

**T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS
KİMYA ANABİLİM DALI
FİZİKOKİMYA BİLİM DALI**

**KANSER TEDAVİSİNDE VE MOLEKÜLER GÖRÜNTÜLEMEDE
KULLANILMASI İÇİN SENTEZLENEN RADYOAKTİF İŞARETLİ
YENİ BİR AŞI POLİMERİNİNİN ALBİNO WİSTAR SIÇANLAR
ÜZERİNDE RADYOFARMASÖTİK POTANSİYELİNİN
İNCELENMESİ**

Buket ATEŞ

**Danışman
Prof. Dr. Uğur AVCIBAŞI**



MANİSA-2018

TEZ ONAYI

Buket ATEŞ tarafından hazırlanan "**Kanser Tedavisinde Ve Moleküler Görüntülemeye Kullanılması İçin Sentezlenen Radyoaktif İşaretli Yeni Bir Aşı Polimerinin Albino Wistar Sıçanlar Üzerinde Radyofarmasötik Potansiyelinin İncelenmesi**" adlı tez çalışması 24/07/2018 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri önünde Manisa Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman

Prof. Dr. Uğur AVCIBAŞI
Manisa Celal Bayar Üniversitesi



Jüri Üyesi

Prof. Dr. Perihan ÜNAK
Ege Üniversitesi



Jüri Üyesi

Doç . Dr. Ümran HIÇSÖNMEZ
Manisa Celal Bayar Üniversitesi



TAAHHÜTNAME

Bu tezin Manisa Celal Bayar Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nde, akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Buket ATEŞ



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER	I
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	III
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IV
TABLO DİZİNİ	VI
TEŞEKKÜR.....	VII
ÖZET.....	VIII
ABSTRACT.....	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Nanoteknolojinin Kanser Tedavisinde Kullanılması	4
2.1.1. Nanoteknolojinin Geçmişi ve Ortaya Çıkışı	4
2.1.2. Nanoteknolojinin Kanser Tedavisindeki Rolü ve Önemi.....	5
2.1.3. Nanoteknolojinin Konvansiyonel Tedavilere Göre Üstünlükleri ...	6
2.1.3.1. Manyetik Nanopartiküller.....	7
2.2. Nanopolimerlerin Karakterizasyonunda Kullanılan Metodlar	8
2.2.1. Taramalı Elektron Mikroskopisi (Scanning Electron Microscopy-SEM)	8
2.3. Poli(2-Hidroksietil Metakrilat) [Poli(HEMA)]	8
2.4. Kalite-Kontrol Çalışmalarında Kullanılan Metodlar	10
2.4.1. İnce Tabaka Radyokromatografisi	10
2.4.2. İnce Tabaka Kromatografisinin Temel Prensipleri	10
2.4.3. Fosfor Görüntüleme Teknolojisi	12
2.4.4. Cyclone Plus Fosfor Görüntüleme Sistemi Hakkında Genel Bilgiler.....	12
2.4.5. Cyclone Plus Fosfor Görüntüleme Sisteminin Çalışma Prensipleri	13
2.5. Lipofilite Kavramı.....	15
2.6. Radyonüklid seçimi.....	15
2.7. Teknesyum (⁹⁹ Tc) kimyası.....	17
2.7.1. Teknesyum elementi	17
2.7.2. Metastabil-Teknesyum izomerik çekirdeği (^{99m} Tc)	18
2.7.3. ^{99m} Tc kimyası	19
2.7.4. ⁹⁹ Mo / ^{99m} Tc jeneratörü	20
2.7.5. ^{99m} Tc'un indirgenmesi.....	21
2.7.5.1. Sn (II) metodu	22
2.8. İşaretleme teknikleri.....	22
2.8.1. Doğrudan (Direkt) işaretleme tekniği	23
2.9. ^{99m} Tc işaretli bileşiklerin kalite kontrolü	24
2.9.1. Stabilite	24
2.9.2. Görüntüleme ve sintigrafi	25
2.9.2.1. Dinamik sintigrafi	26
2.9.2.2. Statik sintigrafi	26
2.9.2.3. Tüm vücut sintigrafisi	27
2.9.3. Biyodağılım.....	27
3. MATERYAL VE YÖNTEMLER.....	29
3.1. Materyal.....	29
3.1.1. Kullanılan kimyasallar ve cihazlar	29

3.1.2. Kullanılan kimyasallar.....	29
3.1.3. Kullanılan Cihazlar.....	29
3.2. Yöntemler.....	30
3.2.1. Polimerin Sentezlenmesi	30
3.2.2. Manyetik Özellikte Poli(HEMA) Nanopolimerlerin Hazırlanması.....	30
3.2.3. L-Lizin'nin Manyetik Poli(HEMA)'ya Aşılması	31
3.3. m-graft-Lys-poli(HEMA) Nanopolimerine İlişkin Yapılan Radyoaktivite Çalışmaları.....	31
3.3.1. m-graft-Lys-poli(HEMA) Nanopolimerinin ^{99m} Tc ile İşaretlenmesi	31
3.3.2. İşaretleme Çalışmaları	32
3.3.2.1. m-graft-Lys-poli(HEMA) Stok Çözelti Hazırlanması.....	32
3.3.2.2. SnCl ₂ Çözeltisinin Hazırlanması	32
3.3.2.3. Deneysel Çalışmalar	32
3.4. Kalite Kontrol Çalışmaları	33
3.5. Lipofilite çalışmaları	33
3.6. Stabilite Çalışmaları	34
3.7. Dişi Albino Wistar sıçanlar üzerinde yapılan biyodağılım çalışmaları ..	34
3.8. Dişi Albino Wistar Sıçanlar Üzerinde Sintigrafi Çalışmaları	34
3.9. İstatistiksel analizler.....	35
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	36
4.1. [m-graft-Lys-poli(HEMA)] Molekünün Yapı Karakterizasyonuna İlişkin Sonuçlar.....	36
4.1.1. FT-IR Analiz Sonuçları	36
4.1.2. SEM Analizi Sonuçları.....	37
4.1.3. Zeta Boyut Analizi Sonuçları	37
4.2. ^{99m} Tc ile işaretli bileşiklerin kalite kontrol çalışmaları	38
4.2.1. TLRC sonuçları	38
4.3. noctanol / nsu Oranı Lipofilite Çalışması Sonuçları	45
4.4. Stabilite Çalışması Sonuçları.....	45
4.5. Biyodağılım Çalışması Sonuçları	46
4.6. Sintigrafi Çalışması Sonuçları.....	48
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	53
KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ	58

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

HEMA	2-(hidroksietil metakrilat)
Poli(HEMA)	Poli(2-hidroksietil metakrilat)
^{99m}Tc-[m-graft-Lys-poli(HEMA)]	^{99m} Tc ile işaretli m-graft-Lys-poli(HEMA)
nanopolimeri	
PEG	Poli(etilen glikol)
SEM	Scanning electron microscopy (taramalı
elektron mikroskopisi)	
EDX	Energy dispersive x-ray spectroscopy (enerji
ayırımı x-ışınları spektroskopisi)	
TLC	Thin layer chromatography (ince tabaka
kromatografisi)	
TLRC	Thin layer radiochromatography (ince
tabaka radyokromatografisi)	
HPTLC	Yüksek performanslı ince tabaka
kromatografisi (high performance thin layer radiochromatography)	
PET	Positron emission tomography (pozitron
emisyon tomografisi)	
R_f	Alıkonma faktörü
DLU	Digital light unit (dijital ışık birimi)
P	Dağılım Katsayısı
µg	mikrogram
mg	miligram
g	gram
µL	mikrolitre
mL	mililitre
M	molar
t_{1/2}	yarı ömür
mCi	miliküri
γ	gama ışını
β⁻	beta ışını
EC	elektron yakalama
TcO₄⁻	perteknetat

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1 Manyetik ZnO nanopartiküllerin SEM görüntüsü	7
Şekil 2.2.Taramalı elektron mikroskopi (SEM) sistemi ve sistemin iç yapısı ...	8
Şekil 2.3. Poli(HEMA)'nın kimyasal yapısı	9
Şekil 2.4. İnce tabaka kromatografisinin uygulanışı	11
Şekil 2.5. Cyclone plus fosfor görüntüleme sistemi	13
Şekil 2.6. Cyclone plus fosfor görüntüleme sisteminin çalışma prensibinin şematik gösterimi	14
Şekil 2.7. ⁹⁹ Mo'un ^{99m} Tc'a bozunması	19
Şekil 2.8. ⁹⁹ Mo / ^{99m} Tc jeneratörü	21
Şekil 3.1. m-graft-Lys-poli(HEMA) Nanopolimerinin ^{99m} Tc ile İşaretlenmesindeki olası bağlanma yapısı	32
Şekil 3.2. TLC (örnek damlatma ve yürütür işlemleri) Perkin Elmer Cyclone Plus Storage Phosphor System cihazı.....	33
Şekil 4.1. [m-graft-Lys-poli(HEMA)] nanopolimerinin FT-IR spektrumu	36
Şekil 4.2. [m-graft-Lys-poli(HEMA)] nanopolimerinin SEM görüntüsü.....	37
Şekil 4.3. [m-graft-Lys-poli(HEMA)] nanopolimerinin zeta boyut analizi sonucu	38
Şekil 4.4. ^{99m} Tc ⁷⁺ 'nin TLRC-1 ve 2 Banyosu Kullanılarak Çalışma 1,3 ve 4 de Elde Edilen Radyokromatogramı	41
Şekil 4.5. ^{99m} Tc ⁴⁺ 'ün TLRC-1 ve 2 banyosu kullanılarak Çalışma 1,3 ve 4 de elde edilen radyokromatogramı	41
Şekil 4.6. ^{99m} Tc-[m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nın TLRC-1 ve 2 banyosu kullanılarak Çalışma 1 ve 3 te elde edilen radyokromatogramı.....	42
^{99m} Tc-[m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nın TLRC-1 ve 2 banyosu kullanılarak Çalışma 4'de elde edilen radyokromatogramı	42
Şekil 4.8. ^{99m} Tc-[m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nın TLRC-1 ve 2 banyosu kullanılarak Çalışma 5'de elde edilen radyokromatogramı	43
Şekil 4.9. ^{99m} Tc-[m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nın TLRC-1 ve 2 banyosu kullanılarak Çalışma 6'de elde edilen radyokromatogramı	43
Şekil 4.10. ^{99m} Tc-[m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nın TLRC-1 ve 2 banyosu kullanılarak Çalışma 7'de elde edilen radyokromatogramı	44
Şekil 4.11. ^{99m} Tc-[m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nın zaman içerisindeki stabilitesine ait sonuçlar	45
Şekil 4.12. ^{99m} Tc-[m-graft-Lys-poli(HEMA)] bileşiğinin Albino Wistar sıçanlardaki biyodağılımının standart sapma grafiği	47
Şekil 4.13. ^{99m} Tc-[m-graft-Lys-poli(HEMA)] bileşiğinin organlardaki hedef organ/kan oranları	47
Şekil 4.14. ^{99m} Tc-[m-graft-Lys-poli(HEMA)] bileşiğinin organlardaki hedef organ/kas oranları	48
Şekil 4.15. ^{99m} Tc-[m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nın 30.dakikada elde edilen statik görüntü.....	49
Şekil 4.16. ^{99m} Tc-[m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nın 60.dakikada elde edilen statik görüntü.....	49
Şekil 4.17. ^{99m} Tc-[m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nın 90.dakikada elde edilen statik görüntü.	50
Şekil 4.18. ^{99m} Tc-[m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nın 120.dakikada elde edilen statik görüntü.	50

Şekil 4.19. ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nın 150.dakikada elde edilen statik görüntü.....	51
Şekil 4.20. ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nın 180.dakikada elde edilen statik görüntü.....	51
Şekil 4.21. ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nın 30.dakikada elde edilen dinamik görüntü	52



TABLO DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Nükleer tıpta görüntüleme amaçlı kullanılan ^{99m}Tc -radyoışaretli bileşikleri.....	20
Çizelge 3.1. Optimum İşaretleme Koşulları	31
Çizelge 4.1. [m-graft-Lys-poli(HEMA)] nanopolimerinin zeta boyut analiz değerleri.....	38
Çizelge 4.2. Kalite kontrol çalışmalarında kullanılan TLRC banyoları.....	39
Çizelge 4.3. (^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)]) ve radyoaktif bileşenlerine ait R_f değerleri.....	40
Çizelge 4.4. Biyodağılım çalışmasında elde edilen % ID/g değerleri.....	46
Çizelge 4.5. Sintigrafi çalışması sonuçları (ROI değerleri)	48



TEŞEKKÜR

Çalıőmamın her aşamasında bana destek olan, bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Uğur AVCIBAŞI'ya, yoğun çalışma temposu içerisinde deneyimi ve bilgisiyle yol gösterip ilgiyle sevgiyle yaklaőan güler yüzlü hocam Prof. Dr. F. Gl GÜMÜŞER ve ekibine, bilgi ve tecrübesi ile lisansüstü öğrenim hayatımın tüm zorlu aőamalarında maddi manevi her yönden yardımcı olan, tecrübeleri ile beni aydınlatan ve desteklerini hiç eksik etmeyen, kendilerini tanımaktan büyük onur duyduğum sevgili hocalarım Sayın Prof. Dr. Perihan ÜNAK ve Prof. Dr. Zümrüt BİBER MÜFTÜLER'e, çalıőmalarım sırasında desteğini her zaman hissettiğim Sayın Doktora Öğr. Volkan TEKİN'e, bana çalışma imkanı sunan, laboratuvarlarını aan Ege Üniversitesi Nükleer Bilimler Enstitüsü çalıőanlarına ve öğrenim hayatım boyunca beni maddi ve manevi olarak destekleyen ve hep yanımda olan aileme yrektekenden teşekkür ederim.

Buket ATEŞ
Manisa, 2018

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Kanser Tedavisinde Ve Moleküler Görüntülemeye Kullanılması İçin Sentezlenen Radyoaktif İşaretli Yeni Bir Aşı Polimerininin Albino Wistar Sıçanlar Üzerinde Radyofarmasötik Potansiyelinin İncelenmesi Buket ATEŞ

**Manisa Celal Bayar Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı**

Danışman: Prof. Dr. Uğur AVCIBAŞI

Çeşitli hastalıkların moleküler olarak anlaşılması ve nanometrik skalada materyallerin işletilmesi konusundaki şu anki gelişmelere dayanarak, nanoteknoloji kanser tedavisinde olağanüstü bir umut vaat etmektedir. Bu nedenle nanoteknolojiye duyulan ilgi, kanser konusundaki önemli çalışmaların geliştirilmesine bağlı olarak artış göstermiştir. Nanoteknoloji, kanserin tedavisi konusunda tedavi etkinliğini arttırması, belirli bölgelere spesifik olması ve çoklu ilaç direncini sınırlandırabilecek anti-kanser ajanlarının etkili bir biçimde taşınmalarını sağlayabildiğinden dolayı oldukça önem arz etmektedir.

Aşılınmış polimerler eşsiz fizikokimyasal avantajları ve günümüzde artan talepleri nedeniyle biyomedikal alanda çok yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Biyomedikal ve farmasötik uygulamalar için aşılınmış polimerler tasarlanırken, bu polimerlerin istenilen ayarlanabilir fizikokimyasal ve biobenzer özellikte olması esastır. Örneğin, ilaç taşıma uygulamaları için en önemli tasarım kriteri minimum toksisite ile kapsüllenmiş ilacın maksimum terapötik etkiyi elde etmesidir.

Tümörlerin teşhis ve tedavisi için radyofarmasötiğin hücre içinde tutulumu oldukça önemlidir. Bunun yapılabilmesi için uygun radyoaktif izleyici hücre içine alınmak zorundadır. Lizin aşılınmış poli(HEMA)'nın radyoaktif iyot (^{99m}Tc) ile işaretlenmesi halinde ^{99m}Tc 'in hücreye taşınımı mümkün olabilir. Böylece işaretli nanopolimerin Nükleer Tıp'ta görüntülemeye kullanılabilen yeni bir radyofarmasötik olabilme imkanı söz konusu olabilecektir.

Bu çalışmada nanopolimerin medikal uygulamada etkinliğini ve seçiciliğini arttırmak için aynı zamanda nanopolimere manyetik özellik kazandırılacaktır. Bunun için ilk olarak 2-hidroksietil metakrilat (HEMA) emülsiyon polimerizasyonu tekniği ile Fe_3O_4 parçacıkları varlığında polimerleştirilmiş ve böylece yeni nesil manyetik özellikte poli(HEMA) nanopolimerleri [m-poli(HEMA)] elde edilmiştir. Daha sonra L-Lizin aminoasiti poli(HEMA) yapısına aşılınmıştır. Sentezlenen yeni nesil m-graft-Lys-poli(HEMA) nanopolimerlerin karakterizasyonu çalışmalarında FTIR, Zeta Boyut ve SEM yöntemleri kullanılmıştır. Sentezlenip karakterize edilen yeni nesil m-graft-Lys-poli(HEMA) nanopolimerlerin radyoaktif ^{99m}Tc ile işaretleme çalışmalarının optimizasyonu ince tabaka radyokromatografi (TLRC) tekniği ile gerçekleştirmiştir. İlgili tezin son aşamasında ise radyoaktif işaretli yeni nesil nanopolimerlerin *in vivo* etkinlikleri deney hayvanları üzerinde incelenmiştir. Çalışmanın *in vivo* aşamasında görüntüleme çalışmaları (sintigrafi) ve biyodağılım

çalışmaları Albino Wistar sıçanlar üzerinde yapılmıştır. Sintigrafi ve biyodağılım çalışmaları ile m-graft-Lys-poli(HEMA)'nin vücut içerisinde spesifik olduğu organ/organlar tespit edilmiştir. Böylece, radyoişaretli nanopolimerlerin farmakokinetik parametreleri deney hayvanları üzerinde tespit edilmiştir. Bunun sonucunda ilk defa bu çalışmada sentezlenen ve *in vivo* çalışmaları gerçekleştirilen radyoaktif ^{99m}Tc ile işaretli m-graft-Lys-poli(HEMA) nanopolimerlerin Nükleer Tıp ve aynı zamanda polimer kimyası literatürüne yeni bir görüntüleme ve tedavi ajanı olarak kazandırılması konusunda prelininer çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Böylece, radyoaktif işaretli nanopartiküller tarafından tutulan organlar ve bu organlarda radyoaktif işaretli nanopartiküllerin tutulma süresi belirlenecektir ve bunun bir sonucu olarak gelecekte gerçekleştirilmesi planlanan hücre çalışmaları için önemli sonuçlar elde edilecektir.

Anahtar Kelimeler: HEMA, L-Lizin, Aşı Polimer, Nanopolimer, Kanser, Radyoaktif İyot, Tc-99m



ABSTRACT

M.Sc. Thesis

Investigation of Radiopharmaceutical Potential of A New Radiolabeled Graft Polymer For Using In The Therapy And In The Molecular Imaging on Albino Wistar Rats

Buket ATEŞ

**Manisa Celal Bayar University
Graduate School of Applied and Natural Sciences
Department of Chemistry**

Supervisor: Prof. Dr. Uğur AVCIBAŞI

With current parallel breakthroughs in molecular understanding of various diseases and controlled manipulation of materials at the nanometric scale, nanotechnology offers marvelous promise in therapy, prevention and diagnosis of various complex diseases including cancer. Thus, a budding interest in nanotechnology has been generated remarkable number of advancements in recent years with a main focus on current cancer therapy.

Grafted polymers in the biomedical field due to its unique physicochemical advantages and increasing demands are today very widely for used. In designing grafted and crosslinked polymers for biomedical and pharmaceutical applications, it is essential to design these polymers with desired tunable physicochemical and biomimicking properties. For example, for drug delivery application, the important design criterion is to achieve maximum therapeutic efficiency of encapsulated drugs with minimum toxicity.

Uptake of radiopharmaceutical in the cell for diagnosis and treatment of tumours is highly important. In order to do it, an appropriate radioactive tracer is required to enter the cell. In the case of radioiodination of poly(HEMA) grafted with L-Lysine, it can be possible for radioiodine to deliver the cell in this condition. Thus, depends on radioactive iodine which is used, it's going to be possible for poly(HEMA) grafted with L-Lysine which is radiolabeled with radioactive iodine to be used in imaging and therapeutics in Nuclear Medicine as a novel radiopharmaceutical. In order to increase the efficiency and selectivity of this nanopolymer in medical applications, it will be given the magnetic property to nanopolymer.

In this study, firstly, 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) will be polymerized in the presence of Fe₃O₄ particles and then new generation nanoparticles are going to be obtained. After that, L-Lysine aminoacid will be grafted to polymer. In characterization studies of new generation magnetic m-graft-Lys-poli(HEMA) nanoparticles which is synthesized, FTIR, Zeta dimension, Zeta potential and SEM methods are planned to be used. Optimization of radiolabeling with radioiodine of new generation magnetic grafted polymer is going to be carried out by TLRC and HPLC methods. At the last stage of the project which is presented, as application platform, it's planned to investigate the *in vivo* efficacy of new generation nanoparticles by using

experiment animals. In *in-vivo* stage of the project, scintigraphy and biodistribution studies are going to be carried out on Albino Wistar rats. It's going to be determined the organs in which m-graft-Lys-poli(HEMA) is specific with scintigraphy and biodistribution studies. Thus, it's going to be determined the organs which are retained by radiolabeled nanoparticles and the retention time of radiolabeled nanoparticles in these organs, and as a result of this it's going to be obtained important results for cell studies which is planned to be carried out in the future.

Keywords: HEMA, L-Lysine, Grafted Polymer, Nanoparticle, Cancer, Radioiodne, Tc-99m



1. GİRİŞ

Kanser, gelişen endüstri dünyasında olduğu gibi aynı zamanda gelişen dünyada da bir artış içerisinde. En güncel dünya kanser istatistikleri, 2020 yılında yeni kanser vakaları sayısının 15 milyondan daha fazla miktarda bir artış göstereceğini ifade etmektedir [1]. Kanser araştırmalarında ve kanser hastalarının tedavi edilmesinde görev alan birçok kişiyi çok zorlu bir mücadele süreci beklemektedir. Tümör biyolojisi ve moleküler genetik alanlarında, medikal araştırmaların büyük bir gelişim gösterdiği vurgulanmalıdır. Gelecekte kanser tedavisinde kullanılmak üzere daha yeni ve etkili ilaç tedavilerinin kullanılmasına imkân tanımaktadır. Bu işleme paralel olarak moleküler skalada, diğer gelişmeler ile birlikte medikal görüntüleme konusunda dikkate değer gelişmeler meydana gelmiştir. Kanser görüntülenmesi, tedavi veriminin ölçüsüne büyük anlamda katkı sağlamaktadır. Gerek ilaç tasarımı gerekse kanserin görüntülenmesinin, tıpta temel bir buluş olarak kabul edilen nanoteknolojinin tanımlanması ile bir gelişim gösterecektir.

Nanoteknolojinin biyoteknoloji ve tıp ile birleştirilmesi, biyosistemlerin yapı ve fonksiyonlarının ortaya çıkarılması anlamını taşımaktadır, bu da aslen nanoskalada örgütsel bir seviyeye sahiptir. Diğer bir deyişle, nanoteknoloji biyo-sistemlerin ölçülmesi ve anlaşılması için gerekli araçların teminini sağlamaktadır [2]. Daha belirli bir biçimde, nanoteknoloji nanotıp'a dönüştürülmüştür ve dolayısıyla bu olay moleküler ölçekte tedavi ve hastalığın iyileştirilmesi ile ilgilidir. Gerçek anlamda, nanopolimerlerin iyileştirici ve teşhis edici ajanların taşınması ve hedeflenmesinde kullanımı, kanser tedavisinde en ön planda yer almaktadır. İlaçların, ajanların salındığı spesifik bölgelere hedeflenmeleri ve o bölgelerde birikimi, daha düşük sistemik yan etki gösterecek biçimde daha yüksek ilaç derişimlerine ulaşılacağı anlamını taşımaktadır. Aynı şekilde nanopartiküllerin manyetik rezonans görüntüleme için süpermanyetik özelliklerinin kullanımı oldukça önemli bir yaklaşımdır. Bu gelişmeler onkolojideki teşhis edici ve iyileştirici uygulamalar için umut vaat edici olaylardır.

Özellikle son beş yılda ilaç taşıma sistemi olarak ve görüntüleme için nanoteknolojinin kullanım alanındaki araştırmalar artan bir ivme ile yapılagelmektedir. Bu anlamda geliştirilen nanopolimerlerin bir kısım özellikleri ve kullanıldıkları bazı medikal alanlar aşağıda sıralanmıştır;

- Nanoteknoloji, atom gruplarının kümelenmelerini sağlayarak en küçük fonksiyonel ünitelerin üretiminde rol alır.
- Nanopartiküller, 100 nm'den daha küçüktürler ve virüsler, DNA ve proteinler ile benzer boyuttadırlar.

Biyoteknoloji, nanoteknoloji ve bilgi teknolojisi konularında gelişim gösteren nanopartiküller, moleküler, biyokimyasal ve biyolojik proseslerde yapabilmektedirler.

- Nanopartiküllerin yüzeyi bağışıklık sistemi tarafından tanınmasının önlenmesi amacıyla çeşitli moleküller ile donatılabilir. Ve bu olay nanopartiküllerin hedeflerine daha etkili bir biçimde ulaşmalarını sağlamaktadır.
- Nanopartiküller, kan beyin bariyeri ve derinin dar birleşme noktaları gibi psikolojik engellerin üstesinden gelmek amacıyla tasarlanmıştır.
- Nanopartiküller ilaçların taşınımını sağlarlar ve ilaç içeriğinin hastalıklı bölgeye aktarılması için tasarlanmışlardır.
- Nanopartiküller, dekstran gibi polimerik bir madde ile kaplanmış süperparamanyetik materyallerden oluşan inorganik bir merkez içerirler.
- Daha özgün doku hedeflemesi, nanopolimerün bir ligand (monoklonal antikor) ile konjugasyonundan elde edilebilir.

Aşılansız polimerler eşsiz fizikokimyasal avantajları ve günümüzde artan talepleri nedeniyle biyomedikal bölümde çok yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Aşı kopolimerizasyon işlemi polimerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin değişimi için çok etkili bir yöntemdir. Aşı kopolimerler, biyolojik uyumluluk, iyon değişimi ve ısıya karşı duyarlılık özelliklerinin istenildiği gibi ayarlanmasından dolayı tercih edilmekte ve çeşitli endüstriyel ve biyomedikal bölümlerde kullanılmaktadır. Yeni nesil manyetik nanopolimer olarak radyoaktif ^{99m}Tc ile işaretli lizin (Lys) aşılansız manyetik poli(HEMA) nanopolimerinin [^{99m}Tc -m-graft-Lys-poli(HEMA)] sentezlenmesi ve bu yapının deney hayvanları üzerindeki *in vivo* etkinliğinin incelenmesine yönelik bir çalışma planlanmıştır. Bu çalışmanın yapılması bazı kanser türlerinin teşhisinde

ve/veya tedavisinde kullanılabilecek olan yepyeni bir radyofarmasötiği tıp dünyasına kazandıracağından son derece önemlidir.

Gerçekleştirilen tezin temel amacı sahip oldukları fiziksel ve kimyasal üstünlüklerinden dolayı biyomedikal uygulamalarda son yıllarda daha sık kullanılmaya başlayan aşı kopolimerlerden biri olan ve ilk defa bu tezde sentezlenen m-graft-Lys-poli(HEMA) nanopolimeri kullanılarak ^{99m}Tc ile işaretli lizin aşılınmış poli(HEMA) nanopolimerinin [^{99m}Tc -m-graft-Lys-poli(HEMA)] deney hayvanları üzerindeki *in vivo* biyodağılımını incelemektir. Bunun için ilk olarak poli(HEMA) nanopolimeri süfaktant içermeyen emülsiyon polimerizasyonu yöntemi ile sentezlenmiş, daha sonra L-Lizin aminoasidi bu polimere aşılınmıştır. Bir sonraki aşamada lizin aşılınmış poli(HEMA) [m-graft-Lys-poli(HEMA)] nanopolimeri radyoaktif ^{99m}Tc ile SnCl_2 indirgeme yöntemi ile yüksek bir bağlanma verimiyle işaretlenmiştir. Tezin ikinci önemli amacı sentezlenen nanopolimerin tıp alanında kullanılabilmesi için canlı sistemdeki biyodağılımının tespit edilmesidir. Bunu gerçekleştirmek için ise deney hayvanları üzerinde (Albino Wistar sıçanlar) sintigrafi ve biyodağılım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Böylece, radyoşaretli m-graft-Lys-poli(HEMA) nanopolimerin [^{99m}Tc -m-graft-Lys-poli(HEMA)] birikim yaptığı organ/organlar ile bu organ/organlardaki tutulum süreleri ve miktarları belirlenmiştir. Bu bilgilerin bilinmesi ilgili nanopolimerin hangi organ/organlardaki kanserlerin teşhisinde ve/veya tedavisinde kullanılabileceğinin öğrenilmesi açısından oldukça önemlidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nanoteknolojinin Kanser Tedavisinde Kullanılması

2.1.1. Nanoteknolojinin Geçmişi ve Ortaya Çıkışı

Nanoteknoloji bilimi ilk defa 1959 yılında, Richard P. Feynman (1965 yılında Fizik alanında Nobel ödülü kazanmıştır) tarafından ortaya atılmıştır[3]. Nano kelimesi Yunanca'da "cüce" anlamına gelmektedir. Nanopartiküller 1 nm ile 100 nm aralığındaki boyutlara sahiptir. Bir nanometre (nm), ölçü olarak bir metrenin milyonda biridir ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$).

Nanoteknolojinin en uygun tanımlamalarından biri Bawa tarafından yapılmıştır[4]. Bu tanımlama şu şekildedir; nanometrik ölçekte yapısal olarak kontrollü bir işleme yöntemi ile elde edilen, en azından bir tür yeni nesil karakteristik özelliklere sahip yapılar ve aygıtların üretimini sağlayan sistemlerdir.

Sürekli olarak gelişim ve ilerleme içerisinde olan bu yeni nesil teknoloji platformu, tıpta hastaların tedavi edilmeleri, hastalık patojenezinden sorumlu moleküler değişikliklerin teşhisi, çeşitli hastalıkların görüntülenmesi ve teşhis edilmesi, ilaçların vücut içerisindeki taşınımaları, birleştirilmiş terapötik ve teşhissel uygulamalar için kullanılan multi-fonksiyonel sistemler, terapötik bir ajanın in vivo etkinliğinin belirlenmesi için kullanılan araçlar ve bilimsel buluşlar ile basit araştırmaları hızlandıracak nano-boyutlardaki teknolojiler gibi önemli alanlarda olumlu gelişmelerin meydana gelmesini sağlamıştır.

Nanopartiküller, çok küçük boyutlara sahip olmalarından dolayı en dar ve en küçük kılcal damar kanallarına giriş yapabilirler. Bu yolla, nanopartiküller fagozitler tarafından oluşturulan hızlı atılımı önlerler ve nanopartiküllerin kan akışı içerisinde kalma süreleri yüksek ölçüde arttırılmış olur. Bu moleküller hedef organlara ulaşabilmek için hücre ve doku boşlukları içerisinden geçebilirler ve biyoyumluluklarına, pH'a, materyallerin iyon ve sıcaklık hassasiyetlerine bağlı olarak kontrollü salınım özellikleri gösterebilirler [5].

Günümüzde, nanopartiküller antibiyotiklerin, anti-kanser ajanlarının, radyolojik ajanların, aşı maddelerinin, proteinlerin, polipeptitlerin, antikorların ve genlerin taşınımında yaygın şekilde kullanılmaktadır. Nanopartiküllere dayanan ilaç-taşınım ve görüntüleme sistemleri, senelerden beri biyoloji, tıp, patoloji ve farmasi alanlarında en yüksek potansiyel ile kullanılmaya devam etmektedir.

2.1.2. Nanoteknolojinin Kanser Tedavisindeki Rolü ve Önemi

Nanoteknoloji, çeşitli hastalıkların moleküler düzeyde anlaşılması konusundaki güncel buluşlar ve nanometrik skalada kullanılan materyallerin kontrollü biçimde işlenmeleri yoluyla, kanseri de içeren farklı çeşitlilikteki kompleks hastalıkların tedavi edilmesi, önlenmesi ve teşhis edilmesinde son derece umut vaat eden bir araçtır [6]. Bu sebepten dolayı son yıllarda nanoteknolojiye duyulan ilgi kanser tedavisi üzerine odaklanmış ve bu ilgi kanserin tedavi edilmesi konusunda birçok yeni gelişmenin oluşmasını sağlamıştır. İki temel disiplinin birleşimi sonucunda meydana gelen ve yeni bir alan olan “nano-onkoloji” birçok kanser türünün teşhis ve tedavisinde kanser araştırmacılarına yeni ve yaratıcı olanaklar sunmaktadır [7]. Bundan dolayı nanoteknoloji; bölgeye spesifik olması, çoklu-ilaç resistansını kısıtlaması ve anti-kanser ajanlarının etkili bir biçimde taşınımını sağlamasından dolayı, bir çok kanser türünün tedavisinde terapötik etkinliğin ve güvenlik profillerinin geliştirilmesinde son derece önemli bir uygulama alanı haline gelmiştir [8].

Kanserin teşhisi ve tedavisi için çok çeşitli nanopartiküler sistemler mevcuttur. Bunlar; lipozomlar, polimerik miseller, nanosistemler, nanoküreler, fulleren-tabanlı türevler, karbon nanotüpler, dendrimerler, kuantum dotlar, altın nanopartiküller, katıyağ nanopartiküller, nanokablolar, paramanyetik nanopartiküllerdir [8, 9].

Nanopartiküllerin kanser tedavisinde tercih edilmelerinde iki önemli husus rol oynamaktadır. Bunlardan ilki, nanopartiküllerin ilaç taşıyıcılar olarak görev almaları [10], ikincisi ise bu moleküllerin farklı dalga boylarındaki ışığı absorbe edebilmelerinden dolayı, uygun dalga boylarındaki ışığa maruz bırakıldıklarında vücut sıcaklığında bir artışa sebep olmadan ısınma gösterebilmeleridir. Nanopartiküller bu yolla kanserli hücreleri seçici bir biçimde yok edebilirler [11].

2.1.3. Nanoteknolojinin Geleneksel Tedavilere Göre Üstünlükleri

Kanser tedavilerinde yakın zamanda çok önemli gelişmeler yaşanmış olmasına karşın, bu alanda çalışan araştırmacıları hala çok zorlu mücadeleler beklemektedir. Maalesef, yaygın olarak kullanılan kanser kemoterapisi, hastayı diğer hastalıklara daha hassas hale getirerek hastanın bağışıklık sistemini zayıflattığı ve çoğu zaman hastanın ölümüne neden olduğu için artık günümüzde istenmeyen bir tedavi haline gelmiştir. Kanser kemoterapisindeki en temel mücadele, anti-kanser ajanlarına karşın oluşan çoklu ilaç resistansı ve sağlıklı olarak çoğalan hücreler üzerindeki toksisite etkileri ile bağlantılıdır. Anti-kanser ajanlarının spesifik olmayan organlara dağılımının neden olduğu ölümcül yan etkiler sistemik yüksek doz stratejilerini sınırlandırmıştır [12].

Başlangıçta, büyük ölçüde direnç gösteren hücreler haricindeki kanser hücreleri kemoterapi tedavisine karşı hassastır, ancak daha sonra bu hücreler birbirini tekrar eden kemoterapi döngüleri sonucunda yaygın olarak geliştirilmiş direnç gösterirler [13]. Bir anti-kanser ajanı tarafından başlatılan direnç, farklı kimyasal yapılar içeren ve farklı hücreleri hedefleyen geniş skaladaki ilaçlara karşı çakışan bir direnç oluşturur [13, 14].

Bu direnç gelişim gösterdikçe, anti-kanser ajanlarının vücuda yüksek dozlarda, sistemik bir şekilde verilmesi, tedavi sürecinde etkisiz bir hal alır ve oluşan direnç daha ileri düzeyde uyarılma gösterir. İşte bunlardan dolayı kansere karşı yapılan mücadelelerde çok büyük bir kriz oluşumu söz konusudur. Kanser tedavisinde tedavi etkinliği esas olarak, sağlıklı dokulara zarar verilmeden tümörlerin yok edilmeleri ve gelişimlerinin durdurulmasına sistemine dayanmaktadır. Bu yüzden, sağlıklı dokulara daha az etki göstererek tümörleri yüksek bir performans ile hedeflemek kanser tedavisi için etkili, en önemli amaçtır ve tedavideki en önemli hedef yaşam süresini maksimuma çıkararak, hastanın yaşam kalitesini arttırmaktır. İşte tüm bu faktörler, birçok kanser türünün tedavisi için çok etkili ve güvenli yeni nesil bir tedaviye olan ihtiyacı açık ve net bir şekilde vurgulamaktadır.

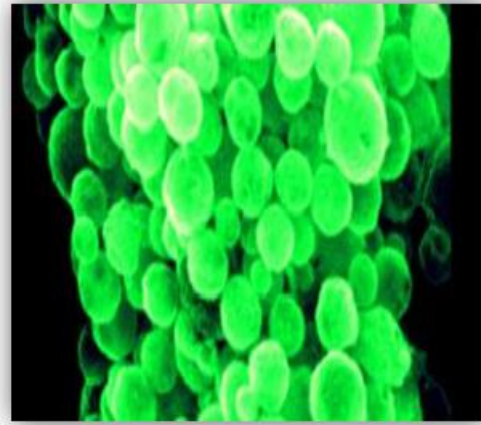
Yıllardan beri ihtiyaç duyulan bu tedavileri bünyesinde barındıran alan, kanserin nanoteknoloji ile tedavi edilmesi prensibinden meydana gelen nanotıptır. Tüm bu

nedenlerden dolayı kanserin teşhis ve tedavisinde nanoteknolojinin kullanılması çok büyük avantajlar teşkil etmektedir ve nanoteknoloji ile gerçekleştirilen tedavilerin kemoterapi gibi konvansiyonel tedavilere göre çok büyük üstünlükleri vardır [15-19].

2.1.3.1. Manyetik Nanopartiküller

Manyetik nanopartiküller, kanserli hücreleri hedefleme özelliğine sahiptir ve kanser tedavilerinden en çok kullanılan sistemlerden birisidir (Şekil 2.1).

Manyetik nanopartiküllerin manyetik etkisi Fe_2O_3 ve Fe_3O_4 gibi süper paramanyetik demir oksitlerden kaynaklanmaktadır. Bu bileşikler manyetik alandan uzaklaştırıldıkları zaman manyetik özelliklerini koruyamazlar. Manyetik nanopartiküllerin paramanyetik özellikleri in vivo koşullarda, tümörleri hipotermi yolu ile yok etmelerine olanak tanır. Manyetik nanopartiküllerin yüzeylerindeki polimer kaplı tabaka bu moleküllerin sitotoksisiteye sahip olmalarını önler ve herhangi bir adezyon reaksiyonu gerçekleşmeden organizma içerisinde rahat bir şekilde hareket etmelerini sağlar [20].



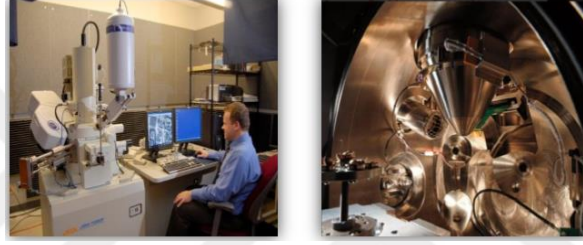
Şekil 2.1. Manyetik ZnO nanopartiküllerin SEM görüntüsü [21]

2.2. Nanopolimerlerin Karakterizasyonunda Kullanılan Metodlar

2.2.1. Taramalı Elektron Mikroskopisi (Scanning Electron Microscopy-SEM)

Taramalı elektron mikroskopu (SEM), numune yüzeyini yüksek enerjili elektronlar ile tarayarak numunenin görüntülenmesini sağlayan bir elektron mikroskopudur (Şekil 2.2).

SEM, ışık dalgaları yerine elektronları kullanarak büyütülmüş görüntüler meydana getirirken, konvansiyonel ışık mikroskopları büyütülmüş görüntüleri oluşturmak için cam lensler kullanır [22].



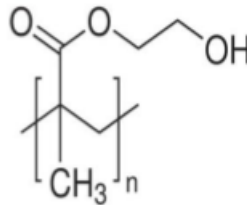
Şekil 2.2. Taramalı elektron mikroskopu (SEM) sistemi ve sistemin iç yapısı [23]

SEM'in çalışma prensibi özetlenecek olursa; sistem içerisinde elektron akımı numune yüzeyine çarptığında ve numune atomları ile etkileşime girdiğinde, numunenin yüzey topografyası ve içeriğine ilişkin bilgileri yapılarında barındıran, ikincil elektronlardan gelen sinyaller, geri saçılan elektronlar ve karakteristik x-ışınları meydana gelir. SEM, numune yüzeyinin çok yüksek çözünürlükteki görüntülerinin elde edilebilmesine imkan tanır ve primer algılama modunda, başka bir ifade ile ikincil elektron görüntüleme modunda, numunenin 1-5 nm aralığında değişen görüntüleri bu metod kullanılarak kolaylıkla elde edilebilir [24]. Karakteristik x-ışınları, SEM için en yaygın olarak kullanılan ikinci görüntüleme modudur. Bu karakteristik x-ışınları, enerji ayırmalı x-ışınları (EDX) olarak bilinen bir metod kullanılarak numunenin elementel bileşiminin ortaya çıkarılmasını sağlar. Numuneden gelen geri saçılmış elektronlar da numunenin görüntüsünün oluşturulmasında kullanılabilir. Geri saçılmış elektronlar tarafından sağlanan görüntüler genellikle numunenin elementel bileşimi hakkında ipuçları veren, karakteristik x-ışınları kullanılarak oluşturulan spektrum ile birlikte analitik SEM uygulamalarında kullanılır. Tipik bir SEM sisteminde akım

elektron kolonu içerisinde tarayıcı bobinlerden veya yansıtıcı tabakalardan geçerek, akımı dikey veya yatay olarak yansıtan ve böylelikle sistemin numune yüzeyini dikdörtgenel bir alan içerisinde taramasını sağlayan final lensine doğru hareket eder. Elektronik cihazlar sinyalleri algılamak, çoğaltmak ve bu sinyalleri katod ışın tübü üzerinde bir görüntüye dönüştürmek için kullanılırlar. Bu nedenle yayınlanan görüntü numunenin taranan bölgesinden yayımlanan sinyal şiddetlerinin bir dağılım haritası şeklinde algılanır.

2.3. Poli(2-Hidroksietil Metakrilat) [Poli(HEMA)]

Poli(HEMA) bir hidrojel polimeridir (Şekil 2.4). Hidrojel polimerleri, perfüzyon sistemlerinin kullanımından kaynaklanan masraflar ve komplikasyonlar olmaksızın bu sistemler ile benzer sonuçları elde edebilen, umut vaad eden alternatifler sunmaktadır. Hidrojeller, suda şişen çapraz bağlı polimerik yapılardır. Perfüzyonun aksine hidrojeller suda çözünebilir ajanları absorbe ederek, hedef dokuda pasif difüzyon olayının gerçekleşebilmesi için bir iç ilaç rezervi olarak hareket ederler. Poli(HEMA), suyun %40 oranında olduğu bir ortamda tamamen şişirildiğinde, canlı dokuya benzer su içeriğine ve yoğunluğa sahip olma özelliğinden ötürü ilacın taşınımı için son derece umut verici bir moleküldür [26].



Şekil 2.3. Poli(HEMA)'nın kimyasal yapısı [27]

Poli(HEMA), biyolojik olarak inerttir, optikçe belirgin, non-iyonik, bozunmaya karşı dirençli, metabolitlere karşı geçirgen, absorblanmayan, otoklav sterilizasyona dayanabilen ve laboratuarda farklı uygulama şekilleri için biçimlendirilebilen bir maddedir. Bu materyal aynı zamanda maliyet açısından ucuzdur ve bu materyalin herhangi bir laboratuvarında üretimi kolaydır. Poli(HEMA), steril bir maddedir ve bu özelliği onu, daha pahalı ve külfetli diğer perfüzyon sistemlerine göre daha avantajlı kılar.

2.4. Kalite-Kontrol Çalışmalarında Kullanılan Metodlar

2.4.1. İnce Tabaka Radyokromatografisi

İnce tabaka radyokromatografisi, kimyasal, biyokimyasal, farmasötik ve tıbbi numunelerde işaretli bileşiklerin ayırımı, kalitatif ve kantitatif analizinin yapılabilmesi için ince tabaka kromatografisi (TLC) ve yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi (HPTLC)'nin kullanılması prensibine dayanmaktadır.

TLRC için klasik algılama yöntemleri otoradyografi ve sıvı sintilasyon sayım metodudur (aynı zamanda bölgesel analiz olarak da nitelendirilir).

Oto-radyografide, ayrılmış radyoaktif bölgeleri (nokta veya bantları) içeren tabaka direkt olarak kromatogram görüntülerini gösteren bir fotografik film (x-ışınları filmi) içerisine konular. Kromatogramların kalitatif olarak değerlendirilmeleri farklı optik yoğunluklara sahip, kararmış bölgeler biçiminde görülen radyoaktivite bölgelerini tespit etmek amacıyla, filmin görsel olarak incelenmesiyle gerçekleştirilir. Optik yoğunluk, bölgedeki radyoaktivitenin miktarı ile ilişkilidir, bu yüzden sayım, radyoaktif standartlara maruz bırakılarak oluşturulmuş bir kalibrasyon eğrisi kullanılarak, dansitometre kullanılarak yapılır [28].

2.4.2. İnce Tabaka Kromatografisinin Temel Prensipleri

İnce tabaka kromatografisinin temel amacı karışımları oluşturan bileşenleri ayırmaktır. Ayırımın yapıldığı ortamın analizinde uygulandığından, numune kimyasal bileşiklerin bir karışımı durumundadır. Ayrılma bölgelerinin yeri ve sayısından yola çıkılarak, numunenin kromatogramı karakterize edilebilmektedir.

Numune kromatogramlarının bilinen referans materyallerin kromatogramları ile karşılaştırılması ile numunenin karakterize edilmesi sağlanır. Kromatogramdaki bileşenlerin ilerleme mesafeleri R_f değeri (alınma faktörü) denilen basit bir parametre ile belirlenebilmektedir. Bu değer bileşenin ilerlediği yolun hareketli fazın ilerlediği yola oranı ile bulunur [29]. R_f değerinin matematiksel olarak ifadesi aşağıdaki eşitlikte verilmiştir.

$$R_f = \frac{\text{Radyokimyasal Bileşenin İlerlediği Uzaklık}}{\text{Çözgenin İlerlediği Uzaklık}}$$

İnce tabaka kromatografisi kullanılarak yapılan kimyasal ayırımlar, sabit ve hareketli fazlardaki moleküllerin etkileşimlerinden kaynaklanır. Yürüyen çözen sistemi veya hareketli faz, ayrılmak istenen numunenin bileşenlerinin içinde bulunduğu taşıyıcı ortamdır. Bu ortamda numuneyi oluşturan bileşenler kapiler kuvvetler yardımı ile sabit fazla doğru ilerlerler. Çözen sistemi tabakadan yukarıya doğru ilerledikçe, bileşenler iki zıt kuvvet ile karşılaşır. Bu kuvvetler; hareketli fazın sürüklenme kuvveti ve sorbentin (emici maddenin) direnç ve erteleme kuvvetidir.

Sürüklenme kuvveti, bileşenleri hareketli faz yönünde ilerletme eğilimi gösterir ve direnç kuvvetleri, bu bileşenleri hareketli faz akımı dışarısına iterek durdurma eğilimi gösterir. Bunun yanında direnç kuvvetleri, adsorbsiyon yolu ile bileşenleri sabit faz üzerinde tutmaya çalışır.

Bu nedenle her bir molekül sorbent yüzeyi üzerinde “dur ve hareket et” gibi farklı yollar izler. Yürüme olayının sonunda her bileşenin oluşturduğu spot noktası belirli bir mesafeye kadar ilerlemiştir. Sorbent tabakasına daha güçlü bir biçimde bağlanmış olan bileşenler daha kısa bir mesafede ilerleme kaydederler, bunun yanında hareketli faz içerisinde çözünebilen bileşenler uygulama noktasından çok daha uzak bölgelere kadar ilerleyebilirler. Spot noktaları belirli moleküllerin hareketlerindeki dalgalanmalara bağlı olarak daha büyük bir hale gelebilirler [30]. İnce tabaka kromatografisinin uygulaması Şeki 2.5’de gösterilmiştir.



Şekil 2.4. İnce tabaka kromatografisinin uygulaması.

2.4.3. Fosfor Görüntüleme Teknolojisi

Fosfor görüntüleme teknolojisi yaygın olarak filmsiz oto-radyografi olarak ifade edilir. Fosfor tabakalar; ^{14}C , ^3H , ^{35}S , ^{125}I , ^{32}P , ^{33}P , ^{18}F ve $^{99\text{m}}\text{Tc}$ gibi iyonize radyasyon kaynaklarına karşı hassastır. Bu tabakalar, radyoaktif TLRC bölgelerine maruz bırakıldıklarında yapılarında lüminesansın meydana geldiği ve depolandığı bir destek plaka üzerinde toplanan ışığa karşı hassas küçük kristaller barındırırlar.

Lüminesans, okuyucu cihaz içerisinde bir lazer yardımı ile ölçülür ve sayım, fosfor tabaka türü ile uygulama süresinin meydana getirdiği etkileri saf dışı edebilmek için bir kalibrasyon eğrisi yardımı ile alınır. Tabakalar UV ışığına maruz bırakıldıktan sonra yeniden kullanılabilirler. Fosfor tabakanın formülasyonu, algılama işleminin kimyası, tarama mekanizması ve görüntülerin değerlendirilmeleri için kullanılan yazılım her marka için farklılık gösterebilir [28].

2.4.4. Cyclone Plus Fosfor Görüntüleme Sistemi Hakkında Genel Bilgiler

Cyclone plus kantitatif radyometrik fosfor görüntüleme sistemi, fosfor depolama ve okuma işlemlerinin tek bir proseste meydana geldiği bir sistematiğe dayalı olarak çalışır. Bu sistemde, aynı odaklı bir optik sistem ve spiral tarama mekanizması 360 rpm'de dönüş yapan silindirik bir karusel içerisine yüklenmiş elastik bir fosfor ekran ile birlikte kullanılır. Bu işlem, cihazın çok daha kullanışlı ve BAS-5000 sistemine göre daha az maliyetli olmasını sağlar. Cyclone plus'da kullanılan fosfor ekran, tarama esnasında yatay bir düzlem içerisinde tutulur. Bu ekran, 50 μm 'den daha kısa bir mesafeden ekrana odaklanmış olan lazer ile taranır ve henüz oluşmamış olan, kantitatif veriler ile beraber cihazın optik okuyucuları tarafından tabakanın dijital hale getirilmiş yüksek çözünürlükte görüntüsünün oluşturulması amacı ile bir görüntü dosyası olarak tespit edilir ve kaydedilir. Oluşturulan görüntü analiz için bilgisayar ekranında OptiQuant programı yardımı ile görüntülenir, yazıcıdan çıktı alınabilir ve ilerideki çalışmalarda kullanılmak üzere saklanabilir.

Fosfor ekranları 12.5x19.2, 12.5x25.2 veya 12.5x43.0 cm boyutlarında olabilir. Bu ekranlar özelliklerine göre çoklu-hassas (multisensitive-genel amaçlı kullanımlarda), süper çözünürlüklü (en kaliteli fosfor partiküllerden oluşan), trityum-

hassas (^3H izotopuna hassas) gibi türlere ayrılır. Cyclone plus ile gerçekleştirilen spesifik TLRC uygulamaları genellikle ^3H , ^{125}I , ^{14}C , ^{32}P , ^{33}P , ^{18}F , ^{90}Y , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{111}In ve ^{177}Lu elementleri kullanılarak yapılır.

Bu çalışmalar genel hatları ile; ^{32}P ve ^{32}P ile işaretli adenosin trifosfat (ATP) veya guanozin trifosfat (GTP) ile gerçekleştirilen nükleotid metabolizma çalışmaları, ^{14}C -üridin-5'difosfo-glukuronik asit (UDPGA)'nin glukuronidasyon ölçümleri, ^{177}Lu ve ^{90}Y -DOTA-Dfenilalanin(1)- tirozin(3)-oktreotidin kalite kontrolü, pozitron emisyon tomografisi (PET) için ^{18}F silika jel ince tabaka çalışmaları, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ elementinin kalite kontrolü ve ^{90}Y ile işaretli Zevalinin radyokimyasal saflık çalışmalarıdır [28]. Cyclone plus fosfor görüntüleme sistemi Şekil 2.6'da verilmiştir.



Şekil 2.5. Cyclone plus fosfor görüntüleme sistemi

2.4.5. Cyclone Plus Fosfor Görüntüleme Sisteminin Çalışma Prensipleri

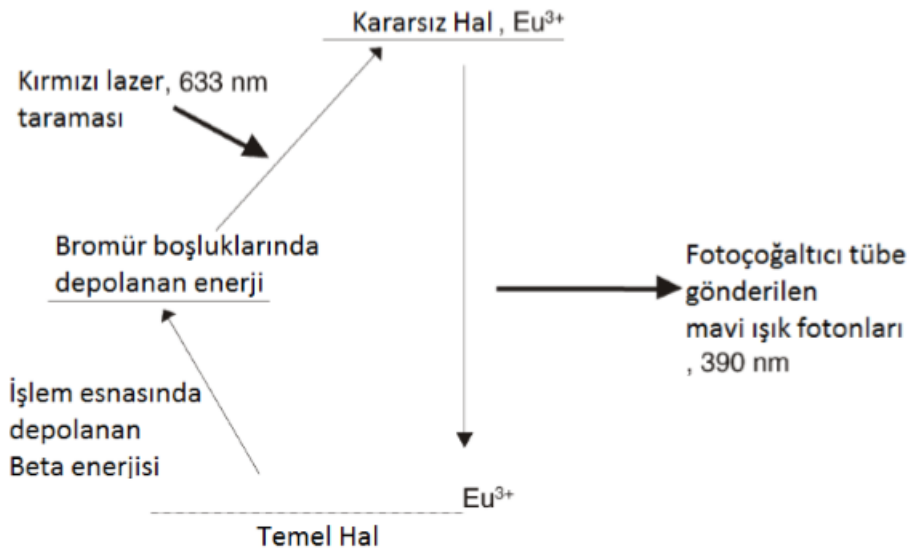
Cyclone plus cihazı, spesifik radyonüklidlerle işaretlenen substratların kalite-kontrolünün gerçekleştirilebilmesi için ince tabaka radyokromatografi yöntemini kullanılmaktadır.

Bu sistem, fotouyarılmış lüminesans olayı aracılığı ile 2 boyutlu radyoaktif TLRC bölgelerinin analiz edilebilmesi için bir tarayıcı ile birlikte özel bir fosfor görüntüleme ekranından faydalanır. Cihaz içerisinde boyut sırasına göre 5 kata kadar çıkabilen eş-odaklı bir lazer ve ışık toplayıcı optik tabakalar bulunur ve sistemde bulunan bu kısımlar $25\ \mu\text{m}$ boyutlarında pikseller oluşturur. $20 \times 20\ \text{cm}$ 'lik TLRC tabakalar kullanılarak alınan kromatogramlardan alınan görüntüler ile $20 \times 25\ \text{cm}$ 'lik bir fosfor ekran $5\ \text{dk}$ 'lık süre içerisinde $50\ \mu\text{m}$ 'lik mesafeden okunabilmektedir. Ölçüm limiti

^{32}P için $0.11 \text{ dpm/mm}^2/\text{saat}$ 'tir. X-ışınları filmleri ile kıyaslandığında, hassasiyet 100 kat daha yüksektir, yapılan işlem 10-100 kat daha hızlıdır ve kantitatif doğruluk çok daha fazla yüksek değerlerdedir.

Sistemde kullanılan fosfor görüntüleme ekranı, eser miktarlarda iki değerlikli Europium (Eu) içeren, $5 \mu\text{m}$ boyutundaki baryum florobromür kristallarından meydana gelmektedir.

İki değerlikli Europium (BaFBr:Eu^{2+}), poliesterden yapılmış destek filmi üzerine kaplanmış bir biyoluminesans merkezi olarak görev yapar. Kristal, radyoışaretli bölgeye maruz bırakıldığında radyoizotopun enerjisi Eu^{2+} 'yi Eu^{3+} 'e yükseltir ve bu yolla elektronlar fosfor kristallerinin iletim bandına doğru sürüklenir [28]. Elektronlar sayım işlemi sırasında bromür boşlukları arasında hapsedilir. Radyoaktiviteye maruz bırakılan fosfor görüntüleme ekranı okuyucu cihaz içerisinde hareket halinde iken 633 nm dalga boyundaki kırmızı lazer ışını ile taranır. 390 nm dalga boyundaki mavi lazer ışınından fotonlar biçiminde salınan foto-uyarılmış lüminesans, ışın tutucu bir cihaz yardımı ile foto-çoğaltıcı bir tüp üzerinde toplanır ve elektrik sinyallerine dönüştürülmektedir. Bu prosesin şematik olarak gösterimi Şekil 2.7'de verilmiştir.



Şekil 2.6. Cyclone plus fosfor görüntüleme sisteminin çalışma prensibinin şematik gösterimi

2.5. Lipofilite Kavramı

Lipofilite diğeri bir adı ile ayrılma katsayısı P, iyonize olmayan bir bileşimin su veya su ile karışmayan türdeki bir yağ çözümlerinde içerisindeki (genellikle oktanol) bağlı geçirgenliğini ifade eden bir parametredir. Yağ fazı modeli için oktanol seçilmiştir çünkü bu molekül biyolojik membranların özelliklerine en yakın olan kimyasal çözümlerdir. P (veya log P) değerinin yani lipofilitenin tayini, ayırma hunisi kullanılarak her hangi bir ilacın birbiri ile karışmayan iki çözümlerin içerisinde karıştırılması esasına dayanır [31].

Çözünen madde molekülleri, kimyasal denge sağlanana dek her iki faz içerisinde yayılır. İki konsantrasyonun oranı dağılım sabiti veya ayrılma sabiti olan P'dir. P değerleri ilaçların biyolojik ortamlarda kullanılmaları ve farmakolojik etkinliklerinin geliştirilmesi için çok önemlidir. Oktanol ve suyun ayrılmasına ilişkin kapsamlı veriler yıllardan beri kullanılmaktadır. P değeri sayısal olarak 1'den küçük ise, bu ilacın yağ membranlarından geçebileceğini göstermektedir.

İyonlaşabilen çözümler maddelerin lipofilite değerlerinin ölçülebilmesi için ölçüm alınmak istenen bileşik iyonize olmayacak bir türe dönüştürecek şekilde, sulu fazın pH'ı ayarlanmaktadır.

Çözelti içerisinde bulunan, iyonize olmayan çözümler maddelerin konsantrasyonlarının logaritması logP olarak ifade edilir. LogP, lipofilitenin ölçüsüdür. Lipofilite, aşağıdaki eşitlikte verildiği gibi ifade edilir [32].

$$\text{Log}P_{\text{oktanol} \div \text{su}} = \text{Log} [C_{\text{oktanol}} \div C_{\text{deiyonize su}}]$$

2.6. Radyonüklid seçimi

Tanı amacıyla kullanılan bir radyofarmasötikte bulunan radyonüklidin, hastaya mümkün olan en az radyasyon dozunu verecek, sayım cihazlarında iyi bir verim ve ayrımı sağlayacak biyoaktif bileşeni oluşturan maddeyle, kolaylıkla ve biyolojik davranışını değiştirmeyecek şekilde bağlanabilecek özelliklerde olması istenmektedir [33].

Tanı amacıyla kullanılan bir radyonüklid'in yarı ömrü, hastanın mümkün olan en düşük radyasyon dozunu alabilecek ve aynı zamanda teşhis amacıyla sintigrafi alınmasına izin verebilecek kadar uzun olmalıdır. Radyonüklid alfa (α) ve beta (β) gibi parçacık karakterli radyasyonlar yayınlamamalı ve yayınlanan radyasyonlar monokromatik olmalıdır. Çok yüksek enerjili veya vücutta absorblanacak kadar küçük enerjili gama radyasyonu hastaya verilen radyasyon dozunun artmasına ve vücut dışında izlenme veriminin azalmasına sebep olacaktır. Radyonüklidin bozunma ürünü, toksik olmayan ve kararlı bir element olmalıdır. Teşhis amacıyla kullanılacak radyonüklidin özellikleri ise şöyle olmalıdır:

- Radyonüklid'in fiziksel yarı ömrü yaklaşık olarak 6-200 saat arasında olmalıdır. Bu süre görüntüleme H/O (Hedef doku/Hedef olmayan doku) oranının en yüksek değere ulaştığı süreden daha fazla olmalıdır.
- γ (gama) enerji aralığı yaklaşık olarak 100–300 keV arasında olmalı ve bu enerji sintigrafi cihazı tarafından ayırt edilmelidir. Bu aralık nükleer tıp açısından tarama yapmaya uygundur.
- Radyonüklid bozunması sırasında yüksek enerjili monokromatik gama ışını vermelidir. İyi bir görüntü sağlanabilmesi için foton yoğunluğunun yüksek olması istenir. Radyonüklid bir parçacık radyasyonu veya düşük enerjili parçacık radyasyonu yaymamalıdır. Aksi takdirde hasta önemli ölçüde ve gereksiz radyasyon dozuna maruz kalacaktır.
- Radyonüklid'in bozunma ürünü kararlı olmalıdır. Bozunma ürünü sadece ilave doz vermeyip ayrıca görüntüde de karışıklığa neden olabilmektedir.
- Spesifik aktivitesi yüksek olan radyonüklidlerden elde edilen görüntünün kalitesi daima yüksek olmaktadır. Bu nedenle radyofarmasötik hazırlanırken radyonüklidler taşıyıcısız formda kullanılırlar.
- Radyofarmasötiğin kimyasal kararlılığı yüksek olmalıdır. Kimyasal kararlılık radyonüklidin bağlandığı ligand ve farmakokinetik değişkenlerine bağlıdır.
- Kimyasal kararlılık değeri tam olarak H/O dış görüntü vasıtasıyla belirlenebilir.
- Radyonüklid kolayca elde edilebilmeli ve fiyatı da uygun olmalıdır [34].

2.7. Teknesyum (⁹⁹Tc) kimyası

2.7.1. Teknesyum elementi

Yıllarca periyodik tabloda, Molibden (⁹⁹Mo) ve Rutenyum (¹⁰²Ru) arasında bir boşluk bulunmaktaydı. Başlangıçta birçok araştırmacı bu kayıp elementi kolayca bulacaklarını ümit ediyorlardı.

Mendelev periyodik tabloyu dizayn ederken o güne kadar henüz keşfedilmemiş elementler için bazı boşluklar bırakmış, grup özelliklerine göre bu boşlukları isimlendirmişti. Tc'un bulunduğu boşluğa ilk elementin manganez olmasından da esinlenerek *eka(1)-manganez* adını vermişti.

1937'de yılında Peter ve Segre Molibdeni siklotronda hızlandırılmış 5 MeV enerjili dötronlarla bombardıman ederek nükleer bozunmalara karşı kararsız olan ve doğada bulunmayan 43 atom numaralı Tc'u keşfettiler [35] ve keşfettikleri bu elemente Yunanca suni anlamına gelen "*tecnetos*" ismine ithafen *teknesyum* adını verdiler.



Keşfinden itibaren Tc hakkında pek çok araştırma yapıldı. 1962'de P. K. Kuroda ve B. T. Kenna tarafından ²³⁸U'in kendiliğinden fisyon ürünü olarak iz miktarlarda Afrika Peşblendinde keşfedildi ve Uranyumdan izole edildi.

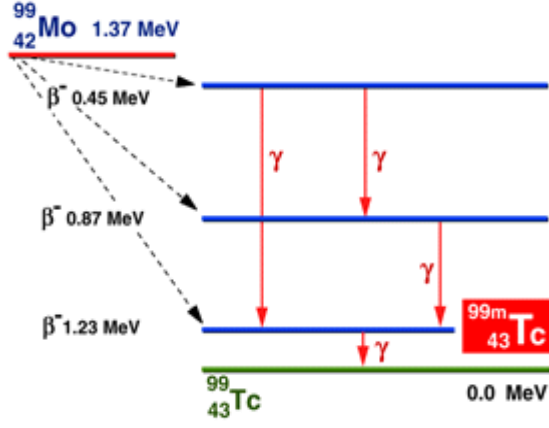
Tc elementi S, M ve N tipi yıldızların spektrumlarında bulunmaktadır. Yıldızlı maddelerdeki varlığı, yıldızlarda bulunan ağır elementlerin üretimine ilişkin yeni teorilerin doğmasına yol açmıştır [36].

Tc 43 atom numarasına sahip olan bir geçiş elementi olup, VIIB grubunda bulunmaktadır ve gümüş gri renklidir. 2160°C'de erir, hegzagonal yapıda kristallenir. Stabil haldeki Tc elementi 1s² 2s² 2p⁶ 3s² 3p⁶ 4s² 3d¹⁰ 4p⁶ 5s¹ 4d⁶ elektronik konfigürasyonuna sahiptir. Kimyasal reaksiyonlarında ya s alt kabuğundan 1 elektron ya da d alt kabuğundan 6 elektron kaybetmektedir. Bununla ilgili olarak, Tc kimyasal reaksiyonlarında farklı oksidasyon basamaklarına sahiptir. Bunlar -1'den +7'ye kadar

değişen değerlerdedir. En kararlı oksidasyon düzeyleri +4 ve +7 halindedir. Geçiş elementi olduğu için şelat yapısındaki iyon ve moleküllerle metal kompleksleri oluşturmaktadır. Radyofarmasötiklerin hazırlanmasında Tc'un bu özelliğinden yararlanılmaktadır. Tc'un tüm izotopları β -bozunması veya EC (elektron yakalaması) yaparak bozunmaktadır. Doğada bulunan Tc'un izotopları uranyum çekirdeğinin kendiliğinden fisyon ürünleri olarak oluşmaktadır (Tunç et al., 1996). Tc'un bilinen izotoplarının yarı ömürleri 0,86 s- $2,6 \times 10^6$ yıl; kütle numaraları 90-110 arasında değişmektedir [37].

2.7.2. Metastabil-Teknesyum izomerik çekirdeği (^{99m}Tc)

Nükleer tıpta özellikle tanısal alanda geniş bir çeşitliliğe sahip olan ^{99m}Tc , ^{99}Tc 'un metastabil (ara kararlı) fazdaki bir izotopudur. Bu metastabil halin yarı-ömrü 6,02 saatir. Temel haldeki Tc'un elektronik enerji düzeyi uyarıldığı zaman, uyarılmış enerji düzeyi kararlılığını korumak için temel enerjili haline geri dönmek isteyecektir. Ancak uyarılmış düzeyin ömrü saniye mertebesine göre, saat metresinde oldukça uzundur. Uzun ömürlü bu uyarılmış düzeye “*metastabil (ara kararlı) faz*” denmektedir. Metastabil düzeyde bulunan çekirdek bu süre zarfında farklı karakteristikler kazanmaktadır. Artık temel enerjili haline dönse bile, temel enerjili durumdaki Tc'dan farklı bir forma sahip olacaktır. Bu noktadan sonra, kütle ve atom numarası aynı olmasına rağmen, nükleer özellikleri birbirinden farklı olan çekirdekler oluşacaktır. Oluşan bu çekirdeklere “*izomer çekirdekler*” denmektedir. İzomer çekirdeklerden normal enerji düzeyinde bulunanlar yalnızca kütle numaralarıyla yazılırken, uyarılmış enerji düzeyinde bulunanlar ise, kütle numaralarının yanına “*metastabil*” yani “*ara kararlı*” anlamına gelen, m harfi ilave edilerek gösterilmektedir. Metastabil enerji düzeyinde bulunan izomer bir çekirdeğin, bu enerji düzeyindeki nükleon, ya da nükleonlarının belirli bir yaşam süresi sonunda normal enerji düzeyine inmesiyle 0.1405 MeV (140.5 keV) değerinde bir γ -ışını salınmaktadır (Şekil 2.8). Bu olaya “ *^{99m}Tc 'un bozunması*” da denmektedir [38].



Şekil 2.7. ^{99}Mo 'un ^{99}Tc 'a bozunması [39]

2.7.3. ^{99m}Tc kimyası

Son yıllarda, Tc'un koordinasyon ve organometalik kimyasına karşı giderek artan bir ilgi söz konusudur. Bu durum d-geçiş elementlerinin biyomedikal alandaki önemini yansıtan bir durumdur. ^{99m}Tc çekirdeği nükleer tıpta, tanı ve görüntüleme amacıyla en çok tercih edilen radyonüklid'dir. Buna sebep olan faktörler arasında;

- Ucuz olması,
- Kolay erişilebilir olması,
- 6 saatlik yarı ömre ($t_{1/2}$) sahip olması,
- 140 keV enerjili tek γ -ışıması salması gibi özellikler sayılabilmektedir [40].

^{99m}Tc tanısal radyofarmasötiklerde, metal özellikleri sayesinde radyoaktiviteyi vücut içinde tespit edilen spesifik bölgeye götüren taşıyıcı kısma bağlanmaktadır. Böylelikle elde edilen radyofarmasötiklerin yeni türevlerinin dizayn edilmesi, edinilen temel amaçlar arasındadır [41].

Çizelge 2.1. Nükleer tıpta görüntüleme amaçlı kullanılan ^{99m}Tc -radyoişaretli bileşikleri [37]

	^{99m}Tc - türevi	Görüntüleme Yeri
^{99m}Tc -Radyoişaretli Bileşik	^{99m}Tc -fosfonatlar	Kemik
	^{99m}Tc -pentatatlara (DTPA)	Böbrek (Renal kan akımı)
	^{99m}Tc -sülfür kolloid	KC-Dalak
	^{99m}Tc -makroagregat albumin	Akciğer perfüzyon
	^{99m}Tc -albumin kolloid	Kemik İliği
	^{99m}Tc -iminodiasetik asitler	Hepatobiliyer

Bugün, nükleer tıpta görüntüleme amacıyla kullanılan radyofarmasötiklerin çoğunluğu ^{99m}Tc ile işaretlenen peptid ve aminoasit yapısındaki bileşiklerdir. ^{99m}Tc vücut içine enjekte edilen radyofarmasötiğin, vücut içindeki biyolojik davranışını izlemede önemli bir izci olarak davranmaktadır.

Ünak ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, penisilamin-disülfid ve sistein gibi aminoasitlerin ^{99m}Tc ile işaretlenmesiyle edinilen radyofarmasötiklerin karaciğer, böbrek ve safra kesesi gibi organların tanısal görüntülenmesinde uygun bir ajan olarak kullanılabileceği rapor edilmektedir [42].

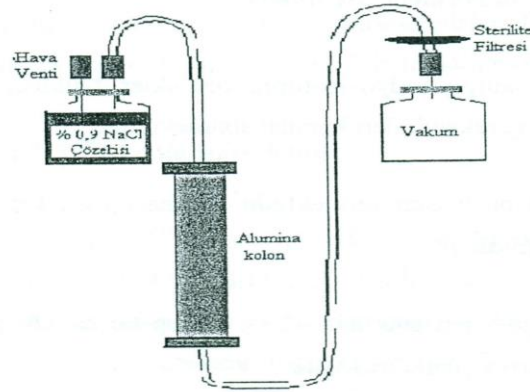
Bunun yanında, ^{99m}Tc ile işaretli reseptör-spesifik karakterli Exorphin C ve birçok radyopeptid formu nükleer tıpta, başta kanser tedavi ve terapi araştırmaları olmak üzere, insan tümörlerinin görüntülenmesinde alternatif bir yaklaşım getirmektedir [43].

2.7.4. ^{99}Mo / ^{99m}Tc jeneratörü

^{99m}Tc ticari olarak ^{99}Mo / ^{99m}Tc jeneratöründen elde edilmektedir. ^{99}Mo / ^{99m}Tc jeneratörü ilk kez 1957 yılında Brookhaven Ulusal Laboratuvarında geliştirilmiş ve

taşıyıcısız olarak ^{99}Mo 'un alümina (Al_2O_3) kolonuna adsorbe edilmesiyle üretilmiştir (Şekil 2.9) [34].

^{99}Mo kolon üzerinde β^- bozunması ile $^{99\text{m}}\text{Tc}$ çekirdeğine dönüşmektedir. Ürün çekirdek olarak $^{99\text{m}}\text{Tc}$; $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ (perteknatat) formunda oluşurken, kolondaki ana çekirdek ^{99}Mo ise $^{99}\text{MoO}_4^{2-}$ (molibdat) halinde bulunmaktadır. ^{99}Mo , $^{99}\text{MoO}_4^{2-}$ formunda +6 oksidasyon düzeyinde iken, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ perteknatat formunda ($^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$) +7 oksidasyon düzeyine sahiptir. +6 oksidasyon düzeyindeki Mo alümina kolona sağlam tutunurken, + 7oksidasyon düzeyindeki $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ise kolona daha zayıf tutunmaktadır. Alümina kolon %0,9 NaCl (serum fizyolojik) solüsyonu ile yıkandığı zaman, kolon üzerinde sırasıyla molibdat ve perteknatat olmak üzere iki tane sodyum tuzu oluşmaktadır ($\text{Na}_2^{99}\text{MoO}_4$ ve $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$). Bu noktadan sonra, iki sodyum tuzu arasında yarışmalı bir adsorpsiyon başlar, ancak molibdat tuzu kolon üzerinde daha sağlam tutunduğu için $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ kolondan kolayca ayrılırken, $\text{Na}_2^{99}\text{MoO}_4$ ise kolonda kalmaktadır [44].



Şekil 2.8. $^{99}\text{Mo} / ^{99\text{m}}\text{Tc}$ jeneratörü [34]

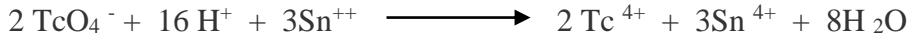
2.7.5. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 'un indirgenmesi

Jeneratörden elde edilen $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ iyonu çok kararsızdır ve bu haliyle direkt olarak hiçbir bileşikle bağlanamaz. Biyolojik olarak aktif bir biyomolekülün $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ile işaretlenmesi için önce 7^+ den 3^+ , 4^+ veya 5^+ 'e indirgenmesi gerekmektedir. Bu konuda pek çok metot mevcuttur. Buna yönelik tepkimeler genellikle basit tepkime kaplarında $20-80^\circ\text{C}$ aralığında, $\text{pH}=5-7$ arasında olmakla birlikte, reaksiyonun gerçekleşme süresi $20-120$ dk arasında değişmektedir. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 'in yarılanma süresinin

($t_{1/2}=6,02$ saat) kısa olmasından dolayı, reaksiyonunda kısa sürede gerçekleşmesi istenmektedir [34].

2.7.5.1. Sn (II) metodu

^{99m}Tc ile işaretli radyofarmasötiklerin hazırlanmasında en sık kullanılan indirgen ajan, Sn(II) klorürdür. ^{99m}Tc 'un, Sn(II) ile indirgenmesine ilişkin kimyasal reaksiyon aşağıdaki gibidir:



Jeneratörden sağılan $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ solüsyonunda çok küçük miktarda ^{99m}Tc ($\sim 10^{-9}$ M) bulunması nedeniyle, ^{99m}Tc 'u indirgemek için çok az miktarda Sn^{2+} 'e ihtiyaç duyulmaktadır.

Yukarıda belirtilen indirgenler dışında, indirgen olarak sodyum borhidrat, sodyum bisülfid, hidrazin, formamidin sülfirik asit, hidroksilamin, hipofosforus asit ve sodyum ditiyonatin yanında metalik çinko, molibden (III), tungsten (III) ve antimon (III) tuzları kullanılmaktadır [35].

2.8. İşaretleme teknikleri

Günümüzde bilim adamları teşhis veya tedavi amacı ile kullanılan radyofarmasötiklerin dizaynında peptid ve proteinleri hedef olarak almış ve bunlara yönelik klinik çalışmalarda yoğunlaşmışlardır. Peptidlerin işaretlenmesi için çoğunluğu protein işaretleme metotlarından adapte edilen sayısız yaklaşım bulunmaktadır. Bunları iki ana kategoride, üç farklı sınıfta gruplandırmak mümkündür:

- Doğrudan (Direkt) işaretleme yaklaşımı,
- Ara Kompleks üzerinden işaretleme yaklaşımı,
- Dolaylı (İndirekt) işaretleme yaklaşımı.

Son iki işaretleme yaklaşımı aynı temele dayandığı için bunları aynı kategoride (Dolaylı işaretleme) değerlendirmek mümkündür.

2.8.1. Doğrudan (Direkt) işaretleme tekniği

Direkt işaretleme tekniği biyoaktif moleküllerin ligand atomları ile işaretlenmesi olarak tanımlanmaktadır. Tc'un periyodik tablodaki yeri göz önüne alındığında; tiyol, tiyoeter ve alifatik ya da aromatik aminlerin özel bağlanma bölgelerine sahip olduğu bilinmektedir. Sülfür donorleri genel olarak, çeşitli oksidasyon düzeylerinde yüksek termodinamik kararlılığa sahiptir. Öte yandan, diğer gruplarla sağlanan termodinamik kararlılık zayıf ve biyolojik koşullar altında metal merkezi kararlı kılmak için yeterli değildir [45].

Doğrudan (direkt) işaretleme tekniği peptidlerin işaretlenmesinde başarılı olarak kullanılmaktadır [33]. Bu sayede proteinlerin sülfid bağlarıyla ^{99m}Tc arasında yüksek kararlılığa sahip olan bağlar oluşmaktadır. Bunun yanında, indirgen ajanların varlığında, peptidteki disülfid (S-S) bağları serbest tiol (S-H) gruplarına dönüşerek, peptid ^{99m}Tc ile işaretlenmektedir. Reaksiyonlarda protein formundaki bileşiklerin disülfid bağlarını indirgemek için, dithiothreitol (DTT) kullanılmaktadır. Ancak DTT'nin pH=7'nin altında etkin olamaması bileşiğin kullanımı açısından sınırlayıcı bir etken oluşturmaktadır [46]. Bu nedenle, genellikle etkin çalışma pH'ı 7 ve 7'nin üzerinde olan peptid yapısındaki bileşiklerin reaksiyonlarında, DTT kullanılmaktadır. $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 'ta bulunan +7 değerlikli ^{99m}Tc 'dan kararlı bir ^{99m}Tc -peptid kompleksi oluşturabilmek için Tc'un daha düşük bir değerliğe indirgenmesi gerekmektedir [33]. Yönteme ilişkin mekanizma büyük ölçüde disülfid bağları üzerinden yürüdüğü için, ancak peptid bağlarının bolca bulunduğu protein ve fragmanlarına uygulanabilmektedir [45]. Çünkü birçok küçük peptid disülfid bağına sahip değildir. Bazı durumlarda disülfid bağı varsa da protein ve fragmanlarının biyolojik özelliklerinin stabilliği açısından bu bağı indirgemek riskli olabilir. Doğrudan işaretleme tekniği, peptid bazlı spesifik radyofarmasötiklerin geliştirilmesinde tercih edilen en pratik yaklaşımdır [47].

Direkt metotlar radyoişaretleme çalışmalarında kolaylık sağlayan ve aynı zamanda verimli olan yöntemlerdir. Ancak yöntemde, reaktiflerin kullanım sırası, kullanılan miktarları ve pH çok önemli parametrelerdir. Söz konusu parametreler elde edilen radyoişaretli bileşiğin işaretleme verimi ve kararlılığı üzerinde efektif bir etkiye sahiptir.

Ancak direkt işaretleme yönteminin başarısız olduğu durumlarda bulunmaktadır. 2001 yılında Du ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, 14 aminoasitli bir peptid hormonu olan somatostatin ^{99m}Tc ile doğrudan işaretlenmiş ve peptidteki disülfid (S-S) bağlarının serbest tiol (S-H) gruplarına çevrilmesiyle işaretleme yapılmıştır. Bununla birlikte, bozulan reseptör afinitesi ve peptidin çok kısa olan yarı ömründen dolayı ($t_{1/2} < 3$ dk) reseptörce zengin dokularda spesifik bir tutulum gözlenememiştir. Aynı çalışmada doğal bir hormon olan, somatostatinin analogu olan octreotide'de ^{99m}Tc ile işaretlenmiş ancak disülfid bağlarının zor indirgenmesinden dolayı direkt işaretleme yönteminin başarısız olduğu rapor edilmiştir [48].

Başka bir başka çalışmada Octreotide hormonunun ^{99m}Tc ile doğrudan işaretlenmesi sırasında kullanılan çeşitli indirgen ajan miktarlarının işaretleme verimi üzerindeki etkisi araştırılmış ve bunun sonucunda en yüksek işaretleme veriminin elde edildiği optimum indirgen miktarının altındaki veya üstündeki durumlarda istenilen verimin elde edilemediği rapor edilmiştir [49-51].

2.9. ^{99m}Tc işaretli bileşiklerin kalite kontrolü

^{99m}Tc kitteki ligand adı verilen ve bir organ sisteminde lokalize olmak üzere geliştirilmiş substrat molekülüne tutunmaktadır. Radyofarmasötüğün teşhis ve tedavi amacıyla kullanılabilmesi için ^{99m}Tc ile işaretli bileşiğe ait işaretleme veriminin ($\geq 95\%$) çok yüksek olması, ürün içinde bulunabilecek serbest ^{99m}Tc 'in çok düşük oranlarda kalmış olması ve işaretlemenin bir diğer yan ürünü olan indirgenmiş ^{99m}Tc 'inde, ortamda minimal düzeyde bulunması gerekir. Hem serbest, hem de indirgenmiş ^{99m}Tc , görüntülerde yanlış tanıya neden olabilecek ya da değerlendirmeyi güçleştirecek safsızlıklar oluşabilmektedir.

Bu nedenle, hazırlanan radyofarmasötiklerin her birinin hastalarda kullanılmadan önce radyokimyasal saflık yönünden test edilmesi gerekebilmektedir. ^{99m}Tc radyofarmasötiklerinin kalite kontrolü için TLRC ve HPLC gibi kalite kontrol yöntemleri geliştirilmiştir.

2.9.1. Stabilité

Radyokimyasal saflık, radyonüklidin bağlı olduğu bileşiğin radyoaktivitesinin toplam radyoaktiviteye oranı olarak tanımlanmaktadır. Ortamda istenilen bileşimin

dışında oluşan radyoaktif bileşikler veya bağlanmamış olarak bulunan radyonüklidler “**Radyokimyasal Safsızlık**” olarak nitelendirilmektedir.

Radyokimyasal safsızlıklar radyonüklidin üretimi sırasında, biyoaktif bileşenin sentezi sırasında (reaksiyonun tamamlanmamış olması, yan reaksiyonlar vermesi, çözücü veya safsızlıklarla oluşturduğu reaksiyonlar ve koruyucu grupların tam olarak ortamdan uzaklaştırılmaması) ve saflaştırmanın tam olarak yapılamamasından kaynaklanmaktadır [52].

Hazırlandığı sırada kimyasal yönden saf olan bir radyofarmasötik dış etkenlere ve zamana bağlı olarak, radyonüklidin bağlı olduğu molekülden ayrılarak veya radyasyonla bozunarak ve bunlar yanında pH ve sıcaklık gibi nedenlerle safsızlıklarını yitirmektedirler. Bu olay radyofarmasötiğin kararlılığı ile ilgili bir durumdur. Bu noktada ortaya çıkan radyokimyasal safsızlıklar, hedef organ veya bölgenin dışındaki yerlere lokalize olarak gereksiz yere verilen bir radyasyon dozuna ve sintigrafik incelemede olası yanılmalara neden olmaktadır [34].

Yukarıda bahsedilen Radyokimyasal Saflık, Radyonüklid Saflık ve Fizikokimyasal Saflık bileşenlerinin bileşkesi olarak tasarlanan bir radyofarmasötiğin biyolojik bir ortamda süregelen çalışmalar boyunca bozunmadan kendi kimyasal yapısını korumasına “**Stabilite (Kararlılık)**” denmektedir. Nükleer tıp açısından, ideal bir radyofarmasötiğin hazırlanması ve kullanılması sırasında kimyasal kararlılığını koruması gerekmektedir ve kimyasal kararlılık radyonüklidin bağlandığı ligand ve farmakokinetik değişkenlerine bağımlılık göstermektedir.

2.9.2. Görüntüleme ve sintigrafi

İki ya da üç boyutlu bir cismin gerçeğine en uygun yansımasının elde edilmesi işlemine “**Görüntüleme**” adı verilmektedir.

Nükleer tıpta görüntüleme amacıyla radyofarmasötiklerden yararlanılmaktadır. Radyofarmasötikler seçilmiş organ veya bölgelerde spesifik olarak tutulum gösteren radyoaktif ajanlar olduğundan, bu yönüyle incelenecek organın dedektörler vasıtasıyla tetkine ve görüntüsünün alınmasına imkan vermektedir. Radyofarmasötiklerin yapısında bulunan radyonüklidin incelenecek organ veya dokudaki dağılımını görüntü şeklinde saptama yöntemine “**Radyonüklid (Radyoizotop) Görüntüleme (RG)**” adı verilmektedir. Ancak radyofarmasötik

formunda vücuda verilebilen radyonüklidin organizmadaki dağılımının görüntülenmesi ile anatomik bilgiler, bu dağılımın zamana göre değişikliklerinin saptanması ile de fizyolojik bilgiler elde edilmektedir. Gerek anatomik gerekse fizyolojik bilgiler radyonüklidden yayınlanan nükleer radyasyon nedeniyle parlamalar halinde ışığa çevrilerek dedekte edilmektedir. Görüntüler sintilasyon dedektörleri tarafından alındığı için yonteme “Sintigrafi” denilmektedir [53].

Nükleer tıpta kullanılan sintigrafi çekim protokolleri şu başlıklar altında toplanmaktadır [54].

2.9.2.1. Dinamik sintigrafi

Radyoaktif bir maddenin zaman içinde vücutta gösterdiği değişiklikleri saptayarak, hedef organın fonksiyonel durumu (alınma, birikim, konsantrasyon ve atılım şekli) hakkında bilgi veren görüntüleme şekline “**Dinamik sintigrafi**” adı verilmektedir.

- **Görüntünün elde edilmesi**
 - Radyofarmasötüğün organizmada geçirdiği aşamalar zamanın bir fonksiyonu olarak kaydedilir.
 - Birbirini takip eden zaman aralıkları içinde tetkik edilen özelliklerine bağlı olarak, 0.1 sn ile dk’lar arasında değişen sürelerde görüntüler elde edilir.
- **İlgi alanı (Region of interest, ROI) saptanması**
 - İlgilenilen bölgenin sınırları kullanıcı tarafından elle çizilerek veya bilgisayar yardımı ile otomatik olarak belirlenebilir.
- **Zaman-aktivite grafiğinin çizilmesi**
 - X koordinatına zaman, Y koordinatına ise dinamik serideki bir ilgi alanından elde edilen aktivite sayımları konarak çizilen grafiğe zaman-aktivite grafiği, elde edilen eğriye ise zaman-aktivite eğrisi elde edilir.

2.9.2.2. Statik sintigrafi

Belirli bir zaman aralığında alınan sayımların üst üste konulmasıyla görüntü elde edilmesine “Statik sintigrafi” denmektedir. Özellikle radyofarmasötüğün vücutta

görece daha statik (zaman-aktivite eğrisinin plato dönemlerinde) olduğu durumlarda tercih edilmektedir [37].

Statik sintigrafi alınırken;

- Belirli bir zaman aralığında hastadan alınan bilgiler seçilen matrikse kaydedilir.
- Çekim öncesi belirlenen süre zarfında alınan sayımlar üst üste konularak görüntü elde edilir.

2.9.2.3. Tüm vücut sintigrafisi

Dedektör veya dedektörlerin vücudun uzun eksenini boyunca hareket ederek, bu bölgelerden geçerken aktivite sayımlarını alması prensibine dayanmaktadır. Tüm vücut taramalarında hastanın başından ayakucuna kadar radyonüklidi tararlar veya hasta yatağı kamera altında hareket ettirilir. Kamera hareket ettikçe katot ışın tüpündeki görüntü de senkronize bir şekilde hareket edeceğinden tüm vücut görüntüsü bir tek film üzerine kaydedilmektedir. Tüm vücut sintigrafisi, özellikle kemikteki metastaz aranmasında sıklıkla başvuru olan bir sintigrafi yöntemidir.

2.9.3. Biyodağılım

Yeni geliştirilen bir radyofarmasötüğün biyolojik davranışının deney hayvanları kullanılarak incelenmesine “**Biyodağılım**” denmektedir. Radyofarmasötüğün organlardaki lokalizasyonu, deney hayvanları üzerinde otoradyografi veya diseksiyon yoluyla zamana bağlı olarak birikime ve boşaltım performansına (clearance) göre değerlendirilmektedir. Böylelikle radyofarmasötüğün, incelenmesi istenen organ veya bölgeye giden oranı bulunmaktadır. İdeal bir radyofarmasötüğün tümör dokusundaki konsantrasyonu (tümör tutulum oranı) yüksek olmalıdır [54]. Hedef organ veya bölge ile civarındaki dokular arasındaki lokalizasyon ne kadar farklı olursa sintigrafideki ayırım o ölçüde iyi olmaktadır [34, 55].

Hedef organ veya bölge ile civar dokulardaki lokalizasyon sırasında fark yoksa veya bu fark küçükse, incelenmesi istenen hedef sintigrafik olarak ayırt edilemeyecektir. Bundan dolayı, biyodağılım çalışmalarının değerlendirilmesinde

öncelikle olası hedef organlar belirlenerek, olası hedef organların referans organlara olan oranları irdelenmektedir.

Söz konusu oran ne kadar büyükse tasarlanan radyofarmasötiğin o organa olan spesifikliğı de o denli artacaktır.

Radyofarmasötiklerin deney hayvanlarındaki dağılımı ve biyolojik davranışlarından yararlanarak, vücudun belirli bir organ veya bölgeleri için biyolojik yarı-ömürler tayin edilmektedir. Radyofarmasötiğin biyolojik davranışı ve radyonüklidin fiziksel özelliklerinden faydalanarak vücudun bütününe ve kritik organlara verilen radyasyon dozu belirlenmektedir [34].



3. MATERYAL VE YÖNTEMLER

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan kimyasallar ve cihazlar

3.1.2. Kullanılan kimyasallar

- Sodyum perteknatat ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$) (Monrol A.Ş.),
- Sodyum klorür dihidrat ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Merck),
- Asetonitril (Merck),
- Aseton (CH_3OCH_3) (Merck),
- Etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) (Merck),
- Metanol (CH_3OH) (Merck),
- n-oktanol (Merck),
- Serum fizyolojik (SF) (% 0,9 NaCl çözeltisi),
- Asetik asit (CH_3COOH) (Merck),
- Sodyum hidroksit çözeltisi (Katı-NaOH) (Merck),
- Hidroklorik asit çözeltisi (%97'lik HCl) (Merck),
- Amonyak çözeltisi (%98'lik NH_3) (Merck),
- Deiyonize su (H_2O),
- Sodyum hipoklorit çözeltisi (NaOCl) (Merck),
- $\text{Tc}^{99\text{m}}$ (Na^{131}I) (Monrol A.Ş, Türkiye)
- Dtpa (Diethylene Triamine Pentaacetic Acid)(Merck)
- SnCl_2 (Kalay Klorür) (Sigma Aldrich)

3.1.3. Kullanılan Cihazlar

- RAD-501 Cd(Te) Tek Kanallı Gama Sayım Sistemi
- Bench-Top Centrifuge (Nüve) Type= NF 800R

- Hassas Terazi (Denver Instrument TB-224A)
- Nüve Sanayi Malzemeleri İmalat Ve Ticaret A.Ş Water Bath NB5
- TLRC Küvetleri (Sigma)
- GE Infinia Çift başlı Gama Kamera(Hacarmal, Tirat, Israel)
- Cyclone Plus Fosfor Görüntüleme Sistemi (Perkin Elmer)

3.2. Yöntem

3.2.1. Polimerin Sentezlenmesi

Medikal alanda yoğun bir kullanım alanı olan HEMA monomeri emülsiyon polimerizasyonu tekniği ile Fe₃O₄ varlığında manyetik özellikte polimerleştirilip ve daha sonra L-Lizin aminoasidi poli(HEMA)'ya aşılansarak manyetik özellikte yeni nesil m-graft-Lys-poli(HEMA) nanopolimeri sentezlenmiştir.

3.2.2. Manyetik Özellikte Poli(HEMA) Nanopolimerlerin Hazırlanması

Manyetik nanopolimerlerin hazırlanmasında kullanılacak yöntemlerden ilki ikili sıvı faz karışımında gerçekleştirilmiştir. Birinci sıvı faz, PVA (0,187 g), SDS (28,9 mg) ve sodyum bikarbonat (23,4 mg)'ın sulu çözeltisidir (10 mL). İkinci sıvı faz ise PVA (0,1 g) ve SDS (0,1 g)'nin sulu çözeltisidir (200 mL). Monomer fazı ise; HEMA (0,7 mL), EGDMA (1,4 mL), Fe₃O₄ (0.2 g) kullanılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan monomer fazı, birinci sıvı faza eklenmiştir. Karışım, miniemülsiyon elde etmek için 25.000 rpm'de homojenize (T10, Ika Labortechnik, Almanya) edilmiştir. Daha sonra karışım cam polimerizasyon reaktörüne aktarılmıştır. Reaktör mekanik olarak karıştırılıp (400 rpm), 40°C'ye ısıtılmıştır. Son olarak, sodyum bisüfit (0,115 g) ve amonyum persülfat (0,126 g) karışıma eklenmiştir. Polimerizasyona 40°C'de 24 saat süreyle devam edilmiştir. Elde edilen manyetik nanopolimerler 5 kez deiyonize su, 5 kez etil alkol ve tekrar deiyonize su ile yıkanarak reaksiyona girmeyen monomer, yüzey aktif madde ve başlatıcılar uzaklaştırılmıştır. Her bir yıkama basamağı için çözelti 9000 rpm'de 1 saat süreyle santrifüj edilerek (Allegra-64R Beckman Coulter, ABD) ve nanopolimerler yıkama ortamından ayrılmıştır. Yıkama işleminden sonra temizlenen manyetik nanopolimerler, deiyonize su içerisinde sonikatör ile tekrar dağıtılarak 4°C'de saklanmıştır.

3.2.3. L-Lizin'nin Manyetik Poli(HEMA)'ya Aşılması

L-Lys aşılması poli(HEMA)'yı [m-graft-Lys-poli(HEMA)] sentezlemek için aşağıdaki işlemler gerçekleştirilmiştir;

20 g poli(HEMA) içinde katalizör olarak 1,4 g NaH ve 50 cm³ tetrahidrofuranda çözülmüş 3 g L-Lys bulunan karışım içerisine ilave edilmiştir. Aşılma tepkimesi 24 saat süresince 40°C'de bu karışım karıştırılarak gerçekleştirilmiştir. Bu sürenin sonunda ortamdan m-graft-Lys-poli(HEMA) alınarak ve poli(HEMA)'ya bağlanmayan L-Lys'leri uzaklaştırmak için karışım bir kaç kez aşırı metanol ve su ile yıkanmıştır. Bu çözelti daha sonra kullanılmak üzere +4°C'de saklanmıştır.

3.3. m-graft-Lys-poli(HEMA) Nanopolimerine İlişkin Yapılan Radyoaktivite Çalışmaları

3.3.1. m-graft-Lys-poli(HEMA) Nanopolimerinin ^{99m}Tc ile İşaretlenmesi

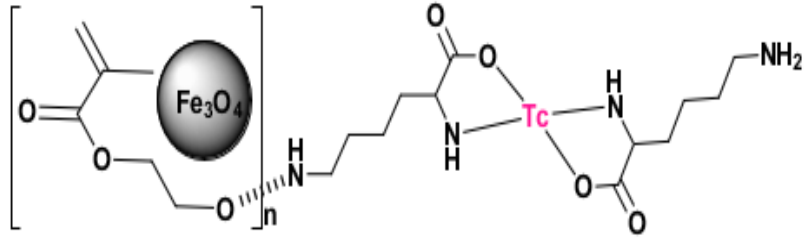
Doğrudan ve dolaylı işaretleme yöntemleri olarak işaretleme çalışmalarında iki yöntem kullanıldı.

Doğrudan kullanılan yöntemde m-graft-Lys-poli(HEMA), ^{99m}Tc ile direkt olarak hazırlanmıştır. Dolaylı işaretleme yönteminde ise yardımcı bağlayıcı olarak DTPA kullanılmıştır. Yapılan ön denemeler neticesinde ilgili nanopolimerin SnCl₂ indirgeme yöntemiyle işaretlenebilmiş bu nedenle çalışmada kullanılan tüm işaretleme bu yöntem kullanılarak yapılmıştır.

Yapılan çalışmalar sonrasında doğrudan işaretleme yöntemi kullanılarak optimum işaretleme koşulları belirlenmiştir. Bu optimum koşullar Çizelge 3.1. de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1.Optimum İşaretleme Koşulları

Banyo Çöz.	Aktivite (mCi)	Kalay Klorür (µl)	pH Değeri	İnkübasyon Süresi (dk)	Ortam Sic.
SF	1	200	10	30	25 °C



Şekil 3.1. m-graft-Lys-poli(HEMA) Nanopolimerinin ^{99m}Tc ile İşaretlenmesindeki olası bağlanma yapısı

3.3.2. İşaretleme Çalışmaları

3.3.2.1. m-graft-Lys-poli(HEMA) Stok Çözelti Hazırlanması

750 μL / 1 mg m-graft-Lys-poli(HEMA) , 250 μL saf su eklenerek bir ependorfta hazırlandı.

3.3.2.2. SnCl_2 Çözeltisinin Hazırlanması

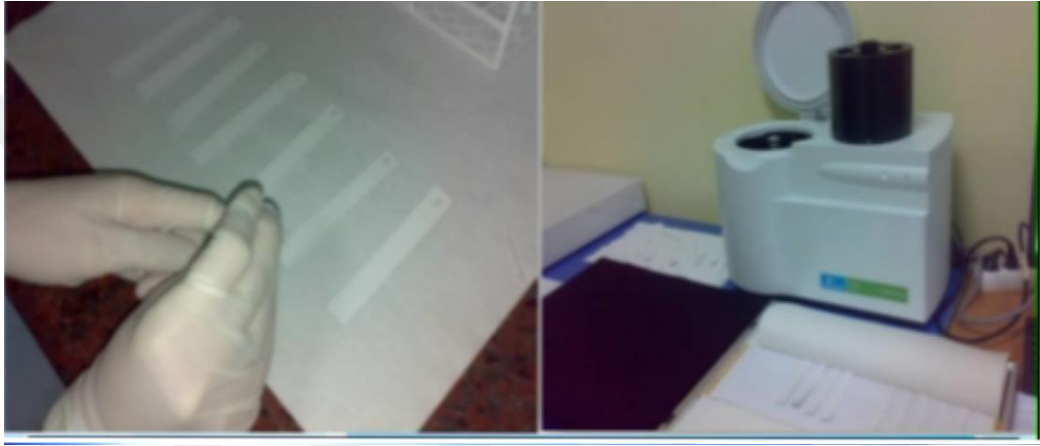
1 mg SnCl_2 (sulu) (sentez laboratuvarı b20 +4 $^\circ\text{C}$) 1 mL saf su'da çözülerek bir ependorf tüp içerisinde hazırlanmıştır.

3.3.2.3. Deneysel Çalışmalar

Stok m-graft-lys-poli(Hema) çözeltisinden 100 μL bir ependorfa alınmış ve içerisine taze olarak hazırlanan SnCl_2 stok çözeltisinden 200 μL ilave edilerek çözelti karıştırılmıştır. pH ayarlaması 1 M'lık NaOH çözeltisi ve 0,1 M'lık HCl çözeltisi ile yapılmıştır. Çözeltinin pH'ı optimum koşul olarak belirlenen 10'a ayarlanmıştır. Daha sonra bu çözelti çeker ocak içerisinde bulunan bir kurşun kaba konulmuş ve kurşun zırh arkasında sağılan ^{99m}Tc 'den 1 mCi mikropipetle çözeltiye ilave edilmiştir. Karışım 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır.

3.4. Kalite Kontrol Çalışmaları

TLC silika kaplı kâğıdın boyu 10 cm eni 20 cm (10x20 cm) olarak ayarlanmış ve 20 cm olan eni 1,2 cm olacak şekilde ölçülüp kesilmiştir. Kesilip hazırlanan TLC kağıtlarının üzeri numaralandırıldıktan sonra işaretli nanopolimer çözeltisinden yaklaşık 0,5 µL damlatılmış ve içerisinde 20 mL serum fizyolojik (SF) olan TLC tanklarının içerisinde konulup hareketli fazın yürümesi beklenmiştir. Yürütme işlemi bittikten sonra TLC kağıtları kurutulmuş ve Perkin Elmer Cyclone Plus Storage Phosphor System cihazında işaretlemeye ait R_f ve bağlanma yüzdesi hesaplanmıştır.



Şekil 3.2. TLC (örnek damlatma ve yürütme işlemleri) Perkin Elmer Cyclone Plus Storage Phosphor System cihazı

3.5. Lipofilite çalışmaları

Bu çalışmada m-graft-Lys-poli(HEMA) örneğinin lipofilite değerleri deneysel olarak tayin edilmiştir. Bunun için işaretli bileşiğin 100 µL'si, içerisinde 300 µL n-oktanol ve 300 µL saf su karışımına ilave edilmiş ve karışım 15 dk oda sıcaklığında vortekslendikten sonra, 2500 rpm de 30 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında alt faz (su) ve üst faz (oktanol) ayrılarak aktiviteleri Cd(Te) dedektörlü RAD501 tek kanallı sayım sisteminde sayılmış ve $\frac{n_{oktanol}}{n_{su}}$ oranı ile logP değerleri hesaplanmıştır. Aynı işlemler üçer kez tekrarlanmıştır.

3.6. Stabilité Çalışmaları

İşaretli bileşiğe (^{99m}Tc -m-graft-Lys-poli(HEMA) ait optimum bağlanma veriminin elde edildiği şartlarda işaretleme yapılarak 37 °C’de 0, 30, 60, 120 ve 240. dakikalarda örnekler alınmış ve işaretli polimer için bağlanma verim değerleri hesaplanmıştır. % Bağlanma verimine karşılık zaman grafiği çizilerek işaretli polimerin stabil olduğu zaman belirlenmiştir.

3.7. Dişi Albino Wistar sıçanlar üzerinde yapılan biyodağılım çalışmaları

^{99m}Tc ile işaretlenen m-graft-Lys-poli(HEMA) molekülün canlılar üzerindeki dağılımını incelemek için 18 haftalık, 150-200 g ağırlığında dişi Albino Wistar cinsi sıçanlar üzerinde biyodağılım çalışmaları yapılmıştır. Radyoaktif işaretli nanopolimer sıçanlara kuyruk veninden enjekte edilmiştir. Sıçanlar belirlenen zaman periyodu sonunda (30, 60 ve 90. dakikalarda) yoğun eter ortamında sakrifiye edilmiş ve sonrasında çıkarılan organlar, önceden daraları alınan küçük kaplar içine konulmuştur. Önce her bir organa ait tartım değeri, daha sonra aktivite değerleri RAD 501 Cd (Te) dedektörü ile iki kez sayılarak ve her bir organ için gram başına düşen % doz değerleri (% ID/ g) hesaplanmıştır. Her bir zaman noktası için 3’er adet hayvan kullanılmıştır. Elde edilen biyodağılım verileri kullanılarak Excel programında zamana karşı biyodağılım grafikleri çizilmiştir.

3.8. Dişi Albino Wistar Sıçanlar Üzerinde Sintigrafi Çalışmaları

Sıçanların tedirginliklerinin giderilmesi ve acı hissetmemeleri amacıyla enjeksiyon öncesi her bir sıçana ketamin+ksilazin (75-100mg/kg+5-10g/kg) anestezi intraperitoneal (IP) olarak uygulanmıştır. ^{99m}Tc ile işaretli m-graft-Lys-poli(HEMA) bileşiğinden 37 MBq/ 0,1 mL(50 µg) (1 mCi / 0.1 mL) (radyonüklitin yarı ömrüne göre hesaplanan en uygun miktarı) Wistar Albino sıçanın kuyruk veninden intravenöz olarak gama kamera altında enjekte edilmiştir. Enjeksiyon yapıldığı anda gama kamera ile 5dk, 15dk, 30dk, 120dk ve 240 dk da statik görüntüler alınmıştır. Statik görüntüler ve bu görüntülerden elde edilen ROI değerleri sonuçlar kısmında verilmiştir. Görüntüleme çalışmalarında (statik görüntüler için) 256x256 matrix, 1 zoom ve düşük enerjili genel amaçlı kolimatör kullanılmıştır.

3.9. İstatistiksel analizler

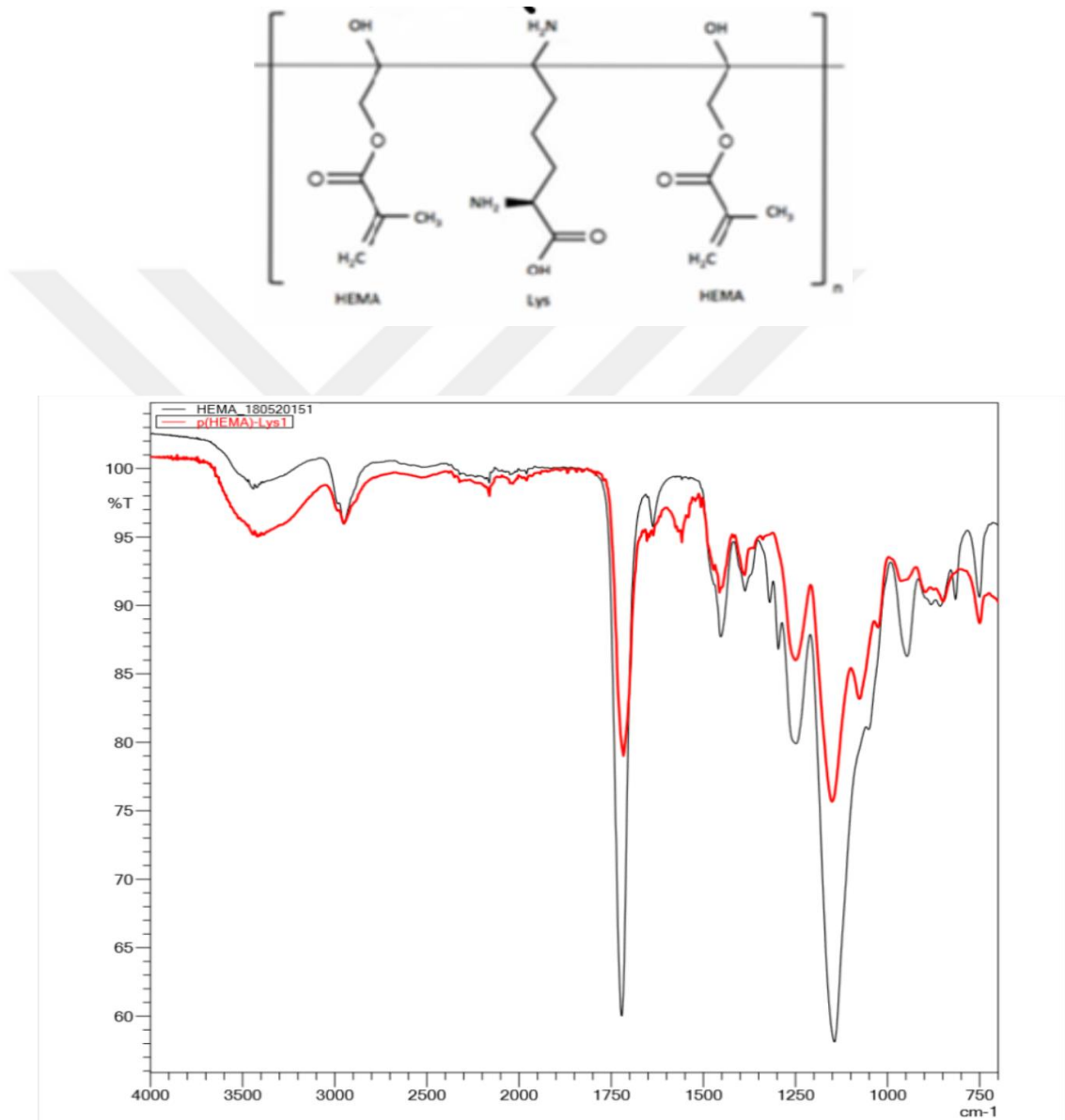
Biyodağılım sonucu elde edilen verilerin, istatistiksel Varyans analizleri ve Pearson korelasyonu, SPSS 13 yazılım programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Hedef organların gram başına düşen aktivite değerleri hesaplandıktan sonra, ^{99m}Tc ile işaretli ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)] bileşiğiyle hedef organlar arasındaki ilişkileri Pearson Korelasyonu uygulanarak %95'lik güven aralığında değerlendirilmiştir. Buna ilişkin sonuçlar 4. bölümde verilmiştir.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. [m-graft-Lys-poli(HEMA)] Moleknn Yapı Karakterizasyonuna İlişkin Sonuçlar

4.1.1. FT-IR Analiz Sonuçları



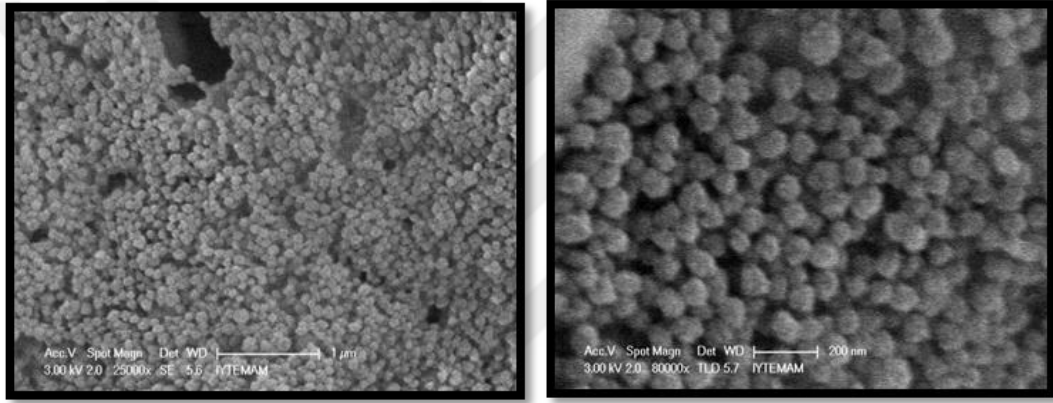
Şekil 4.1. [m-graft-Lys-poli(HEMA)] nanopolymerinin FT-IR spektrumu

FT-IR (KBr disk, cm⁻¹): 1187 (-C-N Amin gerilmesi), 1690 (-C=O ester gerilmesi) ve 2937 (- C-H gerilmesi).

m-graft-Lys-poli(HEMA)] nanopolimerinin FT-IR spektrumu incelendiğinde yapı ile uyumlu olduğu görülmektedir.

4.1.2. SEM Analizi Sonuçları

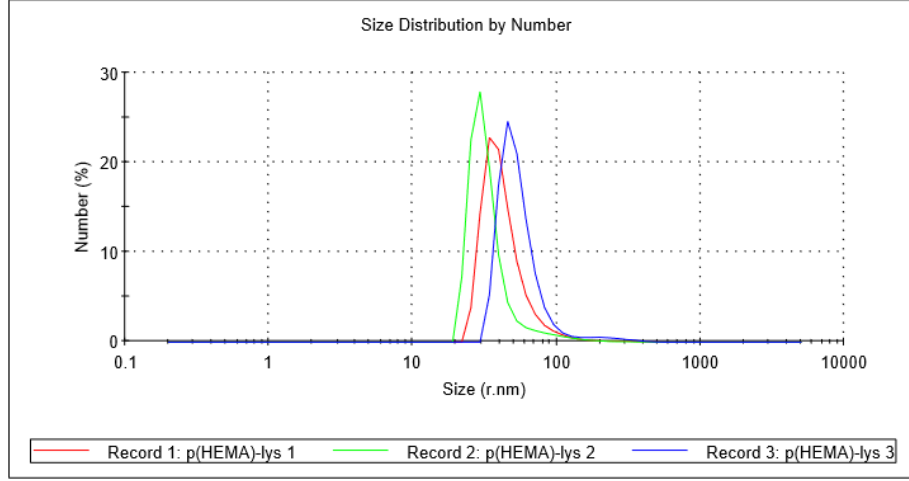
Yapılan SEM analizi polimerik yapının oluşumu, morfolojisi ve bileşimi hakkında bilgi vermektedir ve aynı zamanda, daha hassas bir yöntemdir. Bu bağlamda incelendiğinde, [m-graft-Lys-poli(HEMA)] nanopolimerinin SEM görüntüsü incelendiğinde (Şekil 4.2) nanopolimerin ortalama boyutunun 200 nm ve eş boyutlu olduğu görülmektedir.



Şekil 4.2. [m-graft-Lys-poli(HEMA)] nanopolimerinin SEM görüntüsü

4.1.3. Zeta Boyut Analizi Sonuçları

Zeta Boyut Analizine ilişkin alınan spektrum Şekil 4.3’de, sonuçlar ise Çizelge 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4.3. [m-graft-Lys-poli(HEMA)] nanopolimerinin zeta boyut analizi sonucu

Çizelge 4.1. [m-graft-Lys-poli(HEMA)] nanopolimerinin zeta boyut analiz değerleri

	Size (r.nm...)	% Number	Width (r.n...
Z-Average (r.nm): 171.1	Peak 1: 53.74	97.0	16.86
Pdl: 0.638	Peak 2: 227.1	3.0	71.14
Intercept: 0.945	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

Analiz sonucunda ortalama boyutu 227.1 nm olan polimerlerin oluştuğu görülmüştür. SEM analiz sonuçlarında polimere ilişkin olarak tespit edilen boyuttan bu değer az da olsa fazla olduğu görülmektedir. Bunun nedeni; küresel olmayan, dinamik yapıdaki nanopolimerin etrafının su molekülleri ile sarılması sonucunda oluşan hidrodinamik çapın artması ve buna bağlı olarak süspansiyon halinde bulunan nanopolimerin şişmesidir.

4.2. ^{99m}Tc ile işaretli bileşiklerin kalite kontrol çalışmaları

4.2.1. TLRC sonuçları

TLRC çalışmalarında kullanılan banyolar Çizelge 4.1'de, belirlenen pH ve SnCl₂ miktarı aralıkları Çizelge 4.2,'de verilmektedir. İşaretli bileşiğin (^{99m}Tc-[m-graft-Lys-poli(HEMA)]) ve radyoaktif bileşenlere [^{99m}Tc⁺⁷ ve indirgenmiş-Tc

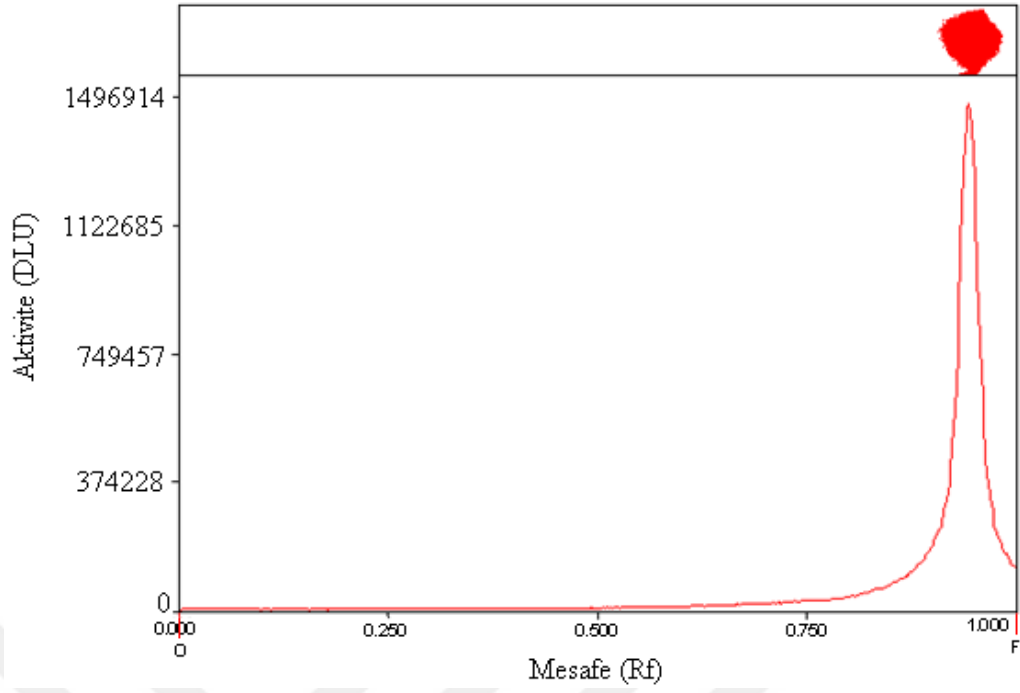
($^{99m}\text{Tc}^{+4}$)] ait R_f değerleri ve radyokromatogramlar ise sırasıyla izelge 4.2, 4.3, ve Şekil 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 4.10 'da verilmiştir.

Çizelge 4.2. Kalite kontrol çalışmalarında kullanılan TLRC banyoları

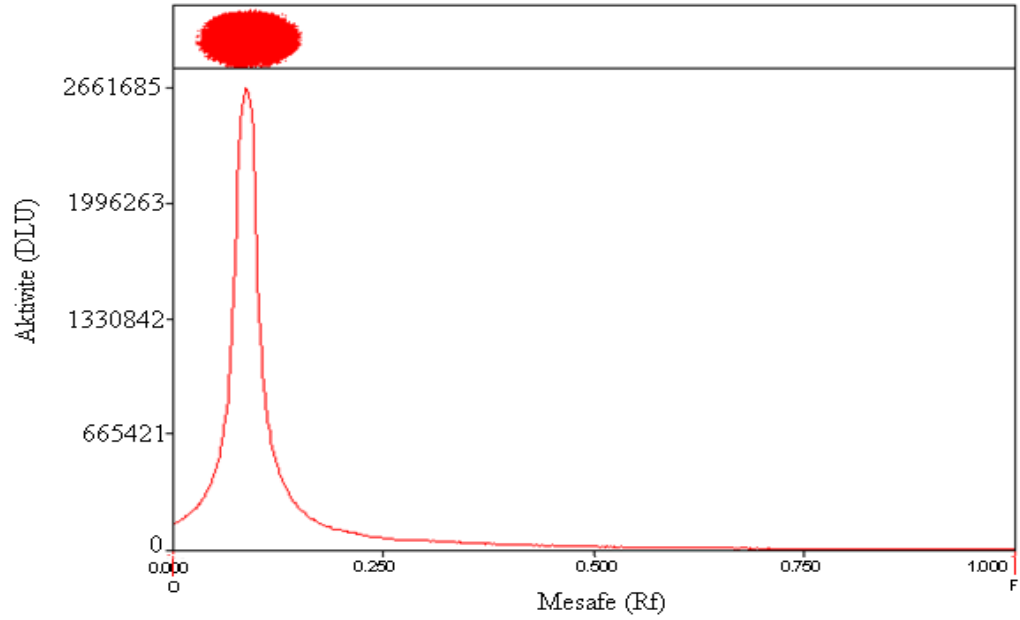
TLRC-1	SF (Serum fizyolojik) % 100
TLRC-2	Aseton % 100

Çizelge 4.3. (^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)]) ve radyoaktif bileşenlerine ait R_f değerleri

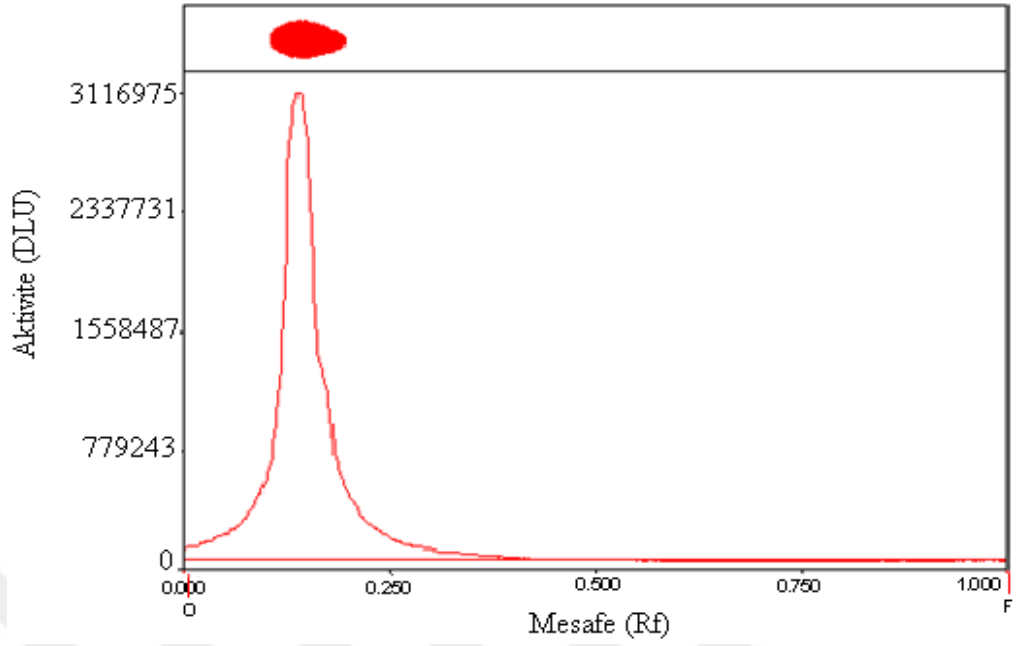
Banyo Çözeltilisi	Çalışma	SnCl ₂ miktarı (μL)	pH	R_f			% Bağlanma Verimi
				$^{99m}\text{Tc}^{7+}$	$^{99m}\text{Tc}^{4+}$	^{99m}Tc -[m- graft-Lys- poli(HEMA)]	
TLRC-2	1,3	10,50,100,150,200	4	0,9	0,1	0,1	----
TLRC-1	1,3	10,50,100,150,200	4	0,9	0,1	0,1	----
TLRC-1	4	100	7	0,9	0,1	0,9	64
TLRC-1	5	100	10	0,9	0,1	0,9	80
TLRC-1	6	200	7	0,9	0,1	0,9	85
TLRC-1	7	200	10	0,9	0,1	0,9	98
TLRC-2	4	100	7	0,9	0,1	0,9	63
TLRC-2	5	100	10	0,9	0,1	0,9	78
TLRC-2	6	200	7	0,9	0,1	0,9	83
TLRC-2	7	200	10	0,9	0,1	0,9	97



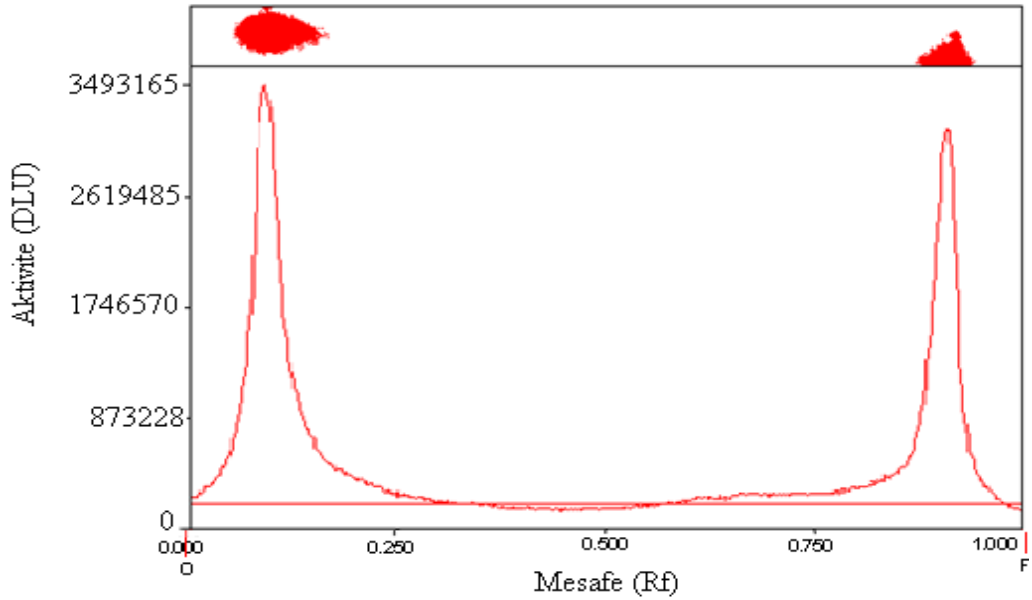
Şekil 4.4. $^{99m}\text{Tc}^{7+}$ 'nin TLRC-1 ve TLRC-2 banyoları kullanılarak yapılan çalışma 1,3 ve 4'den elde edilen radyokromatogram



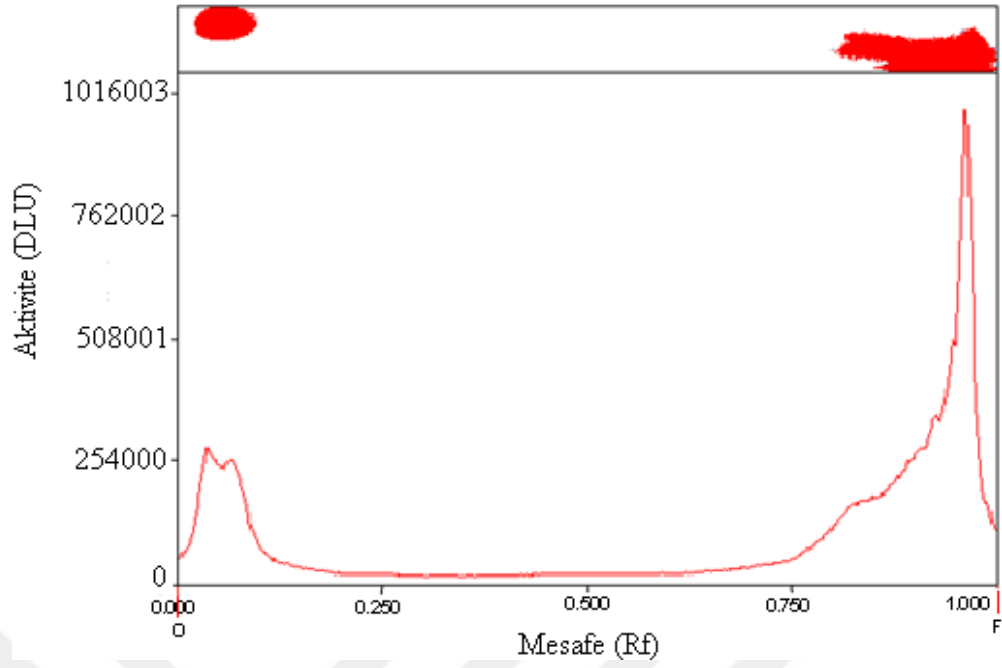
Şekil 4.5. $^{99m}\text{Tc}^{4+}$ 'ün TLRC-1 ve TLRC-2 banyoları kullanılarak yapılan çalışma 1,3 ve 4'den elde edilen radyokromatogram



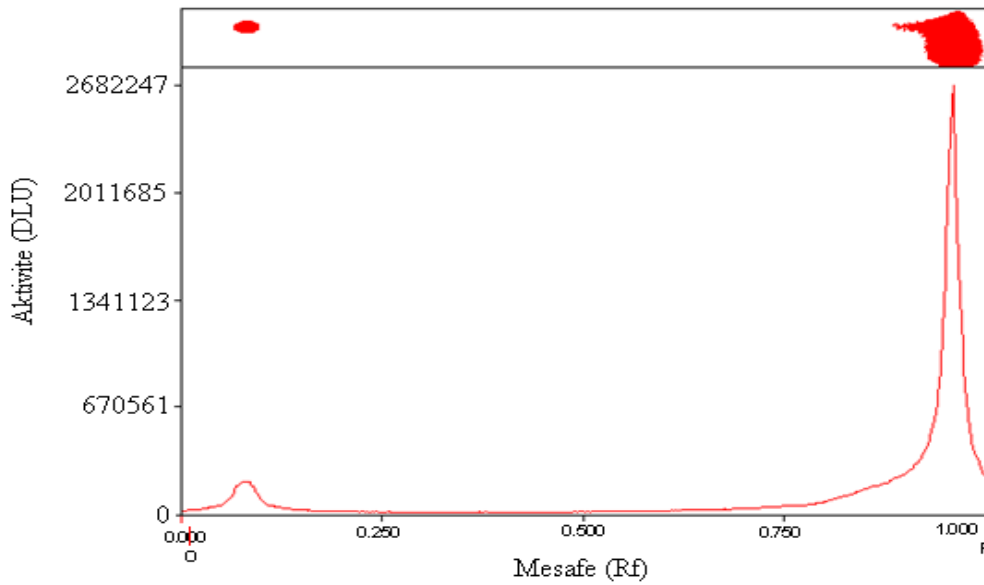
Şekil 4.6. ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nın TLRC-1 ve TLRC-2 banyoları kullanılarak yapılan çalışma 1 ve çalışma 3'ten elde edilen radyokromatogram



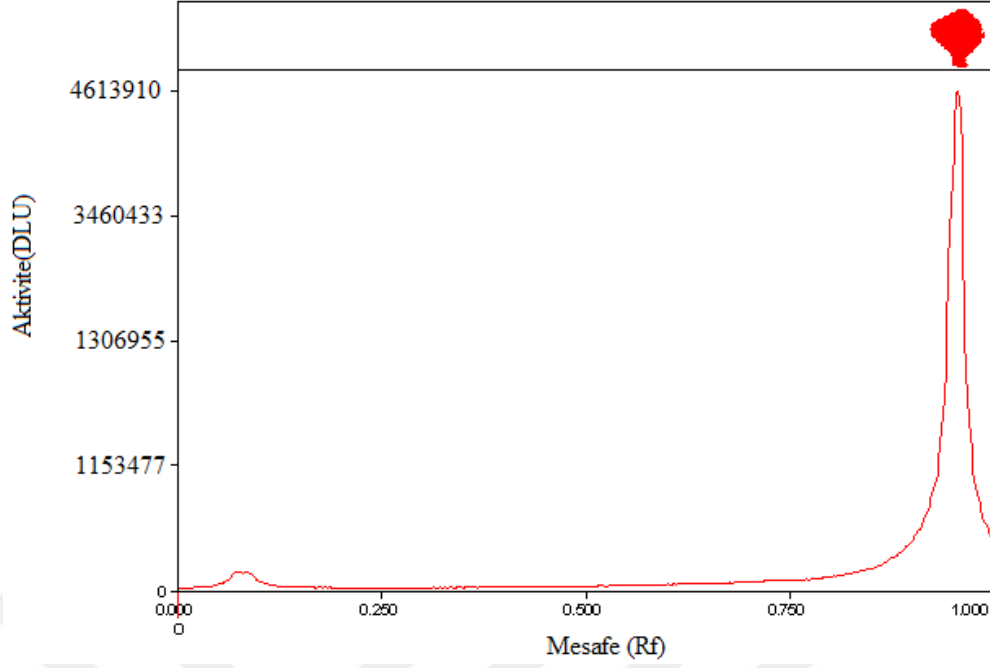
Şekil 4.7. ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nın TLRC-1 ve TLRC-2 banyoları kullanılarak yapılan çalışma 4'den elde edilen radyokromatogram



Şekil 4.8. ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nın TLRC-1 ve TLRC-2 banyoları kullanılarak yapılan çalışma 5'den elde edilen radyokromatogram



Şekil 4.9. ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nın TLRC-1 ve TLRC-2 banyoları kullanılarak yapılan çalışma 6'dan elde edilen radyokromatogram



Şekil 4.10. ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nın TLRC-1 ve TLRC-2 banyoları kullanılarak yapılan çalışma 7'den elde edilen radyokromatogram

Çizelge 4.3'de verilen R_f değerleri incelendiğinde TLRC-1 ve TLRC-2 banyolarında Çalışma 1 ve 3'te işaretli bileşiklerin ve bileşenlerinin ($^{99m}\text{Tc}^{7+}$, $^{99m}\text{Tc}^{4+}$ ve ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)]) R_f değerleri sırasıyla 0.9, 0.1 ve 0.1 olarak bulunmuştur. $^{99m}\text{Tc}^{7+}$ 'in TLRC-1 ve 2 banyosu kullanılarak Çalışma 1,3 ve 4 de elde edilen radyokromatogramı Şekil 4.4'de verilmiştir. Şekil 4.5 ve Şekil 4.10 incelendiğinde yapılan işaretleme çalışmalarında kullanılan $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ miktarı ve 1 mCi ^{99m}Tc 'in indirgenmesi için yeterliği olduğu görülmektedir. Banyolarda elde edilen R_f değerleri değerlendirildiğinde $^{99m}\text{Tc}^{4+}$ ile ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)] aynı olduğu görülmektedir. Çalışma 7 incelendiğinde pH 10'da yapılan işaretleme çalışmasına ait kromatogramlar değerlendirildiğinde ise işaretli bileşik ile $^{99m}\text{Tc}^{4+}$ 'in R_f değerlerinin aynı olduğu görülmektedir (Şekil 4.10). Çalışma 7'de TLRC-1 ve 2 banyo sistemleri kullanılarak elde edilen R_f değerleri $^{99m}\text{Tc}^{7+}$, $^{99m}\text{Tc}^{4+}$ ve ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)] sırasıyla 0.9, 0.1 ve 0.9 olarak bulunmuştur. Kullanılan banyo sistemleri ayarlanan pH aralığında işaretli örnek ile diğer radyoaktif bileşenlerin birbirinden ayrılması için uygun olduğu görülmektedir. Bağlanma veriminin daha yüksek elde edilmesine yönelik yapılan Çalışma 7'de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ miktarı artırılarak işaretleme çalışması yapılmıştır. TLRC kromatogramlarından yararlanılarak işaretli

bileşiğe ilişkin pikin toplam alanına karşılık gelen sayımlar, toplam sayıma bölünerek bağlanma verimleri hesaplanmıştır. Çalışma 7’de kullanılan koşullarda işaretleme yapılarak, bağlanma verimi 6 deneyin (n=6) ortalaması alınarak ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)] bileşiği için bağlanma verimi $\%97\pm3$ olarak bulunmuştur (Şekil 4.10).

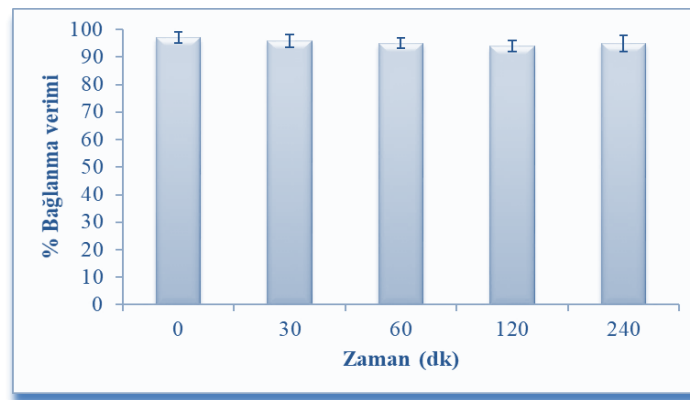
Bağlanma veriminin artırılmasına yönelik yapılan Çalışma 7’de ise ortam pH’ını 10, madde miktarını 750 μL ve $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ miktarı 200 μL işaretleme çalışması yapılmıştır. Çalışma 7 da elde edilen ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)] bileşiğine ait % bağlanma verimi $\%97\pm3$ (Şekil 4.10) olarak bulunmuştur.

4.3. $n_{\text{Octanol}} / n_{\text{Su}}$ Oranı Lipofilite Çalışması Sonuçları

^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)]’nın deneysel olarak lipofilite (LogP) değeri $-0.77\pm0,19$ olarak bulunmuştur.

4.4. Stabilite Çalışması Sonuçları

^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)]’nın % Bağlanma Verimi-zaman değişimine ait grafik Şekil 4.11’de verilmiştir. ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)]’nın stabilite çalışmalarında SF (Serum fizyolojik) % 100 banyosu kullanılarak yapılan TLRC sonuçlarına göre ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)]’nın 0, 30, 60, 90, 120 ve 240 dakikalarda $+4\text{ }^\circ\text{C}$ ve oda sıcaklığında ($25\text{ }^\circ\text{C}$) işaretleme verimleri hesaplanmıştır. Bu sonuçlara göre ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)]’nın 240 dakika boyunca oda sıcaklığında ($24\text{ }^\circ\text{C}$) yaklaşık olarak % 95-97 oranında kararlı olduğu bulunmuştur.



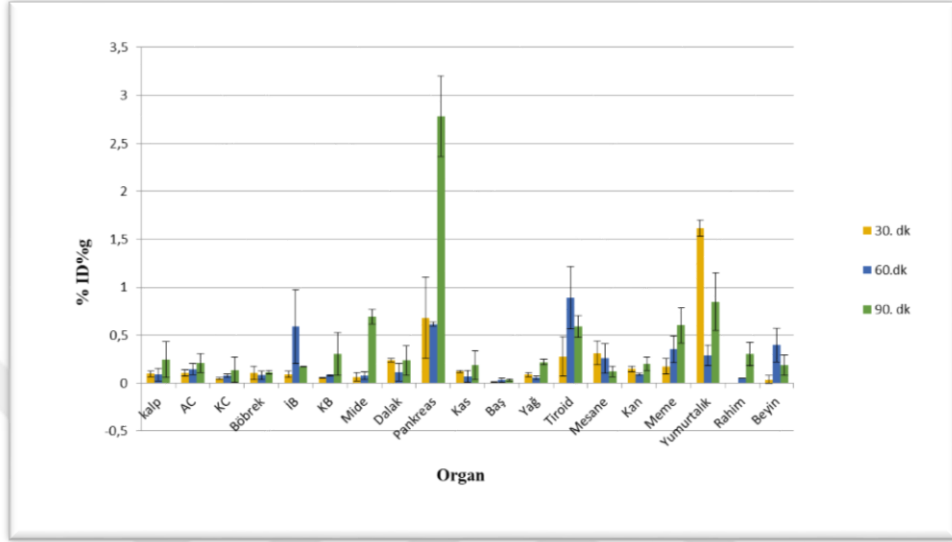
Şekil 4.11. ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)]’nın zaman içerisindeki stabilitesine ait sonuçlar

4.5. Biyodağılım Çalışması Sonuçları

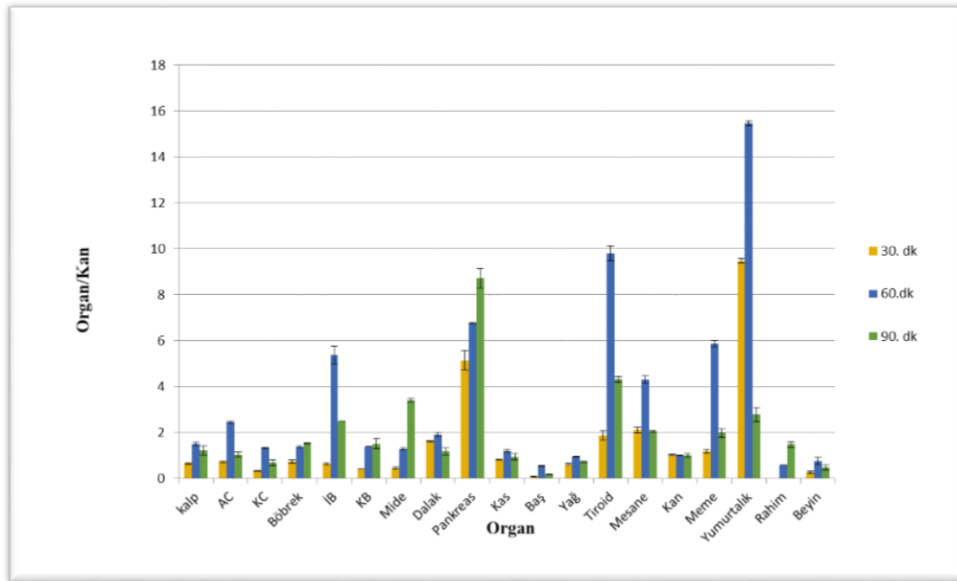
Çizelge 4.4. Biyodağılım çalışmasında elde edilen % ID/g değerleri

ORGAN	% ID/g			STANDART SAPMA		
	30. dk	60.dk	90. dk	30. dk	60.dk	90. dk
kalp	0.097755374	0.090139144	0.247652678	0.097755	0.090139	0.247653
AC	0.107183987	0.147870475	0.210354498	0.107184	0.14787	0.210354
KC	0.047372473	0.079814443	0.138662046	0.047372	0.079814	0.138662
Böbrek	0.107384353	0.082733761	0.114049355	0.107384	0.082734	0.114049
İB	0.094241156	0.591720069	0.172244236	0.094241	0.59172	0.172244
KB	0.058224254	0.083520058	0.306300867	0.058224	0.08352	0.306301
Mide	0.065595689	0.077083122	0.693010838	0.065596	0.077083	0.693011
Dalak	0.240338142	0.114861577	0.238570544	0.240338	0.114862	0.238571
Pankreas	0.681392948	0.614099294	2.779813879	0.681393	0.614099	2.779814
Kas	0.122538854	0.071811992	0.191059139	0.122539	0.071812	0.191059
Baş	0.011630867	0.032891134	0.033401766	0.011631	0.032891	0.033402
Yağ	0.091595125	0.05712014	0.220082306	0.091595	0.05712	0.220082
Tiroid	0.279865591	0.889005358	0.59358513	0.279866	0.889005	0.593585
Mesane	0.315265468	0.260085367	0.121879336	0.315265	0.260085	0.121879
Kan	0.150262231	0.090737314	0.204226114	0.150262	0.090737	0.204226
Meme	0.176641981	0.355107599	0.603614442	0.176642	0.355108	0.603614
Yumurtalık	1.6156315	0.292871155	0.848545998	1.615631	0.292871	0.848546
Rahim	0	0.051876396	0.302290999	0	0.051876	0.302291
Beyin	0,037780028	0,400310897	0,187299556	0,03778	0,400311	0,1873

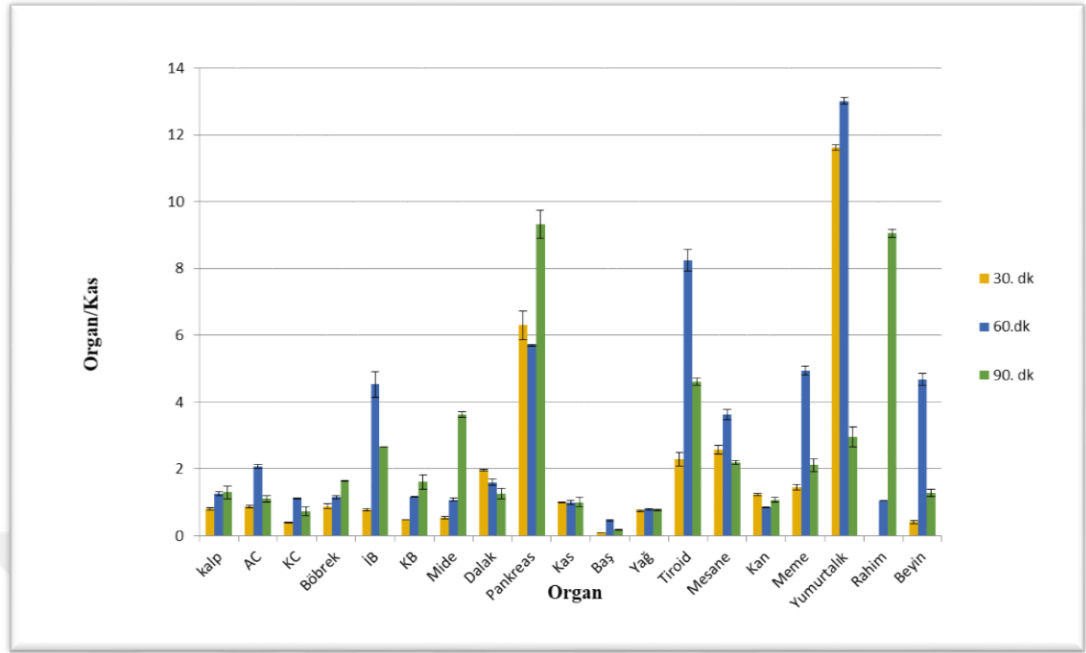
Dişi Albino Wistar sıçanlar üzerinde gerçekleştirilen biyodağılım çalışmalarında organlara ait %ID/g değerleri 30, 60 ve 90. dakikalarda ölçülmüş ve bunlara ait sonuçlar Çizelge 4.4’de verilmiştir. Çizelge 4.4 değerleri incelendiğinde tüm dokulardaki en yüksek tutulumun 90. dakikada olduğu görülmektedir.



Şekil 4.12. ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)] bileşiğinin Albino Wistar sıçanlardaki biyodağılımının standart sapma grafiği



Şekil 4.13. ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)] bileşiğinin organlardaki hedef organ/kan oranları



Şekil 4.14. ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)] bileşiğinin organlardaki hedef organ/kas oranları

^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)] bileşiğinin sıçanlar üzerindeki biyodağılım çalışmaları değerlendirildiğinde pankreas, yumurtalık ve meme hedef organlar olarak görülmektedir. İşaretli bileşiğe ait biyodağılım çalışmaları sonucunda 30. 60. ve 90. dakikalarda elde edilen % ID/g (organ) verilerine göre söz konusu organlara ait aktiviteler sırasıyla $(0.61\pm 0.56, 0.68\pm 0.021, 2.77\pm 1.44)$, $(1.61\pm 1.06, 0.29\pm 0.10, 0.84\pm 0.30)$, $(0.27\pm 0.20, 0.88\pm 0.71, 0.59\pm 0.11)$ ve $(0.17\pm 0.08, 0.35\pm 0.13, 0.60\pm 0.18)$ 'dir.

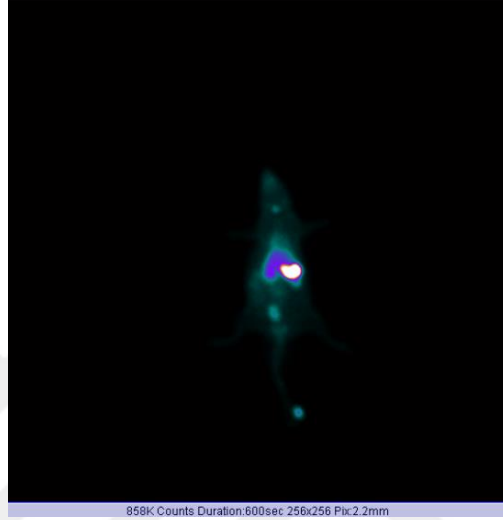
4.6. Sintigrafi Çalışması Sonuçları

Çizelge 4.5. Sintigrafi çalışması sonuçları (ROI değerleri)

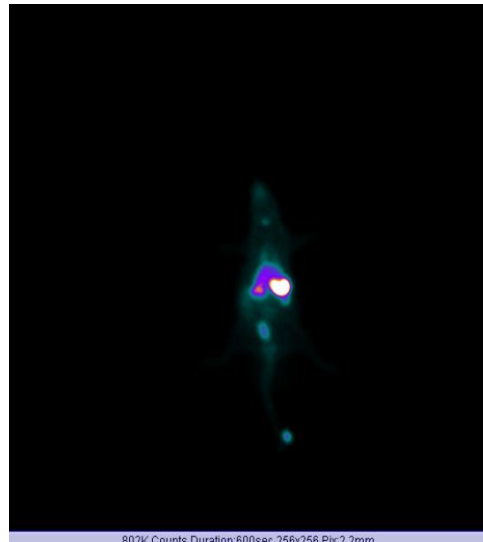
AŞI Fare	30 dk	60 dk	90 dk	120 dk	150 dk	180 dk
Tiroid/BG	6.00	5.14	4.46	4.27	4.76	4.06
Kalp/BG	12.01	9.48	9.14	10.15	8.81	7.91
RAC*/BG	5.00	4.47	4.73	4.86	4.86	3.97
LAC**/BG	6.53	5.88	5.91	5.62	7.67	5.82
KC***/BG	22.95	31.7	29.23	35.04	36.99	35.13
Mide/BG	66.43	92.35	105.36	92.92	82.07	102.05
Beyin/BG	4.74	3.33	3.09	3.38	3.41	3.33

* Sağ Akciğer, ** Sol Akciğer, *** Karaciğer anlamındadır.

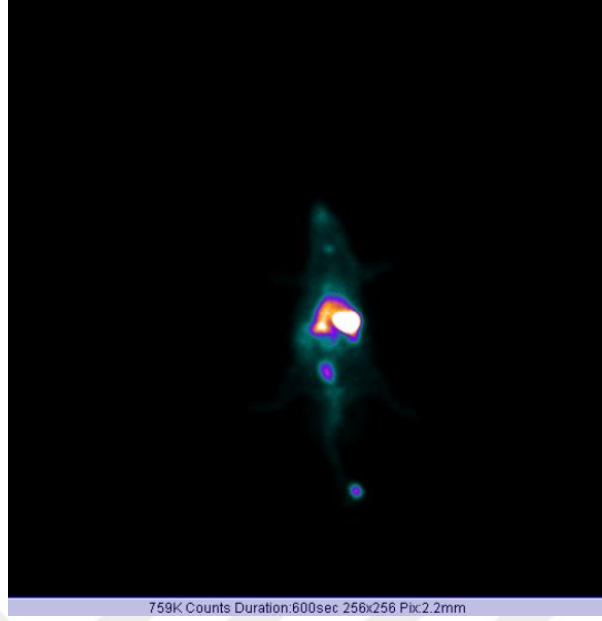
^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)] nanopolimerinin 30, 60, 90, 120, 150, ve 180 dk'daki statik sintigrafi görüntüleri sırasıyla Şekil 4.15, 4.16, 4.17, 4.18, 4.19 ve 4.20'de 30. dk'daki dinamik görüntü de Şekil 4.21'de verilmiştir. Sintigrafi çalışmalarına ait ROI (Ratio of Interest) değerleri de Çizelge 4.5'de gösterilmektedir.



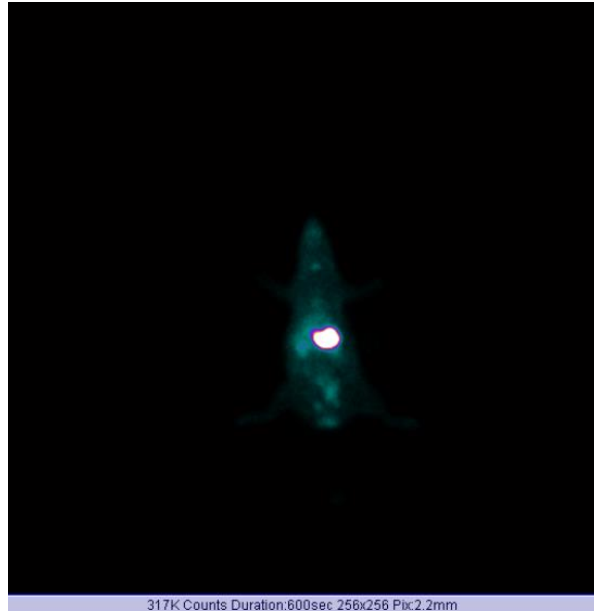
Şekil 4.15. ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nin 30.dakikada elde edilen statik görüntü.



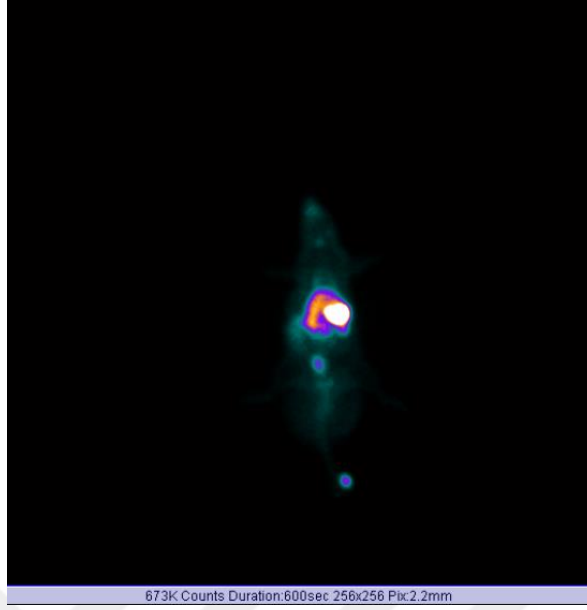
Şekil 4.16. ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nin 60.dakikada elde edilen statik görüntü.



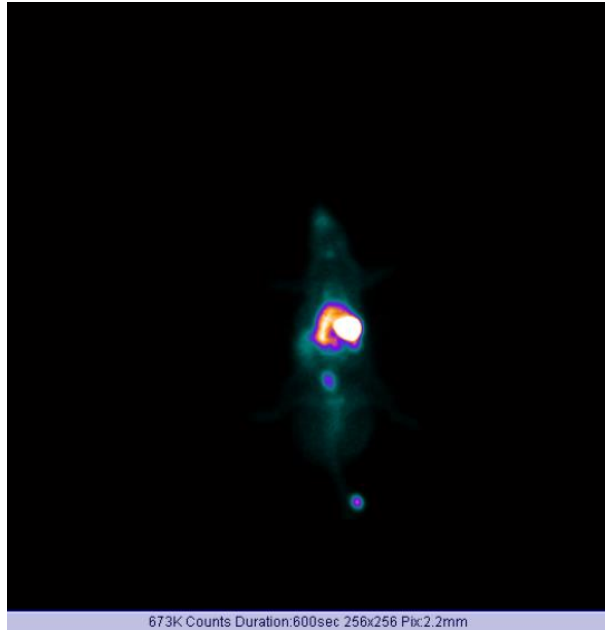
Şekil 4.17. ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nın 90.dakikada elde edilen statik görüntü.



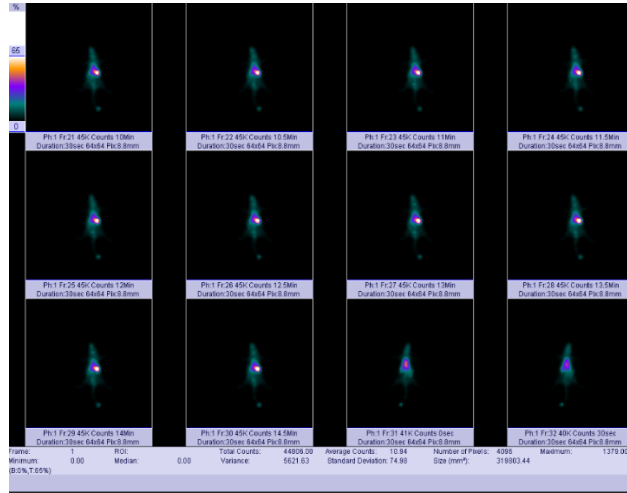
Şekil 4.18. ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nın 120.dakikada elde edilen statik görüntü.



Şekil 4.19. ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nın 150.dakikada elde edilen statik görüntü.



Şekil 4.20. ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nın 180.dakikada elde edilen statik görüntü.



Şekil 4.21. ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nın 30.dakikada elde edilen dinamik görüntü

ROI değerleri troid, kalp, sağ akciğer (RA), sol akciğer (LA), Mide, karaciğer (KC) ve beyin için verilmiştir. Bu değerler incelendiğinde en yüksek tutulumların Beyin, Kalp ve Tiroid için 30 dk'da, Karaciğer ve Sol Akciğer için 150'dk'da, Mide için 90 dk'da, Sağ Akciğer için 120 dk'da ve Beyin için de 30 dk'da olduğu görülmektedir. Özellikle Beyindeki tutulum oldukça önemlidir. Bu organdaki tutulum işaretli nanopolimerin Kan Beyin Bariyeri'ni (KBB) geçebildiğini göstermektedir. Taşıyıcı aracılıklı taşınma (Carrier-mediated transport, CMT), kanda sirküle eden (devreden) besin ve peptidlerin beyine taşınması için potansiyele sahip bir yoldur. KBB, besin ve endojen bileşikler için çeşitli taşıma sistemlerine sahiptir. Bunlardan biri Lizin bazik amino asit taşıma sistemidir [56]. İşaretli bileşiğimiz olan bazik yapıdaki ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nın lizin yardımıyla, önemli bir aktivite görünümüyle, KBB'ni geçebildiğini kanıtlamıştır. Çok az sayıda ilacın bu bariyeri geçebildiği düşünüldüğünde bu sonucun oldukça kıymetli olduğu sonucunu doğurur.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan tüm çalışmaların sonucuna göre;

- ❖ [m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nın kimyasal sentezi gerçekleştirilmiş ve sentezlenen bileşiğe ilişkin yapı karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalar, [m-graft-Lys-poli(HEMA)] 'nın kimyasal yapısını tam anlamı ile desteklemektedir.
- ❖ Sentezlenen nanopolimerin karakterizasyonu SEM, FT-IR ve Zeta Boyut analiz yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yapılan karakterizasyon çalışmaları nanopolimere ilişkin verilen muhtemel kimyasal yapıyı destekler niteliktedir.
- ❖ Sentezlenen nanopolimer doğrudan bağlama yöntemi kullanılarak belirlenen optimum koşullarda ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ miktarı 200 μL , pH 10 madde miktarı, 750 μL ve 1 mCi $^{99\text{m}}\text{Tc}$) $^{99\text{m}}\text{Tc}$ radyonüklidi ile işaretlenmiştir. Buna ilişkin bağlanma verimi yaklaşık %97 olarak bulunmuştur.
- ❖ Gerçekleştirilen lipofilit ve stabilite çalışmaları sonucunda nanopolimerin deneysel lipofilit (LogP) değeri -0.77 ± 0.19 değerinin olduğu, stabilitesinin ise oda sıcaklığında 4 saat boyunca kararlı olduğu tespit edilmiştir.
- ❖ Sintigrafi çalışmalarının sonucunda işaretli bileşiğin özellikle beyindeki tutulumunun yüksek olduğu görülmüştür.
- ❖ Biyodağılım çalışmalarının sonucunda dişi Albino Wistar sıçanlarda pankreas, yumurtalık ve meme hedef organ olabileceği sonucuna varılmıştır. Aynı zamanda biyodağılım çalışmalarının sintigrafi çalışmaları ile uyum içerisinde olduğu görülmüştür.

Elde edilen tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde, özellikle üzerinde çalışılan nanopolimerin ilk defa sentezlenmiş olması ve bununla ilgili olarak gerçekleştirilen nükleer çalışmaların literatürde daha önce yapılmamış olması, bu çalışmanın nükleer

tıp alanındaki önemini ortaya koyması açısından önemlidir. Bu bağlamda, ^{99m}Tc -[m-graft-Lys-poli(HEMA)]'nın dişi sıçanlarda, pankreas, yumurtalık, meme ve beyinde yüksek tutulum göstermesi, ilgili bileşiğin bu organlar ile ilgili kanserlerin tedavisi ve teşhisinde kullanılma potansiyelini açığa çıkarması bakımından son oldukça önemlidir. İşaretli bileşiğin bir radyofarmasötik olarak bu amaç için kullanılabilmesi ise daha ileriki aşamalarda yapılması planlanan hücre çalışmalarının olumlu sonuçlar vermesi ile mümkün olabilecektir.



KAYNAKLAR

1. Kanavis, P., The rising burden of cancer in the developing World, *Annals of Oncology* , 2006,17: 15-23.
2. Roco, M.C., Nanotechnology: convergence with modern biology and medicine, *Current Opinion in Biotechnology* , 2003 14: 337-346.
3. Baker, J.R., Quintana A., Pehlerel, L., Banazak-Hollal, M., Tomalia, D., Raczka, E., The synthesis and testing of anti- cancer therapeutic nanodevices, *Biomedical Microdevices* , 2001, 3(1): 61-9.
4. Bawa, R., Patents and nanomedicine, *Nanomed, Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2007, 2: 351-74.
5. Farokhzad, OC., Langer, R., Nanomedicine: Developing smarter therapeutic and diagnostic modalities, *Advanced Drug Delivery Reviews* , 2006, 58: 1456-9.
6. Convreur, P., Vauthier, C., Nanotechnology: Intelligent design to treat complex disease, *Pharmaceutical Research* , 2006, 27(7): 1417-1450.
7. Kumar, B., Yadav, PR., Goel, HC., Moshahid, M., Rizvi, A, Recent developments in cancer therapy by the use of nanotechnology, *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 2009, 4(1): 1-12.
8. Haley, B., Frenkel, E., Nanoparticles for drug delivery in cancer treatment, *Urologic Oncology*, 2008, 26(1): 57-64.
9. Sing, J., Tremendous potential for cancer treatment: Nanotechnology, *The Indian Pharmacist* , 2008 8: 23-26.
10. Torchilin, VP., Targeted pharmaceutical nanocarriers for cancer therapy and imaging *American Association of Pharmaceutical Scientists*., 2007, 9(2): 128-147.
11. Loo, C., Lin, A., Hirsch, L., Lee, M., Marton, J., Halas, N., West, J., Drezek, R., Nanoshell-enabled photonicsbased imaging and therapy of cancer, *Technology in Cancer Research & Treatment* , 2004, 91-110.
12. Carelle, N., Piotto, E., Bellanger, A., Germanaud, J., Thuiller, A., Khayat, D., Changing patient perceptions of side effects of cancer chemotherapy, *American Cancer Society*, 2002, 95: 155-63.
13. O'Connor, R., The pharmacology of cancer resistance, *Anticancer Research* , 2007, 27: 1267-72.
14. Higgins, CF., Multiple molecular mechanisms for multidrug resistance transports, *Nature Research.*, 2007, 446: 749-57.
15. Kataoka, K., Harada, A., Nagasaki, Y., Block copolymer micelles for drug delivery: design, characterization and biological significance, *Advanced Drug Delivery Reviews* , 2001, 43: 113-31.
16. Nishiyama, N., Kataoka, K., Nanostructured devices based on block copolymers assemblies for drug delivery: designing structures for enhanced drug function, *Advances in Polymer Technology*, 2006, 193: 67-101.
17. <http://vkc.library.uu.nl>
18. Gaucher, G., Dufresne, M.H., Sant, V.P., Kang, N., Maysinger, D., Leroux, J.C., Block copolymer micelles: Preparation, characterization and application in drug delivery, *Journal of Controlled Release*, 2005, 109: 169-88.
19. Bay, Y., Jang, W.D., Nishiyama, N., Fukushima, S., Kataoka, K., Multifunctional polymeric micelles with folate-mediated cancer cell targeting and pH triggered drug releasing properties for active intracellular drug delivery, *Molecular BioSystems* , 2005, 1: 242-50.
20. Moffat, B.A., Reddy, G.R., McConville, P., Hall, D.E., Chenevert, T.L., Kopelman, R.R., Philbert, M., Weissleder, R., Rehemtulla, A., Ross, B.D., A novel

polyacrylamide magnetic nanoparticle contrast agent for molecular imaging using MRI, *Molecular Imaging*, 2001, 2(4): 324–32.

21. <http://labs.cas.usf.edu/>
22. <http://www.purdue.edu/REM/rs/sem.htm>
23. <http://wsm.wsu.edu>
24. Joshi, M., Bhattacharyy,a A., Wazed, S.A., Characterization techniques for nanotechnology applications in textiles, *Indian Journal of Fibre & Textile Research*, 2008, 33: 304-317,.
25. <http://www.eaglabs.com>
26. Ratner, B., et al., *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, San Diego, Elsevier Academic Press,1996.
27. <http://www.sigmaaldrich.com>
28. Sherma, J., Larkin, J.D., Larkin, F.H., Thin Layer radiochromatography, a field guide to instrumentation, *Journal Of the Association of Official Analytical Chemists International.*, 2009, 92:1.
29. Sherma, J., Basic Techniques, Materials and Apparatus, In *Handbook of Thin Layer Chromatography*, New York: Marcel Dekker Inc. Drugs And The Pharmaceutical Sciences, 1991, 55: 3-41.
30. Fried, B., Sherma, J., Thin-Layer Chromatography: Techniques and Applications, Mechanism and Theory, Chapter 2 in *Thin Layer.*, 1986, 2:35.
31. <http://myweb.brooklyn.liu.edu/msavva>
32. http://en.wikipedia.org/wiki/Partition_coefficient
33. Acar, Ç., ^{99m}Tc ile işaretli D-Penisilamin 'in bifonksiyonel şelatlama ajanı olarak kullanılması, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Nükleer Bilimler Ana Bilim Dalı, İzmir, 2005, 55 s. (Yüksek Lisans Tezi).
34. Enginar, H., ^{99m}Tc ile işaretli estradiol türevi radyofarmasötiklerin sentezi ve radyofarmasötik potansiyellerinin incelenmesi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Nükleer Bilimler Ana Bilim Dalı, İzmir, 2002, 120 s. (Doktora Tezi).
35. Tunç, M., Penisilamin ve penisilamin di sülfid'in ^{99m}Tc ile işaretlenmesi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Nükleer Bilimler Ana Bilim Dalı, İzmir, 1996 (Yüksek Lisans Tezi).
36. <http://www.lenntech.com/Periodic-chart-elements/Tc-en.htm>
37. Kekilli, E., Nükleer Tıp'a Giriş "Radyofarmasinin prensipleri", 2001, Malatya.
38. Ünak, T., Temel nükleer kimya ders notları, Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Teksirler serisi: 137 (II. baskı), Baskı işleri, Bornova-İzmir, Türkiye, 2007.
39. <http://www.monrol.com.tr>
40. Arano, Y., Recent advances in ^{99m}Tc radiopharmaceuticals, *Annals of Nuclear Medicine*, Vol. 16, No. 2, 2002 79-93.
41. Ghosh, P., Han, G., Dey, M., Kim, C.K., Rotello, V.M., Gold nanoparticles in drug delivery applications, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60: 1307-15, 2008.
42. Ünak, T., Ünak, P., Ongun, B., Duman, Y., Synthesis and Iodine-125 labeling of glucuronide compounds for combined chemo- and radiotherapy of cancer, *Applied Radiation and Isotopes* , Vol. 48, No. 6,1997, 777-783.
43. Ertay, T., Ünak, P., Bekis, R.,Yurt, F., Biber, F.Z., Durak, H., New radiolabeled CCK-8 analogues [Tc-99m-GH-CCK-8 and 99mTc-DTPA-CCK-8]: preparation, and biodistribution studies in rats and rabbits, *Nuclear Medicine and Biology*, Vol. 28., 2001, 667-678.

44. <http://en.wikipedia.org/wiki/Technetium-99m-generator>
45. Alberto, R., Abram, U., and Klencsar, Z. (Eds.), ^{99m}Tc: Labeling chemistry and labeled compounds, Handbook of Nuclear Chemistry, Kluwer, Vol. 4, 2003, pp. 211-256.
46. <http://en.wikipedia.org/wiki/Dithiothreitol>
47. Taner, S.M., Küçük moleküllü peptidlerin Teknesyum-99m perteknatat (^{99m}TcO⁴⁻) ile işaretlenmesi ve nükleer tıp'ta kullanılabilirliğinin incelenmesi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Nükleer Bilimler Ana Bilim Dalı, İzmir, 2001 (Doktora Tezi).
48. Du, J., Hiltunen, J., Marquez, M., Nilsson, S., Holmberg, R. A., Technetium- 99m labeling of glycosylated somatostatin-14, Applied Radiation and Isotopes, Vol. 55, 2001, 181-187 s.
49. 25. Gandomkar, M., Najafi, R., Ebrahimi, S. S. E., Shafiee, A., Babaei, M. H., Rabbani, M., Shabani, G. A., Direct labelling of octreotide with 99mTc: effect of different concentration of reducing agents and amount of sodium pertechnetate on radiolabelling efficiency, Applied Radiation and Isotopes, Vol. 58, 2003, 361-364 s.
50. Demir, İ., Radyoişaretli Bevacizumab'ın radyofarmasötik potansiyelinin incelenmesi, Nükleer Bilimler Anabilim Dalı, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Nükleer Bilimler Ana Bilim Dalı, İzmir, 2009 (Yüksek Lisans Tezi).
51. Kılıç, E., Köseoğlu, F., Yılmaz, H., Enstrümantal analiz ilkeleri, Birinci Baskı, Bilim Yayıncılık, ISBN: 9789755560410, Kızılay, Ankara, 2007.
52. Vera-Ruiz, H., Marcus, C. S., Pike, V. W., Conen, H. H., Fowler, J. S. , Meyer, G. J., Cox, P. H., Vaalburg, W., Cantineau, R., Helu, F. and Lambrecht, R. M., Report of an international atomic energy agency's advisory group meeting on quality control of cyclotron-produced radiopharmaceuticals Nuclear Medicine And Biology Journal,, Vol. 17, No. 5, 1990, 445-456.
53. <http://vimed.s.ktu.edu.tr/nukleertip>
54. Erselcan, T., Tamgaç, F., Klinik uygulamada nükleer tıp, 1. Baskı ISBN 975-97630-0-1, Ünal Ofset, İstanbul, 2001.
55. Silva, M.M.C., Luciana, P., Gano, L., Luisa, M., Melo, M.M., Inohae, E., Mataka, S., Thiemann, T., Synthesis and biological evaluation of two new radiolabelled estrojens: [¹²⁵I](E) - 3- methoxy- 17 α - iodovinylestra - 1,3,5(10),6 - tetraen -17 β -ol and [125I] (Z)-3-methoxy-17 α -iodovinylestra-1,3,5(10),6-tetraen-17 β -ol, Applied Radiation and Isotopes, Vol. 54, 2001, 227-239 s.
56. Çetin, M., Çapan, Y., Beyne İlaç Hedeflendirilmesi, Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi, 2004, 33 (4) 287 – 305 s.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Buket ATEŞ
Doğum Yeri ve Yılı : İzmir, 1993
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : buket_55@gmail.com

Eğitim Durumu

Lise : İzmir İnönü Lisesi, 2007-2011
Lisans : Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Kimya Bölümü, 2011-2015
Yüksek Lisans : Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Kimya Bölümü, 2015– (halen)

Mesleki Deneyim

Kurum bilgisi : T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı İzmir Gıda Kontrol Laboratuvarı – 2013 (30 gün Staj)
Kurum bilgisi : Deppo Özel Gıda Kontrol Laboratuvarı – 2014 (30 gün Staj)
Kurum bilgisi : Simurg İlaç Ve Kimya San. Tic. Ltd. Şti. Şirketin de Kimyager – 2015- 2017 (iş)
Kurum bilgisi : İzmir Paketleme ve Lojistik san. Tic. Ltd. Şti. Kimyager – 2017 – (hala devam ediyor)(iş)

Yayınları

Avcıbaşı U., Demiroğlu H., Sakarya S., Unak P., Tekin V., Ateş B., The effect of radiolabeled antibiotics on biofilm and microorganism within biofilm, Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 2018, 316:275–287

Uyaroğlu Ö., Demiroğlu H., Topal G., Parlak Y., Gümüşer F.G., Uluer Türköz E., Tekin V., Ateş B., Ünak P., Avcıbaşı U., Radiosynthesis and biodistribution of ^{99m}Tc-Sulfamethoxazole: a novel molecule for in-vivo infection imaging, Medicinal Chemistry Research, 2017, DOI 10.1007/s00044-017-2009-4