



Klorpromazin İlaç Örneğinin Elektron Spin Rezonans Spektroskopisi ile Dozimetrik İncelenmesi

Dosimetric Investigation of Chlorpromazine by ESR

Nazenin İpek Işıklı^{1*} 

¹ Nişantaşı Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, 34398, İstanbul, TÜRKİYE
Sorumlu Yazar / Corresponding Author *: nazenin.ipek@nisantasi.edu.tr

Geliş Tarihi / Received: 29.05.2018

DOI:10.21205/deufmd.2019216104

Kabul Tarihi / Accepted: 26.09.2018

Araştırma Makalesi/Research Article

Atıf şekli/ How to cite: İPEK İŞIKÇI, N.. (2019). Klorpromazin İlaç Örneğinin Elektron Spin Rezonans Spektroskopisi ile Dozimetrik İncelenmesi. DEUFMD, 21(61), 41-46.

Öz

Bu çalışmada, nörolojik hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaç etkin madde Klorpromazin örneğinin dozimetrik malzeme olarak kullanıma uygunluğu, radikal sönüm bilgileri, mikrodalga güç değerlerinde doyum bilgileri ve doz-cevap eğrisi oda sıcaklığında araştırılmıştır. Klorpromazin örneği belli doz değerlerinde γ -ışınları ile ışınlanmış ve Elektron Spin Rezonans (ESR) spektrumları kaydedilmiştir. Işınlanmamış örneklerde ESR sinyali gözlenmemiştir. Spektrum simülasyonu (benzetimi) yapılarak radyasyon sonucunda oluşan iki farklı türdeki radikalin spektroskopik ve yapısal özellikleri belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: ESR, Dozimetri, Gama radyasyonu, Serbest radikal

Abstract

In this study, the suitability of usage as a dosimetric material of Chlorpromazine, which is used in treatment of neurological diseases, was determined and also its signal fading, microwave saturation behaviour and dose-response curve information were investigated at room temperature. Chlorpromazine sample was irradiated by γ -rays at significant doses and Electron Spin Resonance (ESR) spectra were recorded. ESR signal was not detected in unirradiated samples. The spectroscopic and structural properties of two different types of radicals induced by radiation were determined by spectrum simulation.

Keywords: ESR, Dosimetry, Gamma Irradiation, Radical

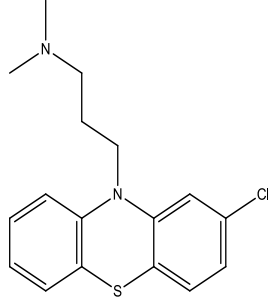
1. Giriş

ESR spektroskopisi ile iyonlaştırıcı radyasyon uygulaması sonucunda ilaç maddelerinde oluşan paramanyetik merkezlerin (serbest radikallerin) tespiti yapılabilir ve tek elektronun molekül üzerine yayılımı ile ilgili bilgi edinilebilir[1-6]. Daha önce ışınlanmış ilaç örnekleri üzerine yapılan çalışmaların sonuçları ESR spektroskopisinin ışınlama ile oluşan serbest radikallerin karakterizasyonunda

kullanılabilecek çok etkin bir yöntem olduğunu göstermiştir[1-8].

1950 li yılların başında psikiyatri alanında önemli bir gelişme olarak ilk antipsikotik ilaç olan klorpromazinin sentezi ortaya çıkmıştır. Daha sonra şizofreni hastalığının tedavisinde kullanılarak tedavi imkanı sunmuştur [9]. Klorpromazin yeşilimsi beyaz renkli, acı ve kokusuz bir tozdur. Dopamin antagonisti bir antipsikotik ilaçtır. Ayrıca, antiadrenerjik,

antiserotonerjik, antikolinergik ve antihistaminergik özellikler taşır. Şizofreni ve bipolar bozukluğun tedavisinde kullanılır. Molekül formülü $C_{17}H_{19}ClN_2S$, kimyasal adı 3-(2-chloro-10H-phenothiazin-10-yl)-N,N-dimethylpropan-1-amine'dir. Molekül ağırlığı 355.33'tür. Piyasada 100 mg tablet ve 25 mg i.m. veya i.v. ampul şeklinde bulunur [10]. Klorpromazin'in molekül ve kimyasal şekli Şekil 1'de gösterilmiştir.



3-(2-chloro-10H-phenothiazin-10-yl)-N,N-dimethylpropan-1-amine

Şekil1. Molekül ve kimyasal formülü

Farmakopelerce (USP XXII, BP 1993) kabul edilen maksimum radyasyon dozu 25 kGy olarak seçilmiştir. Yapılan çalışmalar ışığında, Klorpromazin 1, 7.5, 10.5, 15.2 ve 18.6 kGy dozlarda ışınlanarak öngörülen limitler içerisinde çalışılmıştır.

Bu çalışmanın amacı, γ -ışınları ile ışınlanmış Klorpromazin örneğinde oluşan serbest radikallerin spectral özelliklerinin ve oda sıcaklığında ESR incelemesi sonucu doz cevap eğrilerinin oluşturularak normal ve/veya kaza dozimetri olarak kullanılıp kullanılmayacağı durumunun belirlenmesidir.

2. Materyal ve Metot

1 kGy dozdaki ışınlamalar Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalında bulunan Alcyon II model ^{60}Co teleterapi cihazı kullanılarak yapılmıştır.

Diğer dozdaki ışınlamalar ise Türkiye Atom Enerjisi Kurumu'na bağlı Sarayköy Nükleer Araştırma Merkezi SANAEM birimi Endüstriyel Işınlama Tesisinde aktivitesi 370.000 curie ve doz hızı 2kGy/sa olan ^{60}Co Gama Kaynağı ile gerçekleştirilmiştir. Gama ışınlama tesislerinde ürünler paketleri içerisinde işlem görürler ve ürün kutularına dozimetreler konularak işlem kontrolü yapılmaktadır. Bu çalışmada kullandığımız örnekler küçük paketler halinde hazırlandıktan sonra ışınlandı. Dozimetreler ile

alınan ışınlama miktarları tespit edildi. (7.5 kGy, 10.5 kGy, 15.2 kGy ve 18.6 kGy)

Nörolojik hastalıkların tedavisinde kullanılan toz haldeki numuneler üzerinde herhangi bir işlem yapılmadan sadece kuartz tüpler içerisine yerleştirilerek çeşitli spektrometre çalışma koşullarında ESR spektrumları kaydedilmiştir. (Bruker e-scan Marka X-band ESR Spektrometresi : Manyetik alan 349 mT; tarama aralığı 10 mT; mikrodalga gücü ~0.1 mW; mikrodalga frekans 9.8 GHz; alıcı kazanç 3.17×10^2 ; modülasyon frekansı 86 kHz; modülasyon genliği 0.2 mT; zaman sabiti 81.920 ms; tarama zamanı 10.486 s) Bütün ölçümler oda sıcaklığında kaydedilmiştir.

İşinlanmış Klorpromazin örneğinde oluşan toplam radikal sayısını veren spektrum alanı 'Bruker WINEPR' programı ile 'çift integral' tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir [11].

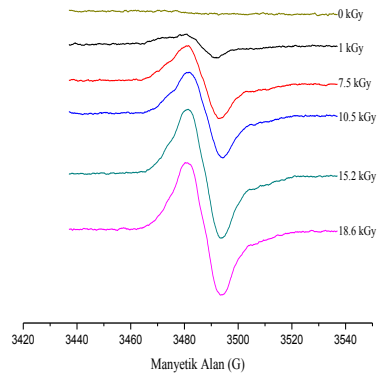
Örneklerin spektrum simülasyon işlemleri 'EPR-Winsim NIEHS' programı kullanılarak yapılmıştır [12].

3. Bulgular

3.1. Işınlanmamış ve ışınlanmış örnekler

Bu çalışmada kullanılan Klorpromazin üzerinde fiziksel veya kimyasal herhangi bir işlem yapılmamıştır. Klorpromazin örneği belli doz değerlerinde γ -ışınları ile ışınlanmış ve ESR spektrumları kaydedilmiştir.

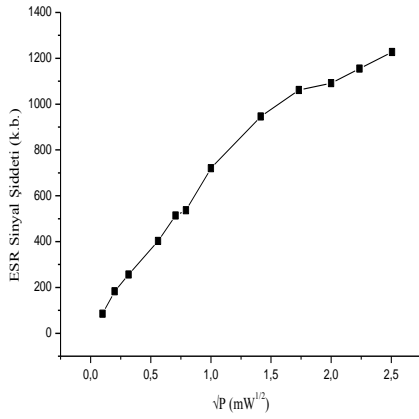
İşinlanmamış Klorpromazin örneğinin herhangi bir ESR sinyali vermediği görülmüştür. Düşük dozlardan yüksek dozlara doğru ışınlanmış örneklerdeki rezonans sinyallerinin doza bağlı olarak gittikçe belirgin ve şiddetli hale geldikleri Şekil 2'de görülmektedir.



Şekil 2. Işınlanmamış ve farklı dozlarda ışınlanmış Klorpromazin örneğinin ESR spektrumları

3.2. ESR sinyal şiddetinin mikrodalga gücü ile değişimi

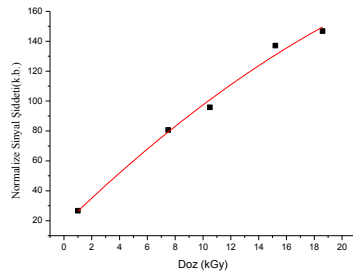
Çalışmanın bu kesiminde 18.6 kGy doz değerinde ışınlanmış Klorpromazin örneğinin 0.01-6.280 mW aralığında değişik mikrodalga güç değerlerinde ESR spektrumları kaydedilmiştir. Bu bağlamda elde edilen sonuçlar Şekil 3'te gösterilmiştir.



Şekil 3. 18.6 kGy doz değerinde ışınlanmış Klorpromazin örneğinin sinyal şiddetinin mikrodalga gücüne bağlı değişimleri

3.3. Klorpromazin örneği doz-cevap eğrisi

Gama radyasyonu ile 1, 7.5, 10.5, 15.2 ve 18.6 kGy doz değerlerinde ışınlanan Klorpromazin örneklerinin aynı spektrometre çalışma koşullarında kaydedilen ESR spektrumlarından, tek sinyalin tepeden tepeye şiddet değerleri okunarak kütlelerine göre normalize edilmiş ışınlama dozuna bağlı değişimi Şekil 4'te verilmiştir.



Şekil 4. 1-18.6 kGy doz aralığında ışınlanmış sinyal şiddetinin uygulanan doza bağlı değişimi. Semboller: deneysel veriler; sürekli çizgi: $I=a+bD+cD^2$ fonksiyonu yardımıyla hesaplanan kuramsal bulgular

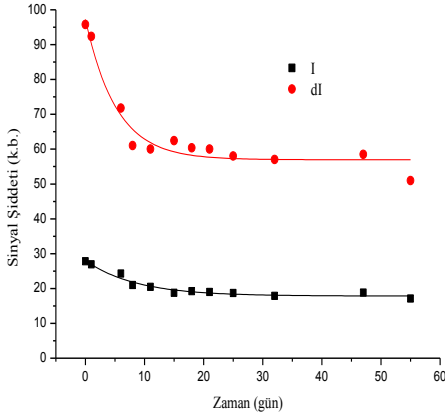
Örneğin soğurduğu radyasyon doz miktarını tespit etmek amacıyla normalize sinyal şiddetinin ışınlama dozuna bağlı olarak bir matematiksel fonksiyon ile tanımlanabilmesi önemlidir. Bu nedenle Tablo 1 de verilen dört farklı fonksiyon denemesi yapıldıktan sonra deneysel noktalardan geçen en iyi doğrunun $I=a+bD+cD^2$ biçiminde ifade edilen polinomal bir fonksiyonla tanımlanabileceği sonucuna varılmıştır. Burada I, normalize sinyal şiddeti ve D, kGy cinsinden doz değeridir. Bu fonksiyon kullanılarak elde edilen kuramsal doz-cevap eğrisi Şekil 5'te sürekli çizgi şeklinde gösterilmiştir.

Tablo 1. Tepeden tepeye ölçülen sinyal şiddeti değerleri kullanılarak dört değişik matematiksel fonksiyon için hesaplanan parametre değerleri.

Model	Parametreler			
	a	b	c	r ²
$I=a+bD$	23.5	7	0.9804
$I=a+bD+cD^2$	17.4	9.04	0.10432	0.9840
$I=a+D^b$	22.04	0.65	0.9833
$I=a(1-e^{-Db})$		0.06	0.9607

3.4. ESR sinyal şiddetinin zamanla değişimi

Çalışmanın bu kesiminde, ışınlanmış Klorpromazin örneği ESR spektrumuna kaynaklık eden radikal veya radikallerin oda sıcaklığındaki kararlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Dozimetrik amaçlı kullanılacak örnekler için radyasyonla oluşan radikal veya radikallerin oda sıcaklığında geniş zaman aralığında sönmeye uğramamaları istenir. Işınlanmamış Klorpromazin herhangi bir ESR sinyali vermediği gözönüne alınarak, γ -radyasyonuna maruz bırakılmış Klorpromazin örneğinin ışınlamadan sonraki yaklaşık iki ay içerisinde izlenen tepeden tepeye sinyal şiddetinin ve spektrum alanının durumu incelendi. Şekil 5'ten görüldüğü gibi ilk sekiz günde belirgin bir düşüş ve daha sonrasında ise yavaş bir sönmeye görülmektedir. Deneysel spektrumun oluşumuna kaynaklık eden radikallerin sönmeye kinetiği ve uydukları fonksiyon Tablo 2'de verilmiştir.



Şekil 5. Oda sıcaklığında bekletilen ışınlanmış (15.2 kGy) Klorpromazin örneğinin sönüm davranışı

Tablo 2. Oda sıcaklığında tepeden tepeye sinyal şiddetinin (I) ve alanının (dl) zamana bağlı değişimi ile ilgili bulgular dikkate alınarak katkı getiren radikal türleri için hesaplanan sönüm parametreleri

Fonksiyon	Parametreler	I	dl
$I(t)=I_0+ A.e^{-kt}$	I_0	17.8	56.9
	A	10.2	40.3
	k	0.11	0.2
	r^2	0.9565	0.9466

İyi bir dozimetrik malzemenin ESR açısından sağlaması gereken önemli özelliklerden birisi de, ışınlama ile malzeme içerisinde oluşan radikallerin oda ve yüksek sıcaklıklardaki kararlılığıdır. Işınlama işleminin kendisi, ışınlanan malzemede önemli sıcaklık artışına sebep olmadığı için, hem malzemenin korunmasında hem de sterilizasyon amaçlı ışınlamalarda tercih edilen bir yöntemdir. Yapılan birçok çalışmada, ortam sıcaklığının yeterince yüksek olması durumunda malzeme içerisinde oluşan bu radikallerin kararlılıklarının da zayıfladığı ve ölçüm sonuçlarının önemli ölçüde etkilediği gösterilmiştir [13-14]. Bu sıcaklık değeri malzemeden malzemeye değişiklik göstermekle

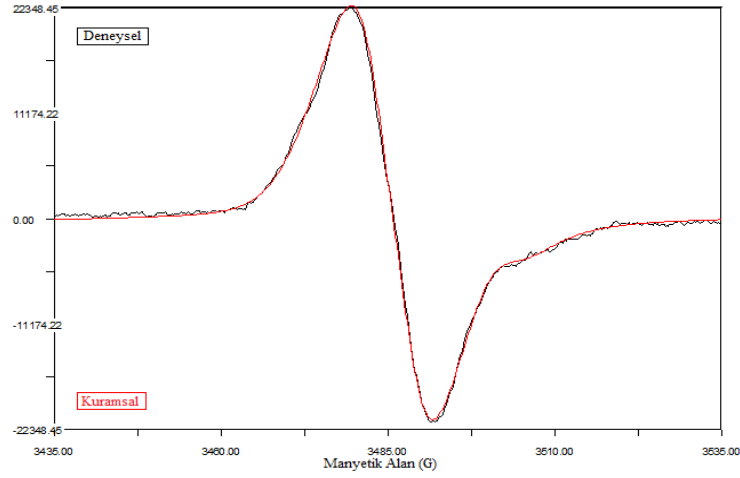
birlikte, ilaç ve ilaç etken maddeleri için bu sıcaklık ortalama 50-60 °C civarındadır. Üzerinde çalışılan Klorpromazin ilaç etken maddesinin erime sıcaklığının yaklaşık 177 °C civarında olduğu ve genel olarak ilaçların 25 °C altında saklanması gerektiği gözönünde tutularak, 30-40 °C'ye kadar olan sıcaklıkların radikal kararlılığı üzerinde olumsuz bir etki yapmayacağı düşünülmüş ve bu nedenle oda sıcaklığı üzerindeki sıcaklıklarda sönüm çalışması yapılmamıştır.

3.5.Spektrum simülasyonu

İşinlanmış Klorpromazin örneği ESR spektrumu dikkatle incelendiğinde, merkezdeki şiddetli sinyalin her iki tarafında da düşük şiddetli omuzlar olduğu görülmektedir. Ayrıca, sinyal şiddetinin zamanla değişimini veren grafikten de (Şekil 5), iki kademeli bir sönümün olduğu açıkça görülmektedir. Yapılan simülasyon denemelerinde, tek çizgili sinyal veren radikal modelinde, kuramsal ve deneysel spektrumlar arasındaki uyumun yeterince iyi olmadığı görülmüştür. Yukarıdaki iki olgu dikkate alınarak, spektrum simülasyonu için iki farklı türde radikal içeren bir model kullanılarak simülasyon işlemi tekrarlanmış ve uyumun çok daha iyi olduğu görülmüştür.

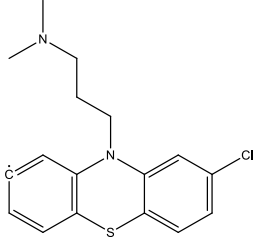
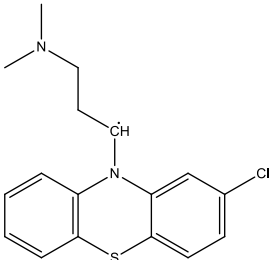
İşinlanmış Klorpromazin örneği ESR spektrumunun oluşumuna katkı getiren radikallerin spektroskopik parametreleri 15.2 kGy doz değerinde ışınlanmış örneğin sinyal şiddet değerlerini girdi olarak kabul eden ve iki farklı radikale atfedilen bir model yardımıyla spektrum simülasyonu yapılarak hesaplandı. Hesaplanan kuramsal spektrum ve deneysel spektrumun iyi bir uyum içerisinde olduğu Şekil 6' da görülmektedir. Elde edilen bulgular Tablo 3'te verilmiştir.

Yapıda oluşturduğu düşünülen paramanyetik merkezler; herhangi bir aşırı ince yapı (a.i.y) yarılmasına uğramayan tek çizgili bir ESR spektrumu veren R_A radikali ile $\dot{C}H$ üzerine yerleşmiş eşlenmemiş elektron ve H çekirdeğinin etkisiyle aşırı ince yapı yarılmasına uğrayan 1:1 şiddetinde iki çizgili sinyal veren bir radikal olan ancak a.i.y sabiti değerinin çizgi genişliğinden küçük olmasından dolayı zarf oluşturan R_B radikale atfedilmiştir.



Şekil 6. 15.2 kGy doz değerinde ışınlanmış Klorpromazin'in deneysel (siyah) ve kuramsal (kırmızı) spektrumlar

Tablo 3. Klorpromazin için simülasyon sonucu önerilen radikal türleri ve hesaplanan parametreler (çizgi genişliği; g-değeri; a.i.y sabiti)

Radikal	Radikal oranı	Spektroskopik Parametreler (çizgi genişliği; g-değeri; a.i.y sabiti)
 RA	11	$\Delta H = 8.2G$ $g = 1.9927$
 RB	89	$\Delta H = 6.6 G$ $g = 2.0024$ $a = 4.9G$

4. Tartışma ve Sonuç

Antipsikotik ilaç listelerinde yer alan ve bir devrim niteliğinde görülen Klorpromazin ile çalışılmıştır [15-16]. Gama ışınlarıyla ışınlanmış

Klorpromazin ESR spektrumu verdiği ve uygulanan doza bağlı olarak şeklinin değişmediği belirlenmiştir. Örneğin soğurduğu radyasyon doz miktarını tespit etmek amacıyla kütlelerine göre normalize edilmiş sinyal

şiddetinin ışınlama dozuna bağlı olarak deneysel noktalardan geçen en iyi doğrunun $I=a+bD+cD^2$ biçiminde ifade edilen polinomal bir fonksiyonla tanımlanabileceği sonucuna varılmıştır. Oda sıcaklığı sönüm bulguları değerlendirilerek klorpromazin örneğinde farklı türde iki radikalın olduğu varsayımı yapılarak model oluşturulup spektrum simülasyon işlemleri yapıldı. Bu model çerçevesinde hesaplanan kuramsal spektroskopik parametre değerleri kullanılarak oluşturulan kuramsal spektrumun deneysel spektrum ile çok iyi uyum içerisinde olması öngörülen modelin, sonuçları değerlendirme bakımından uygun ve başarılı olduğu sonucuna varıldı.

Işınlama işlemi öncesinde Klorpromazin örneğinde herhangi bir ESR sinyalinin

gözlenmemesi, doz-cevap eğrisinin geniş bir aralıkta çizgisele yakın olması dozimetrik açıdan olumlu sonuçlardır. Ancak, oda sıcaklığında sinyal şiddetinin ışınlamayı takip eden ilk 8 günde yaklaşık olarak % 36 oranında sönüme uğraması bir dezavantaj olarak değerlendirilmiştir. Klorpromazin örneğinin dozimetrik amaçlı kullanımı durumunda, ışınlama işlemini takip eden ilk birkaç saat içerisinde ölçümün yapılması bu dezavantajı ortadan kaldıracaktır. Diğer taraftan, ışınlamadan sonra geçen süre net olarak biliniyorsa, bu süre Tablo-2' de verilen sönüm ifadesinde kullanılarak ışınlamadan hemen sonraki ESR sinyal şiddeti tespit edilebilir ve doz-cevap eğrisini betimleyen fonksiyonda yerine konarak ışınlama dozu belirlenebilir.

Teşekkür

Bu çalışma, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri DÜBAP'ın 12-FF-08 no'lu projesi ile desteklenmiştir. İlgili birime teşekkürlerimi sunarım.

Kaynakça

- [1] Gibella, M., Crucq, A.S., Tilquin, B.1993. Détection RPE de l'irradiation des médicaments, J. Chim. Phys., Cilt. 90, s. 1041-1053. DOI:10.1051/jcp/1993901041
- [2] Basly, J.P., Longy, I., Bernard, M. 1997. ESR identification of radiosterilized pharmaceuticals: latamoxef and ceftriaxone. International Journal of Pharmaceutics, Cilt. 158, s. 241-245. DOI: 10.1016/S0378-5173(97)00257-3
- [3] Basly, J.P., Bernard, M. 1997. Radiosterilization Dosimetry by EPR Spectroscopy: Ritodrine Hydrochloride and Comparison With Other Sympathomimetics, Cilt. 149, s. 85-91.DOI: 10.1016/S0378-5173(96)04855-7
- [4] Damian, G. 2003. EPR investigation of γ -irradiated anti-emetic drugs. *Talanta*, Cilt. 60, s. 923-927. DOI: 10.1016/S0039-9140(03)00153-X
- [5] Polat M., Korkmaz, M. 2006. Effect of radiation on solid paracetamol: ESR identification and dosimetric features of γ -irradiated paracetamol. Radiation Effects and Defects in Solids, Cilt. 161, s. 51-62. DOI:10.1080/10420150500467471
- [6] Çolak, Ş., Korkmaz, M. 2004. Investigation of radiosterilization and dosimetric features of sulfacetamide sodium. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, Cilt. 36, s. 791-798.DOI:10.1016/j.jpba.2004.08.036
- [7] Ambroz, H.B., Kornacka, E.M., Marciniak, B., Ogródowczyk, M., Przybytniak, G.K. 2000. EPR study of free radicals in some drugs γ -irradiated in the solid state. Radiation and Physics Chemistry, Cilt. 58, s. 357-366.DOI: 10.1016/S0969-806X(99)00489-2
- [8] Abdel-Fattah, A.A. 2002. Identification and dose assessment of irradiated cummin by EPR spectrometry. Applied Radiation and Isotopes, Cilt. 56, s. 557-562.DOI: 10.1016/S0969-8043(01)00246-9
- [9] Özalmete, E. Ö. 2006. Şizofreni Hastaların Tedavisinde Antipsikotik Poliformasi. T.C Sağlık Bakanlığı Bakırköy Prof. Dr. Mazhar Osman Ruh ve Sinir Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Baştabipliği, Uzmanlık Tezi, İstanbul.
- [10] https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Chlorpromazine_hydrochloride
- [11] Barr, D., Jiang, J.J., Weber, R., 1998. Performing Double Integrations Using WIN-EPR. Bruker Biospin Report 6.
- [12] NIH. 2012. Public Electron Paramagnetic Resonance Software Tools.<http://www.niehs.nih.gov/research/resources/software/tox-harm/tools/index.cfm>. (Erişim Tarihi :22.12.2013).
- [13] Dusaucy, A.C., Tilquin, B., 1991, Selectivity in dehydrodimerisation of amids: final product analysis in the liquid phase. Radiat. Phys. Chem. 37, 217-220. DOI: 10.1016/1359-0197(91)90131-K
- [14] Miyazaki, T. Arai, J., Koneko, T. Yamamoto, K, Gibella, M., Tilquin, B.,1994. Estimation of irradiation dose of radiosterilized antibiotics. J.Pharma.Sci. 83, 1643-1644. DOI: 10.1002/jps.2600831122
- [15] Erdem, T. 2010. Raflarda Tek Doz Uygulanan Kadmiyum Toksikasyonunun Patolojisi ve Eş Zamanlı Uygulanan Klorpromazinin Koruyucu Etkisinin Araştırılması. Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Konya.
- [16] Kaplan H. I., Sadock, B. J., Grebb J. A., 1994. Sinopsis of psychiatry 7th ed. Baltimore, MD, Williams and Wilkins, s. 933-959. DOI: 10.1017/S0033291700033304