekil 4.2 1 kGy doz değerinde ışınlanmış Busulfan örneğinde gözlenen merkezi rezonans sinyal şiddetinin uygulanan mikrodalga gücüne bağlı değişimi

4.1.5 Busulfan Örneğinin Doz Cevap Eğrileri

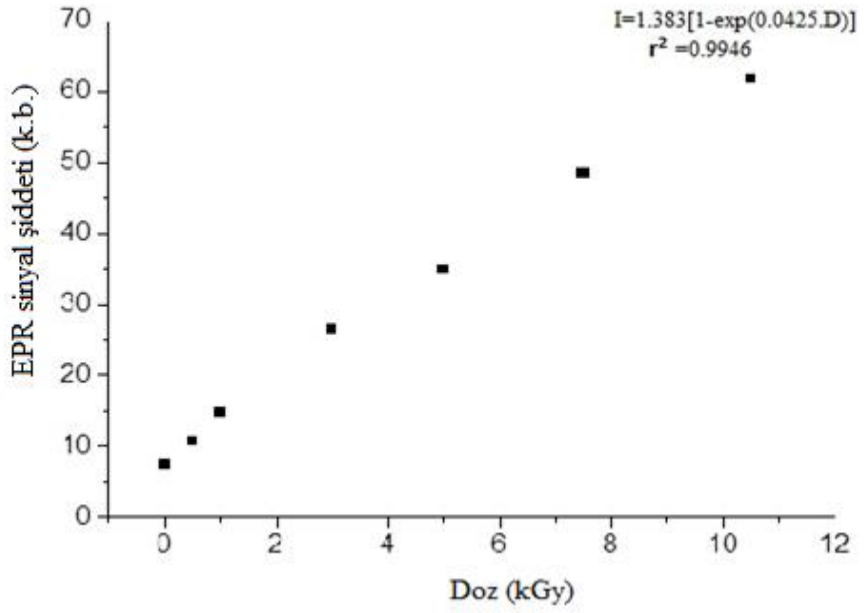
Bu bölümde, EPR tekniğinin nitel algılamanın yanı sıra radyasyon doz ölçümünde de kullanılabileceğini gösterebilmek amacıyla Busulfan'nın mikrodalga bölgesindeki fotonlarla etkileşimi sonucu soğurduğu farklı dozdaki radyasyon miktarları ölçüldü. Bruker X-band EPR spektrometresinin kullanıldığı deneylerde Busulfan örneği için serbest radikal yarı genişlikleri (ΔH) ve spektroskopik yarılma çarpanlarında (g) genel olarak radyasyon dozuna bağlı olarak belirgin bir değişimin olmadığı buna karşın sinyal şiddetlerinde çok belirgin değişimlerin ortaya çıktığı gözlendi. Bu sebeple, Busulfan'nın radyasyon dozuna karşı duyarlılığının belirlemede kullanılan temel yöntem sinyal şiddetlerinde ortaya çıkan değişimler esas alınarak yürütüldü. Deneysel sinyal şiddeti bulgularının uygulanan doza bağlı değişimlerini

betimleyebilecek en uygun matematiksel fonksiyonlar Çizelge 4.2'de verilen matematiksel fonksiyonlar denenerek belirlendi. Sinyal şiddetleri ile ilgili olarak yapılan veri uyarlama işlemleri sonucunda ışınlanmış Busulfan örneğinde gözlenen rezonans sinyallerinin doz-cevap eğrilerinin,

$$I(D) = I_0[1-\exp(-kD)] \quad (4.1)$$

gibi bir fonksiyonla temsil edilebileceği görülmüştür. Burada D, örnek üzerine uygulanan farklı dozdaki radyasyon miktarını belirtmektedir. I, farklı dozlarda kaydedilen EPR sinyallerinin tepeden tepeye sinyal şiddetleri, I_0, ışınlama ile oluşturulmuş serbest radikallerin kararlı durumuna karşılık gelen EPR sinyal şiddeti, k ise ortamın birim radyasyon dozu başına, etkileşme olasılığı olarak da tanımlanan, çizgisel uyum parametresidir.

Ölçümleri kolay ve güvenilir bir biçimde yapılabilen tek çizgili merkezi sinyal şiddetinin uygulanan doza bağlı değişimleri Şekil 4.3' te verilmiştir.



Şekil 4.3 Busulfan örneğinin merkezi rezonans sinyali için 3 mW mikrodalga gücünde oluşturulan doz-cevap eğrisi

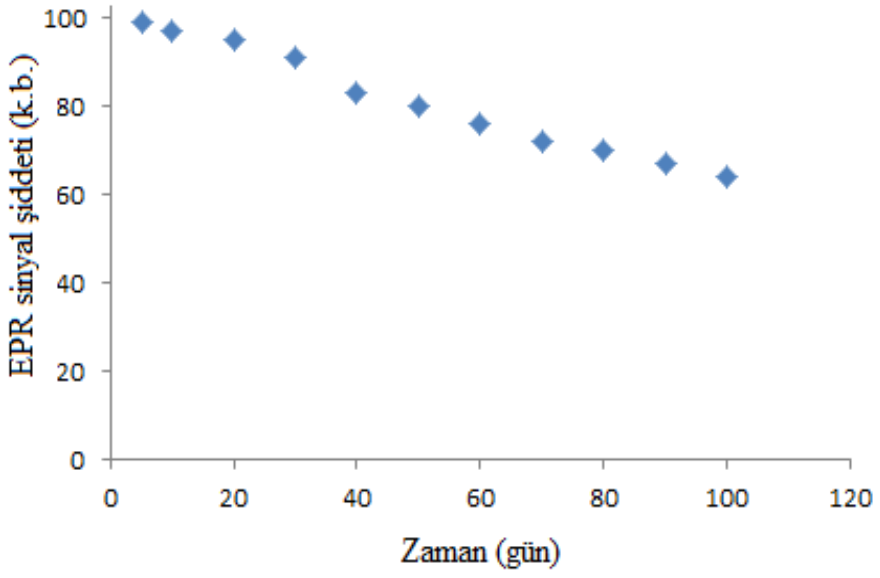
Çizelge 4.2. Deneysel doz cevap eğrilerinin benzetişimi için önerilen matematiksel modeller ve benzetişim sonucu elde edilen parametre değerleri.

Fonksiyon	Parametreler	
$I = a+bD$	a	0.0784
	b	0.0309
	r^2	**0.9907**
$I = a+bD-cD^2$	a	0.0712
	b	0.0368
	c	0.0005
	r^2	**0.9979**
$I= I_0[1-\exp(k.D)]$	I_0	1.387
	k	0.0425
	r^2	**0.9946**
$I= A_1\exp(-k_1.t)+ A_2\exp(-k_2.t)$	A_1	32.90
	A_2	67.20
	k_1	0.0039
	k_2	0.0047
	r^2	**0.9931**

4.1.6 Busulfan Örneğinin Sinyal Şiddetinin Normal Koşullardaki Sönümü

Tez çalışmasının bu kısmında ağzı kapalı bir biçimde karanlık ortamda bekletilen 15 kGy doz değerinde ışınlanmış Busulfan örneğinin 120 günlük süre içerisinde belirli aralıklarla EPR spektrumu alınarak sinyal şiddetlerinde zamanla ortaya çıkan değişiklikler izlenmiş, bu değişimlerin karakterleri betimlenmiştir. Değişik zamanlarda kaydedilen spektrumlar kıyaslandı ve sonuçlar ilk elde ettiğimiz EPR spektrumuna göre normalize edildi. Yapılan kıyaslamalardan; değişik zaman aralıklarında kaydedilen 15 kGy doz değerinde ışınlanmış Busulfan örneğinin oda sıcaklığında yaklaşık iki ay

süreyle farklı zaman aralıklarında spektrumları kaydedildi. Kaydedilen bu spektrumlardan ilgili merkezi sinyal şiddetleri ölçülmüş ve zamanla nasıl değiştikleri Şekil 4.4' te verilmiştir. Şekilden de görüldüğü gibi, ışınlamayı takip eden ilk on gün içerisinde tüm rezonans sinyallerinde belirgin bir düşüş vardır. Daha sonraki günlerde ise sönümün oldukça yavaşladığı görülmektedir. Bu durum birisi hızlı sönen diğeri yavaş sönen iki durumun toplamı gibi düşünüldü. Bu nedenle sinyal şiddetlerinin bekletme zamanına bağlı değişim bulguları zamanla üstel olarak azalan ve her biri, katkı getiren iki radikalden birini temsil etmek üzere $I= A_1\exp(-k_1.t)+ A_2\exp(-k_2.t)$ türünde iki terimin toplamı ile oluşan bir fonksiyona uyarlandı. Burada I_0 yavaş sönen radikalin şiddetini; A ve k sabiti ise hızlı sönen radikalin şiddetini ve sönüm sabitini temsil etmektedir. İlgili parametre değerleri çizelge 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.4 15 kGy doz değerinde ışınlanmış Busulfan örneğinde gözlenen sinyal şiddetlerinin zamanla değişimi

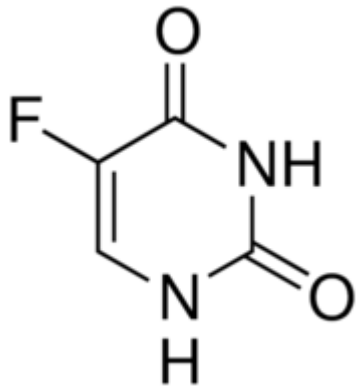
4.1.7. Işınlanmamış 5-Florourasil Örneğinin EPR Spektrumları

Işınlanmamış 5-Florourasil örneklerinde herhangi bir EPR sinyali gözlenmemiştir. Ayrıca, oda sıcaklığında normal koşullarda uzun süre bekletilen örneklerinde EPR sinyali vermedikleri gözlenmiştir.

4.1.8. Gama ile Işınlanmış 5-Florourasil Toz Kristallerinin EPR Spektrumu

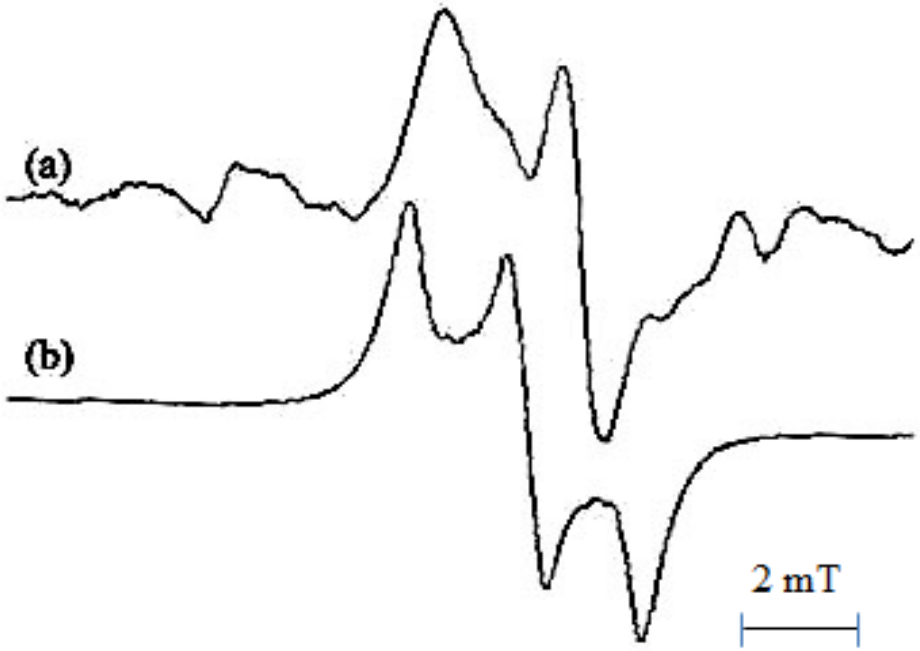
5- Florourasil (5-FU) yaygın olarak kullanılan kemoterapi ilaçlarından birisidir. Meme, kolon ve cilt kanseri tedavisinde sıklıkla kullanılır. 5-Florourasil kapalı formülü $C_4H_3FN_2O_2$ ve molekül ağırlığı 130.08 g/mol ve kimyasal adı 5-Floro-2,4(1H,3H)-pirimidindiyon olarak bilinmektedir. 5- fluorourasil'in kimyasal yapısı Çizelge 4.3'te verilmiştir. Üzerinde herhangi bir işlemin yapılmadığı 5-Florourasil örneği 1, 5, 7, 10, 15 ve 20 kGy doz değerlerinde ışınlandı ve yarım saat sonra EPR spektrumları kaydedildi. Işınlanmamış 5-Florourasil herhangi bir EPR sinyali vermediği halde ışınlanmış olan örneğin şekil 4.5(a)'da gösterildiği gibi EPR spektrumu verdiği belirlenmiştir. Işınlanmamış 5-Florourasil örneğinde herhangi bir EPR sinyali gözlenmezken ışınlanmış 5-Florourasil da EPR sinyali gözlenmesi bu örnekte ışınlama yoluyla eşlenmemiş elektrona sahip serbest radikallerin oluştuğu kanaatine varılmıştır. Şekil 4.5(a)'da verilen spektrumdan da görüldüğü gibi, 5-Florourasil, merkezi g=2.0020 değerinde ve 0.2 mT'lık bir alan bölgesine yayılmış bir EPR spektrumu vermiştir. Işınlanmış 5-Florourasil örneğine ait simulasyon hesapları McKelvey simülasyon programı yardımıyla yapıldı. Simülasyon metodu ile hesaplanan aşırı ince yapı değerleri ve yarı genişlik (ΔH), a^1_β=1.1 mT, a^2_β = 8.2 mT, a_N= 0.3 mT ve ΔH= 0.4 mT olarak bulunmuştur. Hesaplanan spektroskopik parametre değerleri, deneysel spektrumla karşılaştırıldı. Belirgin olmayan tepelerin örneğin manyetik alan içindeki yönelimi ile alakalı olup olmadığına bakıldı ve tüm örnek yönelimleri için bu tepelerin aynı manyetik alan değerlerinde ortaya çıktıkları belirlendi. Sağlıklı ve güvenilir bir ölçüm için merkezdeki şiddetli tek sinyal dikkate alınarak ölçümler yapıldı. Işınlama dozu 10 kGy den 15 kGy'e artıkça rezonans tepesi daha da belirginleşmektedir. Rezonans tepesine karşılık gelen sinyal şiddetleri spektrumun temel çizgisine göre hesaplandı ve elde edilen veriler spektrometre kazancına, örnek kütlesine ve standartın sinyal şiddetine bölünerek normalize edilip öncelik sinyal şiddetinin değişik koşullardaki değişimine atfedildi.

Çizelge 4.3 5- Florourasil örneğinin kimyasal yapısı, kapalı formülü, molekül ağırlığı ve kimyasal yapısı



5- Florourasil Toz Kristallerinin 2 Boyutlu Kimyasal Yapısı

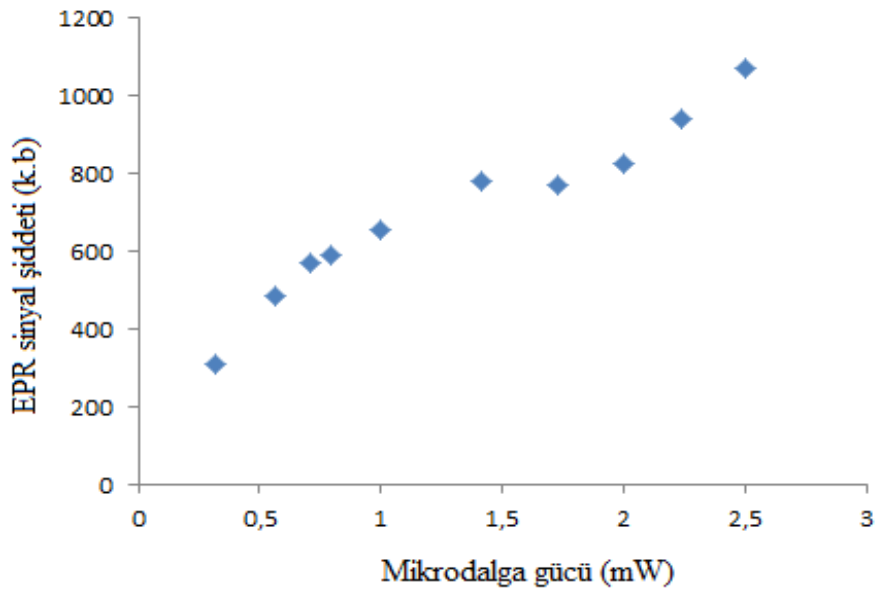
Kapalı Formülü	$C_4H_3FN_2O_2$
Molekül Ağırlığı	130.08 g/mol
Kimyasal Adı	5-Floro-2,4(1H,3H)- pirimidindiyon



Şekil 4.5 (a) 15 kGy doz değerinde ışınlanmış 5-Florourasil 'in deneysel spektrumu
(b) Simüle Spektrum

4.1.9. Oda Sıcaklığında Mikrodalga Doyum Davranışı

EPR sinyal şiddetlerinin mikrodalga gücüne bağlı değişimlerini incelemek, deneylerin MD doyum bölgesinin altındaki güç değerlerinde çalışılması gerekliliği açısından önemlidir. Bu sebeple örneğin merkezi rezonans sinyal şiddetinin 0-9 mW mikrodalga güç aralığındaki değişimi incelendi (Şekil 4.6). Şekil 4.6 incelendiğinde mikrodalga gücü 3 mW değerine ulaştığında örneğin sinyal şiddetinin doyuma ulaştığı ancak daha sonra lineer bir şekilde tekrar arttığı gözlenmektedir.

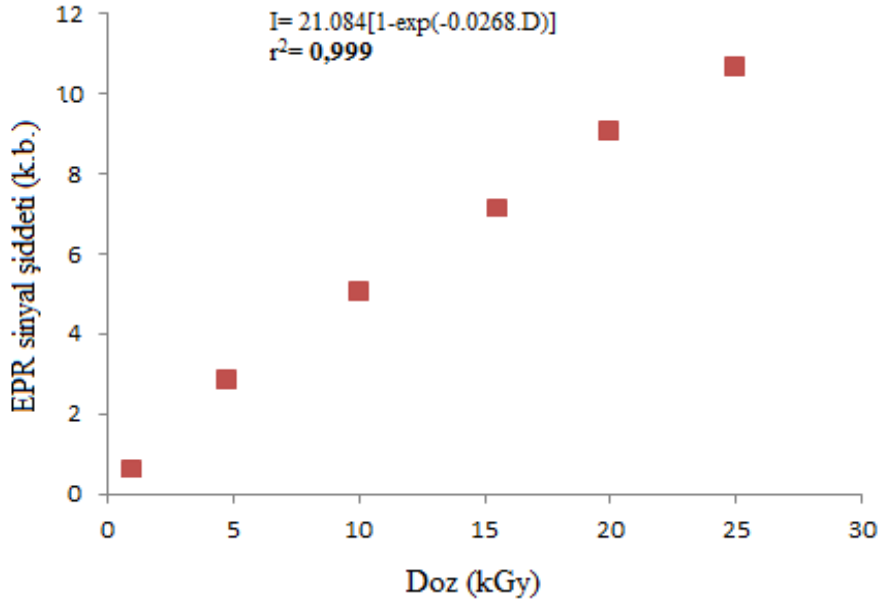


Şekil 4.6 Merkezi rezonans sinyal şiddetinin oda sıcaklığında uygulanan mikrodalga gücüne bağlı olarak değişimi

4.1.10. 5-Florourasil Örneğinin Doz Cevap Eğrileri

1, 5, 7, 10, 15, 18 ve 20 kGy doz değerlerinde ışınlanmış örnekler kullanılarak 5-Florourasil'in dozimetrik özellikleri incelendi. Spektrumun temel çizgisine göre tepeden tepeye ölçülen sinyal şiddet değerinin uygulanan doza bağlı değişim grafiği Şekil 4.7'de verilmiştir. Bir örneğe uygulanan radyasyon dozunu belirlemede, doz-cevap eğrisini tanımlayan matematiksel ifadenin seçimi oldukça önemlidir. Bu seçim için tek bir analitik yöntem bulunmamaktadır. 5-Florourasil örneği için elde edilen deneysel sonuçlara en yakın matematiksel fonksiyonlar belirlenmeye çalışıldı. Örneğin doz-cevap

eğrisinin; lineer, polinom ve logaritmik fonksiyonlarla oldukça uyumlu olduğu görülmüştür. Çizelge 4.4'te bu üç fonksiyona ait değerler verilmiştir. Çizelge incelendiğinde elde edilen eğrinin en iyi uyumu $I(D)=I_0[1-\exp(-kD)]$ logaritmik fonksiyonuyla gösterdiği belirlenmiştir. Burada; I örneğin EPR spektrumundan ölçülen sinyal şiddetini, D örneğe uygulanan radyasyon doz miktarını belirtmektedir. Ayrıca $R^{2'}$nin seçilen fonksiyonlar için en küçük değerinin 0.9067 olduğu görülmektedir.



Şekil 4.7 Florourasil örneğinin merkezi rezonans sinyali için 2 mW mikrodalga gücünde oluşturulan doz-cevap eğrisi

Çizelge 4.4 Merkezi rezonans sinyal şiddeti (I) değerleri kullanılarak denenen dört farklı matematiksel fonksiyon için hesaplanan parametre değerleri ve uyum katsayıları.

Fonksiyon	Parametreler	
$I = a+bD$	a	6.124
	b	0.1099
	r^2	**0.9982**
$I = a+Bd-cD^2$	a	5.879
	b	0.2065
	c	0,007
	r^2	**0,9067**
$I= I_0[1-exp(-k.D)]$	I_0	21.084
	k	0.0268
	r^2	**0,999**
$I= A_1exp(-k_1.t)+ A_2exp(-k_2.t)$	A_1	18.72
	A_2	81.28
	k_1	0.01172
	k_2	0.0014
	r^2	**0,9999**

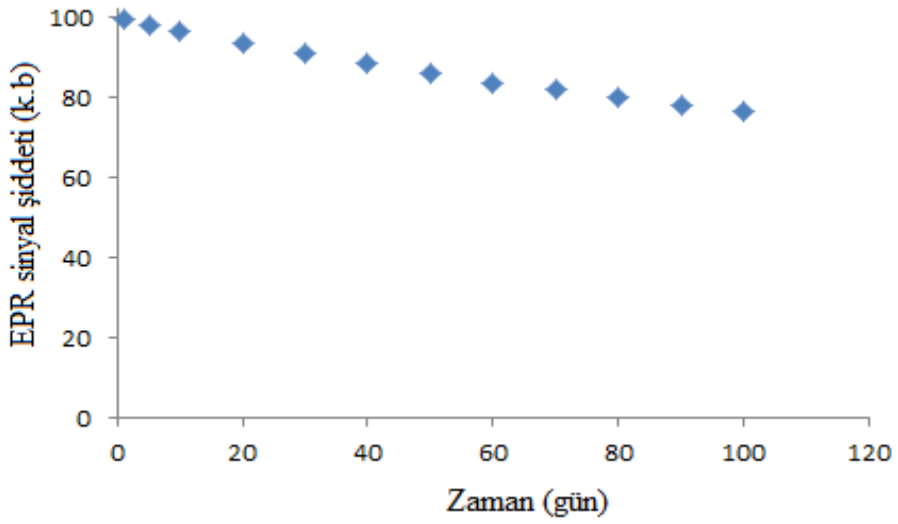
4.1.11. 5-Florourasil Örneğinin Sinyal Şiddetinin Normal Koşullardaki Sönümü

Tez çalışmasının bu kısmında ağzı kapalı bir biçimde karanlık ortamda bekletilen 15 kGy doz değerinde ışınlanmış 5-Florourasil örneğinin 120 günlük süre içerisinde belirli aralıklarla EPR spektrumu alınarak sinyal şiddetlerinde zamanla ortaya çıkan değişiklikler izlenmiş, bu değişimlerin karakterleri betimlenmiştir. Değişik zamanlarda kaydedilen spektrumlar kıyaslandı ve sonuçlar ilk elde ettiğimiz EPR spektrumuna göre normalize edildi. Yapılan kıyaslamalardan; değişik zaman

aralıklarında kaydedilen EPR sinyallerinde şiddet zayıflamasının dışında yapısal bir değişikliğin ortaya çıkmadığı bir başka deyişle a, ΔH ve g parametrelerinin deneysel yanılgı sınırları içerisinde aynı kaldığı belirlendi. Bu nedenle, bu kesimdeki kıyaslamalar yalnızca sinyal şiddetlerinde ortaya çıkan değişimler esas alınarak yürütüldü. Sinyal şiddeti ile ilgili olarak yapılan veri uyarlama işlemleri sonucunda sinyal şiddetlerinin zamana bağlı değişimi ile ilgili bulguların 4.2 eşitliği ile betimlenecek bir türde olabileceği görülmüştür.

$$\text{EPR sinyal şiddeti yoğunluğu(\%)} = A \exp(-k_1 t) + B \exp(-k_2 t) \qquad (4.2)$$

Burada A ve B spektruma katkı getiren serbest radikallerin katkı oranlarına göstermek üzere k_1 ve k_2 serbest radikal sönüm sabiti ve t'de gün cinsinden zamanı ifade etmektedir. İlgili parametre değerleri çizelge 4.4'te verilmiştir. Eşitlik 4.2 yardımıyla elde ettiğimiz verileri grafiğe aktardığımızda Şekil 4.8'deki grafiği elde ederiz.



Şekil 4.8 15 kGy doz değerinde ışınlanmış 5-Florourasil örneğin merkezi sinyal şiddetinin zamanla değişimi.

5-Florourasil'lin, gama ile ışınlanması sonucunda oluşan serbest radikalin oda sıcaklığındaki kararlılığı, 120 gün boyunca değişik zaman aralıklarında kaydedilen spektrumlardan anlaşılmaktadır. 120 günlük bekleme süresin sonunda bekleme

süresinin ilk 40. gününde şiddetli sinyallerin şiddetinde % 20 lik bir azalmaya karşın zayıf sinyallerin tamamen kaybolduğu görüldü.

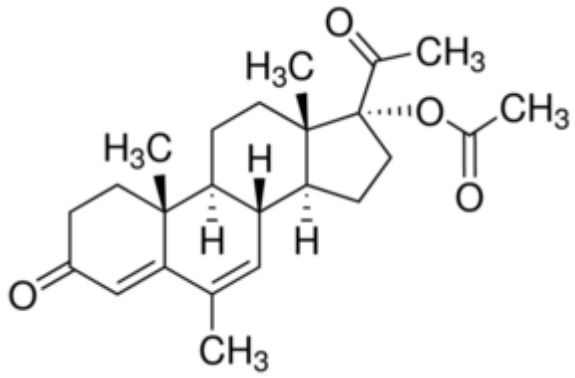
4.1.12. Işınlanmamış Megestrol Asetat EPR Spektrumları

Işınlanmamış Megestrol Asetat örneklerinde herhangi bir EPR sinyali gözlenmemiştir. Ayrıca, oda sıcaklığında normal koşullarda uzun süre bekletilen örneklerinde EPR sinyali vermedikleri gözlenmiştir.

4.1.13. Gama ile Işınlanmış Megestrol Asetat Toz Kristallerinin EPR Spektrumu

Megestrol Asetat meme ve endometriyum kanserlerinde kullanılan bir antikanser ilaçtır. Megestrol Asetat kapalı formülü $C_{24}H_{32}O_4$ ve molekül ağırlığı 384.51 g/mol ve kimyasal adı 17α-(asetiloksi) 6-metillpregna-4,6-dien-3,20-d olarak bilinmektedir. 5-fluorourasil'in kimyasal yapısı çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5 Megestrol Asetat örneğinin kimyasal yapısı, kapalı formülü ve molekül ağırlığı

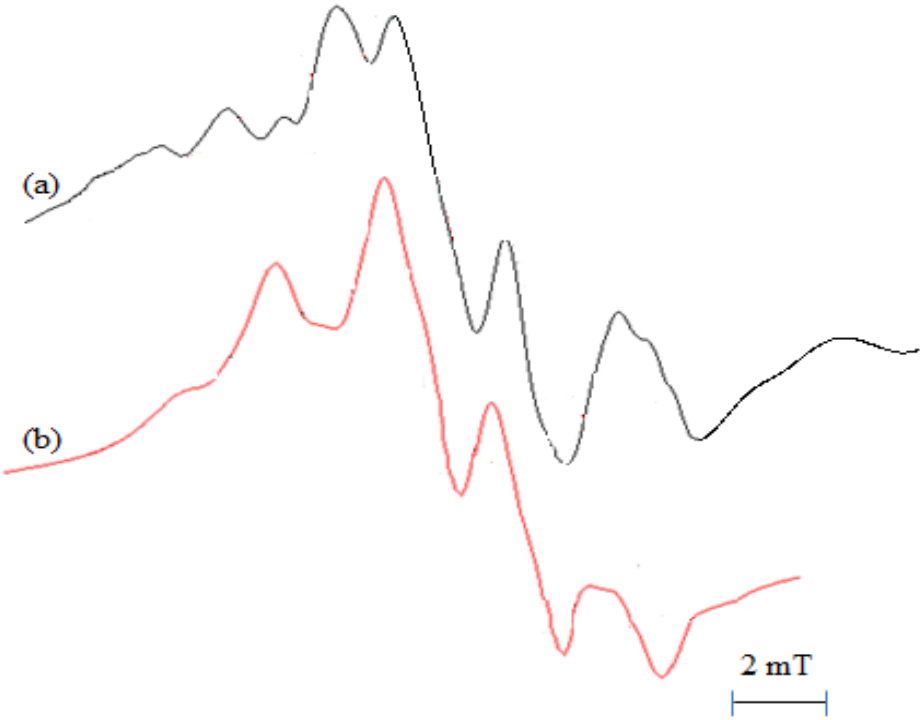


5- Florourasil Toz Kristallerinin 2 Boyutlu Kimyasal Yapısı

Kapalı Formülü	$C_{24}H_{32}O_4$
Molekül Ağırlığı	384.51 g/mol
Kimyasal Adı	17α-(asetiloksi) 6-metillpregna-4,6-dien-3,20-d

Bu çalışmada kullanılan Megestrol Asetat üzerinde fiziksel veya kimyasal herhangi bir işlem yapılmamıştır. Megestrol Asetat örneği 1 kGy ile 20 kGy doz aralığında γ-ışınları ile ışınlanmış ve EPR spektrumları kaydedilmiştir. Işınlanmamış Megestrol Asetat herhangi bir EPR sinyali vermediği halde ışınlanmış olan örneğin

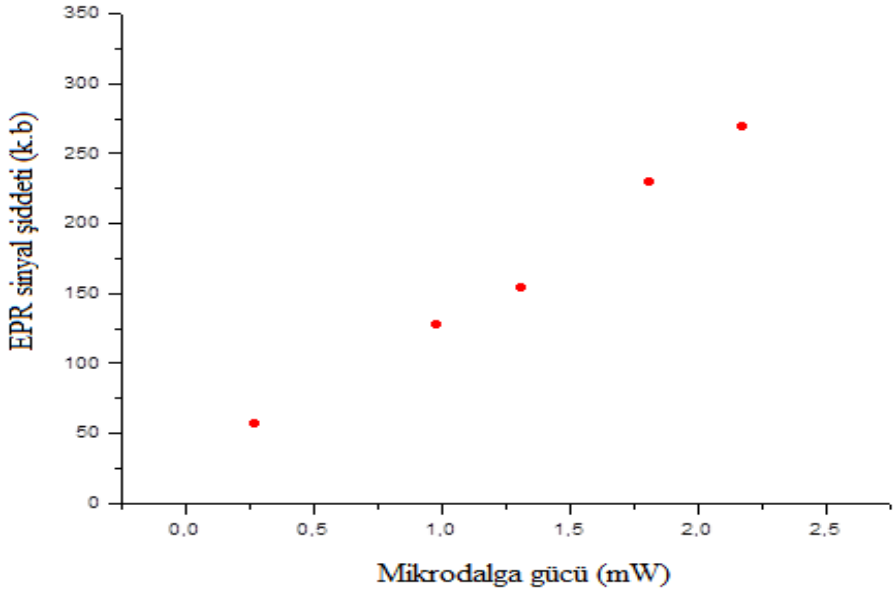
Şekil 4.9 (a) daki gibi bir EPR spektrumu verdiği belirlenmiştir. Işınlanmamış Megestrol Asetat örneklerinde herhangi bir EPR sinyali gözlenmezken 1 kGy ile 25 kGy doz aralığında ışınlanmış Megestrol Asetat örneklerinde EPR sinyali gözlenmesi bu örneklerde ışınlama yoluyla eşlenmemiş elektrona sahip ara ürünlerin oluştuğu kanaatine varılmıştır. Şekil 4.9a'da verilen spektrumdan da görüldüğü gibi, Megestrol Asetat için oda sıcaklığındaki spektrumdan hesaplanan aşırı ince yapı sabitleri, a^1= 1.182 mT, a^2= 0.65 mT, a^3= 1.173 mT, a^4= 1.176 mT, g faktörü, g= 2.0043, değerinde ve yaklaşık 0.29 mT'lık bir alan bölgesine yayılmış dört çizgili EPR spektrumu vermiştir. Megestrol asetat örneğine ait, oda sıcaklığında alınan EPR spektrumları ile onların McKelvey (McKelvey 1987) simülasyon programı kullanılarak elde edilen simüle spektrumları Şekil 4.9b'de görülmektedir. Spektrumun merkezinde bulunan şiddetli iki rezonans çizgisinin yanında, bunların solunda ve sağında simetrik denilebilecek zayıf şiddete rezonans tepe ve çukurların oluşmadığı görülmektedir. Spektrumun bu özelliği zayıf etkileşmelerin kararsız olduğu anlaşılmaktadır. Sağlıklı ve güvenilir bir ölçüm için dört çizgili EPR spektrumu dikkate alınarak ölçümler yapıldı. Işınlama dozu 5 kGy den 15 kGy'e artıkça rezonans tepeleri daha da belirginleşmektedir. Rezonans tepelerine karşılık gelen sinyal şiddetleri spektrumun temel çizgisine göre hesaplandı ve elde edilen veriler spektrometre kazancına, örnek kütlesine ve standardın sinyal şiddetine bölünerek normalize edilip öncelik sinyal şiddetinin değişik koşullardaki değişimine verildi.



Şekil 4.9 (a) 15 kGy doz değerinde ışınlanmış Megestrol Asetat 'ın EPR spektrum
(b) Simüle spektrum

4.1.14. EPR Sinyal Şiddetinin Mikrodalga Gücü ile Değişimi

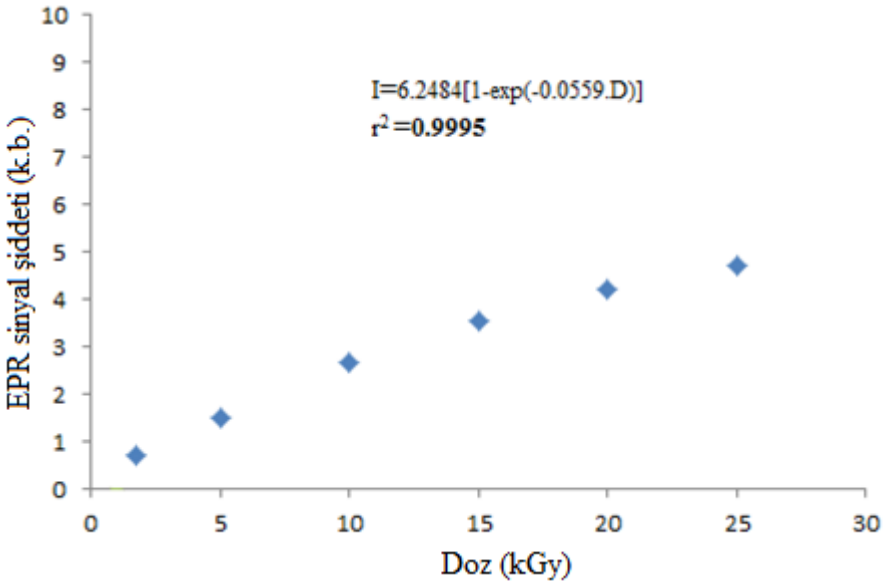
Çalışmanın bu kesiminde 15 kGy doz değerinde ışınlanmış megestrol asetat örneğinin 0.01-6 mW aralığında değişik MD güç değerlerinde EPR spektrumları kaydedilmiştir. Şekil 4.10'da görüldüğü gibi uygulanan MD gücüne bağlı tepeden tepeye sinyal şiddeti 3 mW civarında doyuma ulaşmaya başlamıştır



Şekil 4.10 15 kGy doz değerinde ışınlanmış Megestrol Asetat örneğinin sinyal şiddetinin mikrodalga gücüne bağlı değişimleri.

4.1.15. Megestrol Asetat Örneğinin Doz Cevap Eğrisi

Gama radyasyonuyla 1, 5, 7, 10, 15 ve 20 kGy doz değerlerinde ışınlanan Megestrol Asetat örneklerinin aynı spektrometre çalışma koşullarında kaydedilen EPR spektrumlarından, Şekil 4.11'de gösterilen sinyalin tepeden tepeye şiddet değerleri okunarak kütlelerine göre normalize edilmiş ışınlama dozuna bağlı değişimi verilmiştir.



Şekil 4.11 1-20 kGy doz aralığında ışınlanmış sinyal şiddetinin uygulanan doza bağlı değişimi.

Örneğin soğurduğu radyasyon doz miktarını tespit etmek amacıyla normalize sinyal şiddetinin ışınlama dozuna bağlı olarak bir matematiksel fonksiyon ile tanımlanabilmesi önemlidir. Bu nedenle çizelge 4.6'da verilen üç farklı fonksiyon denemesi yapıldıktan sonra deneysel noktalardan geçen en iyi doğrunun $I= I_0[1-\exp(-k.D)]$ biçiminde ifade edilen üstel bir fonksiyonla tanımlanabileceği sonucuna varılmıştır. Burada I, normalize sinyal şiddeti ve D, kGy cinsinden doz değeridir. Ayrıca $R^{2'}$nin seçilen fonksiyonlar için en küçük değerinin 0.986 olduğu görülmektedir.

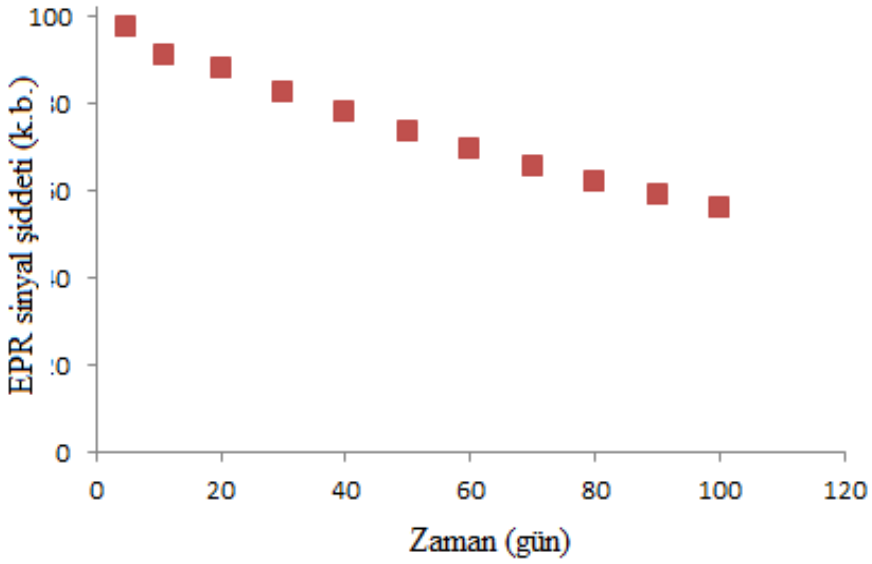
Çizelge 4.6 Tepeden tepeye ölçülen sinyal şiddeti değerleri kullanılarak dört değişik matematiksel fonksiyon için hesaplanan parametre değerler

Fonksiyon	Parametreler	
$I = a+bD$	a	0.116
	b	0.218
	r^2	**0.9979**
$I = a+bD-cD^2$	a	0.3997
	b	0.2580
	c	0.0028
	r^2	**0.986**
$I= I_0[1-exp(-k.D)]$	I_0	6.2484
	k	0.0559
	r^2	**0.9995**
$I= A_1exp(-k_1.t)+ A_2exp(-k_2.t)$	A_1	10.91
	A_2	89.17
	k_1	0.01921
	k_2	0.0090
	r^2	**0.9995**

4.1.16. Megestrol Asetat Örneğinin Sinyal Şiddetinin Normal Koşullardaki Sönümü

Çalışmanın bu kesiminde, ışınlanmış Megestrol Asetat örneği EPR spektrumuna kaynaklık eden radikal veya radikallerin oda sıcaklığındaki kararlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Işınlanmamış Megestrol Asetat herhangi bir EPR sinyali vermediği gözönüne alınarak, γ radyasyonuna maruz bırakılmış Megestrol Asetat örneğinin ışınlamadan sonraki yaklaşık 120 gün içerisinde izlenen tepeden tepeye sinyal

şiddetinin incelendi. 120 günlük bekleme süresin sonunda bekleme süresinin ilk 60. cı gününde şiddetli sinyallerin şiddetinde %25 lik bir azalmaya karşın zayıf sinyallerin tamamen kaybolduğu görüldü. Oda sıcaklığındaki sinyal şiddetlerinin Şekil 4.12'den görüldüğü gibi ilk 10 günde belirgin bir düşüş ve daha sonrasında ise dalgalanmalar halinde devam eden yavaş bir sönüm görülmektedir. Deneysel spektrumun oluşumuna kaynaklık eden radikallerin sönüm kinetiği ve uydukları fonksiyon çizelge 4.4'te verilmiştir.



Şekil 4.12 Oda sıcaklığında bekletilen Megestrol Asetat örneğinin sönüm davranışı.

4.1.17. Işınlanmamış Sodyum- 2- Mercaptoethan Sulfonat EPR Spektrumları

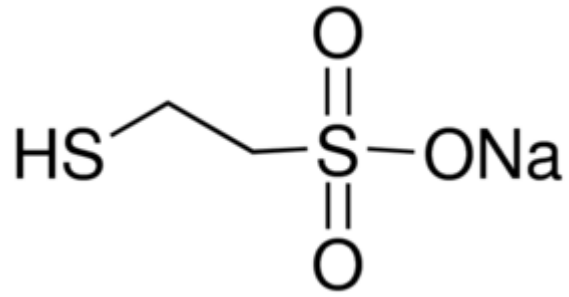
Işınlanmamış Sodyum 2 Mercaptoethan Sulfonat örneklerinde herhangi bir EPR sinyali gözlenmemiştir. Ayrıca, oda sıcaklığında normal koşullarda uzun süre bekletilen örneklerinde EPR sinyali vermedikleri gözlenmiştir.

4.1.18. Gama ile Işınlanmış Sodyum-2-Merkapto ethan Sulfonat Toz Kristallerinin EPR Spektrumu

Sodyum-2-merkapto ethan sulfonat kanser kemoterapisinde bir karşı koruyucu ilaç olarak sınıflandırılır. Kemoterapinin yan etkilerini en aza indirmek için veya vücudu korumak için kullanılır. Sodyum-2-merkapto ethan sulfonat kapalı formülü

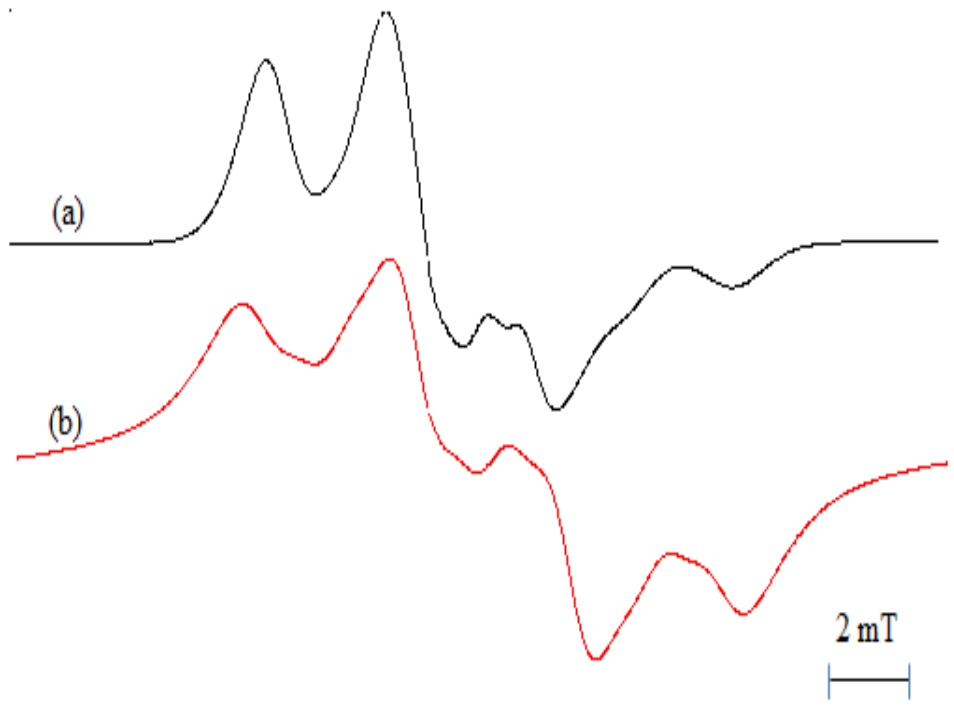
$HSCH_2CH_2SO_3Na$ ve molekül ağırlığı 164.18 g/mol ve kimyasal adı 2-merkapto asit sodyum tuzu olarak bilinmektedir. Sodyum-2-merkapto ethan sulfonat'ın kimyasal yapısı çizelge 4.7'de verilmiştir. Üzerinde herhangi bir işlemin yapılmadığı sodyum-2-merkapto ethan sulfonat in ışınlama işleminden önce herhangi bir EPR sinyaline sahip olup olmadığı belirlendikten sonra örnek belli doz değerlerinde ışınlanmış ve EPR spektrumları kaydedilmiştir. Işınlanmamış sodyum-2- merkapto ethan sulfonat herhangi bir EPR sinyali vermediği halde ışınlanmış olan örneğin Şekil 4.13'teki gibi bir EPR spektrumu verdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.7 Sodyum-2-merkapto ethan sulfonat örneğinin kimyasal yapısı, kapalı formülü ve molekül ağırlığı



Sodyum-2-merkapto ethan sulfonat Toz Kristallerinin 2 Boyutlu Kimyasal Yapısı

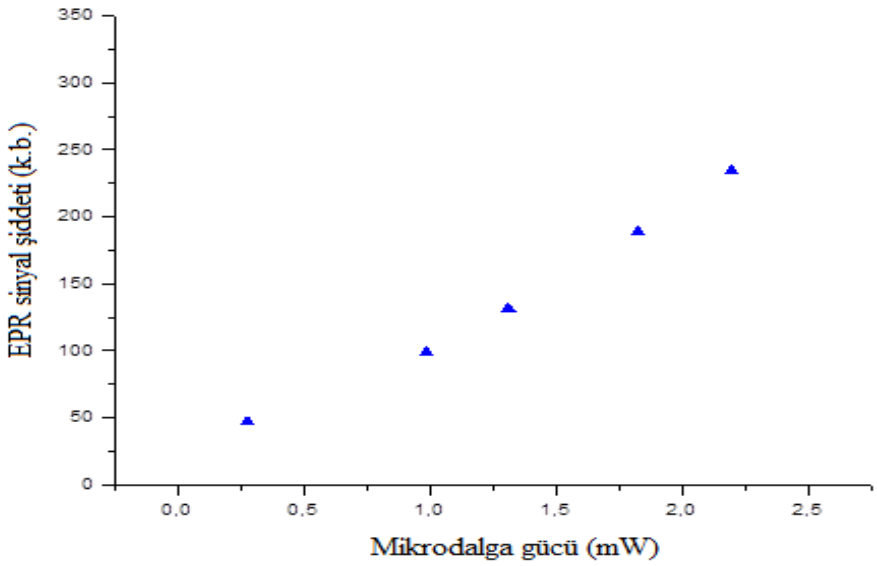
Kapalı Formülü	$HSCH_2CH_2SO_3Na$
Molekül Ağırlığı	164.18 g/mol
Kimyasal Adı	2-merkapto asit sodyum tuzu



Şekil 4.13 (a) 15 kGy doz değerinde ışınlanmış sodyum-2-merkapto ethan sulfonat 'ın EPR spektrumu
(b) Simüle spektrumu

4.1.19. EPR Sinyal Şiddetinin Mikrodalga Gücü ile Değişimi

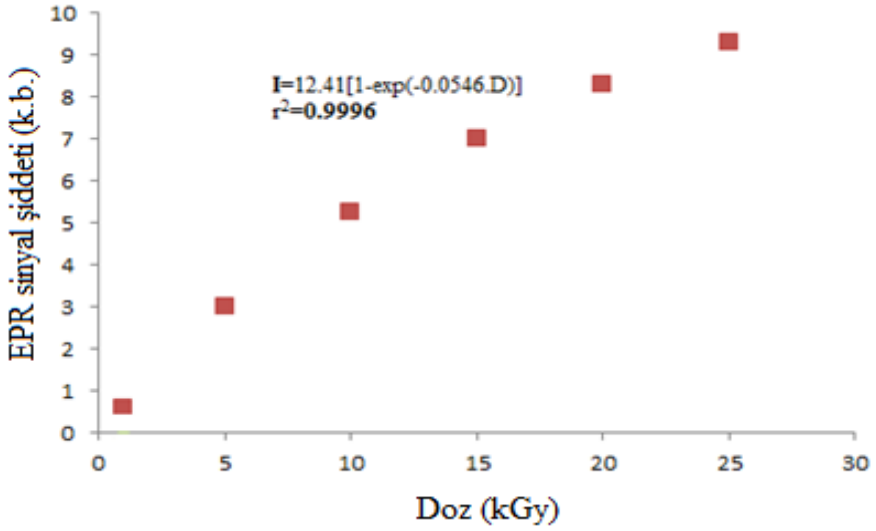
Gama kaynağında 10 kGy doz değerinde ışınlanan Sodyum-2-merkapto ethan sulfonat örneğinin sinyal şiddetinin 0,01-6 mW aralığında mikrodalga gücüne bağlı değişimine bakılmıştır. Rezonans sinyalinin yaklaşık 6 mW mikrodalga güç değerinde doyuma ulaşmaya başladığı görülmektedir.



Şekil 4.14 10 kGy doz değerinde ışınlanmış sodyum-2-merkapto ethan sulfonat örneğinin EPR sinyal şiddetinin MD gücüne bağlı değişimi

4.1.20. Sodyum-2-Merkapto Ethan Sulfonat Örneğinin Doz Cevap Eğrisi

1, 5, 7, 10, 15 ve 20 kGy doz değerlerinde ışınlanan sodyum-2-merkapto ethan sulfonat örneğinin tepeden tepeye sinyal şiddeti değerleri ölçülerek normalize edilmiş ve Şekil 4.15'te görüldüğü gibi doz-cevap eğrisi oluşturulmuştur. Sinyal şiddetindeki değişimlerin nasıl bir matematiksel fonksiyonla tanımlanabileceğini belirlemek için Çizelge 4.8'deki matematiksel modeller kullanılarak benzetişim çalışmaları yapılıp hesaplanan parametre değerleri yine aynı tabloda verilmiştir. Uyum parametreleri göz önüne alınarak sinyal şiddeti değişiminin $I=I_0[1-\exp(-k.D)]$ şeklindeki exponansiyelli fonksiyonla tanımlanabileceği sonucuna varılmıştır.



Şekil 4.15 Normalize edilmiş rezonans sinyali için oluşturulan doz-cevap eğrisi

Çizelge 4.8 Tepeden tepeye ölçülen sinyal şiddeti değerleri kullanılarak dört değişik matematiksel fonksiyon için hesaplanan parametre değerleri

Fonksiyon	Parametreler	
$I = a+bD$	a	4.1273
	b	0.796
	r^2	**0.9654**
$I = a+bD-cD^2$	a	3.824
	b	1.099
	c	0.019
	r^2	**0.9978**
$I= I_0[1-exp(-k.D)]$	I_0	12.41
	k	0.0546
	r^2	**0.9996**
$I= A_1exp(-k_1.t)+ A_2exp(-k_2.t)$	A_1	33.01
	A_2	66.96
	k_1	0.0011
	k_2	0.0092
	r^2	**0.994**

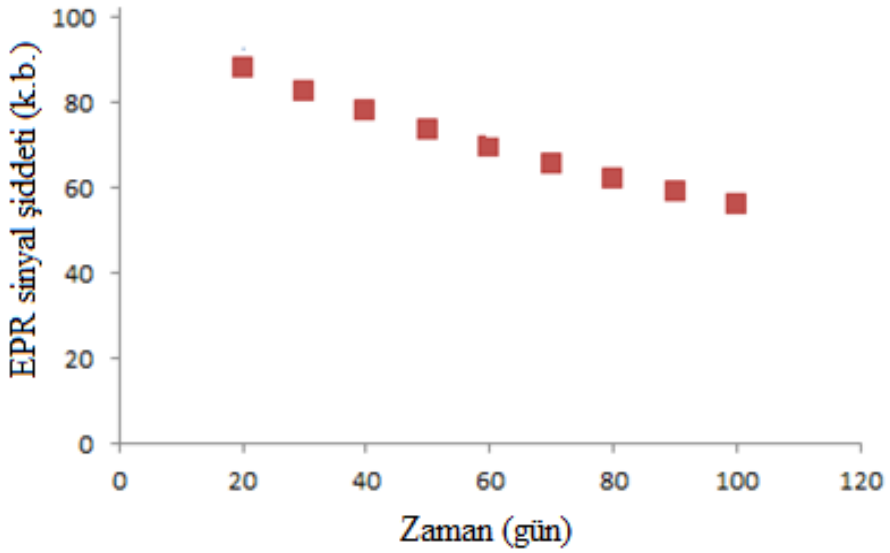
4.1.21. Sodyum-2-Merkapto Ethan Sulfonat Örneğinin Sinyal Şiddetinin Normal Koşullardaki Sönümü

Tez çalışmasının bu kısmında ağzı kapalı bir biçimde karanlık ortamda bekletilen 15 kGy doz değerinde ışınlanmış sodyum-2-merkapto ethan sulfonat örneğinin 120 günlük süre içerisinde belirli aralıklarla EPR spektrumu alınarak sinyal şiddetlerinde zamanla ortaya çıkan değişiklikler izlenmiş, bu değişimlerin karakterleri betimlenmiştir. Değişik zamanlarda kaydedilen spektrumlar kıyaslandı ve sonuçlar ilk elde ettiğimiz EPR spektrumuna göre normalize edildi. Yapılan kıyaslamalardan;

değişik zaman aralıklarında kaydedilen EPR sinyallerinde şiddet zayıflamasının dışında yapısal bir değişikliğin ortaya çıkmadığı bir başka deyişle a, ΔH ve g parametrelerinin deneysel yanılgı sınırları içerisinde aynı kaldığı belirlendi. Bu nedenle, bu kesimdeki kıyaslamalar yalnızca sinyal şiddetlerinde ortaya çıkan değişimler esas alınarak yürütüldü. Sinyal şiddeti ile ilgili olarak yapılan veri uyarlama işlemleri sonucunda sinyal şiddetlerinin zamana bağlı değişimi ile ilgili bulguların 4.3 eşitliği ile betimlenecek bir türde olabileceği görülmüştür.

$$\text{EPR sinyal şiddeti yoğunluğu (\%)} = A \exp(-k_1 t) + B \exp(-k_2 t)$$

Deneysel spektrumun oluşumuna kaynaklık eden radikallerin sönüm kinetiği ve uydukları fonksiyon çizelge 4.8'de verilmiştir. Sodyum-2-merkapto ethan sulfonat'ın, gama ile ışınlanması sonucunda oluşan serbest radikalin oda sıcaklığındaki kararlılığı, 120 gün boyunca değişik zaman aralıklarında kaydedilen spektrumlardan anlaşılmaktadır. 120 günlük bekleme süresin sonunda bekleme süresinin ilk 80. ci gününde şiddetli sinyallerin şiddetinde %30 luk bir azalmaya karşın zayıf sinyallerin tamamen kaybolduğu görüldü. Oda sıcaklığındaki sinyal şiddetlerinin bekletme zamanına bağlı değişimleri Şekil 4.16'da görülmektedir.



Şekil 4.16 Oda sıcaklığında bekletilen sodyum-2-merkapto ethan sulfonat örneğinin sönüm davranışı.

4.2. Gama ile Işınlanmış L-sıtrullin, 3 Floro-DL-Valin, α-metil-DL-serin, N-asetil-L-sistein örneklerinin EPR İncelenmesi

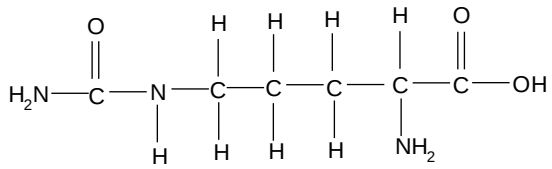
4.2.1 Işınlanmamış L-Sıtrullin'in EPR Spektrumu

Işınlanmamış L-sıtrullin örneğinin EPR sinyali vermediği gözlenmiştir. Ayrıca, ışınlanmış L-sıtrullin örneğinde yaklaşık 120 saat sonunda radikalin söndüğü belirlenmiştir. Literatür araştırmalarında, oda sıcaklığında normal koşullarda uzun süre bekletilen amino grup asit bileşiklerinin sinyal vermedikleri görüldü.

4.2.2 Işınlanmış L-sıtrullin'in EPR Spektrumu

Toz kristal halindeki L-sıtrullin (LS), 20 kGy doz değerinde oda sıcaklığında ışınlandı ve ışınlanmadan kısa bir süre sonra EPR spektrumları kaydedildi. 20 kGy doz değerinde ışınlanmış LS örneğinin spektrumu Şekil 4.17'de verilmiştir. Bu EPR spektrumu 1:2:2:1 yoğunluklu dört geniş çizgi olarak gözlenmiştir.

Çizelge 4.9 L-sıtrullin molekülünün kimyasal yapısı, molekül ağırlığı, kapalı formülü.



L-Sıtrullin toz kristallerinin 2 boyutlu kimyasal yapısı

Kapalı formül	$C_6H_{13}N_3O_3$
Molekül ağırlığı	175.19 g/mol
Kimyasal adı	(*S*)-2-Amino-5-ureidopentanoic acid

L-sıtrullin toz kristalleri 295 K' de 10 saat süresince 2.0 kGy kaynaklı ^{60}Co-γ ışınları ile ışınlanmıştır. Elde edilen toz kristallerin spektrumları, Bruker EMX 081 spektrometresinde 4mW mikrodalga gücünde iken modülasyon genliği 0.2 mT manyetik alanın modülasyon frekansı 100 kHz olduğu durumda spektrumlar kaydedilmiştir. Tek kristallerin spektroskopik parametrelerinin detaylı analizlerinde

örneklerin kristal simetrilerinin bilinmesi kolaylık sağlar. Toz örneklerde bu durum oldukça zordur çünkü hesaplanan spektroskopik g faktörünün değeri; radikalin dönmesi kısmen veya tamamen engellendiğinden g faktörü ortalanamaz spektrumun g faktörü bütün yönelimlerdeki değerlerinin üst üste gelmesiyle oluşur. Ancak toz örneklerde elde edilen spektrumun çizgi şekli, g faktörü ve a.i.y. yarılmalarının esas eksen değerlerinden simülasyon yöntemiyle elde edilebilir (Atherton, 1973; Wertz ve Bolton, 1972; Harriman, 1978).

Organik bir madde olan sıtrullin bir α-amino asittir. Enerji verir, immün sistemi canlandırır. L-arginin'i metabolize eder ve canlı hücrelere zarar veren amonyağı detosifiye eder. Canlıların yapı taşı olan amino asitlerde radyasyonun oluşturduğu yapısal bozukluklar bir çok araştırmacı tarafından araştırma konusu olmuştur.McKelvey simülasyon metoduyla elde edilen spektrumdan, metilen (CH_2) grubuna ait iki özdeş β protonlarının aşırı ince yapı sabitleri (a.i.y), a_{CH2} = 1.34 mT, merkezi karbon atomuna bağlı azot protonu için aşırı ince yapı sabiti a_N = 0.72 mT hesaplanmıştır. Toz örneğin, oda sıcaklığında alınan EPR spektrumu ile simülasyon spektrumu Şekil 4.17'de verilmiştir.

Şekil 4.17a, Şekil 4.17b de verilen deneysel EPR ve simüle spektrumları arasındaki uyumun oldukça iyi olduğu görülmektedir. Deneysel EPR spektrumundan hesaplanan g değeri, g= 2.0034±0.0005 olarak belirlenmiştir. ΔH çizgi genişliği 0.4 mT ölçülmüştür. Şekil 4.17a'da verilen spektrum incelenirse, eşlenmemiş elektronun merkezi karbon atomuna bağlı iki özdeş β protonu ile etkileşmesi sonucu 1:2:2:1 şiddet dağılımı gösterdiği görülmektedir.

1:1:1

\+ 1:1:1

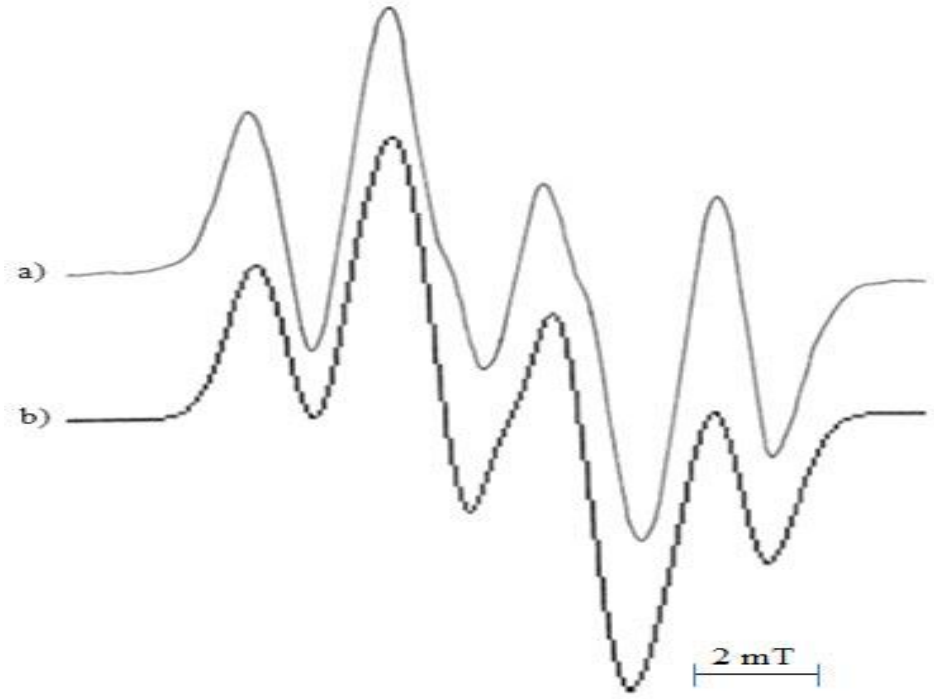
1:2:2:1

Eşlenmemiş elektron ile metilen grubunun bir β protonun hyperfin etkileşmesi sonucu dublet'e yarıldığı sonra merkezi karbon atomuna baglı bir azot atomu (I=1) ile etkileşmesi sonucu her bir dublet'in 1:1:1 şiddet yoğunluklu triplet'e yarılmış olabileceği düşünülmüştür. Fakat bu yarılmalar, deneysel spektrumun çizgi genişliği

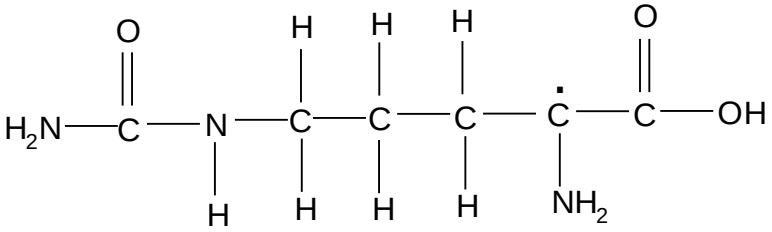
azotun aşırı ince yapı sabiti ile yaklaşık olarak yakın değerde olmasından dolayı azot yarılmalarını spektrumdan açık bir şekilde göremiyoruz. Bu nedenle çizgiler üst üste binmiş gözüküyor. Bu radikalde bulunan CH_2 deki β protonları ile etkileşme hiperkonjügasyondan dolayı meydana gelmektedir. Bu etkileşmenin büyüklüğü, C-H bağı ve çiftlenmemiş electronun bulunduğu P_π orbitali arasındaki dihedral açı, θ'ya bağlıdır. β-protonlarının etkileşme sabiti

$$a_\beta = B_o + B_ı\cos^2\theta$$

eşitliği verilir. Radikalin C_α-C_β bağı etrafında hızlıca dönmesi halinde $(\cos^2\theta)_{or}=1/2$ olur. Yukardaki ifade $a_\beta = B_o+1/2B_ı$ olarak yazılabilir. B_o= 0-0.35 mT [(McConnell ve ark. 1957), (Adam ve ark. 1973)] ve $B_ı$=3.0 mT değeri ref. (Bennet ve ark. 1968) yazılırsa 1.5 mT elde edilir. Bu değerin deneysel spektrumdan elde edilen değere yakın olduğu görülür. ɣ-ışınlaması sonucu L-sıtrullin'de oluştuğu düşünülen radikal daha önce çalışılmış amino asit örneklerinde benzer radikaller gözlenmiştir [(Aydın ve ark. 2008), (Aydın, 2009), (Köksal, 1997), (Aydın, 2010), Osmanoğlu, 2004)]. Bu çalışmalarda elde edilen spektroskopik parametreler birbiriyle uyuşmaktadır. L-sıtrullin radikalinin deneysel EPR spektrumundan hesaplanan a ve g parametrelerinin değerlendirilmesi sonucu $CHNH_2$ grubuna bağlı α karbon atomundan H protonunun ayrılması ile yapıda oluştuğu düşünülen paramanyetik merkez, Şekil 4.18'de verilen radikale atfedilmiştir.



Şekil 4.17 Oda sıcaklığında 20 kGy doz değerinde ışınlanmış, L-sıtrullin örneği için oda sıcaklığında kaydedilmiş
a) EPR spektrumu
b) simüle spektrum ve simüle spektrum için a.i.y. değerleri; a_{CH2} = 1.34 mT a_N= 0.72 mT ve çizgi genişliği ΔH= 0.4 mT olarak alınmıştır.



Şekil 4.18 Oda sıcaklığında 20 kGy doz değerinde ışınlama sonucu L-sıtrullin'de oluştuğu düşünülen radikalin yapısı.

4.2.3 Gama ile Işınlanmamış 3-Floro-DL-Valin Toz Kristallerinin EPR Spektrumu

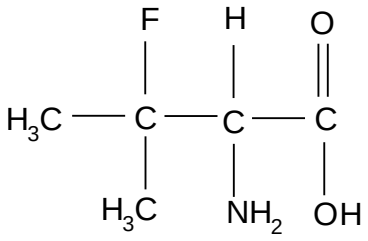
Işınlamadan önce 3FDLV'nin alınan spektrumunda herhangibir EPR sinyali gözlenmemiştir. 20 kGy doz değerinde ışınlanmış 3FDLV örneğinden elde edilen

radikalin 110 saat sonunda söndüğü gözlenmiştir. Uzun süre normal koşullarda bekletilen amino asit örneklerinde de herhangi bir paramanyetik merkezin oluşmadığı literatür çalışmalarında belirlenmiştir.

4.2.4 Gama ile ışınlanmış 3-Floro-DL-Valin Toz Kristallerinin EPR Spektrumu

Toz halindeki 3FDLV, 20 kGy doz değerinde ışınlandı ve aynı gün EPR spektrumları kaydedildi. 20 kGy doz değerinde gama ile ışınlanmış 3FDLV örneği için 2mW güç değerinde elde edilen EPR spektrumu Şekil 4.8 de verilmiştir. Spektroskopik yarılma çarpanı 2.0070 civarında olan ve 9.13 GHz mikrodalga frekansının olduğu durumda 320 mT'lık bir manyetik alan değerinde görülen rezonans sinyalleri dikkate alınarak değerlendirmeler yapıldı. Gama ışınına tutulan 3FDLV'de oluşan radikal türü ara ürünlerin yapısal ve spektroskopik özellikleri ile ilgili elde edilen deneysel EPR bulgularına yer verilecektir. Kapalı formülü $C_5H_{10}FNO_2$, molekül ağırlığı 135.14 g/mol ve kimyasal adı 3-floro-DL-valin olan bu örneğin kimyasal yapısı Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10 3-Floro-DL-Valin örneğinin molekül yapısı, molekül ağırlığı ve kapalı formülü



3-Floro-DL-Valin'in kimyasal yapısı

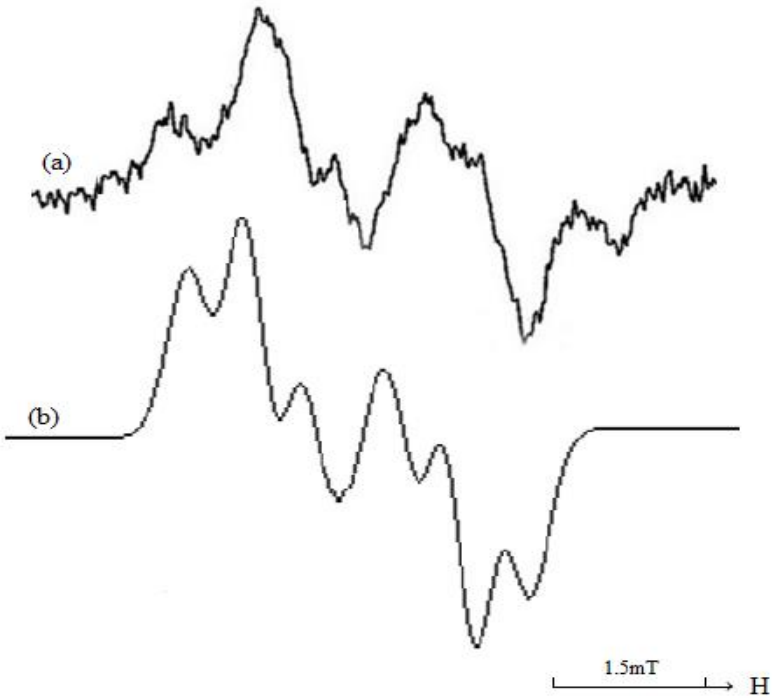
Kapalı formula	$C_5H_{10}FNO_2$
Molekül ağırlığı	135,136803 g/mol
Kimyasal adı	2-Amino-3-floro-3-metilbütirik asit

3-floro-DL-valin oda sıcaklığında 20 kGy doz değerinde ^{60}Co-γ ışınları ile ışınlandıktan sonra 295 K sıcaklık aralığında EPR spektrumları alınmıştır. Işınlanmış 3FDLV örneğinin Oda sıcaklığında elde edilen deneysel spektrumu ve McKelvey (McKelvey, 1987) simülasyon programından elde edilen spektrum ve bu spektrumdan

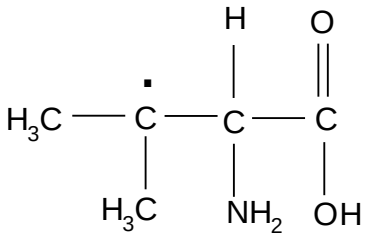
hesaplanan, aşırı ince yapı yarılma sabitleri Şekil 4.19 a,b de verilmiştir. Deneysel ve simüle spektrumları arasındaki uyum oldukça iyidir. Toz örneğin, oda sıcaklığında alınan EPR spektrumundan spektroskopik parametreler hesaplanmıştır. Oluşan radikalin 3 gün kararlı kaldığı gözlenmiştir.

L-valin stimülan etkilere sahip olup eksikliğinde vücutta negatif hidrojen dengesi oluşur. Valin, lösin ve isolosin ile birlikte daha iyi adale metabolizması, doku onarımı ve azot dengesi temini için kullanılır. Bu nedenle önemli bir amino asittir. Yaptığımız literatür araştırması sonucu EPR çalışması olmaması nedeniyle bu örneğin detaylı incelenmesini uygun bulduk.

295 K'de alınan spektrumlarda Şekil 4.19'da görüldüğü gibi eşlenmemiş elektorunun, bir ß-hidrojen atomunun a.i.y. etkileşmesinden 1:1 şiddet yoğunluklu dublet'e (iki çizgiye) sonra iki çizginin her biri eşit kublajlı iki metil protonu ile etkileşmesinden 1:2:1 şiddetinde ikili bir triplet (üçlü) spektrum oluşması sonucu 1:2:1:1.2:1 şiddet oranlarına sahip altı çizği gözlenmiştir. Moleküldeki karboksil grubuyla herhangi bir etkileşme gözükmemektedir. Spektrumlar üzerinde alınan ölçümler, maddenin kimyasal yapısı ve literatürdeki mevcut veriler göz önüne alındığında $(CH_3)_2\dot{C}CH\text{-}R$ ($R=NH_2COOH$) radikalinin oluşabileceği sonucuna varılmıştır. Simüle spektrumda kullanılan a.i.y. sabitleri, a_{CH} = 2.4 mT, a^1_{CH3} = 1.1 mT, a^2_{CH3}= 0.67 mT ve çizgi genişliği 0.465 mT. Deneysel spektrumundan spektroskopik g değeri, g= 2.0029 ve çizgi genişliği ΔH= 0.465 mT olarak hesaplanmıştır. Bu değerlere kullanılarak elde edilen simüle spektrum ile deneysel EPR toz spektrumunun çok iyi uyuştuğu görülmektedir.



Şekil 4.19 a) 20 kGy doz değerinde oda sıcaklığında ışınlanan 3-floro- DL-valin
b) simülasyon metodu kullanılarak elde edilen simüle spektrum.



Şekil 4.20 20 kGy doz değerinde oda sıcaklığında ışınlanan 3-floro- DL-valin örneğinde oluştuğu düşünülen radikalin yapısı.

4.2.5 Gama ile Işınlanmamış α-Metil-DL-Serin Toz Kristallerinin EPR Spektrumu

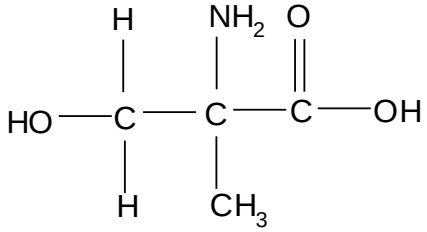
Işınlanmadan önce, αMDLS'nin alınan spektrumunda herhangibir EPR sinyali gözlenmemiştir.Işınlandıktan uzun bir süre normal koşullarda bekletilen amino asit örneklerinde de herhangibir paramanyetik merkezin oluşmadığı belirlenmiştir.

4.2.6 Gama ile Işınlanmış α-metil-DL-serin Toz Kristallerinin EPR Spektrumu

Toz halindeki, αMDLS, 20 kGy doz değerinde ışınlandı ve aynı gün EPR spektrumları kaydedildi. Işınlanmış αMDLS, örneği için 2mW güç değerinde elde

edilen EPR spektrumu Şekil 4.21 de verilmiştir. Spektroskopik yarılma çarpanı 2.0036 civarında olan ve 9.13 GHz mikrodalga frekansının olduğu durumda 320 mT'lık bir manyetik alan değerinde görülen rezonans sinyalleri dikkate alınarak değerlendirmeler yapıldı. Gama ışınına tutulan αMDLS' de oluşan radikal türü araürünlerin yapısal ve spektroskopik özellikleri ile ilğili elde edilen deneysel EPR bulgularına yer verilecektir. Kapalı formülü $C_4H_9NO_3$ molekül ağırlığı 119.12 g/mol ve kimyasal adı α-metil-DL-serin olan bu örneğin kimyasal yapısı Çizelge 4.6 da verilmiştir.

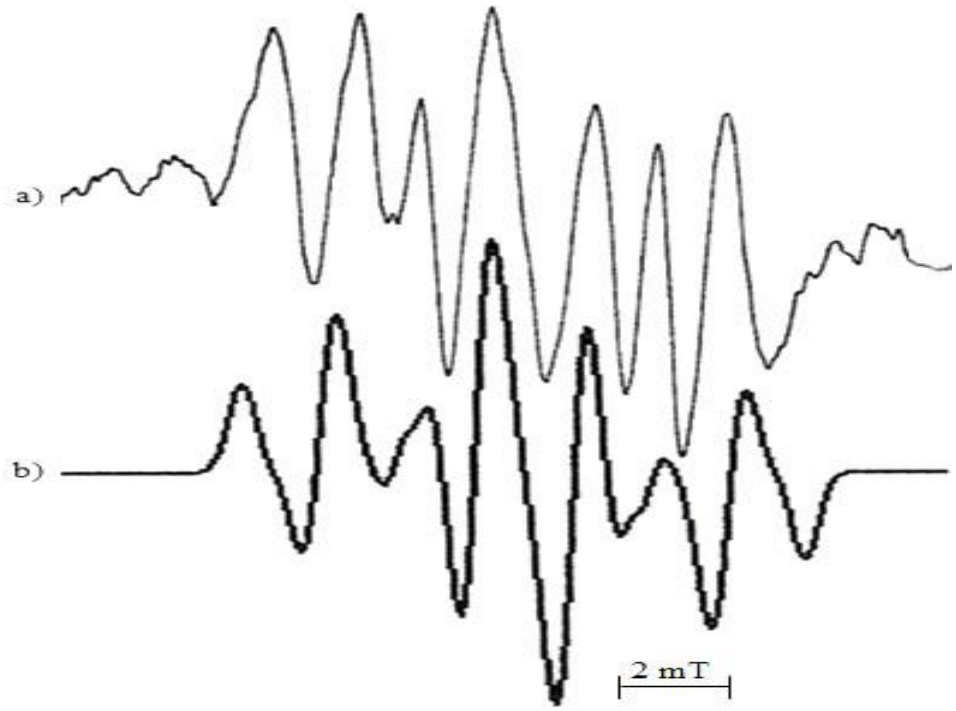
Çizelge 4.11 α-metil-DL-serin örneğinin molekül yapısı, molekül ağırlığı, kapalı formülü.



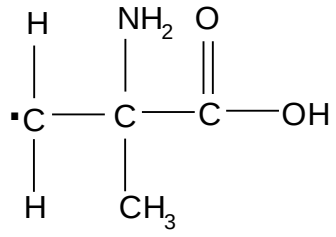
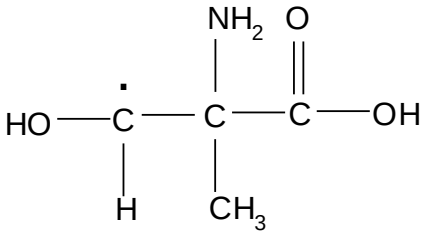
α-metil-DL-serin

Kapalı formula	$C_4H_9NO_3$
Molekül ağırlığı	119,12 g/mol
Kimyasal adı	2-metilserin

Işınlanmış αMDLS örneğinin Oda sıcaklığında elde edilen deneysel spektrum ve McKelvey (McKelvey,1987) simülasyon proğramında, aşırı ince yapı yarılma sabitleri kullanılarak elde edilen simüle spektrum şekil 4.21'de gösterilmiştir. İki spektrum arasındaki uyum oldukça iyidir. Toz örneğin, oda sıcaklığında alınan EPR spektrumu ile simülasyon spektrumu Şekil 4.21 a,b' de görülmektedir.



Şekil 4.21 Oda sıcaklığında 20 kGy doz değerinde ışınlanmış α-metil-DL-serin için a) deneysel spektrum, b) simülasyon sonucu elde edilen simüle spektrum

	
R_1 radikali	R_2 radikali

Şekil 4.22 20 kGy doz değerinde oda sıcaklığında ışınlanan α-metil-DL-serin örneğinde oluştuğu düşünülen radikallerin yapısı.

α-metil-DL-serin oda sıcaklığında ^{60}Co -γ ışınları ile ışınlandıktan sonra 295 K sıcaklık aralığında EPR spektrumları alınmıştır. 295K'de alınan spektrumlarda 1:1:1:2:1:1:1 şiddet oranlarına sahip yedi çizği gözlenmiştir. Spektrumlar üzerinde alınan ölçümler, maddenin kimyasal yapısı ve literatürdeki mevcut veriler göz önüne alındığında yapıda iki farklı paramanyetik merkezin oluştuğu düşünüldü. Birinci paramanyetik merkez ($\dot{C}H_2$), ışınlama sonucu CH_3 metil grubundan bir H atomunun ayrılması sonucu oluştuğu düşünüldü. Bu paramanyetik merkezin elde edilen spektrumu, eşlenmemiş elektronun iki eşdeğer H atomu ile etkileşmesi sonucu 1:2:1

şiddet yoğunluklu üç (triplet) çizği vermiştir. İkinci paramanyetik merkez (HOĊH), merkezi çizginin sağında ve solunda iki yarılma (dublet) olarak gözlenmektedir. İkili dublet, eşlenmemiş elektronun önce C_α karbonuna bağlı bir H_α protonu ile etkileşmesi 1:1 şiddet yoğunluklu ikili bir çizgiye (dublet) sonra manyetik olarak eşdeğer olmayan OH grubunun H proton ile etkileşmesi sonucu bu dubletin her bir çizgisi tekrar ikiye yarılarak 1:1 şiddet yoğunluklu ikinci bir dublet olarak yarılmıştır. Bu etkileşmelerden yaklaşık olarak 1:1:1:2:1:1:1 şiddet yoğunluklu yedi çizgili bir spektrum gözlenmiştir. Moleküldeki karboksil grubuyla herhangi bir etkileşme gözükmemektedir. Oluşan paramanyetik merkezlerin sırası ile $-\dot{C}H_2-R^2$ ($R^2=NH_2COOH$) ve $HO\dot{C}H-R^1$ ($R^1=CCH_3NH_2COOH$) oluşabileceği sonucuna varıldı. Bu düşünceyi doğrulamak için seçilen a_{CH} = 2.6 mT, a_{OH}= 2.6 mT, a^1_{CH} = 1.7 mT, a_{NH2}= 1.5 mT, a^2_{CH} =0.5 mT çizgi genişliği ΔH= 0.33 mT değerleri, McKelvey simülasyon programında kullanılarak elde edilen spektrumla deneysel spektrumun bire bir örtüştüğü görülmektedir. Deneysel spektrumdan spektroskopik g değeri, g=2.0036 olarak hesaplanmıştır.

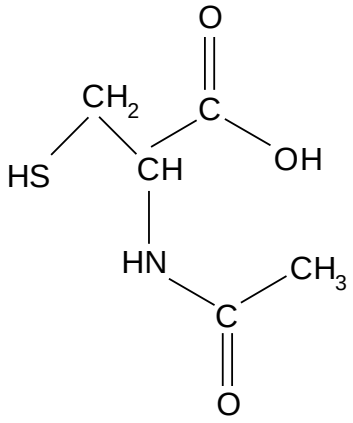
4.2.7 Gama ile Işınlanmamış N-Asetil-L-Sistein Toz Kristallerinin EPR Spektrumu

Işınlanmadan önce, NALS'nin alınan spektrumunda herhangi bir EPR sinyali gözlenmemiştir. Uzun süre normal koşullarda bekletilen amino asit örneklerinde de herhangi bir paramanyetik merkezin oluşmadığı belirlenmiştir.

4.2.8 Gama ile Işınlanmış N-Asetil-L-Sistein Toz Kristallerinin EPR Spektrumu

Toz halindeki, NALS, 10 kGy doz değerinde ışınlandı ve aynı gün EPR spektrumları kaydedildi. 10 kGy doz değerinde gama ile ışınlanmış NALS örneği için 2mW güç değerinde elde edilen EPR spektrumu Şekil 4.23 te verilmiştir. Spektroskopik yarılma çarpanı 2.0029 civarında olan ve 9.13 GHz mikrodalga frekansının olduğu durumda 320 mT'lık bir manyetik alan değerinde görülen rezonans sinyalleri dikkate alınarak değerlendirmeler yapıldı. Gama ışınına tutulan NALS,'de oluşan radikal türü araürünlerin yapısal ve spektroskopik özellikleri ile ilğili elde edilen deneysel EPR bulgularına yer verilecektir. Kapalı formülü $C_5H_9NO_3S$ molekül ağırlığı 163.19 g/mol ve kimyasal adı N-asetil-L-sistein olan bu örneğin kimyasal yapısı Çizelge 4.12 de verilmiştir.

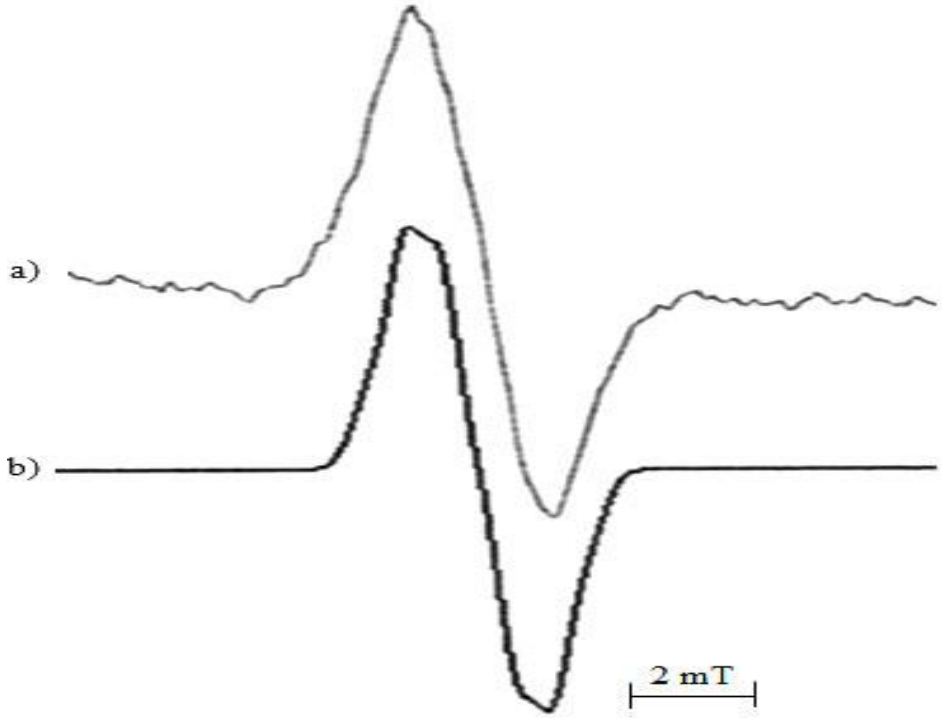
Çizelge 4.12 N-asetil-L-sistein örneğinin molekül yapısı, molekül ağırlığı ve kapalı ve formülü



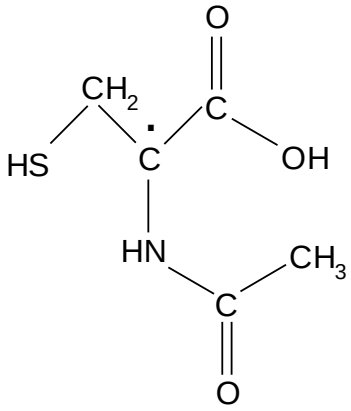
N-Asetil-L-sistein kimyasal yapısı

Kapalı formula	$C_5H_9NO_3S$
Molekül ağırlığı	163.19 g/mol
Kimyasal adı	L-sistein

Işınlanmış NALS örneğinin Oda sıcaklığında elde edilen deneysel spektrum ve McKelvey (McKelvey.,1987) simülasyon proğramında, aşırı ince yapı yarılma sabitleri kullanılarak elde edilen simüle spektrum şekil 4.23 a'da gösterilmiştir.İki spektrum arasındaki uyum oldukça iyidir. Toz örneğin, oda sıcaklığında alınan EPR spektrumu ile simülasyon spektrumu Şekil 4.23 a ve b de görülmektedir.



Şekil 4.23 Oda sıcaklığında 20 kGy doz değerinde ışınlanmış N-asetil-L-sistein için a) deneysel spektrum, b) simülasyon sonucu elde edilen simüle spektrum



Şekil 4.24 10 kGy doz değerinde oda sıcaklığında ışınlanan N-acetyl-L-sistein örneğinde oluştuğu düşünülen radikalin yapısı

Oluşan radikalin 1-7 gün arası kararlı kaldığı gözlenmiştir. L-sistein vücuttaki toksin maddeleri temizler bu sayede hücreleri korur. Hücreleri radyasyonun zararlı etkilerinden korumasının yanı sıra beyin ve karaciğeri de sigara ve alkolün zararlarından

korur, L-sistein'in respirator kanalda mukuzu parçalama özelliği olduğundan genellikle bronşit, amfizem ve tüberküloz tedavisinde faydalıdır.

N-acetyl-L-sistein oda sıcaklığında ^{60}Co -γ ışınları ile ışınlandıktan sonra 295K sıcaklık aralığında EPR spektrumları alınmıştır. 295 K'de alınan spektrumlarda merkezi konumda şiddetli tek çizği gözlenmiştir. Spektrumlar üzerinde alınan ölçümler, maddenin kimyasal yapısı ve literatürdeki mevcut veriler göz önüne alındığında $SHCH_2\dot{C}NHCOCH_3COOH$ radikalinin oluşabileceği sonucuna varılmıştır. Simüle spektrumda kullanılan a.i.y. sabitleri, a_{CH2} = 0.8 mT, a_{NH} = 0.75 mT, a_N= 0.4 mT. Deneysel spektrumdan spektroskopik g değeri, g = 2.0029 ve çizgi genişliği ΔH= 0.5 mT olarak hesaplanmıştır. Bu değerlere ait simüle spektrum ile EPR toz spektrumunun uyumlu olduğu görülmektedir. Yapıda oluştuğu düşünülen paramanyetik merkezin, ışınlama sonucu merkezi karbon atomundan H atomunun kopması ile oluştuğu düşünülmüştür. Spektrumda gözlenen tek sinyal, Eşlenmemiş elektronun, Yaklaşık olarak eşit kublajlı β protonları ile etkileştiği simüle spektrumdan gözükmektedir. Azot çekirdeğinin aşırı ince yapı etkileşmesi çizgi genişliğinden küçük olduğu için bu etkileşmeye ait yarılma spektrumda gözlenmemektedir. Moleküldeki karboksil grubu ve HS ve karboksil grubu ile herhangi bir etkileşme gözüklenmemektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada ^{60}Co -γ ışınları ile ışınlanan anti kanser ilaç ve amino asit bileşiklerinde oluşan serbest radikaller elektron spin rezonans yöntemi ile incelendi. İncelenen ilaç hammaddelerinin ortak özelliği kanser hastalıklarının tedavisinde ve kemoterapi sonrası vücudun alacağı hasarı en aza indirmede kullanılmalarıdır. Tüm bileşiklerin EPR spektrumları simetrik olmayan bir yapıya sahiptir. Bu durum, incelenen örneklerde ışınlama sonucunda, g değerleri serbest radikal bölgesine düşen ancak aşırı ince yapı değerleri farklı olan birden çok ara ürünün oluştuğuna işaret etmektedir. Spektrumların yaklaşık 0.6 mT'lık bir manyetik alana yayılmış olmaları, aşırı ince yapı yanında, ışınlama ile oluşmuş serbest radikalin spektroskopik yarılma çarpanlarındaki anizotropilerin de önemli ölçüde belirleyici olduğunu göstermektedir. Busulfan, 5-Florourasil, Megestrol Asetat ve Sodyum-2-Mercaptoethan Sulfonat örneklerine radyasyona karşı duyarlık açısından bakıldığında, aynı doz değerinde ışınlanmış örneklerin normalize sinyal şiddetleri kıyaslandığında tüm bileşiklerin hemen hemen aynı duyarlılıkta olduğu söylenebilir.

Işınlanmamış Busulfan örneğinde EPR sinyali gözlenmediği halde ışınlanmış olanda sinyal gözlenmesi Busulfan molekülünün radyasyona karşı duyarlı olduğunu göstermektedir. Gama ışınlaması sonucunda Busulfan molekülünün parçalandığı ve bunun sonucunda eşlenmemiş elektrona sahip birimlerin oluştuğu anlaşılmaktadır. Busulfan örneğinin EPR spektrumu oldukça basit sayılabilecek bir tek rezonans çizgisinin hakim olduğu tek çizgili bir sinyal görünümündedir (Şekil 4.2). Benzer benzer spektrumlar gama ile ışınlanmış felodipine (Naskrent ve Mielcarek 2007), dopamine, norepinephrine (Basly ve ark. 1997), theodrenaline, dobutamine (Basly ve ark. 1997,1998), nadalol, (Engalytcheff ve ark. 2004), ilaçlarında da görülmüştür. Zayıf rezonans tepelerini daha çok yüksek ışınlama dozlarında görebilmemizin sebebi bu tepelerin kaynaklık eden serbest radikalin spektrometre duyarlık sınırları içerisine girebilecek miktarlarda oluşturulabilmesinin zor olduğunu göstermektedir. Matematiksel veri uyarlaması sonucunda ışınlanmış Busulfan örneğinin; 1kGy, 5 kGy,7 kGy, 10 kGy, 15 kGy,20 kGy, 25 kGy doz oranlarının her birinin rezonans tepelerine karşılık gelen sinyal şiddetlerinin soğurulan radyasyon dozuna bağlı değişimleri en iyi betimyelen matematiksel fonksiyonun $I(D)=I_0[1-\exp(-kD)]$ şeklinde bir eksplonansiyel

foksiyonla çok iyi bir biçimde betimlenebileceği anlaşılmaktadır. Bu fonksiyon yardımıyla Busulfan örneğinin saturasyon dozunun yaklaşık olarak 30 kGy hesaplanmış bu veriler deneysel EPR spektrumu ile de doğrulanmıştır. 30 kGy dozunun farmasotik ilaçların gama radyasyonu ile sterilizasyonu için öngörülen 25 kGy doz değerine yakın olması Busulfan hammaddesini içeren ilaçların radyasyonla sterilizasyonu açısından da önemlidir. Busulfan örneğinin oda sıcaklığında normal koşullardaki sönümleri ile ilgili olarak elde edilen bulgular tek çizgili bu rezonans tepesinin oluşumuna, katılım ağırlık oranları farklı olan iki farklı ara ürünün katkı getirdiği görülmüştür. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış Busulfan örneği için sinyal şiddetlerinin normal koşullarda zamanla değişimlerini en iyi şekilde betimleyen matematiksel fonksiyon araştırılmış ve bu fonksiyonun; EPR sinyal şiddeti yoğunluğu (%)= A exp ($-k_1t$) + B exp ($-k_2t$) şeklinde eksplonansiyel fonksiyon olduğu sonucuna varılmıştır. Bu fonksiyon ve EPR değişik zamanlarda kaydedilen EPR spektrumlarının birlikte değerlendirilmesi sonucunda, Busulfan örneğinin bekletme zamanın 120. gününde sinyal şiddetinde %15 lik bir azalma görüldüğü tespit edilmiştir. Busulfan örneğinde ışınlama ile oluşturulmuş serbest radikaller bekletme zamanına bağlı olarak ilk ışınlamadan yaklaşık 120 gün sonra bile EPR sinyallerinde gözlenebilmektedir ve buna bağlı olarak Busulfan hammadesini içeren ilaçların radyasyon ile sterilizasyonu durumunda ürünlerin gama ile ışınlanıp ışınlanmadığını ışınlamadan 120 gün sonra bile tespit edebilmek mümkündür sonucuna ulaşabiliriz.

Işınlanmamış, 5-Florourasil örneğinde EPR sinyali gözlenmediği halde ışınlanmış olanda sinyal gözlenmesi, 5-Florourasil molekülünün radyasyona karşı duyarlı olduğunu göstermektedir. Gama ışınlaması sonucunda, 5-Florourasil molekülünün parçalandığı ve bunun sonucunda eşleşmemiş elektrona sahip birimlerin oluştuğu anlaşılmaktadır. Bu birimlerin, oldukça basit sayılabilecek toplam iki rezonans tepesinden oluşan bir EPR spektrumunun oluşumuna kaynaklık ettikleri görülmektedir. Zayıf rezonans tepelerini daha çok yüksek ışınlama dozlarında görebilmemizin sebebi bu tepelerin kaynaklık eden ara ürünlerin spektrometre duyarlık sınırları içerisine girebilecek miktarlarda oluşturulabilmesinin zor olduğunu göstermektedir. Matematiksel veri uyarlaması sonucunda ışınlanmış, 5-Florourasil örneğinin rezonans tepelerine karşılık gelen sinyal şiddetlerinin soğurulan radyasyon dozuna bağlı değişimleri en iyi betimyelen matematiksel fonksiyonun $I(D)=I_0[1-\exp(-kD)]$ şeklinde

bir eksplonansiyel foksiyon ile betimlenebileceği anlaşılmaktadır. Bu fonksiyon yardımıyla 5-Florourasil örneğinin oda sıcaklığında normal koşullardaki sönümleri ile ilgili olarak elde edilen bulgular birden çok sinyalli bu rezonas tepelerinin oluşumuna, katılım ağırlık oranları ve sönüm sabitleri farklı olan ancak her ikiside birinci dereceden sönüm kinetiğine uyan, a= 1 aşırı ince yapı değerinde iki farklı ara ürünün katkı getirdiği görülmüştür. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış 5-Florourasil örneği için sinyal şiddetlerinin normal koşullarda zamanla değişimlerini en iyi şekilde betimleyen matematiksel fonksiyon araştırılmış ve bu fonksiyonun; EPR sinyal şiddeti yoğunluğu (%)= A exp ($-k_1t$) + B exp ($-k_2t$) şeklinde eksplonansiyel fonksiyon olduğu sonucuna varılmıştır. Bu fonksiyon ve değişik zamanlarda kaydedilen EPR spektrumlarının birlikte değerlendirilmesi sonucunda, 5-Florourasil örneğinin bekletme zamanın 120. gününde sinyal şiddetinde %20 lik bir azalma görüldüğü tespit edilmiştir. 5-Florourasil örneğinde ışınlama ile oluşturulmuş serbest radikaller bekletme zamanına bağlı olarak ilk ışınlamadan yaklaşık 200 gün sonra bile EPR sinyallerinde gözlenebilmektedir. Buna bağlı olarak 5-Florourasil hammadesini içeren ilaçların radyasyon ile sterilizasyonu durumunda ürünlerin gama ışınları ile ışınlanıp ışınlanmadığını ışınlamadan 200 gün sonra bile tespit edebilmek mümkündür sonucuna ulaşabiliriz.

Işınlanmamış megastrol asetat örneğinde herhangi bir EPR sinyali gözlenmezken ışınlamış megestrol asetat örneğinde oldukça basit yapıya sahip dördü zayıf, dördü şiddetli toplam sekiz rezonans tepesinden oluşan bir EPR spektrumu sergilediği gözlenmiştir. Zayıf rezonans tepelerinin daha yüksek ışınlama dozlarında belirginleşmesi, bu tepelerin oluşuna kaynaklık eden ve daha çok kükürt kaynaklı olduğu tahmin edilen (Gibella et al.2000) radikal türünün spektrometre duyarlılık sınırları içerisine girebilecek miktarlarda oluşturulabilmesinin zor olduğunu göstermektedir. Megestrol asetat örneğinin şiddetli rezonans tepelerinin aynı mikro dalga doyum özelliği göstermeleri bu tepelerin oluşumuna kaynaklık eden tek tür bir radikalin varlığına işaret etmektedir. Bu tepelerin iki yanında gözlenen omuzların ise sözkonusu radikalin spektroskopik yarılma çarpanının anizotropik olmasından ileri geldiği anlaşılmaktadır. Mikrodalga doyum verilerinin diğer bulgularla desteklenmesi amacıyla megestrol asetat örneğinin EPR deneysel spektrumu Mc Kelvey simülasyon programı yardımıyla a^1= 1.182 mT, a^2= 0.65 mT, a^3= 1.173 mT, a^4= 1.176 mT, aşırı ince yapı değerleri ile simüle edilmesi sonucunda yapıda oluştuğu düşünüle

paramanyetik merkez radikalinme atfedildi. Megestrol Asetat örneğinin radyasyona karşı duyarlılığını incelemek için farklı dozlarda ışınlanmış öeneklerin doz cevap eğrileri üç farklı matematiksel fonksiyon denerek oluşturuldu. Korelasyon sabitleri gözönüne alarak değerlendirildiğinde ışınlanmış megestrol asetat Örneğinin şeklindeki $I(D)=I_0[1-\exp(-kD)]$ üstel bir fonksiyon ile çok iyi şekilde ifade edileceği anlaşılmaktadır. 15 kGy doz değerinde ışınlanmış Megestrol Asetat örneği için sinyal şiddetlerinin normal koşullarda zamanla değişimlerini en iyi şekilde betimleyen matematiksel fonksiyon araştırılmış ve bu fonksiyonun; EPR sinyal şiddeti yoğunluğu $(\%)=A \exp(-k_1t) + B \exp(-k_2t)$ şeklinde eksplonansiyel fonksiyon olduğu sonucuna varılmıştır. Bu fonksiyon ve değişik zamanlarda kaydedilen EPR spektrumlarının birlikte değerlendirilmesi sonucunda, megestrol asetat örneğinin bekletme zamanın 60. gününde sinyal şiddetinde %25 lik bir azalma görüldüğü tespit edilmiştir. Megestrol asetat örneğinde ışınlama ile oluşturulmuş serbest radikaller bekletme zamanına bağlı olarak ilk ışınlamadan yaklaşık 100 gün sonra bile EPR sinyallerinde gözlenebilmektedir. Buna bağlı olarak Megestrol asetat hammadesini içeren ilaçların radyasyon ile sterilizasyonu durumunda ürünlerin gama ışınları ile ışınlanıp ışınlanmadığını ışınlamadan 100 gün sonra bile tespit edebilmek mümkündür sonucuna ulaşabiliriz.

İlaç çalışmasının son kısmını oluşturan ve kanser kemoterapisinde, kemoterapinin yan etkilerini en aza indirmek için koruyucu ilaç olarak kullanılan Sodyum-2-Mercaptoethan Sulfonat ilacının radyasyon duyarlılığı yani radyasyon ile sterilize edilip edilmeyeceği araştırılmştır. Işınlanmamış Sodyum 2 Mercaptoethan Sulfonat örneğini Herhangi bir EPR sinyali vermemesine karşın, ışınlanmış örneklerin EPR sinyali vermesi bu örneğin radyasyona karşı duyarlı olduğunu gösterir. Sodyum-2-merkapto ethan sulfonat örneğine ait EPR spektrumları simetrik olmayan bir yapıya sahiptir. Bu durum, incelenen örnekte ışınlama sonucunda, g değerleri serbest radikal bölgesine düşen ancak aşırı ince yapı değerleri farklı olan birden çok ara ürünün oluştuğuna işaret etmektedir. Bu ara ürünleri karakterize etmek amacıyla Mc kelvey simülasyon programı yardımıyla elde edilen simüle spektrum ile deneysel EPR spektrumunu birlikte değerlendirilmesi sonucu yapıda oluştuğu düşünülen parmanyetik merkez radikaline atfedildi. Ayrıca sodyum-2-merkapto ethan sulfonat ilacının değişik radyasyon dozlarına karşı duyarlılığı, mikrodalga doyum davranışı ve yapıda oluşan

paramanyetik merkezin normal koşullardaki sönümü incedendi. Tüm verilerin birlikte değerlendirilmesi sonucunda Gama ışınlaması sodyum-2-merkapto ethan sulfonat molekülünün parçalandığı ve bunun sonucunda eşleşmemiş elektrona sahip birimlerin oluştuğu anlaşılmaktadır. Spektrumun 75 G'luk bir alan bölgesine yayılmış olması ve antisimetrik olması, spektrumun genişlemesine aşırı ince yapı etkileşmesi yanında, yapıda oluştuğu düşülülen parmanyetyik merkezin g değerinin izotropik olmamasından ileri geldiğine işarettir. Sodyum-2-merkapto ethan Sulfonat örneğinin sinyal şiddetlerinin uygulanan doza karşı sergilediği doyum davranışını inceleyebilmek için üç farklı matematiksel fonksiyon kullanılarak modelleme yapıldı. En uygun foksiyonun explonansiyelli fonksiyon olduğu deneysel verilerle doğrulandı, sodyum-2-merkapto ethan sulfonat örneğinin bekletme zamanın 80. gününde sinyal şiddetinde %30 lik bir azalma görüldüğü tespit edilmiştir. Sodyum-2-merkapto ethan sulfonat örneğinde ışınlama ile oluşturulmuş serbest radikaller bekletme zamanına bağlı olarak ilk ışınlamadan yaklaşık 200 gün sonra bile EPR sinyallerinde gözlenebilmektedir.

Sonuç olarak, gama ışınları ve elektron demetleri gibi yüksek enerjili radyasyonlar kullanılarak ilaçların sterilize edilmsi tekniği dünya genelinde büyük artış göstermektedir. Örnek sıcaklığında çok az düzeyde artışa neden olması, ambalaj materyallerinden geçebilme özelliği nedeniyle örnek madde paketlenmiş halde sterilize edilebilmesi ve çevreye zarar vermemesi bu tekniğin en büyük avantajları olmasına rağmen şüphesiz bu yönteminde dezavantajları vardır: a) Işınlama işlemi sırasında serbest radikal türünde ara ürünlerin oluşması, b) Ürünlerin raf ömrü süresince ışınlanıp ışınlanmadığı ışınlanmış ise hangi doz da ışınlandığının bilinmesi tayin edilmesi gerekir.

LS toz kristallerinde ışınlama sonucu oluşan radikal $CH_2\dot{C}NH_2COOH$ olarak belirlendi. EPR spektrumu değerlendirilerek spin hamiltoniyen parametreleri olan g ve a değerleri, g= 2.0034 ve $a^1_{ß}= a^2_{ß}$ =1.34 mT, a_N= 0.72 mT, çizgi genişliği ΔH= 0.4 mT olarak belirlenmiştir. Spektrumun beş çizgiden oluştuğu görüldü. Işınlama sonucunda LC molekülünden, merkezi karbon atomuna bağlı bir H protonunun ayrılması sonucu, bu radikalin oluştuğu kanısına varıldı. LS radikalinin oda sıcaklığında alınan spektrumunda diğer NH_2 ve COOH gruplarından a.i.y.etkileşmesine herhangi bir katkı görülmemektedir.

3FDLV toz kristalinde ışınlama sonucu oluşan paramanyetik merkez, spektrum ölçümlerinden ve McKelvey simülasyon programından yararlanılarak $(CH_3)_2\dot{C}CH\text{-}R$ ($R=NH_2COOH$) olduğu kanısına varıldı. Ölçümlerden spin hamiltoniyen parametreleri belirlendi ve eşlenmemiş elektronun etkileştiği çevre hakkında bilgi edinildi. Paramanyetik merkezin, $(CH_3)_2\dot{C}CH\text{-}R$ grubundan H'in ayrılması sonucu oluştuğu düşünüldü. Simüle spektrumda kullanılan a.i.y. sabitleri, a_{CH} = 2.4 mT, a^1_{CH3} = 1.1 mT, a^2_{CH3}= 0.67 mT. Deneysel spektrumundan spektroskopik g değeri, g= 2.0029 ve çizgi genişliği ΔH= 0.465 mT olarak hesaplanmıştır. Bu değerlere kullanılarak elde edilen simüle spektrum ile deneysel EPR toz spektrumunun çok iyi uyuştuğu görülmektedir. Çizgilerin binom dağılımı a.i.y. değerlerine göre toplanmış ve şiddet dağılımı bu şekilde belirlenmiştir.

Işınlama sonucu αMDLS de iki farklı paramanyetik merkezin sırası ile $-\dot{C}H_2\text{-}R^2$ ($R^2=NH_2COOH$) ve $HO\dot{C}H\text{-}R^1$ ($R^1=CCH_3NH_2COOH$) oluşabileceği düşünüldü. Merkezi çizginin sağında ve solunda iki yarılma (dublet) olarak gözlenmektedir. düşünceyi doğrulamak için seçilen a_{CH} = 2.6 mT, a_{OH}= 2.6 mT, a^1_{CH} = 1.7 mT, a_{NH2}= 1.5 mT, a^2_{CH} =0.5 mT, çizgi genişliği ΔH= 0.33 mT değerleri, McKelvey simülasyon programında kullanarak elde edilen spektrumla deneysel spektrumun bire bir örtüştüğü gözlendi. Deneysel spektrumdan spektroskopik g değeri, g= 2.0036 olara hesaplandı.

N-asetil-L-sistein oda sıcaklığında ^{60}Co -γ ışınları ile ışınlandıktan sonra 295K sıcaklık aralığında EPR spektrumları alınmıştır. 295 K'de alınan spektrumlarda merkezi konumda şiddetli tek çizği gözlenmiştir. Spektrumlar üzerinde alınan ölçümler, maddenin kimyasal yapısı ve literatürdeki mevcut veriler göz önüne alındığında $SHCH_2\dot{C}NHCOCH_3COOH$ radikalinin oluşabileceği sonucuna varılmıştır. Deneysel spektrumdan spektroskopik g değeri, g = 2.0029 olarak hesaplanmıştır. Simüle spektrumda kullanılan a.i.y. sabitleri, a_{CH2} = 0.8 mT, a_{NH} = 0.75 mT, a_N= 0.4 mT ve çizgi genişliği ΔH= 0.5 mT olarak hesaplanmıştır. Bu değerlere ait simüle spektrum ile EPR toz spektrumunun uyumlu olduğu görülmektedir.

Bu tez çalışması kapsamında incelenen örneklerde yüksek enerjili radyasyonun neden olduğu ara ürünlerin karakterizasyonu yapılarak miktarları, kararlılıkları, sönüm meknizmaları ayrıntılı biçimde incelenip, radyasyonun 8 örnek türünde de anlamlı moleküler yıkıma neden olmadığı yani radyasyon verimlerinin düşük olduğu

dolayısıyla uluslararası kabul gören doz limitlerinde radyasyonla sterlizasyona elverişli olduğu sonucuna varıldı. Ayrıca incelenen dört ilaç örneği için karakteristik rezonans tepelerinin düşük doz değerlerinde bile bu tepe ile ilgili sinyal şiddetinin güvenilir bir biçimde ölçülebilir olması bu örneklerin 1-25 kGy doz aralığında doz ölçümünde kullanılabileceğini göstermiştir.

Radyasyona karşı duyarlık açısından bakıldığında ışınlanmış örneklerin cinsine göre önem kazanmaktadır. İncelenen moleküllerin amino, amin ve karboksil grubu içermesinden dolayı ışınlamanın canlılar üzerinde oluşturacağı bozuklukların cinsi ve süresi merak konusu olmuştur. Canlıların yapı taşı amino asitler olduğundan önem arzetmektedir. Ayrıca vücutta çeşitli metabolik faaliyetler sonucu serbest radikaller oluşmaktadır, alınan ilaçların sönüm zamanın uzun olması, kullanan hastalar için risk oluşturmaktadır.

6. KAYNAKLAR

Alpen E. 1990. Radiation Biophysics. Academic Pres, 484. California

Ambroz, H.B., Kornacka, E.M., Marciniec, B., Przybytniak, G.K. 2000. EPR study of free radicals in some drugs γ-irradiated in the solid state. Radiation Physics and Chemistry, 58: 357-366.

Angelis, C.D., Mattacchiani, A., Onori, S., Aragno, D., Paula, U.D., Panichelli, V. 2000. Electron are therapy treatment planning verfication with alanine/ EPR dosimetry. Applied Radiation and Isotopes, 52: 1203-1207.

Apaydın, F. 1991. Manyetik Rezonans Temel İlkeler Deney Düzenekleri Ölçme Yöntemleri. Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Ders Kitapları, No:3. Ankara

Assenheim, H.M. 1966. Introduction to Electron Spin Resonance. Hilgerand Watts Ltd. London.

Atherton, N.M. 1973.Electron Paramagnetic Resonance Elementary Theory and Appication. John Wiley and Sons Inc. New York.

Augusto, O. 1993. Alkylationand Clevage of DNA by Carbon-Centerd Radical Metabolities. Free Radical Biol&Med., 15: 329-336.

Aydın, M., Başkan, M.H., Osmanoğlu, Y.E. 2009. EPR study of gamma induced radicals in amino and iminodiacetic acid derivatives. Brazilian Journal of physics, 39: 3.

Aydın, M.2010. Study of free radicals in gamma irradiated amino acid derivatives. Brazilian Journal of Physics, 04: 429- 43.

Basly, J.P., Longy, I., Bernard, M. 1997. Radiation effects on dopamine and norepinephine. Pharmaceutical Research, 14(9): 1192-1196.

Basly, J.P., Bernard, M. 1997. Radiosterilization dosimetry by ESR spectroscopy: Ritodrine hydrochloride and comparison with other sympathomimetics. International Journal of Pharmaceutics, 149: 85-91.

Basly, J.P., Longy, I., Bernard, M. 1997. ESR identification of radiosterilized pharmaceuticals: Latamoxef and ceftriaxone. International Journal of Pharmaceutics, 158: 241-245.

Basly, J.P., Duroux, J.L. Bernard, M. 1997. Radiosterilization dosimetry by ESR Spectroscopy: Application to Terbutaline, Int.J.Pharm.,142, 247-249.

Basly, J.P., Basly, I., Bernard, M. 1998. ESR spectroscopy appliedto the study of pharmacuitcals radiosterilization: Cefoperazone. Journal of Pharma.and Biomedical Analysis, 17: 871-875.

Başkan, M.H., 2004. Gama Işınları ile Işınlanmış Bazı İzobutirik Asit Türevlerinin EPR İncelenmesi. Doktora tezi, Dicle Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır.

Başkan, M.H., Osmanoğlu, Ş. 2004. EPR of Gamma Irradiated N_{α}-Monochloroacetyl-α-Aminoisobutyric Acid, Z. Naturforsch., 59a, 665-668.

Bozkurt, E. 2008. Bazı Tetrametilamonyum Tuzlarının EPR Tekniği ile İncelenmesi. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.

Bransden, B. H., Joachain C.J. 1989. Atom ve Molekül Fiziği.Çev: Fevzi Köksal, Hasan Gümüş, Ondokuz Mayıs Üniv. Yayınları, Yayın No: 43, Samsun.

Breit, G., Rabi, I. 1931. Comparision of viscosity and moleculer arrangement in twenty-two liquid octyl alcohols. Physics Rev., 38, 2082-2087.

Crucq, A., Tilquin, B., Hickelb, B. 1995. Radicalmechanism of cephalosporins: a pulse radiolysis study. Free Radical Biology and Medicine, 18(5): 841-847.

Çalışkan, B. 2006. Gama Işınlarının Kimyasal ve Biyokimyasal Örneklerde Oluşturduğu Serbest Radikal Hasarlarının Elektron Spin Rezonans ve Simülasyon Yöntemiyle Belirlenmesi ve Antiosidantların Radikal Hasarları Üzerine olan Söndürücü Etkilerinin İncelenmesi. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Çolak, Ş., Korkmaz, M. 2004. Spectroscopic features of radiolytic intermediates induced in gamma irradiated sulfatiazole: an ESR study. *International Journal of Pharmaceutics*, 285:1-11.

Damian, G. 2003. EPR investigation of γ-irradiated anti-emetic drugs. *Talanta*, 60: 923-927.

Damian, G., Schmutzer, G., Petrisor, D., Miclauş, V., Simon, S. 2005. Electron Spin Resonance Studies of ɣ- Irradiated B_3 Vitamin.Romanian J.Biophys.,15:23-28..

Dimitrova,D.,Kalinkova, G.,Kunova,K., Oucharova,G.1983. Effect of gamma rays on the properties of amoxicillin trihyrat. Farmotsiya, 33(5): 38-42.

Dziegielewski, J.O., Jesowska-Trzebiatowska Kalencinska, E., Siemlon, I.Z., Kalencinski, J., Nawojska, J., 1973. Gamma radiolysis of 6- aminopenicillonic acid and its derivatives, Nucleonika, 18, 513-523.

Fluerette, J., Madres, S., Transy, M.J., 1975, Active bacteriostatique de differents antibiotiques opres irradiation parrayons gamma, in radiosterilization of medical products IAEA, Vienna, 247-251.

Facuconnet,A.L., Basly,J.P., Bernard,M.1996. Gamma Radiation Induced Effect on Isoproterenol.Int.J.Pharm., 144:123-125.

Korkmaz, G., Özsayın, F., Polat, M. 2011. An electron spin resonance (ESR) investigation of the dosimetric potential of potassium tartrate. Radiation Protection Dosimetry, 1-7.

Köksal, F., Osmanoğlu, Ş., Kartal, İ. and Ucun, F., 1997. EPR of Gamma-Irradiated Nα-Acetyl-L-Glutamine. Radiat. Phys. Chem., 49, 537-539.

Ghosh, K.D and Whiffen, D.H., 1959. The Electron Spin Resonance Spectrum of γ-Irradiated Single Crystal of Glycine, Mol. Phys., 2, 285-300.

Gibella,M.,Crucq, A.S., Tilquin, B. 1993. Detection RPE de ‘irradiation I’irradiation de medicaments. J.Chim.Phys., 90: 1041-1053.

Gibella, M., Crucq,A.S., Tilquin, B., Stocker, D., Lesgards,G., Raffi, J. 2000. ESR Studies of Some Irradiated Pharmaceuticals. Radiat. Phys. Chem., 58(68): 76.

Gopal, N.G.S., 1978, Radiation Sterilization of Pharma. and Polymers, Radiat. Phys. Chem., 12,, 35-50.

Hayes, R., Fletcher, G., Davies, D.J.G. 1980. The effect of ionizing radiation on beclamethazone dipropionate. J.Pharm.Pharmacol, 32: 48-50.

Heller, C., 1962. Electron Spin Resonance and Internal Rotation of the Methyl Group in the $CH_3\dot{C}(COOH)_2$ Radical, J. Chem. Phys., 36, 175-181.

Horsfield, A., Morton, J.R., Whiffen, D.H., 1961-a. The Electron Spin Resonance Spectrum of $CH_3\dot{C}HCOOH$ at 77 K in L-α-alanine, Mol. Phys., 4, 425-431.

Horsfield, A., Morton, J.R., Whiffen, D.H., 1961-b. Electron Spin Resonance Spectra of the Free Radical $(CH_3)\dot{C}COOH$, Trans Faraday Soc., 57, 1657-1661.

Jacobs,G.P.,1983. Stability of Cefozolin and Other New Cephalosporins Fallowing Gamma Irradiation, Int.J.Pharm., 17, 29.

Jacobs, G.P., 1984, Gamma radiolysis of sodium ampicillin and its esters, Appl. Radiat. Isot., 35, 11, 1023-1027.

Jacobs, G.P., 1985. Radiation Sterilization of Pharmaceuticals, Radiat. Phys. Chem., 26, 133-142.

Ikeya, M. 1993. New Applications of Electron Spin Resonance-Dating, Dosimetry and Microscopy, World Scientific Publisng Co. Pte. Ltd.

Korkmaz, G., Özsayın, F., Polat, M. 2011. An electron spin resonance (ESR) investigation of the dosimetric potential of potassium tartrate. Radiation Protection Dosimetry, 1-7.

Köseoğlu, R., Köseoğlu, E., Köksal, F. 2003. Electron paramagnetic resonance of some γ-irradiated drugs. Applied Radiaiton and Isotopes, 58: 63-68.

Kwon J.H., Chung H.W., Byun M.W., 2000. ESR Spectroscopy for Detecting Gamma-Irradiated Dred Vegetables and Estimating Absorbed Doses. Radiat. Phys. Chem., 57, 319-324.

Latosinska, J.N., Pietrzak, J., 2004. EPR Study of Free Radicals in γirradiated Thiazide Compounds. Appl. Magn. Reson., 26, 345-355.

McConnell, H.M., Heller, C., Cole. T., Fessenden, R.M. 1960. Radiation Damage in Organic Crystals. I.ĊH$(COOH)_2$ in Malonic Acid. J. Amer. Chem.Soc., 82, 766-775.

Miyazaki, T., Kaneko, K., Yoshimura, T., Crucq, A.S., Tilquin, B., 1994, Electron Spin Resonance Study of radiasterilization of antibiotics: Ceftazidime, J.Pharm. Sci., 83, 68-71.

Morton, J.R. 1964.Electron Spin Resonance Spectra of oriented radicals. Chem. Rev. 64, 453.

Morton, J.R., Horsfield, A., 1961-a. Electron Spin Resonance Spectrum and Structure of CH_3ĊH(CO_2H), J. Chem. Phys., 35, 1141-1143.

Morton, J.R., Horsfield, A., 1961-b. Electron Spin Resonance of γ-Irradiated Adipic Acid, Mol. Phys., 4, 219-223.

Morton, J.R., Horsfield, A., 1961-a. Electron Spin Resonance Spectrum and Structure of CH_3ĊH(CO_2H), J. Chem. Phys., 35, 1141-1143.

Petrişor, D., Damian, G., Simion, S. 2008. ɣ-irradiated ExtraVit M nutritive supplement studied by electron paramagnetic resonance spectroscopy. Radiation Physics and Chemistry,77:463-466.

Poole, C.P.1967. Electron Spin Resonance. A Division of John Wiley, NewYork.

Rao, M.J., Anderson, R.S., 1965. Electron Spin Resonance in Gamma Irradiation Single Crystals of Hydroxylated Organic Compounds, J. Chem. Phys., 42, 2899-2904.

Saint-lebe L., Raffi J., 1995. Le Traitement Ionisant des Aliments. Cah. Nutri., Paris, 30(2), 117-123.

Shields, H.W., Hamrick, P., Delaigle, D., 1967. Electron Spin Resonance of X-Irradiated Valines, J. Chem. Phys., 46, 3649-3652.

Şentürk, H., 2004. Serbest Radical Hasarının Hepota-Biliyer Sistem Hastalıklarındaki Rolü, Kocatepe Tıp Der., 5, 1-8.

Tapramaz, R., 1991. Kükürt-Oksi,Metil Sulfinil ve Arsenat Radikallerinin Elektron Spin Rezonans Spektroskopisi ile İncelenmesi, Doktora Tezi, O.M.Ü.Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.

Tsuji, K., Goetz, J.F., Vanmeter, W., 1979, Effect of 60Co Irradiation of Penicilin G. procaine in Veterinary Mastitis Product, J.Pharm. Sci., 68, 1075-1080.

Walker,S., Straw, H. 1961. Spectroscopy. Volume 1. Great Britian University, Aberdeen.

Wertz, J.E., Bolton, J.R. 1972. Electron Spin Resonance Elementary Theory and pratical Application, Mc-Graw-Hill, New York.

Weil, J.A, Bolton J.R.,Wertz,J.E.1994. Electron Paramanyetik Resonance Elementary Theory and Practical Applications. A Wiley-Interscience Publication, 3, Canada.

Wilczynski, S., Pilawaa, B., Koprowski, R., Wrobel, Z., Ptaszkiewiczc, M., Swakon, J., Olkoc, P.2012. EPR studies of free radicals decay and survival in gamma irradiated aminoglycoside antibiotics: sisomicin, tobramycin and paromomycine. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 45: 251-262.

Yerli, Y. 2002. Bazı İnorganik Yapılarda Katkılama ve Işınlama ile Oluşturulan Bozuklukların EPR ile İncelenmesi. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,Samsun.

Zavoısky,E. 1945.Paramagnetic Relaxation.J.Physics., 9: 211-245.

Zegota, H., Koprowski, M., Zegga A. 1994. Stability of cefuroxime following ɣ-irradiation in the solid state. Radiat. Phys. Chem. 43(4): 343-348.

ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Diyarbakır'da doğdu. Diyarbakır Ortadoğu Kolejinden 2000 yılında mezun oldu. 2007 yılında Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Fizik Bölümünden mezun oldu. Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fizik Anabilim Dalında 2008 yılında yüksek lisans programına başladı. 2011 yılında Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fizik Anabilim Dalında doktora programına kabul edildi. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalında medikal fizik uzmanı olarak görev yapmaktadır.