



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü



ZONİSAMİD'İN RADYOİŞARETLENMESİ VE *İN VİTRO* POTANSİYELİNİN İNCELENMESİ

Yüksek Lisans Tezi

Emine DERVİŞ

Nükleer Bilimler Anabilim Dalı

İzmir
2020

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

**ZONİSAMİD'İN RADYOİŞARETLENMESİ VE
İN VİTRO POTANSİYELİNİN İNCELENMESİ**

Emine DERVİŞ

Danışman: Doç. Dr. Ayfer YURT KILÇAR

Nükleer Bilimler Anabilim Dalı
Nükleer Uygulamalar Yüksek Lisans Programı

İzmir
2020



Emine DERVİŞ tarafından **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak sunulan “Zonisamid’in Radyoişaretlenmesi ve *in vitro* Potansiyelinin İncelenmesi” başlıklı bu alıŐma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliđi ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuŐ ve 10/09/2020 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği ile baŐarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri BaŐkanı : Doç. Dr. Ayfer YURT KILÇAR

Raportör Üye: Doç. Dr. Vedat EVREN

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Mümin Alper ERDOĞAN



EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum "Zonisamid'in Radyoışaretlenmesi ve in vitro Potansiyelinin İncelenmesi" başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

15/09/2020

Emine DERVİŞ





ÖZET**ZONİSAMİD'İN RADYOİŞARETLENMESİ VE *IN VITRO*
POTANSİYELİNİN İNCELENMESİ**

DERVİŞ, Emine

Yüksek Lisans Tezi, Nükleer Bilimler Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ayfer YURT KILÇAR

Eylül 2020, 49 sayfa

Dünya genelinde milyonlarca insan beyin hastalıklarıyla mücadele etmeye çalışmaktadır. Beyin hastalıklarının tanı ve tedavisinde; görüntülenme yöntemleri, radyofarmasötikler, antiepileptik ilaçlar, teknesyum-99m (^{99m}Tc) önemli unsurlardandır. Bu tez çalışmasında; epilepsi ve Parkinson hastalıklarına ait semptomların tedavi sürecinde kullanılan bir ilaç olan Zonisamid'in (ZNS) Nükleer Tıp'ta ideal görüntülenme özelliklerine sahip ve sıklıkla kullanılan radyonüklidlerden biri olan ^{99m}Tc ile radyoışaretlenmesi ve *in vitro* potansiyelinin incelenmesi amaçlanmıştır. Radyoışaretle Zonisamid (^{99m}Tc -ZNS) beyin görüntüleme ajanı olarak ümit vaat eden bir potansiyele sahip olabileceği öngörülmektedir.

Bu amaç doğrultusunda, antiepileptik bir ilaç olan ZNS önemli bir görüntüleme radyonüklidi olan ^{99m}Tc ile radyoışaretlenmiştir. ^{99m}Tc ile radyoışaretle ZNS için kromatografik yöntemlerle gerçekleştirilen kalite kontrol çalışmaları ile ZNS'in yüksek verimde radyoışaretlenme potansiyeline sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, ^{99m}Tc -ZNS'in *in vitro* ve radyokararlılığı belirlenmiştir. *In vitro* hücre kültürü çalışmaları kapsamında; SH-SY5Y hücreleri üzerinde ZNS'in hücre canlılığı üzerindeki etkisi belirlenmiş ardından radyoışaretleli ilacın (^{99m}Tc -ZNS) hücreler üzerindeki tutulumu incelenmiştir.

Tüm deneysel basamaklar ve sonuçlar değerlendirildiğinde ise antiepileptik ilaç olan ZNS'nin, Nükleer Tıp'ta sıklıkla kullanılan radyonüklidlerden biri olan ^{99m}Tc ile radyoışaretlenme veriminin % 95'in üzerinde 4 saat boyunca kararlılığını koruduğu görülmüştür. Elde edilen bu ajanın birçok beyin hastalığının tanı ve tedavisinde kullanılabilme potansiyelinin olması umut vaat edici olmuştur.

Anahtar Kelimeler: Zonisamid (ZNS), Antiepileptik ilaçlar, Epilepsi, Radyoışaretleme, Teknesyum-99m (^{99m}Tc), Beyin görüntüleme.



ABSTRACT**RADIOLABELING OF ZONISAMIDE AND INVESTIGATION OF ITS *IN VITRO* POTENTIAL**

DERVIS, Emine

MSc Thesis, Department of Nuclear Sciences

Supervisor: Assoc. Prof. Ayfer YURT KILCAR

September 2020, 49 pages

Millions of people around the world are trying to struggle with brain diseases. Imaging methods, radiopharmaceuticals, antiepileptic drugs, technetium-99m (^{99m}Tc) are some of the important elements of diagnosis and treatment of brain diseases.

In present thesis; it is aimed to radiolabel Zonisamide (ZNS), which is a drug used in the treatment process of symptoms of epilepsy and Parkinson's diseases, with ^{99m}Tc , which is one of the most frequently used radionuclides in Nuclear Medicine, and to determine its *in vitro* potential. It is anticipated that radiolabeled Zonisamide (^{99m}Tc -ZNS) may have the promising potential of use as a neuroimaging agent.

In accordance with this purpose; ZNS, an antiepileptic drug, was radiolabeled with an important imaging radionuclide, ^{99m}Tc . It has been shown that ZNS has high efficiency radiolabeling potential with the chromatographic quality control methods. In addition, *in vitro* and radiostability of ^{99m}Tc -ZNS has been determined. Within the scope of *in vitro* cell culture studies; the effect of ZNS on cell viability of SH-SY5Y cells was determined and then the uptake behaviour of radiolabeled drug (^{99m}Tc -ZNS) on cells was investigated.

When all the experimental steps and results were evaluated, it was seen that the antiepileptic drug ZNS, with ^{99m}Tc , one of the radionuclides frequently used in Nuclear Medicine, preserved its stability with radiolabeling efficiency over 95 % for 4 hours. The potential of this agent to be used in the diagnosis and treatment of many brain diseases has been promising.

Keywords: Zonisamide (ZNS), Antiepileptic drugs, Epilepsy, Radiolabeling, Technetium-99m (^{99m}Tc), Neuroimaging



ÖNSÖZ

Nükleer Bilimler ile tanıştığım günden bu yana, ucu bucağı olmayan bilimsel çalışmaların aktifliği beni lisansüstü eğitime yönelten en büyük etkendi. Yüksek lisans eğitimim boyunca gerek aldığım dersler, gerek bulunduğum çalışmalar kapsamında öğrendiğim her bilgiyi çevremdeki insanlarla paylaşarak farklı bakış açısıyla misyonumun ve vizyonum genişlediğini düşünmekteyim. Özellikle tez çalışma konum olan beyin görüntüleme alanında birçok bilgiye sahip oldum. Neredeyse insanlık tarihi boyunca süregelen hastalıklar ve bunların tanı, tedavi yöntemleri hakkında bilince sahip oldum. Öğrendiğim ve gerçekleştirdiğim tez çalışması sonucunda umut vaad edici bir pencere açabilmiş olmayı düşünmek beni çok mutlu etti.

İzmir

10/09/2020

Emine DERVİŞ



İÇİNDEKİLERSayfa

İÇ KAPAK.....	i
KABUL ONAY SAYFASI.....	iii
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI.....	v
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
ÖNSÖZ.....	xi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvi
TABLolar DİZİNİ.....	xviii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Beyin ve Nörolojik Hastalıklar.....	3
2.2 Epilepsi.....	4
2.3 Antiepileptik İlaçlar.....	6
2.4 Zonisamid.....	7
2.5 Beyin Görüntüleme.....	11
2.5.1 Klinikte Kullanılan Yöntemler.....	12
2.5.2 Nükleer Tıp'ta Beyin Görüntülemeye Kullanılan Ajanlar.....	13

2.6	Teknesyum-99m (^{99m} Tc).....	14
2.7	Hücre Kültürü Yöntemleri.....	15
2.7.1	Toksisite	16
2.7.2	İnkorporasyon.....	16
2.7.3	Kromatografik Analizler.....	17
3.	GEREÇ VE YÖNTEM.....	18
3.1	Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar	18
3.1.1	Malzemeler ve Kimyasallar	18
3.1.2	Cihazlar.....	18
3.2	Zonisamid'in HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi) Analizi	19
3.3	Radyoışaretleme Çalışmaları.....	20
3.3.1	Zonisamid'in Radyoışaretlenmesi	20
3.3.2	Kalite Kontrol Analizleri	21
3.3.3	Stabilite Çalışmaları	22
3.3.4	Lipofilite Çalışmaları.....	22
3.4	<i>İn vitro</i> Hücre Kültürü Çalışmaları.....	23
3.4.1	Hücre Hatlarının Hazırlanması	23
3.4.2	Sitotoksisite Çalışmaları	24
3.4.3	Hücre Tutulum Çalışmaları	24
4.	BULGULAR VE TARTIŞMA.....	26
4.1	Zonisamid'in HPLC Analizi.....	26
4.2	Radyoışaretleme	27
4.2.1	^{99m} Tc ile İşaretleme.....	27
4.2.2	TLRC Analizi	27
4.2.3	HPLRC Analizi.....	29

4.2.4	Stabilite	30
4.2.5	Lipofilite	32
4.3	<i>İn Vitro</i> Çalışmalar	33
4.3.1	Sitotoksisite.....	33
4.3.2	Hücre Tutulum Çalışmaları	33
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER	36
	KAYNAKLAR DİZİNİ.....	37
	TEŞEKKÜR	48
	ÖZGEÇMİŞ.....	49

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Zonisamid'in molekül yapısı	8
2.6 $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ Bozunum Şeması.	15
4.1 Zonisamid HPLC kromatogramı.....	26
4.2 $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ için TLRC kromatogramı	28
4.3 İndirgenmiş $^{99\text{m}}\text{Tc}$ için TLRC kromatogramı	28
4.4 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ZNS için TLRC kromatogramı	28
4.5 $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ analizi ile elde edilen radyokromatogram	30
4.6 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ZNS analizi ile elde edilen radyokromatogram.	30
4.7 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ZNS için PBS ortamındaki <i>in vitro</i> stabilite grafiği	31
4.8 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ZNS için radyoişaretleme veriminin zamana göre değişim grafiği ..	32
4.9 SH-SY5Y hücreleri için ZNS konsantrasyonuna bağlı canlılık yüzdeleri..	32
4.10 SH-SY5Y hücrelerinde hücre tutulum etkinliğinin zamana bağlı değişimi grafiği.....	35

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
3.1 HPLC Analiz Koşulları.....	19
4.1 Metanol: su (2:8) karışımı hareketli faz ile elde edilen Rf değerleri.....	27
4.2 Hücre tutulumunun zamana bağlı değişimi.....	34



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar

ZNS	Zonisamid
^{99m} Tc	Teknesyum-99m
KBB	Kan Beyin Bariyeri
TLC	İnce Tabaka Kromatografi (Thin Layer Chromatography)
TLRC	İnce Tabaka Radyo Kromatografi
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi (High Performance Liquid Chromatography)
HPLRC	Yüksek Performanslı Sıvı Radyo Kromatografi
Rt	Alıkonma zamanı (retention time)
Na ^{99m} TcO ₄	sodyum perteknetat
SnCl ₂ .2H ₂ O	kalay (II) klorür dihidrat
¹¹ C-FMZ	¹¹ C-Flumazenil
¹¹ C-AMT	¹¹ C -alpha-methyl-tryptophan
¹¹ C-PiB	¹¹ C Radiolabeled thioflavin dye
¹⁸ F-FET	¹⁸ F-Fluoroethyl-Ltyrosine
¹⁸ F-FLT	¹⁸ F-Fluorothymidine
¹¹ C-MET	¹¹ C-Methionine
ECD	Etil Sisteindimer
HMPAO	Hegzametilpropilenaminoksim
^{99m} Tc-MIBI	Methoxyisobutylisonitrile
¹²³ I-IMT	¹²³ I iodo-α-methyltyrosine

1. GİRİŞ

Epilepsi, yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyen, tedavisi uzun süreli takip isteyen ve kontrolü güç bir hastalıktır. Dünya genelinde; yaş, cinsiyet, etnik grup veya sosyal statüye bakılmaksızın her kesimden yaklaşık 50 milyon insanı etkilemektedir. Odak belli olsa da olmasa da, altta yatan neden, nöronların normal elektriksel aktivitelerinin epizodik, geçici ve patlayıcı tarzda eşzamanlı deşarjlarla bozulmasıdır (Brusa et al., 1995). Epilepsi hastalarının takibi ve tedavileri sırasında merkezi sinir sistemini seçici olarak deprese eden antiepileptik ilaçlar kullanılmaktadır. Tedavi sırasındaki ana hedef nöbetsizliği sağlamak ve kullanılan ilaçların yan etkilerini önlemektir (Baker et al., 2016). Yeni tanı konan hastaların çoğu başlangıçtaki antiepileptik tedaviye iyi yanıt verir ve uzun süreli remisyona girerler. Ancak hastaların yaklaşık üçte birinin tedaviye direnç gösterdiği tespit edilmiştir (Schauf, 1987). Dirençli epilepsi hastalarında, nöbet kontrolü kadar, ilaç yan etkileri de sorun oluşturmaktadır. Bu durum tedaviyi daha da zorlaştırmaktadır (Hitiris et al., 2007).

Zonisamid (ZNS), benzersiz yapısı ve geniş mekanik profili ile diğer antiepileptik ilaçlardan ayrılan modern bir antiepileptik ilaçtır. Zonisamidin güvenilirliği, etkinliği ve kontrolü klinik çalışmalarda geniş ölçüde kanıtlanmış, diğer antiepileptikler ile karşılaştırıldığında ilaç-ilaç etkileşim potansiyeli düşük bir ilaç olarak bildirilmiş, nöbetlerin kontrolünde tedavi seçeneği olarak önerilmiştir (Brodie et al., 2012; Sackellares et al., 2004; Brodie et al., 2005). Zonisamid'in ana anti-epileptik mekanizmaları, T-tipi voltaj duyarlı Ca^{2+} kanalı, voltaj kapılı Na^{+} kanalı, nöronal depolarizasyona bağlı glutamat salınımı ve Ca^{2+} salma sisteminin inhibisyonunu içermektedir (Arabinda, vd., 2010).

Diğer yandan, beyin görüntüleme yöntemleriyle beyin motor ve bilişsel bozukluk hastalıkları üzerinde beynin yapısını, hastalıkların işleyişini anlamak için çalışmalar devam etmektedir. Yaşayan organizmaların doku, hücre ve hücre içi komponentlerindeki biyolojik işlemlerin karakterize edilmesine imkan sunan moleküler görüntüleme, insan beyninin bilinmeyen yönlerinin keşfedilmesi üzerinde aktif rol oynamaktadır (Strafella et al., 2017).

Bu bilgiler ışığında; epilepsi hastalığı ve anti-epileptik ilaçlardan aktif olarak kullanılan Zonisamid'in insan sağlığı açısından önemli bir yere sahiptir. Ayrıca, voltaj kapılı sodyum kanallarının sinyal iletimindeki rolünü ve hastalık durumlarındaki düzensizliklerini daha iyi anlama isteği, bu hastalık ve mekanizma için yüksek hassasiyetli araçların geliştirilmesini motive etmektedir. Bu bilgiler ışığında; sodyum kanallarını hedefleyen bir radyoşaretli ajan olarak ^{99m}Tc işaretli Zonisamid'in söz konusu mekanizmaların izlenmesinde önemli bir potansiyel sergileyebileceği düşünülmektedir. Bu sebeple bu tez çalışmasında, Zonisamid'in ^{99m}Tc ile işaretlenme parametreleri belirlenerek *in vitro* olarak söz konusu potansiyelin belirlenmesi hedeflenmiştir.

Bu hedef doğrultusunda, parsiyel ve jeneralize nöbetleri olan epilepsi hastalarının tedavisinde kullanılan yeni nesil bir antiepileptik ajan olan Zonisamid'in, moleküler görüntülemenin kökleri olan nükleer tıpta kullanılan optimum görüntüleme özelliklerine sahip ^{99m}Tc radyonüklidi ile radyoşaretlenme potansiyeli radyokromatografi yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir. Radyoşaretli Zonisamid'in (^{99m}Tc -ZNS) *in vitro* potansiyeli hakkında fikir sahibi olabilmek amacıyla SH-SY5Y insan nöroblastoma hücre hattı üzerindeki tutulumu zamana bağlı olarak irdelenmiştir. ^{99m}Tc ile işaretli Zonisamid'in beyin görüntüleme ajanı olarak kullanılabilme potansiyeline sahip olabileceği düşünülmektedir. Bu tez kapsamındaki çalışmalar ile elde edilen sonuçlar bu alandaki çalışmalara katkıda bulunacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Beyin ve Nörolojik Hastalıklar

Beyin, insan vücudunun en karmaşık yapısına sahip ve milyarlarca hücre bulundurmaktadır. Yetişkin insan beyni yaklaşık 1400 g ağırlığında, jelatinimsi yapıya sahip 100 milyardan fazla sinir hücresi içermektedir (Orrison et al., 1995). Beyin iki temel hücre tipinden oluşmaktadır. Bunlar; sinir sisteminde baskın olan nöronlar ve glialardır. Glia hücre sayısı nöronlardan fazladır (Orrison et al., 1995).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından yapılan beyin hastalıkları yükü hastaya harcanan kaynaklardan daha büyük olduğunu açıklamıştır (Olesen and Leonardi, 2003). Hastalıkların, dünyanın farklı yerlerinde farklı büyüklüklerde olduğu ve sağlık politikası içerisinde hastalık yükü giderek daha önemli faktör haline gelmektedir (Murray and Lopez, 1996).

Günümüzde de sıklıkla karşımıza çıkan beyin ile ilişkili nörolojik hastalıklar; genel olarak Alzheimer, Epilepsi, Frontotemporal lobar dejenerasyon (FTLD), Progresif supranükleer palsi (PSP), Huntington hastalığı (HD), Parkinson hastalığı, MS, Lewy cisimcikli demans, Multi sistem atrofi (MSA), Beyin tümörü, Moyamoya sayılabilmektedir (Michael and Wolfgang, 2018; Tarasow et al., 2011). Her hastalık için görüntüleme yöntemi, tanı ve tedavi yöntemi, iyileşme süreci farklılık göstermektedir.

Beyin ile ilişkili ve nörolojik hastalıklar dünya da olduğu gibi ülkemizde de sıklıkla karşılaşılan hastalık türleri arasında yer almaktadır. Türk Nöroloji Derneği (TND)'nin 2019 yılında verdiği rakamlara göre; her yıl 17 milyon kişinin inme geçirdiği ve son birkaç yılda inme sebebiyle ölenlerin sayısının 40,000'e ulaştığını göstermektedir. Öte yandan, dünya genelinde 65 milyon, ülkemizde 750 bin dolayında epilepsi hastası olduğu ve her yıl yaklaşık olarak 2,4 milyon yeni hasta eklendiği bilinmektedir (Türk Nöroloji Derneği). Ortalama 6 milyon insanda Parkinson hastalığı görüldüğü ve genel olarak 65 yaş üstü insanlarda yaş ile beraber hastalığın görülme sayısının arttığı bilinmektedir (Alberio and Fasano, 2010; Alberio et al., 2012; Delenclos et al., 2015).

Vasküler ağların belirginleşmesi ile başlayan kronik bir serebrovasküler hastalık olan Moyamoya hastalığı ise patogenezi hala belli olmamakla birlikte genellikle Asya ülkelerinde görüldüğü ve Japonya'da bu hastalığa 3,16 / 100,000 oranında rastlandığı bilinmektedir (Etuş, 2012). Sıklıkla karşılaşılan Alzheimer hastalığının ise ülkemizdeki görülme sıklılığı 300 bin civarı olduğu TND tarafından açıklanmıştır (Türk Nöroloji Derneği).

Beyin hücrelerinin kontrolsüz çoğalması ile tümörler oluşmaktadır. İyi ve kötü huylu olmak üzere tümör hücreleri 2 gruba ayrılmaktadır. Kötü huylu tümörler kanserli olarak adlandırılır ve metastaza uğrayıp vücudun farklı yerlerine yayılım gösterirken, iyi huylu hücreler az agresif hücre olarak bilinir ve metastazik dağılım göstermezler (Mohsen et al., 2018). En yaygın ve agresif olan beyin tümörleri arasında gliomlar yer almaktadır ve insana çok kısa yaşam süresi tanımaktadır (Pireira, 2016).

2.2 Epilepsi

Epilepsi; kortikal nöronlardaki anormal ve aşırı elektriksel deşarj sonucu ortaya çıkan, ani, tekrarlayıcı, tanımlanabilen bir olayla tetiklenmemiş epilepsi nöbetleri ile karakterize bir durumdur (Akdağ vd., 2016). Beyindeki anormal aşırı veya senkron nöral aktivite sonucu gelişen geçici sinyaller veya semptomlar ise epileptik nöbet olarak adlandırılmaktadır (Yeni ve Gürses, 2005). Dünya sağlık örgütü (DSO, WHO) tarafından yapılan tanım ise serebral nöronların aşırı deşarjına bağlı tekrarlayıcı nöbetlerle karakterize, çeşitli etiyolojiler ile gelişen kronik bir beyin hastalığı olduğudur.

Epilepsi dünya çapında 1000'de 4,7 – 12 kişi arasında görülen yaygın bir hastalıktır (Ngugi ve ark., 2010). Epilepsi adına gözlemler, Asur ve Babiller tarafından M.Ö. 2000 li yıllarında tıbbi metinlerine dayanmaktadır (Magiorkinis, et al., 2010). Bu hastalığa ilişkin ilk bilimsel çalışmaların ise M.Ö. 400'lü yıllarda Tıbbın babası olarak bilinen Hipokrat tarafından yapıldığını görülmektedir (Coskun, 2012). Hipokrat, hastalığın merkezinin beyin olduğunu ve doğal nedenlerinin olduğunu açıklayarak "Mal Caduque" olarak adlandırdığı bilinmektedir. Doğal neden ve belirtilerinin "Pituita" denilen salgının salgılanması, organizma bozulması ve sonucunda vücut sarsılması ile belli ettiğini öne sürmüştür.

Tedavisinin ise Gayak Ağacı (halk arasında Peygamber Ağacı) tütsüleme yapılarak kullanıldığı bilinmektedir (Elçinoğlu ve Baylav 1968). Hasta bir çocuğu incelemeye alarak beyninin nemli, ödeme sahip ve kötü kokular yaydığını açıklamıştır. Hipokrat, metalojik açıklamasını yapana kadar epilepsi için şeytani mülk, ilahi hastalık olarak düşünölmekteydi. Hipokrat'ın bilimsel açıklamasının ardından uzunca yıllar nozoloji ve semptomların sistemizasyonu dışında bilimsel katkı sağlanamadığı görölmektedir (Magiorkinis, et al., 2010).

Hipokrat'ın ardından MS 130-201 tarihleri arasında hayatta olan Roma'lı Galen Epilepsiyi sebeplerine göre incelemeye başlamıştır. Orta çağ zamanında ise Epilepsi üzerine yeni bulgular bulunamamıştır. "İnsan şuurunu Bozan Hastalıklar" adlı kitabında Paracelsus (1493-1541), epilepsiyi delilik olarak dile getirip sebebinin ay olduğunu belirtmiştir. "Ay çarpıyor" başlığı altında hastaların ay tutulma dönemlerinde buna maruz kaldığını dile getirmiştir. Epilepsiyi Prof. Dr. Siegmund Albich, 15. yy'da cüzzam, tüberkloz gibi dönemin bulaşıcı hastalıkları arasına alıp incelemeye başlamıştır (Lennox and Lennox, 1960). 1563'te Basel'de yayınlanan "De Preastiquis Deamon" adlı kitabında Johann Wayer (1515-1588), epilepsi, paranoyayı açıklamıştır (Howells, 1975).

Tesadüfi bir şekilde 1786'da Luigi Galvani kurbağa bacağına demir parmaklıklara değerek elektrik akımı yaydığını gözler önüne sermiştir. Sinir ağlarının elektrik akımı taşıdığı görüşü hastalığa yeni bir bakış açısı kazanadılmıştır. 19.yy'da bilim insanları sinir hastalıklarının nöroloji ile bağlantılı olduğunu öne sürmüştür. Ardından bilim dünyasında refleks epilepsi tartışma konularından biri olmuştur. 1854 yılında artık epilepsi bugün ki sınıflandırmaya yakın bir sınıflandırma içerisine alınmıştır. 1-Esansiyel Epilepsi 2-Semptomatik Epilepsi 3-Asemptomatik Epilepsi. Daha sonra yapılan çalışmalarda sınıflandırma değiştirilip bu şekilde olmuştur; 1-Fokal Kortikal Nöbetler (Jackson Ep.), 2-Santronsefalik Hamleler (Petit Mal), 3-Genelleşmiş çarpınma nöbeti, 4-Ekstra serebral nöbetler (Göksel, 1985). Hipnotik tedavi yöntemi, beslenmeye dayalı olup olmadığı gibi birçok konuda epilepsi hakkında araştırmalar yapılarak günümüze kadar gelmiştir.

Günümüzün önemli hastalıklarından biri olan epilepsi kutsal hastalık, doğa dışı olay olarak tanımlanmaktaydı. Piritif döneme dayanan epilepsi; kutsal hastalık, doğa üstü inanışlar gibi birçok şekilde insanlık tarihinde gün yüzünde bulunmuştur. Epilepsinin günümüzde tanımlanması ve sınıflandırılması ise şu şekildedir. Uluslararası Epilepsi ile Savaş Derneği (ILAE)'nin 1989 yılında yaptığı sınıflandırma hala günümüzde geçerliliğini korumaktadır. Kısaca sınıflandırma şu şekildedir:

- 1.Parsiyel (fokal) nöbetler
- 2.Jeneralize nöbetler (konvülfif veya konvülfif olmayan)
- 3.Sınıflandırılmayan epileptik nöbetler (Türk Epilepsi ile Savaş Derneği, 1973).

2.3 Antiepileptik İlaçlar

Merkezi sinir sistemini seçici olarak deprese eden ilaçlar antiepileptiklerdir (Çalış, 2016). Epilepsi tedavisinde kullanılan ilk antiepileptik ilaç Potasyum Bromür'dür. Charles Locock tarafından 1938 yılında 15 histerik genç kadın üzerinde yaptığı çalışmalara dayanmaktadır (Brodie, 2010). Uzun süre kullanımında farklı organlara zarar vermesi, yan etkilerinin oldukça fazla olduğunun görülmesiyle birlikte kullanımı durdurulmuş ve farklı çalışmalar yapılmaya hızla devam etmiştir (Perucca and Gilliam, 2012). Terapötik ajanların geliştirilmeye başlanmasıyla birlikte günümüzde de hala aktif olarak kullanılmaya devam eden "Fenitoin" piyasaya sürülmüştür. Ardından hızla birinci nesil antiepileptik ilaç olarak kabul edilen; kameprimidon, etosuksimid, karbamazepin ve valproik asit ile çalışmalar devamlılığını sürdürmüştür (Brodie, 2010).

1989-2009 yılları arasında yeni etkili molekül çalışmaları ise ikinci yeni nesil antiepileptiklerin ortaya çıkmasını sağlamıştır. İkinci yeni nesil antiepileptik ilaçlar; felbamat, gabapentin, lamotrijin, levetirasetam, okskarbazepin, pregabalin, topiramet, vigabatrin ve zonisamid olarak bilinmektedir (Erdoğan, 2014).

Antiepileptik ilaçların asıl amacı; voltaj kaplı kalsiyum, sodyum kanallarının çevre koşullarındaki değişiklikler karşısında uyum sağlaması amacı hücrelerinin gösterdiği yapısal ya da işlevsel değişime, GABAa reseptörünün aracılığı ile

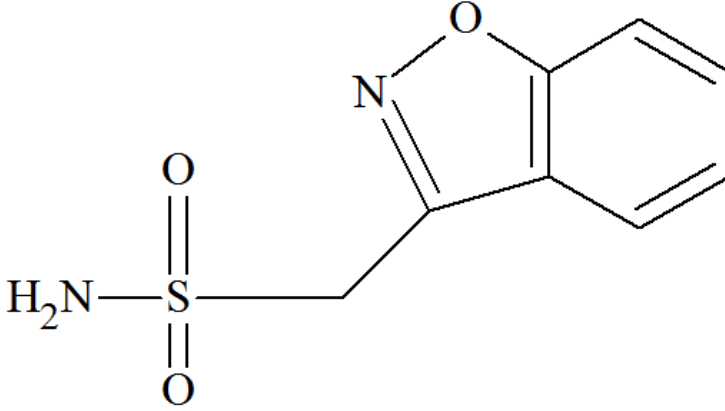
sinaptik işlevin engellenmesi ile birlikte iyonotropik reseptörlerin aracılığı ile uyarımın engellenmesi sağlamaktır. Böylece epileptik nöbetlere karşı koruma sağlanmaktadır (Rogawski and Löscher, 2004).

Diğer yandan, beyin ilaç hedeflenmesinde en önemli olgu elde edilen molekülün kan beyin bariyerini geçmesidir. Vücuda verilen moleküllerin beyne serbestçe geçmesini kan beyin bariyeri korumaktadır (Sobue, 1999). Kan beyin bariyeri, maddelerin kan – beyin omurilik sıvısı ve de molekülün kandan santral sinir sistemine geçmesini engellemektedir. Bazı moleküller bu bariyerleri geçse dahi vücuttaki dağılımları kontrol edilememektedir. Amaç, molekül kan beyin bariyerini geçtikten sonra beyindeki dağılımının spesifik bölgeye taşınarak kararlılığını koruması gerektiğidir (Çetin ve Çapan, 2004). Günümüzde kan beyin bariyerine geçebilen çeşitli strateji ve sistemlerin geliştirilmesi beyin ilaç hedeflenmesinde önemli rol oynamaktadır. Vücudun sadece beyin kılcal damarlarında bulunan endotel hücreleri, transfer reseptörleri, iki tabakalı fosfolipit membranları beyne etkili ilaç dağılımını sağlamaktadır (Bendix and Moos, 2016).

Antiepileptik ilaçların etki mekanizması; uyarıyı azaltmaları, inhibisyonu arttırmaları ve hücre uyarılabilirliğini değiştirmeleri şeklinde bilinmektedir. Antiepileptik ilaçların sınıflandırılması ise; Üreit yapısı taşıyan bileşikler, benzodiazepinler, sekonder veya tersiyer alkoller, dibenzazepin türevleri, yağ asiti türevleri, gaba analogları, hormonlar ve diğer ilaçlardır (Kılıcıgil, 2018). Epilepsi tedavisinde en çok kullanılan ilaçlar ise üreit yapısı taşıyan bileşikler sınıfında bulunmaktadır (Kılıcıgil, 2018).

2.4 Zonisamid

İkinci nesil antiepileptik ilaç grubuna giren Zonisamid (ZNS) diğer ilaçlar sınıfına giren, kimyasal olarak sülfonamid sınıfından geniş spektrumlu, tamamen diğer antiepileptik ilaçların mekanizmasından farklı bir ilaçtır (Erdoğan, 2014). 1,2-benzisoksazol-3-metansülfonamid, 212,227 g/mol molekül ağırlığına sahip ve Şekil 2.1’de molekül yapısı verilen Zonisamid klinik kullanımda olan bir ilaçtır (Leppik, 2004). ZNS, benzersiz yapısı ve geniş mekanik profili ile diğer antiepileptik ilaçlardan ayrılan modern bir antiepileptik ilaçtır



Şekil 2.1. Zonisamid molekül yapısı

Klinik öncesi çalışmalar, ZNS için voltaj kapılarını, sodyum kanallarını, T-tipi kalsiyum kanallarını, gamaaminobütirik asit (GABA) gibi bir dizi potansiyel etki mekanizması bildirmiştir. ZNS, olumlu bir doğrusal farmakokinetik profile, uzun bir yarı ömre sahiptir. Sitokrom P450 yoluyla hepatik olarak metabolize olan zonisamid, kendi metabolizmasını veya karaciğerini indüklemez (Wilfong and Willmore, 2006).

Zonisamid'in ilk laboratuvar çalışmasında benzizoksazol bazlı bir bileşik olarak 1970'lerin başlarında Japonya'nın Osaka kentinde olan Dainippon Pharmaceutical Company'de elde edilmiştir. Bir benzizoksazol türevi olan ZNS, ilk olarak 1974 yılında Japonya'da psikiyatrik ilaçlarla ilgili keşif araştırması sırasında sentezlenmiştir ve daha sonra tarama sırasında antikonvülsan aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Keşfedildiğinden itibaren klinik çalışmalara başlanmış ve geniş spektrumlu kabul edilmiştir. Faz 2 ve Faz 3 çalışmalarının sonucunda güvenilirlik kazanmış olup 1989 yılında Excegran isimli ilaç adı altında piyasaya sürülmüş ve hastalar üzerindeki gözlemler sonucu monoterapi olarak kullanışlığı kanıtlanmıştır (Seino, 2004).

Japonya'da yürütülen klinik öncesi hayvan çalışmaları, zonisamidin sıçanlarda, farelerde, tavşanlarda ve köpeklerde maksimal elektroşok kaynaklı nöbetler üzerindeki nöbet önleyici etkilerini ortaya koymuştur. Bu hayvan modellerinde, ZNS, fenitoin ve karbamazepine kıyasla daha geniş bir terapötik

plazma konsantrasyonu aralığı sergilemiştir (Masuda et al., 1979). Hayvan ve klinik çalışmalardan elde edilen umut verici sonuçlarla ZNS, 1989 yılında Japonya'da jeneralize veya parsiyel nöbetleri olan çocuklar ve yetişkinler için hem monoterapi hem de yardımcı tedavi olarak onaylanmıştır. ZNS daha sonra aynı endikasyon için Haziran 1992'de Güney Kore'de pazarlanmıştır (Seino, 2004).

1989'dan bu yana epilepsi tedavisinde yan ilaç olarak efektif şekilde kullanılmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) ve Avrupa'da yürütülen çeşitli kontrollü klinik çalışmalar, yetişkinlerde kısmi nöbetlerin tedavisinde Zonisamidin etkinliğini daha da göstermiştir. ZNS, ABD'de Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından epilepsili erişkinlerde kısmi nöbetler için yardımcı tedavi olarak 2000 yılında onaylanmıştır Schmidt et al., 1993, Faught et al., 2001, Sackellares et al., 2004). Diğer antiepileptiklerden farklı olarak çoklu etki mekanizmasına sahip ZNS'nin voltaj kapılı Na^+ inhibisyonu antikonvülsan özelliğinin altında yatan ana mekanizmasıdır (Rogawski and Porter, 1990). T tipi voltaja duyarlı Ca^{2+} kanalını bununla indüklenen Ca^{2+} salma sistemini içerdiği ZNS'nin hedef molekülü üzerinde gösterdiği bu etki devamı gelen farmakolojik çalışmalarda görülmüştür (Kito et al., 1996; Yamamura et al., 2009). Türkiye'de ise Zonisamid, 2008 yılında parsiyel ve jeneralize nöbetleri olan epilepsi hastalarında ek tedavi olarak kullanılmaya başlanmıştır (Şenadım, v.d., 2018). Tek başına kullanım onayını ise 2013 yılında almıştır. Halihazırda ZNS ile klinik deneyim, dünya çapında 2 milyon hasta-yıllık maruziyete dair konservatif bir yaklaşım sağlamıştır (Brodie et al., 2005).

Zonisamidin antiseizure aktivitesinin arkasındaki kesin moleküler mekanizmalar bilinmemekle birlikte, zonisamid hayvan modellerinde geniş bir mekanik profil göstermiştir. Zonisamidin, voltaja bağlı sodyum kanallarını bloke etmesi, gerilime bağlı T-tipi içe doğru kalsiyum akımlarını azaltması, gama-aminobütirik asit (GABA) -benzodiazepin reseptör kompleksine bağlanması ve hem dopaminerjik hem de serotonerjik nörotransmisyonu kolaylaştırması yoluyla etki ettiği düşünülmektedir. Zonisamid zayıf karbonik anhidraz inhibisyonu sergilemesine rağmen, bu, nöbet önleyici aktivitesinde birincil bir etki mekanizması olarak kabul edilmemektedir (Angus, 2006).

Zonisamid'in klinik öncesi çalışmalarında ateşlemeyi ve nöronal membran stabilizasyonunun aşırı olmasını engellediği görülmüştür (Humberto Foyaca-Sibay, 2011). GABA engelleyici nörotransmitter olarak sinir sisteminde aktif rol oynayan kimyasal bir madde olan GABAergic iletimine karşı etkisi; GABA reseptörünün aktivitesini koruma ve GABA salınımını arttırarak inhibitörden uyarıcı etkiye dönüşümünü sağladığı ve salınım iletimini arttırdığı görülmüştür (Mimaki et al., 1988). Bütünleyici etki mekanizmaları ile geniş kombinasyon sağlayan ZNS diğer antiepileptiklere göre klinik avantaj sağladığı ve zayıf bir karbonik anhidraz inhibitörü olduğu bilinmektedir (Biton, 2007).

Zonisamid'in klinik çalışmalarında sağlıklı gönüllülerde 63-69 saat kadar uzun yarılanma ömrü olduğu, hızlı ve tamamen emilebilir olduğu görülmüştür, bu nedenle dozlamalar günde bir kez bile verilebilmektedir (Leppik 2004). Biyoyararlanımı gıdalardan etkilenmeyen ve gastrointestinal sistemle emilen Zonisamid 3 saat civarında zaman-dozdan ayrı maksimum plazma konsantrasyonuna sahip olduğu bilinmektedir (Murata, 2004). Bilinen başlıca yan etkileri somnolans, baş dönmesi, iştahsızlık, bulantı ve kusma, başağrısı, konsantrasyon güçlüğü, halsizlik, ajitasyon, psikoz ve diplopidir (Brodie et al., 2012).

Kan beyin bariyerini kanda, plazma albüminine % 40 oranında bağlanarak ve lipid taşıma aracı ile geçmektedir. Bilindiği gibi lipidlerin kan yoluyla taşınması sağlık açısından çok önemli rol oynamaktadır. P 450 enzim CYP 3A4'nın ZNS metabolizmasında başlıca sorumludur (Morita, 2005). 2-(sulfamoylacetyl)-phenol-glucuronide (SMAP) ve N-asetil ZNS'nin insanda ana metabolitleridir ve alınan total dozun büyük bir kısmının idrarla atıldığı bilinmektedir (Murata, 2004).

ZNS piyasaya çıktığından beri yapılan çalışmalarda sadece epilepsi hastalığı için değil nöropatik ağrı, kontrol bozuklukları, esansiyel tremor, Parkinson hastalığı gibi hastalıklarda kullanılabileceğine dair etkin çalışmalar yapıldığı görülmekte ve tedaviye uygun olabileceği ileri sürülmektedir (Yamamura, 2009). Parkinson hastalığının üzerinde yapılan çalışmalarda motor semptomlarda yararlı etkileri olduğu bulunmuştur (Sanoa and Nambu, 2019). Son dönemlerde ise ZNS'nin

Otizm hastalığı üzerindeki etkilerinin araştırmaları yapılmaktadır (Nabati and Namileh, 2019).

2.5 Beyin Görüntüleme

Beyin, birçok fonksiyonu yerine getirmektedir. Beş duyu organı sayesinde beyne iletiler aynı anda iletilmektedir. Hastalıkların tanı ve tedavisi için görüntüleme en önemli faktörlerdendir. Son yıllarda beyin görüntüleme, nörolojik hastalıklar, tümörler için Nöroradyoloji alanında önemli denemeler yapılmaktadır. Beyin ile ilişkili ve nörolojik hastalıkların tanısı, tümörlerin görüntülenmesi, tedavi yönteminin belirlenmesi hastaların yaşam standartlarının artması için ihtiyaç duyulan en önemli olgulardan biridir (Trapani et al., 2017; Pireira, 2016).

2016 yılında DSO (WHO) tarafından yapılan beyin tümörleri sınıflandırılmasıyla beraber BT, fMRG, difüzyon tensör görüntüleme, perfüzyon ve MR spektroskopisi gibi yöntemlerinin hastalıkta ve tedavi sürecinden sonraki dönemde beyin görüntüleme odak noktası haline gelmiştir (Slasky and Bello, 2019). Her hastalık için kullanılan görüntüleme tekniği ve değerlendirilmesi kendine hastır.

Beyin görüntüleme; Manyetik rezonans görüntüleme (MRG), Bilgisayarlı Tek Foton Emisyon Tomografisi (SPECT), Pozitron Emisyon Tomografi (PET), Bilgisayarlı Tomografi (CT), Rotasyonel Dijital Çıkarma Anjiyografisi (3D DSA), Transkrinal Sonografi (TCS) yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmektedir.

Nükleer Tıp'ta görüntüleme yöntemlerinde radyonüklidler kullanılmaktadır. Hastalıkların tanısında, kitlerin geliştirilmesinde çoğunlukla (%80) ^{99m}Tc radyonüklidi kullanılmaktadır (World Nuclear Association, 2020). 6 saatlik yarılanma ömrüne sahip radyoaktif element olan ^{99m}Tc 140 keV saf gama salınımı yapar. ^{99m}Tc ; ucuz, $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ jeneratörden üretimi gerçekleştiği için kolay elde edilebilir, yarılanma ömrü gibi yeterli özelliklere sahip olduğu için sıklıkla kullanılmaktadır. Nükleer tıpta kullanılan diğer radyonüklidler jeneratörden değil siklotrondan üretilen; İyot-131 (^{131}I), İyot-123 (^{123}I), Galyum-67 (^{67}Ga), İndiyum-

^{111}In) ve Talyum-201 (^{201}Tl)' dir (Apostolova et al., 2015; Taggart et al., 2016; Han et al., 2014).

2.5.1 Klinikte Kullanılan Yöntemler

Klinik çalışmalarda hastanın hastalığının tanısı, takibe alınması, hastalığın tedavi yönteminin belirlenmesinde her görüntüleme yöntemi farklı ve önemi ayrıdır. Alzheimer hastalığı için nörogörüntüleme tekniği olan MRI ve PET yöntemleri insan beyninin hastalıkta ve de sağlıkta nasıl yol izlediğini göstermektedir (Montagne et al., 2016). Moyamoya hastalığı'nda MR anjiyografisi, BT anjiyografi veya 3D DSA yöntemi beyin damarlarının görüntülenmesi, hastaların tüm vasküler değişikliklerin tanısında kullanılan temel yöntemlerdir (Tarasow et al., 2011; Ancelet et al., 2015). Epilepsi, çok sık rastlanan kronik nörolojik bozulardan biri olduğu için nedensel lezyonun tanımlanması cerrahi işlem gerçekleştirilip gerçekleştirilemeyeceği MRG, PET yöntemi ile değerlendirilebilmektedir (Mellerrio et al., 2018).

Nörodejeneratif hastalıkların klinik çalışmalarında kullanılan radyoşaretli ajanlar, radyonüklide bağlanarak kan beyin bariyerini geçme özelliğine sahip olması gerekmektedir. Elde edilen bu ajanlar genel olarak yağda çözünen yüksüz moleküller kılcal endotel hücrelerin konsantrasyon farkı ile basit difüzyon gerçekleştirerek kan beyin bariyerini aşarlar (Li and Sabliov, 2013; Pardridge, 2012; Stumpf, 2012). Yağda çözünen yapıya sahip olmayan moleküller ise kandaki plazma albuminine bağlanır ve lipid aracılı taşıma araçları ile kan beyin bariyerini geçmektedirler (Gürler, 2011). $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ile radyoşaretli beyin görüntüleme ajanlarının genellikle basit difüzyon ile kan beyin bariyerini geçtiği bilinmektedir (Apostolova et al., 2015; Neumaier et al., 2010; Maksimenko et al., 2019).

Yaşlı nüfusta sıklıkla görülen en yaygın hastalıklardan biri olan Parkinson, Striatal dopamin eksikliği neden olan motor nöron kayıplarının α -sinüklein agregatları içeren hücre içi kapanımlar sonucu oluşmaktadır ve bu nöropatolojik olarak ayırt edici özellik olarak bilinmektedir (Kasap ve Akpınar, 2011; Poewe et al., 2017). Klinik çalışmalarda; MRG, PET ve BT (SPECT) görüntüleme yöntemleri ile erken tanı ve tedavi sürecini izlemede kullanılmaktadır (Poewe et al., 2017).

Beyin tümörleri genel hatlarıyla malign (kötü huylu) ve benin (iyi huylu) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Malign tümörleri glial ve metastazik olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Nöroşirürji Derneğinin beyin tümörleri tanımlaması şu şekildedir. Glial tümörler, en sık görülen, çoğlaması çok hızlı ve beyin kanserini yapan çeşittir. Metastazik tümörler, kanser hücresinin vücudun başka yerinden beyne yayılması sonucunda oluşmaktadır. Benin tümörler beynin yapısının dışında, kafatasının içerisinde gelişen çeşittir. Beyin tümörlerinin tanısında sıklıkla BT ve MRG görüntüleme yöntemleri kullanılmaktadır (Türk Nöroşirürji Derneği).

Literatürdeki güncel çalışmalar incelendiğinde, birçok prelinik ve klinik çalışmalarla yeni görüntüleme ajanlarının geliştirilmesine yoğunlaşıldığı görülmektedir. Ancak başta beyin ile ilişkili hastalıklar olmak üzere birçok hastalığın mekanizması net olarak bilinmemektedir.

2.5.2 Nükleer Tıp'ta Beyin Görüntülemeye Kullanılan Ajanlar

Beyin görüntüleme ile ilişkili klinik çalışmalarda beyin ile ilişkili ve nörodejeneratif hastalıkların tanı, tedavi ve hastalık sürecinin incelenmesinde SPECT veya PET görüntüleme yöntemlerinde kullanılan radyoşaretli ajanları önemli role sahiptirler. Epilepsi, inme, alzheimer, parkinson, moyamoya, beyin tümörleri'nin görüntülenmesi çalışmalarında kullanılan ajanlar önemli, spesifik olarak beynin ilaç hedef yerlerinin görüntülenmesini sağlamaktadır (Han et al., 2014).

Beyin görüntüleme çalışmalarında klinikte SPECT için çoğunlukla ^{99m}Tc , PET için ise ^{18}F radyonüklidleri kullanılmaktadır. Nörodejeneratif hastalıklarda kullanılan radyonüklidlerin yarılanma ömürleri çoğunlukla dakika ile saatler mertebesinde (^{99m}Tc 6 sa; F-18 110 dk; C-11 20,3 dk; O-15 2,1 dk; I-124 4,17 gün).

Prelinik ve klinik çalışmalarında; Florbetafir (^{18}F) ile yapılan taramalarda nöropatolojik olarak amiloid nörotik (senil) plak yoğunluğunu güvenilir şekilde tespit edildiği görülmüştür (Yang et al., 2012). ^{18}F -FDG, ^{18}F -PiB radyofarmasötikleri, Alzheimer hastalığının tanısı, takibi ve tedavisine yönelik görüntülemeye sıklıkla kullanılmaktadır (Ocak, 2015). Nörolojik PET

uygulamalarında hedefe yönelik görüntüleme ajanları; ^{18}F -FDG Glikoz metabolizması, ^{11}C -FMZ Merkezi benzodiazepin Epilepsi hastalığı'nın, ^{11}C -PiB Amiloid plak görüntülemesi, ^{18}F -PiB Amiloid plak görüntülemesi, ^{18}F -Florbetapir Amiloid-beta plak yoğunluğu, ^{18}F -FDG Glikoz metabolizması Alzheimer hastalığı'nın, ^{18}F -DOPA Dopamin sentezi (prekürsor), ^{11}C -raclopride Dopamin tip-2 (D2) reseptör, ^{18}F -FDG Glikoz metabolizması, ^{18}F -Fallypride Dopamin tip-2 (D2) reseptör antagonisti Parkinson hastalığı'nın, ^{18}F -MPPF 5HT1A reseptörü Ansiyete hastalığı'nın, ^{15}O -Su Kan akışı (oksijen kullanımı) İnme, $^{15}\text{O}_2$ Kan akışı (oksijen kullanımı) ^{18}F -FET DNA sentezi, ^{18}F -FLT DNA proliferasyon, ^{11}C -MET Aminoasit taşınması, protein sentezi ve beyin tümörü görüntülemeye kullanılmaktadır (Ocak, 2015). SPECT görüntülemeye beyindeki tutulumu kan beyin bariyerini geçerek bölgesel perfüzyonu yansıtır.

SPECT görüntülemeye klinikte en çok kullanılan radyoizotop olan $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ile ECD ve HMPAO radyoışaretlenmesi ve bu işaretli radyonüklidlerin kinetik davranışları izlenir. Davranış potansiyelleri benzer olmakla beraber tutulum mekanizmaları farklıdır. Vücuda verilen radyonüklidlerin görüntülenmeleri ECD enjeksiyonunun ardından 30-60 dk, HMPAO enjeksiyonunun ise 30-90 dk arasında görüntülenmeleri alınması gerekmektedir (Salancı vd, 2015; Inoue et al., 2003; Ito et al., 2006). SPECT için kullanılan diğer beyin görüntüleme ajanları; katyonik bileşikler thallium-201, $^{99\text{m}}\text{TcMIBI}$, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ tetrofosmin, radyoışaretli amino asitler ^{123}I iodo- α -methyltyrosine ^{123}I IMT; radyoışaretli antikorlar; somatostatin analogları ^{111}In octreotide; ve apoptoz bileşikleri ^{123}I anexcin.

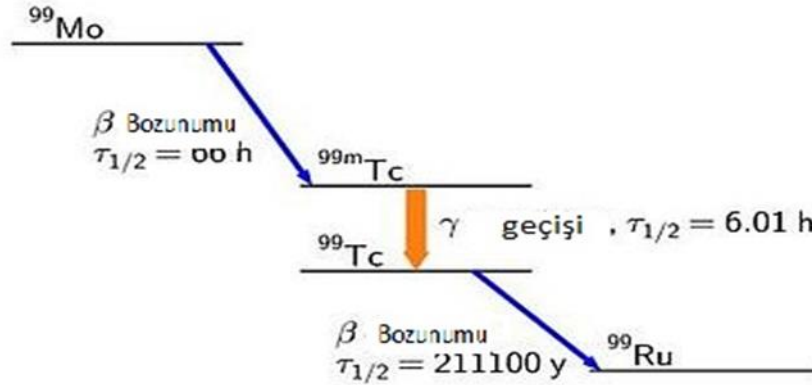
2.6 Teknesyum-99m ($^{99\text{m}}\text{Tc}$)

Teknesyum periyodik tabloda 7B grubunda bulunan 43 kütle numarasına sahip elementtir. 1947 yılında ismi Teknesyum olarak periyodik tabloya eklenmiştir (Zolle, 2006). $^{99\text{m}}\text{Tc}$, 1937 yılında Perrier ve Segre tarafından yapay olarak elde edilen 6 saatlik yarılanma ömrüne sahip, 140 keV–saf gama salınımı yapan radyoaktif elementtir. Molibden-99 (^{99}Mo)/ $^{99\text{m}}\text{Tc}$ jeneratöründen elde edilmektedir.

$^{99\text{m}}\text{Tc}$, jeneratör içerisinde bulunan aliminyum kolonlara emdirilmiş ^{99}Mo 'un beta bozunumu sonrası serum fizyolojik ile elusyonu ile elde edilmektedir. 66 saat yarılanma ömrüne sahip olan ^{99}Mo ; 740-780 keV enerjili beta bozunumu ile % 87'si

^{99m}Tc 'a, %13'ü ^{99}Tc elde edilir. Jeneratörün içerisindeki miktar 24 saat arayla yapılan sağım sonucunda ^{99}Mo mCi x 0,957 ile hesaplanabilir. Molibden-99'un iki şekilde üretildiği bilinmektedir. ^{235}U fizyon ürününün saflaştırılması ya da ^{98}Mo 'den termal nötron konversiyonu ile elde edilir. Ancak fizyon ürünü şeklinde elde edilirse kontaminasyon içereceği bilinmektedir.

^{99m}Tc , Nükleer tıp alanında görüntüleme amaçlı sıklıkla kullanılan radyonüklittir. Jeneratör sağımıyla sodyum perteknetat ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$) formunda elde edilmektedir (Bowen and Orvig, 2008). Kimyasal reaksiyonlarındaki -1'den +7'ye kadar olan oksidasyon seviyesinde değişiklik göstermekte ve en kararlı formlarından biri perteknetatları olduğu bilinmektedir. Kararlı formlarının oksidasyon seviyeleri +4 ile +7 arasında olduğu bilinmektedir. (Bowen and Orvig, 2008; Saha, 2004; Schwochau, 2000). Bileşiklerin sodyum perteknetat kararlı yapısı ile işaretlenebilmesi için tercih edilen yöntemlerden bir tanesi kalay klorür ($\text{SnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) olduğu bilinmektedir (Saha, 2004). Nükleer tıp alanında özellikle SPECT görüntüleme yeterli yarılanma ömrüne sahip, ekonomik, kolay elde edilebilir olduğu için radyofarmasötiklerin kullanımı gerçekleşmektedir (Wang et al., 2015).



Şekil 2.6. $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ Bozunum Şeması.

2.7 Hücre Kültürü Yöntemleri

Hücre kültürü ökaryot canlılardan elde edilen devamlı ve primer olmak üzere optimum koşullarda elde edilen *in vitro* çalışmalardır. Sıklıkla kullanılan hücre hatları insan, hayvanlardan elde edilmektedir (Bayram, 2013). Sadece insan ve

hayvanlardan elde edilen kültürle sınırlı kalmamakla birlikte bitki, mantar, virüs ve protistanalardanda kültür elde edilip uygulama alanına sahiptir (Freshney, 2006).

İn vivo deneyler yerine öncelikle *in vitro* çalışmalar ucuz, kolay bir şekilde veri edinilmesini sağlamaktadır. Devamlı hücrelerden elde edilen kültür çalışmaları maksimum 30 pasaj sayısına ulaşana kadar çalışmalar gerçekleştirilir. *İn vivo* özellik gösteren primer kültür direkt canlı kesilerek çıkarılır ve enzimler yardımıyla tek hücre süspansiyonu halinde ayrışarak çalışma için oluşturulur (Freshney, 2010). Hücre kültürü çalışmaları; kanser araştırmaları, aşı üretimi, genetik analiz, DNA replikasyonları, ilaç geliştirme alanlarında sıklıkla kullanılmaktadır.

2.7.1 Toksikite

Toksikite; bir maddenin organizmanın tamamına zarar verebilme derecesidir. Sitotoksikite; bir maddenin hücreye toksik etki göstermesi, bir organa toksik etki göstermesi ise hepatotoksikite ya da organotoksikite olarak adlandırılmaktadır (Skehan et al., 1990).

2.7.2 İnkorporasyon

Hücre kültürü çalışmaları, *in vivo* çalışmalara yol gösterici, ucuz, hızlı sonuç verdiği için aşı üretimi, ilaç çalışmaları, protein sentezi, hormon, enzim üretimi, DNA çalışmaları, metabolizma izlenimi için çok tercih edilen ve sıklıkla kullanılan yöntemdir. İnkorporasyon çalışmalarında doğru hücre hattı seçmek en önemli etkidir. Bu tez çalışmasında tercih edilen SH-SY5Y insan nöroblastoma hücre hattı kültür ortamında, hem yüzen hem de yapışan popülasyona sahiptir. Ortam değiştiğinde yüzen hücreler besiyer yardımıyla ortamdan uzaklaşmaktadır. SH-SY5Y hücreleri, nöronal markörler ile karakterize edilen daha olgun bir nöron benzeri fenotip ile ayırt edilebilirler (Kovalevich and Langford, 2013). Yapılan literatür taramaların sonucunda dopaminerjik nöron özelliğine sahip olması etkisiyle çalışmalarda sıklıkla kullanıldığı bilinmektedir.

2.7.3 Kromatografik Analizler

2.7.3.1 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi birbirine yakın özelliklere sahip karışım içerisindeki bileşenleri ayırtmak, belirlemek için kullanılan kromatografik bir yöntemdir. Katı adsorban maddelerden oluşan bir sütun içerisinde uygun mobil fazın içerisinde sıvı örneklerin yüksek basınç altında sürüklenmesi prensibine dayanmaktadır. En yaygın olarak kullanılan analitik yöntemlerdendir. Karışımın içerisindeki maddeler, kolondan geçerken farklı dağılıma davranışlarına bağlı olarak farklı göç oranlarına ve farklı tutunma zamanlarına sahiptirler. Adsorban katı madde ile zayıf etkileşim gösteren bileşenler kolon dışına daha kısa sürede, güçlü etkileşim gösteren bileşikler ise uzun sürede kolon dışına çıkmaktadır. Bileşiklerin kolonu terk etme süresine Alıkonma zamanı (Retention Time; Rt) olarak tanımlanır (Jian et al., 2012). Bu sistem, kontrol edilebilir elektronik panel, yüksek basınçlı pompa sistemi, sıvı faz taşıma kapları, dedektörler, saflaştırma kolektörü, kolon taşıma bölümü, fırın ve verilerin kaydedildiği bilgisayardan oluşmaktadır (Erfani et al., 2013; Saran et al., 2012).

2.7.3.2 İnce Tabaka Radyo Kromatografi (TLRC) Yöntemi

İnce tabaka kağıt kromatografi (TLC) yöntemi gerçekleşen herhangi bir karışım içerisinde bulunan bileşikleri tespit etmek, tepkimenin ilerlemesini izlemek için kullanılan, maddenin saf halini saptamak için kullanılan pratik, ucuz ve hızlı sonuç veren yöntem çeşitlidir. Katı-sıvı adsorpsiyonuna dayanan çalışma prensibine dayanmaktadır (Fair and Kormos, 2008). Karışımın içerisinde herhangi bir radyoaktif bileşen içeren bileşen bulunan kalite kontrol yöntemine ise TLRC olarak adlandırılmaktadır. TLRC yöntemi kullanılırken radyoaktif dedektör yardımıyla relative front (Rf) değeri bulunmaktadır. Bu tez çalışması kapsamında katı faz olarak plastik ya da alüminyum materyalin üzerinde tabaka halinde kaplanmış silika jel adsorban bulunan TLRC şeritleri kullanılmıştır. Sıvı faz olarak radyoaktif ZNS'ye uygun mobil faz karışımı kullanılmıştır. Radyoaktivite sayım metodu Bioscan TLRC cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar

3.1.1 Malzemeler ve Kimyasallar

- ✓ EXCEGRAN (SANOFİ Sağlık Ürünleri LTD.ŞTİ)
- ✓ Na^{99m}TcO₄ (⁹⁹Mo/^{99m}Tc jeneratörü, Ege Üniversitesi Hastanesi, Nükleer Tıp Anabilim Dalı, Bornova, İzmir)
- ✓ İnce Tabaka Kromatografi Kağıdı ITLC-Selüloz/Slica, Etanol, Asetonitril, n-oktanol, Metanol, n-oktanol, pH7 tamponu, asetonitril (*Merck.Co.*)
- ✓ Min. Essential Medium (Mem Eagle) (Bio.Ind.), Dulbecco's MEM (Bio.Ind.), Sodyum bikarbonat (Bio.Ind.), Fetal bovine serum (Bio.Ind.), Penisilin/ streptomisin (Bio.Ind.), Tripan mavisi (Bio.Ind.), PBS (Bio.Ind.), Tripsin EDTA (Bio.Ind.),
- ✓ MTT (*Sigma* (Cat.No: M2003)), amino asit, Sodyum prüvat, Fetal bovine serum (*Sigma* (Cat.No: F6178)),
- ✓ L-glutamine (*Pharmagrade* G5667-100G),
- ✓ Tripsin EDTA (0.25 %),
- ✓ Dimetil Sülfoksit (DMSO) (*EMPLURA*® (Cat.No: 116743)),
- ✓ Tripan mavisi, Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (PBS) *Sigma* (Cat.No: D8662); Penisilin-Streptomisin *Sigma* (Cat.No: P0781); Fetal Sığır Serum (FBS) *Sigma* (Cat.No: F6178), Minimum Essential Medium (*Sigma* (Cat.No: 51412C-1000ML)); Dulbecco's Modified Medium.
- ✓ 75 cm²'lik filtreli kapaklı flasklar (*corning*),
- ✓ 15 ve 50 mL dereceli plastik falkon tüpler (*BIOFIL*),
- ✓ 96 kuyucuklu plakalar (*COSTAR*),
- ✓ 1.5 mL'lik kriyotüpler (*ISOLAB*);

3.1.2 Cihazlar

- ✓ Ege Üni. Nükleer Bilimler Enstitüsü
 - Millipore saf su cihazı (Milli-Q Gradient A-10)
 - Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı,
 - Vorteks (Ika), Sonikatör
 - Hassas terazi (Ohaus, Pioneer PA214C)
 - Santrifüj, Manyetik Karıştırıcı
 - RAD-501 Cd(Te) tek kanallı gama sayım sistemi
 - TLRC scanner (Bioscan AR2000)

- Doz kalibratörü (Biodex AtomLab 100 Plus)
- HPLC sistemi (Shimadzu, LC-10Atvp quaterner pompalı, SPD-10AV UV dedektörlü, FRC-10A fraksiyonlama kollektörlü)
- Laminar flow kabin (Thermo)
- CO₂ inkübatörü (Sanyo- MCO-20AIC CO₂)
- İvert mikroskop (Leica Dm1l Trinokuler)
- Işık mikroskobu (Olympus)
- Su banyosu (Memmert)
- Sıvı azot tankı (Thermo Scientific)
- Otoklav (Hirayama)
- Soğutmalı Santrifüj (Hettich Marka Rotina 38 R Model)
- Spektrofotometre (Thermo Varioscan).

3.2 Zonisamid'in HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi) Analizi

Zonisamid etken maddesini içeren Excegran (100 mg ZNS/kapsül) isimli ilaç ticari formda temin edilmiştir. Ardından ilaç tabletleri toz hale getirilerek metanol içerisinde çözülerek Ege Üniversitesi Nükleer Bilimler Enstitüsü Nükleer Uygulamalar Anabilim dalına ait radyokromatografi laboratuvarında bulunan HPLC sistemi kullanılarak HPLC analizi gerçekleştirilmiştir. ZNS'in HPLC analizi sırasında kullanılan analiz koşulları literatürde mevcut çalışmalar (Yeniceli 2013; Reddy 2011; Greiner-Sosanko et al., 2007; Lourenço et al., 2017) derlenerek belirlenmiş ve Tablo 3.1'de verilmiştir. Elde edilen kromatogramlarda örneklerin alıkonma zamanları (retention time; R_t) belirlenmiştir.

Tablo 3.1 HPLC Analiz Koşulları

Kolon	Inertsil ODS-3 5- μ m C18 (250 x 4.6 mm I.D.)
Akış Hızı	1.0 mL / min.
Mobil Faz	Asetonitril: su: metanol 20:70:10 (v/v/v)
Dalga Boyu	280 nm
Sıcaklık	Oda sıcaklığı
Enjeksiyon Hacmi	1 μ L

3.3 Radyoişaretleme Çalışmaları

Zonisamid'in epilepsi ve/veya Parkinson gibi hastalıklara ilişkin belirteçlerin izlenmesinde kullanılabilmesi amacıyla nükleer tıpta görüntülemeye sıklıkla tercih edilen ^{99m}Tc radyonüklidi ile radyoişaretlenmesi gerçekleştirilmiştir. Bu doğrultuda ^{99m}Tc ; Ege Üni. Nükleer Bilimler Enstitüsü Nükleer Anabilim Dalı bünyesinde bulunan $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ jeneratöründen elue edilerek sodyum perteknetat ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$; oksidasyon sayısı=7) formunda temin edilmiştir. Perteknetat formundaki teknesyumun radyoişaretleme çalışmaları sırasında ZNS ile kompleks oluşturabilmesi amacıyla indirgenerek daha düşük oksidasyon seviyelerine indirgenmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle radyoişaretleme reaksiyonları sırasında kalay (II) klorür dihidrat ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (1 mg/mL stok çözelti) aracılığıyla indirgenme yöntemi kullanılmıştır. Radyoişaretleme reaksiyonları sonrasında kalite kontrol çalışmaları amacıyla radyokromatografi yöntemleri (TLRC, HPLRC) kullanılmıştır. Radyoişaretili ZNS'in radyokimyasal ve *in vitro* kararlılığının belirlenmesi amacıyla zamana bağlı stabilite çalışmaları yapılmıştır. Ayrıca, beyine iletimin bir ifadesi olan deneysel logP değeri hesaplamaları için ^{99m}Tc -ZNS'in lipofilite çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

3.3.1 Zonisamid'in Radyoişaretlenmesi

Her radyoişaretleme çalışması öncesinde taze olarak $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ jeneratöründen sodyum perteknetat ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$) elusyonu yapılmış ve elde edilen eluantın doz kalibratöründe aktivitesi ölçülerek mL başına radyoaktivite miktarı belirlenmiştir. Paralelinde taze olarak $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ stok çözeltisi (1 mg/mL) hazırlanmıştır. Ayrıca, ZNS stoğu için 1 mg ZNS 1 mL dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde çözülmüştür.

Radyoişaretleme reaksiyonu için 1,5 mL'lik bir ependorf tüp içerisine sırasıyla 100 μg ZNS, 25 μg $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve 500 μCi (18,5 MBq) $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ eklenmiştir. Ependorf tüp içerisinde hazırlanan bu reaksiyon karışımı iyice çalkalanarak karıştırılmış, pH ölçümü yapılmış (pH=7) ve 30 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda radyoişaretleme veriminin belirlenmesi amacıyla kalite kontrol analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.3.2 Kalite Kontrol Analizleri

ZNS'in radyoışaretleme reaksiyonu sonunda elde edilen ^{99m}Tc ile işaretli ZNS'in (^{99m}Tc -ZNS) radyoışaretleme veriminin belirlenmesi amacıyla ince tabaka radyokromatografi (TLRC) ve yüksek performanslı sıvı radyokromatografi (HPLRC) yöntemleri kullanılmıştır. Kalite kontrol analizleri sırasında her iki radyokromatografik yöntem için de $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ ve aynı reaksiyon koşullarında ZNS eklenmeden elde edilen indirgenmiş ^{99m}Tc (ind. ^{99m}Tc) kontrol amacıyla kullanılmıştır.

3.3.2.1 İnce Tabaka Radyokromatografi (TLRC) Analizi

İnce tabaka radyokromatografi yönteminin temel iki bileşeni olan sabit ve hareketli (mobil) faz olarak sırasıyla, silikajel kaplı alimünyum TLC tabakaları ve metanol: su (2:8) karışımı kullanılmıştır.

Bu doğrultuda, ^{99m}Tc -ZNS'in TLRC analizi sırasında 20 x 20 cm boyutlarındaki 0,1 mm kalınlığındaki silikajel kaplı alimünyum tabakalar, 1,50 x 10 cm'lik tabakalar halinde kesilerek kullanılmıştır. Bu tabakalar başlangıç noktası tabandan 0,50 cm olacak şekilde işaretlenmiş ve bu noktaya otomatik pipet (10 μL 'lik) yardımıyla analizi yapılacak örneklerden ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$, ind. ^{99m}Tc , ^{99m}Tc -ZNS) 2'şer μL damlatma yapılmıştır. Örnekler uygulama noktalarına damlatıldıktan sonra her örneğe ait tabaka, hareketli faz olan metanol: su (2:8) mobil faz karışımının bulunduğu TLC tanklarının içerisine uygulama noktası mobil faza değmeyecek şekilde yerleştirilmiştir. Mobil faz karışımının TLC tabakalarının üzerinde yaklaşık olarak 8-9 cm kadar ilerlemesinin ardından tabakalar TLC tanklarından çıkartılarak mobil faz sisteminin ilerlediği nokta işaretlenmiş ve oda sıcaklığında kurutulmuştur. Kurutulan TLC tabakaları ölçüm yüzeylerine radyoaktif bulaşın önlenmesi amacıyla yapışkan bant yardımı ile kaplanmıştır.

Ardından, radyoaktivite ölçümüne imkân sunan dedektör sistemini içeren TLC tarayıcı (Bioscan AR2000) cihazında kaplı plakaların ölçümleri sırasıyla alınmış ve herbir plaka için ayrı ayrı radyokromatogramlar elde edilmiştir. Burada elde edilen radyokromatogramlar aracılığıyla her bir örnek için radyoaktivitenin taşındığı alıkonma faktörü (relatif front; R_f) ve pik alanları elde edilerek

radyokimyasal saflık değerlendirilmiş ve radyoişaretleme verimi yüzde olarak belirlenmiştir.

3.3.2.2 Yüksek Performanslı Sıvı Radyokromatografi (HPLRC) analizi

HPLRC analizi, Tablo 3.1’de verilen koşullara ek olarak cihaz konfigürasyonuna radyoaktivite dedeksiyonunu mümkün kılan NaI(Tl) dedektörü eklenerek gerçekleştirilmiştir.

^{99m}Tc -ZNS’in kalite kontrolü amacıyla $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ indirgenmiş ^{99m}Tc ve ^{99m}Tc -ZNS örnekleri analiz edilmiştir. Her üç örnek de 0.45 μm filtreden geçirilerek HPLC viallerine alınmış otomatik örnekleyici yardımıyla HPLRC sistemine sırayla enjeksiyonları gerçekleştirilmiştir. Bu enjeksiyonlar sonrasında elde edilen radyokromatogramlar değerlendirilmiş ve ^{99m}Tc -ZNS için HPLRC sistemindeki radyoişaretleme verimi belirlenmiştir.

3.3.3 Stabilite Çalışmaları

Radyoişaretleli Zonisamid’in *in vivo* kararlılığı hakkında fikir sahibi olabilmek amacıyla kan pH’ına yakın olan pH:7 fosfat tampon çözeltisi (PBS) aracılığı ile *in vitro* ortam koşullarında ^{99m}Tc -ZNS’in radyokimyasal saflığı zamana bağlı olarak değerlendirilmiştir. Radyoişaretleme reaksiyonu sonunda (30 dakika inkübasyon süresi sonrasında) ^{99m}Tc -ZNS (100 μL) alınarak içerisinde PBS (200 μL) bulunan ependorf tüpe eklenmiş ve dört saate kadar (0., 30., 60., 120., 240., dakikalar) TLRC yöntemi ile *in vitro* stabilite çalışmaları yapılmıştır. Radyoişaretleli Zonisamid’in zamana karşı radyokimyasal saflığındaki değişim incelenmiştir.

Ek olarak, radyoişaretlemenin herhangi bir uygulamadan (hastadan) bağımsız olarak zamanla değişiminin izlenmesi amacıyla radyoişaretleli ^{99m}Tc -ZNS için 0., 30., 60., 120. ve 240. dakikalarda TLRC yöntemi kullanılarak stabilite çalışması gerçekleştirilmiştir.

3.3.4 Lipofilite Çalışmaları

Beyine iletimin bir ifadesi olan deneysel logP değeri hesaplamaları için gerçekleştirilen lipofilite çalışmaları kapsamında; santrifüj tüpünde hazırlanan n-

oktanol (300 µL) ve pH:7 PBS (300 µL) karışımı üzerine ^{99m}Tc-ZNS (100 µL) eklenmiş ve 1 dakika vorteks ardından 15 dakika santrifüjlenerek (2500 rpm) faz ayrımı sağlanmıştır. Alt (PBS) ve üst (n-oktanol) fazlardan 100'er µL örnekler alınarak Cd(Te) dedektöründe radyoaktivite sayımları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sayımlar (CPS; saniyedeki sayım, count per second) kullanılarak deneysel logP değerleri $\log(\text{Sayım}_{n\text{-oktanol fazı}} / \text{Sayım}_{\text{PBS fazı}})$ formülü ile hesaplanmıştır.

3.4 *In vitro* Hücre Kültürü Çalışmaları

3.4.1 Hücre Hatlarının Hazırlanması

Bu tez çalışması kapsamında, radyoişaretli Zonisamid'in *in vitro* potansiyelinin incelenmesi amacıyla dopaminerjik nöron özelliğine sahip ve Parkinson hastalığı başta olmak üzere nörodejeneratif hastalıklar için yaygın olarak kullanılan bir *in vitro* model olan insan nöroblastoma SH-SY5Y hücreleri üzerinde hücre kültürü (sitotoksisite ve tutulum) çalışmaları gerçekleştirilmiştir. SH-SY5Y hücreleri Ege Üni. Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim dalından temin edilmiştir.

SH-SY5Y hücreleri minimum essential medyum (MEM-Eagle), 2 mM glutamin, 1,5 g/L sodyum bikarbonat, 0,1 mM non-esansiyel amino asitler, 1 mM sodyum piruvat ve %10 FBS'den oluşan hücre medyumunda çoğaltılmıştır. Flask içerisinde çoğaltılan bu hücreler, flask tabanını % 80 oranında kapladıktan sonra % 0,25 (W/V) tripsin-EDTA solüsyonu ile enzimatik yöntem yoluyla flask tabanından kaldırılarak, sitotoksisite çalışmaları için 96 kuyucuklu, tutulum çalışmaları için ise 24 kuyucuklu plakalara ekilmiştir.

SH-SY5Y hücreleri, hücre kültürü çalışmaları için optimum koşullar olan pH aralığı 7,2-7,4, % 90-95 aralığında nem oranına sahip 37 °C'de % 5 CO₂ ortamında çalışma anına kadar inkübe edilmiştir.

Çalışmada kullanılmayacak SH-SY5Y hücreleri % 5 DMSO içeren medyum içerisinde önce -80 °C'de dondurulmuş daha sonra sıvı azot (-196 °C) tankına kaldırılarak muhafaza edilmiştir.

3.4.2 Sitotoksisite Çalışmaları

SH-SY5Y insan neuroblastoma hücre hattı üzerinde ZNS bileşeninin sitotoksisitesi incelenmiştir. Bu hücre hattındaki sitotoksisite çalışması için 96 kuyucuklu plakaya, her kuyucuk başına 5×10^4 hücre/mL olacak şekilde SH-SY5Y hücrelerinin ekimi yapılmıştır ve 37°C % 5 CO_2 koşulunda 1 gün inkübe edilmiştir. ZNS için 1, 3, 10, 30 ve 100 μM olmak üzere 5 farklı konsantrasyon hazırlanmıştır. Ayrıca, negatif kontrol grubu olarak hücre ve madde içermeyen medyumdan oluşan kuyucuklar kullanılmıştır. Hazırlanan her bir konsantrasyon için 5 tekrar çalışılmıştır.

Hücreler 37°C 'de % 5 CO_2 ortamında inkübe edilmiştir. 24. ve 48. saatte her kuyuya 10 μL MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide) solüsyonu eklenip 4 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda hücreler üzerinde bulunan MTT solüsyonu uzaklaştırılarak hücreler üzerine 200 μL DMSO eklenmiş ve 450 nm dalga boyunda ve 690 nm referans aralığında multimod mikropilaka okuyucu spektrofotometre (Thermo Varioscan) kullanılarak okutulmuştur. Negatif kontrol sıfır absorbans olarak kabul edilerek **% canlılık** “(ölçülen absorbans değeri/kontrol absorbans değeri) \times 100” değerleri hesaplanmıştır.

3.4.3 Hücre Tutulum Çalışmaları

Radyoişaretli Zonisamid'in dopaminerjik nöron özelliği gösteren nöroblastoma SH-SY5Y hücreleri üzerindeki bağlanma etkinliğinin zamanla değişimi hücre tutulum çalışmaları ile incelenmiştir.

24 kuyucuklu plakalara ekilen SH-SY5Y hücreleri (her bir kuyucuk ayrı ayrı), tutulum çalışmaları öncesinde plakalara tutunamayan hücrelerin uzaklaştırılması için serum fizyolojik (SF) ile yıkanmıştır. Ardından $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ZNS grubu her kuyucuğa eşit hacimde (500 μL) sonra $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ZNS (6,67 μg 33,33 $\mu\text{Ci/mL}$) içeren serumsuz hücre medyumunu uygulanmıştır. Uygulama sonrasında tüm plakalar 37°C etüvde bekletilmiş ve 30., 60., 120. ve 240. dakikalar sonunda ilgili kuyucukların Cd(Te) dedektöründe sayımı yapılarak başlangıç radyoaktiviteleri (A_0) tespit edilmiştir. Sonrasında ilgili inkübasyon süresi (30., 60.,

120. ve 240. dakikalar) sonunda kuyucuklardaki medyumlar ortamdan pipet yardımı ile uzaklaştırılmış ve kuyucuklar hücelere tutunmayan maddelerin uzaklaştırılması amacıyla 2 kez SF ile yıkanmıştır. Yıkama sonrasında her bir kuyucuğa 0,5 mL SF eklenmiş ve uygulanan inkübasyon süresi sonundaki radyoaktivite sayımı (A_1) Cd(Te) dedektörü yardımıyla yapılmıştır. Elde edilen A_1 ve A_0 değerleri oranlanmış ve ^{99m}Tc -ZNS için SH-SY5Y hücrelerine tutulum % bağlanma şeklinde hesaplanmıştır.

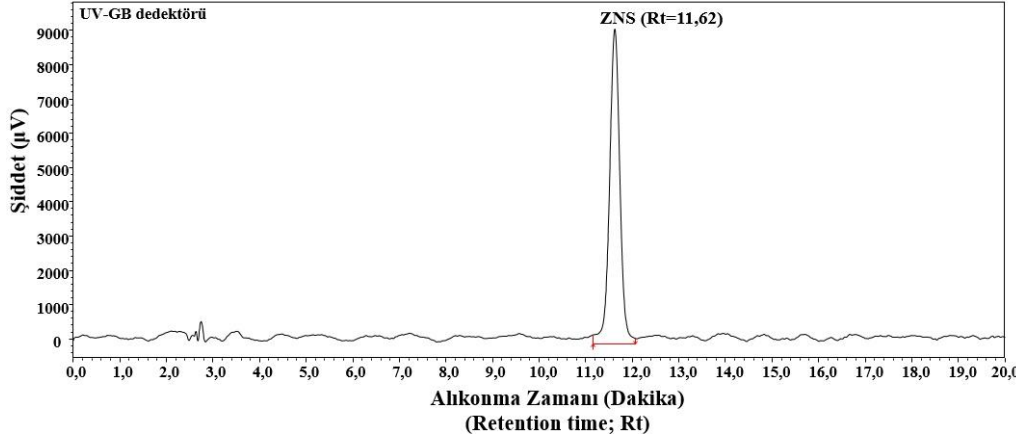
Aynı protokol $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ için de uygulanmıştır. Tüm zaman parametreleri çalışmanın tekrarlanabilirliği açısından 3'er kuyucuk çalışılmıştır ($n=6$).



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Zonisamid'in HPLC Analizi

ZNS, ticari formda Excegran (100 mg ZNS/kapsül) olarak klinik kullanımda antiepileptik olarak yer almaktadır. Excegran kapsülleri tez çalışmamızda ZNS kaynağı olarak kullanılmıştır. Kapsül içerisindeki toz metanolde çözülerek Tablo 3.1'de verilen koşullarda HPLC sisteminde analiz edilmiştir. Analiz sonucunda elde edilen kromatogramda ZNS'in sabit faz olarak kullanılan 18 karbonlu dolgu maddesi içeren C-18 kolonda (apolar) uygulanan koşullar ve mobil faz karışımı (Asetonitril: su: metanol 20:70:10 (v/v/v)) ile 11,62 dakika alıkonduğu görülmüştür (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 Zonisamid HPLC kromatogramı

Farklı amaçlar doğrultusunda ZNS için kantitatif-kalitatif HPLC analizlerin yapıldığı birçok çalışma literatürde yer almaktadır (Yeniceli 2013; Reddy 2011; Greiner-Sosanko et al., 2007; Lourenço et al., 2017). Bu tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen HPLC ve HPLRC çalışmaları için mevcut çalışmalar değerlendirilmiş ve kullanılan HPLC sisteminin koşulları doğrultusunda analiz koşulları Tablo 3.1'de belirtilen şekilde belirlenmiştir. Yeniceli (2013) insan plazmasında ZNS tayinine yönelik gerçekleştirdiği çalışmada basit ve verimli bir HPLC yöntemi geliştirmiştir. Bu çalışmadaki sabit faz, mobil faz karışımı ve akış hızı parametreleri bu tez çalışmasında da uygulanmıştır. Yeniceli (2013) uyguladığı analiz koşullarında ZNS'in alıkonma zamanının 5,22 dakika olduğu görülmektedir. Benzer koşullara rağmen bu tez çalışmasında elde edilen alıkonma süresinin 2

katdan fazla olmasının sebebi kullanılan sabit fazın yanı kolonun uzunluğundan ileri gelmektedir. Yeniceli (2013) 150 mm uzunluğunda kolon kullanılmışken bu tez çalışmasında 250 mm uzunluğunda kolon kullanılmıştır. Alıkonma zamanı arasındaki bu fark kolon uzunluk farkından ileri gelmektedir.

4.2 Radyoışaretleme

4.2.1 ^{99m}Tc ile İşaretleme

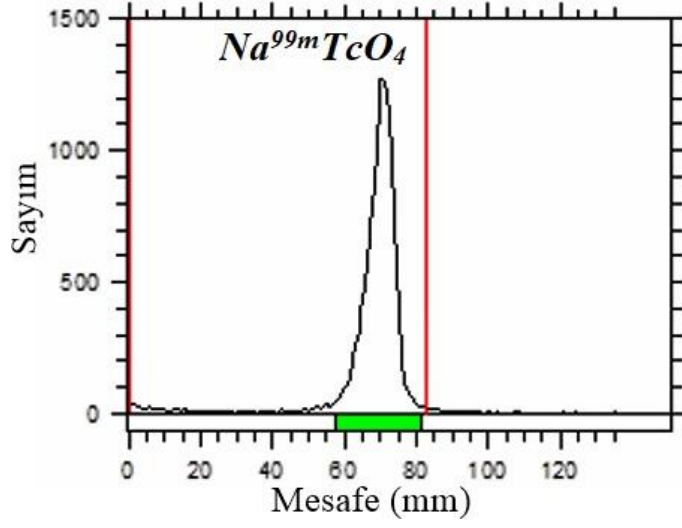
Yapılan literatür taramalarında, ilacın metabolizma ve eliminasyonunun incelenmesi amacıyla ¹⁴C işaretli Zonisamid'in sağlıklı gönüllülere oral uygulaması yapıldığı görülmektedir (https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2020/020789s036lbl.pdf). Deney hayvanı olarak sıçanların kullanıldığı farklı çalışmalarda da ¹⁴C işaretli Zonisamid'in kullanıldığı görülmektedir (Mimaki et al. 1994; Akaike et al. 2001; Stiff and Zemaitis 1990). Ancak, farklı radyonüklidler özellikle ^{99m}Tc ile ilgili herhangi bir radyoışaretleme çalışmana rastlanmadığından, radyoışaretleme koşulları için uygun parametrelerin belirlenmesi amacıyla çeşitli denemeler yapılmıştır. Radyoışaretleme için literatürde yüksek verim elde edildiği belirtilen SnCl₂ ile indirgeme yöntemi kullanılmıştır (Spies and mima, 2007). Radyoışaretleme veriminin değerlendirilmesi için İnce Tabaka Radyo Kromatografi (TLRC) ve Yüksek Performanslı Sıvı Radyo Kromatografi (HPLRC) kalite kontrol yöntemleri kullanılmıştır.

4.2.2 TLRC Analizi

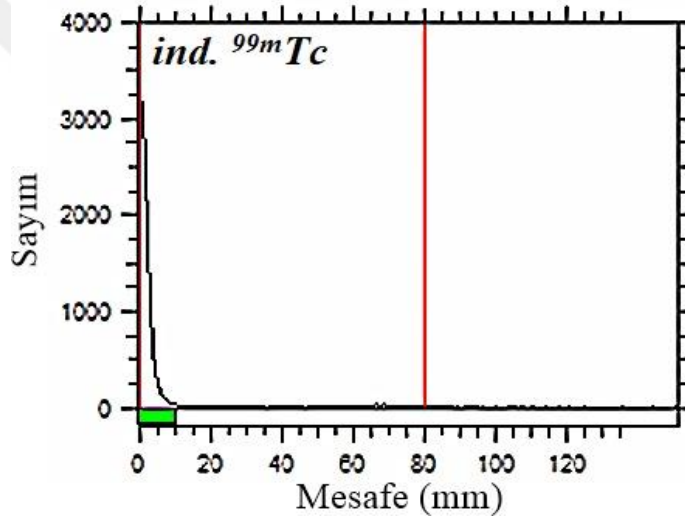
^{99m}Tc ile radyoışaretleli Zonisamid'in TLRC analizinde sabit faz olarak silikajel kaplı TLC tabakalar ve mobil faz olarak metanol: su (2:8) karışımı kullanılmıştır. TLRC analizi sonunda Na^{99m}TcO₄, indirgenmiş ^{99m}Tc ve ^{99m}Tc-ZNS için Tablo 4.1'de verilen alıkonma faktör (relatif front; R_f)'leri belirlenmiştir.

Tablo 4.1 Metanol: su (2:8) karışımı hareketli faz ile elde edilen R_f değerleri

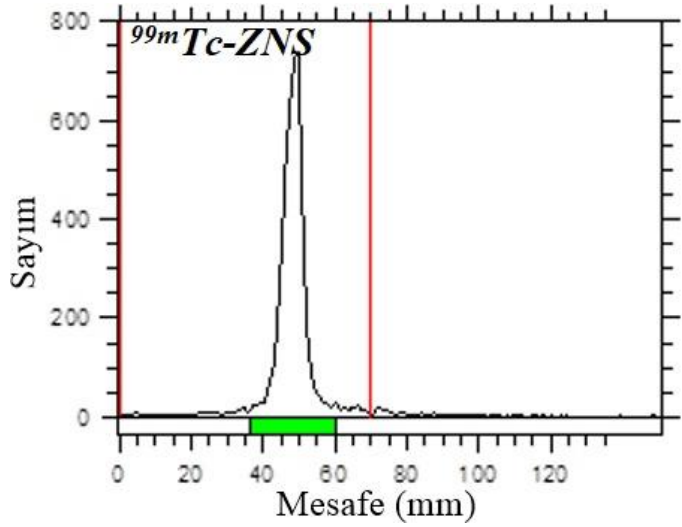
<i>Na^{99m}TcO₄</i>	<i>ind. ^{99m}Tc</i>	<i>^{99m}Tc-ZNS</i>
0,842	0,017	0,689



Şekil 4.2 Na^{99m}TcO₄ için TLRC kromatogramı



Şekil 4.3 İndirgenmiş ^{99m}Tc için TLRC kromatogramı



Şekil 4.4 ^{99m}Tc-ZNS için TLRC kromatogramı

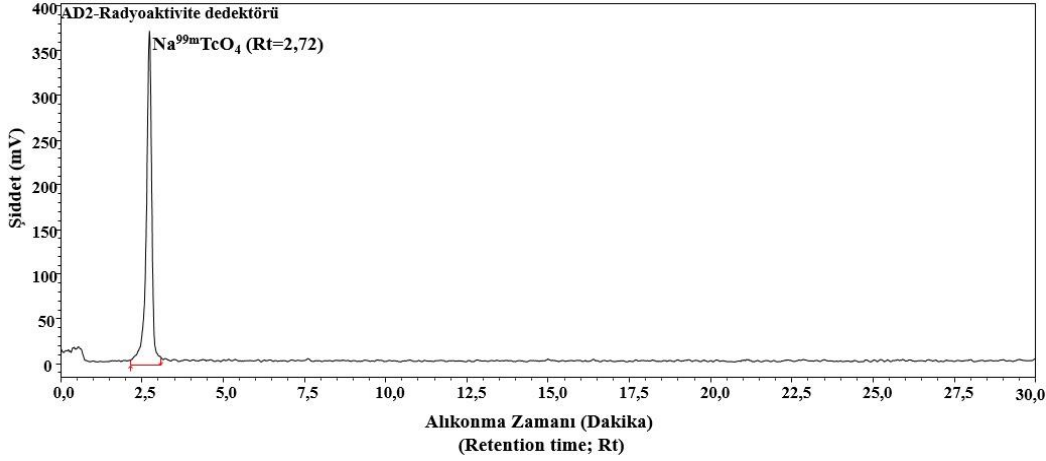
Kromatogramlar değerlendirildiğinde perteknetat pikinin ($R_f=0,84$) mobil faz ile birlikte TLC tabakasının son noktasına doğru ilerlediği görülürken (Şekil 4.2), indirgenmiş ^{99m}Tc 'in uygulama noktasında kaldığı ($R_f=0,02$) ve tabaka üzerinde ilerlemediği görülmüştür (Şekil 4.3). ^{99m}Tc -ZNS kromatogramında ise ortamda perteknetat ve indirgenmiş ^{99m}Tc pikinin bulunmadığı ve mobil faz ile perteknetata göre daha yavaş bir şekilde TLC tabakasının sonuna doğru yürüdüğü ($R_f=0,69$) ancak orta noktaya daha yakın olduğu görülmüştür (Şekil 4.4). Sonuç olarak bu tez çalışmasında uygulanan radyoışaretleme koşullarında ^{99m}Tc -ZNS için radyoışaretleme verimi % $98,03 \pm 1,24$ ($n=6$) olarak belirlenmiştir. Böylelikle;

- Jeneratörden sağılan sodyum perteknetatın işaretlemeğe uygun olduğu
- Kullanılan perteknetat radyoaktivitesi ile indirgeyici ajan (SnCl_2) miktarlarının yeterli olduğu ve ortamda indirgenmemiş perteknetat kalmadığı,
- TLRC için kullanılan sabit ve mobil fazların uygun olduğu,
- Zonisamid'in yüksek verimle ^{99m}Tc ile radyoışaretlendiği görülmüştür.

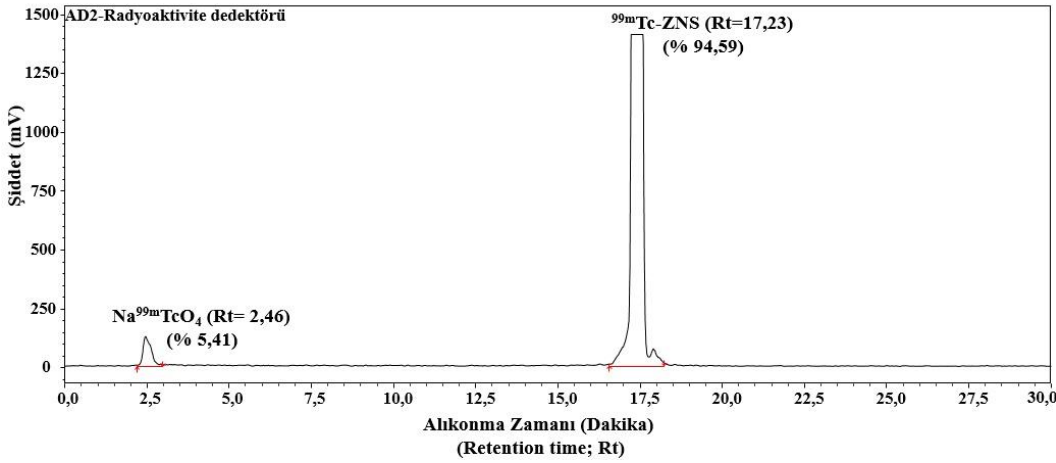
Klinik uygulamalarda görüntüleme için kullanılan ^{99m}Tc radyofarmasötiklerinin radyokimyasal saflığının % 95 veya üzerinde olması gerektiği bilinmektedir (Saha, 2004). Dolayısıyla, preklinik çalışmalar kapsamında radyoışaretleme potansiyeli araştırılan ^{99m}Tc ile radyoışaretleli ajanların radyoışaretleme verimlerinin de bu doğrultuda olması beklenmektedir.

4.2.3 HPLRC Analizi

Bu tez çalışması kapsamında Tablo 3.1'de verilen HPLC koşullarında $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$, indirgenmiş ^{99m}Tc ve ^{99m}Tc -ZNS için HPLRC analizleri gerçekleştirilmiş ve Şekil 4.5 ve 4.6'da verilen radyokromatogramlar elde edilmiştir. $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ ve ^{99m}Tc -ZNS için kolonda alıkonma zamanları (R_t) sırasıyla 2,72 dk. ve 17,23 dk. olarak bulunmuştur. Ancak, indirgenmiş ^{99m}Tc kolonda tutunduğundan analizi sonunda herhangi bir radyokromatogram elde edilememiştir. Bu durumun, indirgenmiş formdaki teknesyumun bulunduğu oksidasyon seviyesi (4,5) nedeniyle kompleksleşmeye açık olması dolayısıyla kolon dolgu maddesi ile etkileşime girerek kolonda alıkonmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.



Şekil 4.5 Na^{99m}TcO₄ analizi ile elde edilen radyokromatogram.



Şekil 4.6 ^{99m}Tc-ZNS analizi ile elde edilen radyokromatogram.

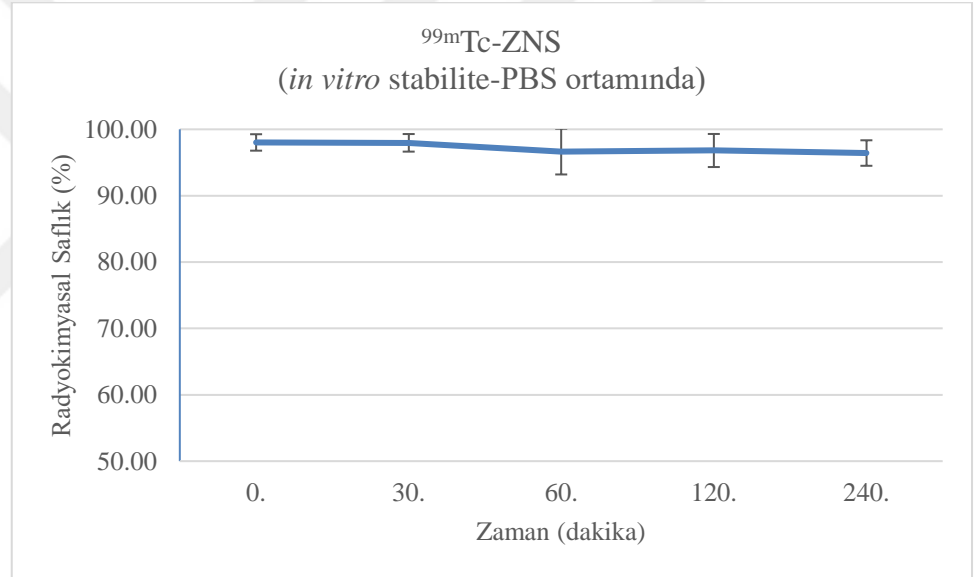
^{99m}Tc-ZNS radyokromatogramı incelendiğinde, radyoişaretleme veriminin yaklaşık % 95 olduğu ve ortamda radyokimyasal safsızlık olarak yaklaşık % 5 oranında Na^{99m}TcO₄ bulunduğu görülmüştür. Diğer yandan UV-GB dedektörü ile elde edilen Şekil 4.1’de verilen HPLC kromatogramında ZNS’in alıkonma zamanının 11,62 dk. iken Şekil 4.6’da verilen ^{99m}Tc-ZNS için alıkonma süresinin uzaması (17,23 dk.), HPLC sisteminde kolon çıkışı ile radyoaktivite dedektörü arasındaki mesafenin UV-GB dedektörü ile kolon çıkışı arasındaki mesafeden uzun olmasından kaynaklanmaktadır.

4.2.4 Stabilite

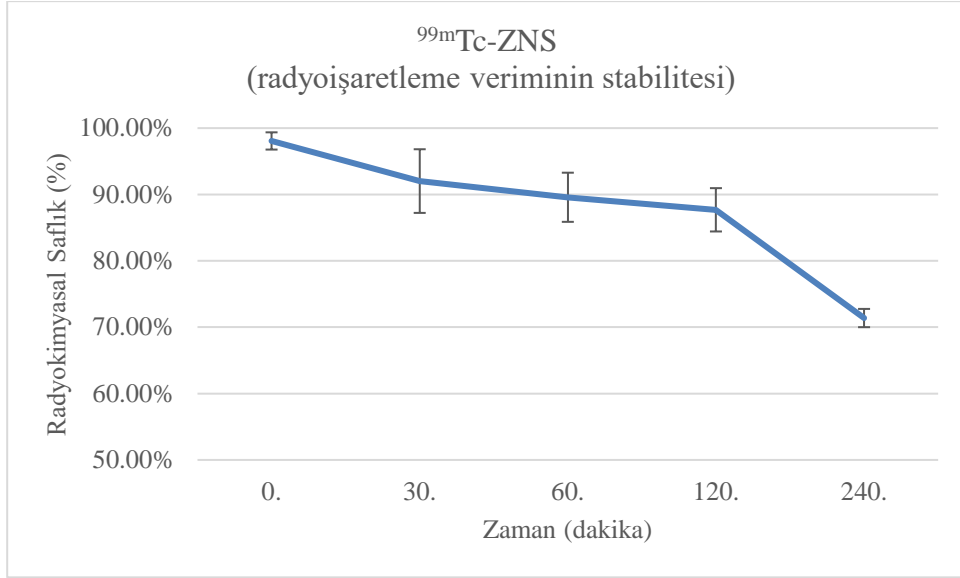
Stabilite, nükleer tıpta görüntüleme ve tedavi yöntemlerinde kullanılan radyonüklid işaretli ajanlar / radyofarmasötikler için hazırlanma ve vücuda

verildikten sonraki dağılım süresini koruması için önemli parametrelerden bir tanesidir (Martins et al., 2011). Ayrıca, herhangi bir maddenin kararlılığını sürdürebilme eğilimi stabilite olarak bilinmektedir (Wu et al., 2011).

Radyoışaretili bileşiğin stabilite çalışmaları kararlılığı sürdürebilme yeteneğini saptamaktadır. Nükleer Tıp'ta görüntüleme amacı ile kullanılan ^{99m}Tc radyonüklidi ile işaretlenen bileşiğin uygulama süresince stabilitesinin sürdürmesi önemlidir. ^{99m}Tc -ZNS'in kararlılığının incelenmesi amacıyla işaretleme reaksiyonunun tamamlanmasından sonra, PBS ortamında ve oda sıcaklığında gerçekleştirilen 0., 30., 60., 120. ve 240. dakikalardaki radyokimyasal saflığın zamana bağlı değişimini gösteren grafikler Şekil 4.7 ve 4.8'de verilmiştir.



Şekil 4.7 ^{99m}Tc -ZNS için PBS ortamındaki *in vitro* stabilite grafiği



Şekil 4.8 ^{99m}Tc-ZNS için radyoişaretleme veriminin zamana göre değişim grafiği

Grafikler değerlendirildiğinde, vücut ortamını simüle etmek amacıyla PBS ortamında gerçekleştirilen stabilite çalışmasında, ^{99m}Tc-ZNS'in 4 saat sonunda % 96,43±1,92 olarak kararlılığını koruduğu görülürken, herhangi bir uygulama yapılmadan oda koşullarda beklemesi durumunda radyokimyasal saflığın ikinci saat sonunda % 89,58±3,70'den hızlı bir şekilde dördüncü saat sonunda 71,38±1,38'lere düştüğü görülmüştür. Böylelikle, olası *in vivo* uygulamalar durumunda radyoişaretlenen ZNS'nin taze bir şekilde mümkün olduğunca beklemeden maksimum 30 dakika içerisinde yapılması gerekecektir.

4.2.5 Lipofilité

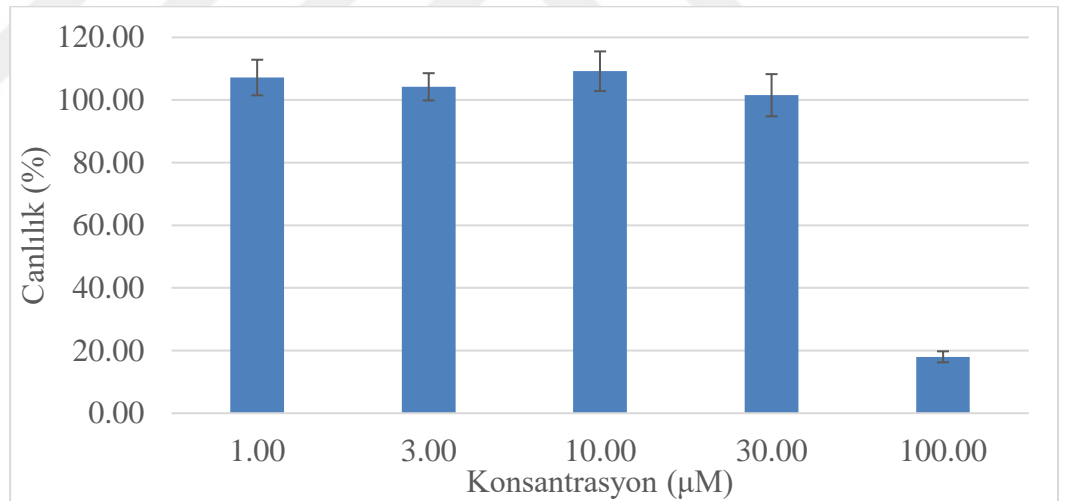
Bölüm 3.3.4'de değinilen prosedür ile radyoaktivite dedektörü ile elde edilen değerler kullanılarak lipofilitenin ifadesi olan deneysel logP değeri -2,98 ±0,42 (n=6) hesaplanmıştır. Yapılan literatür çalışmalarının sonucunda ZNS'nin LogP:- 0,10 ± 0,61 olduğu bilinmektedir. 1,0-7,0 µg/mL konsantrasyonlarda Zonisamid, insan plazma proteinlerine yaklaşık %40 oranında bağlanır (NDA,2003). Klinik çalışmalarda ZNS'nin beyinde tutulumu kandaki glikoproteinlere bağlanarak geçtiği görülmektedir (Park et. al., 2019).

4.3 *In Vitro* Çalışmalar

4.3.1 Sitotoksosite

ZNS için SH-SY5Y hücreleri üzerinde sitotoksosite çalışmaları MTT kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 5 farklı (1, 3, 10, 30 ve 100 μM) konsantrasyon ile uygulanan ZNS için 24 saat sonunda elde edilen % canlılık değişimine ilişkin grafik Şekil 4.9’da verilmiştir.

Sitotoksosite çalışmaları ile 24. saat sonunda elde edilen canlılık verileri kullanılarak ZNS için IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$) değeri $87,98 \pm 0,69$ olarak hesaplanmıştır. Canlılık yüzdesine karşı konsantrasyon grafiği incelendiğinde hücre popülasyonunun % 50’sini öldüren dozun (IC_{50}) 30 ve 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ aralığında olması beklenmektedir. Hesaplanan IC_{50} değerinde bu aralıkta olduğu görülmüştür ve sonuçların birbiri ile tutarlı olduğu saptanmıştır. Hücreler çoğalmaları devam ettikçe proliferasyon gösterdiği gözlemlenmiştir.



Şekil 4.9 SH-SY5Y hücreleri için ZNS konsantrasyonuna bağlı canlılık yüzdeleri

4.3.2 Hücre Tutulum Çalışmaları

Beyin görüntüleme ajanlarının bulunmasında *in vitro* çalışmalarının önemi ve etkisi önemlidir. Primer memeli nöronların, embriyonik merkezi sinir sistemi dokusundan türetildiği ve olgun nöronlar şeklinde etki göstermelerinden dolayı bu dönüştürülmüş hücre hatları *in vitro* yöntemlerde kullanım tercihi sağlamaktadır.

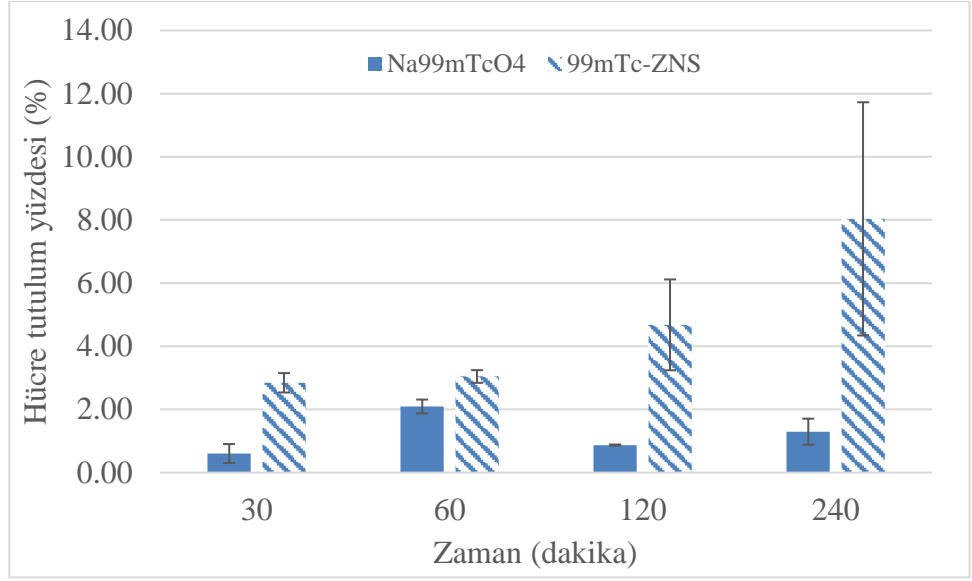
Malign tümörlerinden türetilen hücreler çalışmalarda kullanıldığında çeşitli etkiler göstermektedir ve SH-SY5Y nöroblastom hücre hattı *in vitro* sistemlere uygunluk göstermektedir (Kovalevich and Langford, 2013).

Bu tez kapsamında yapılan *in vitro* çalışmalarda, SH-SY5Y hücre hattı üzerinde radyoşaretli Zonisamid'in hücrelere tutulumu yüzde bağlanma ile incelenmiştir. Tablo 4.2 ve Şekil 4.10'da hücre tutulum çalışmaları sonunda elde edilen verilere ve grafik sunulmuştur.

Tablo 4.2 Hücre tutulumunun zamana bağlı değişimi

Zaman	SH-SY5Y	
	Na ^{99m} TcO ₄	^{99m} Tc-ZNS
30. dakika	% 0,60 ± % 0,30	% 2,84 ± % 0,31
60. dakika	% 2,09 ± % 0,22	% 3,04 ± % 0,20
120. dakika	% 0,87 ± % 0,02	% 4,68 ± % 1,44
240. dakika	% 1,30 ± % 0,41	% 8,03 ± % 3,69

Tablo 4.2'de verilen hücre tutulum yüzdelerine bakıldığında, ^{99m}Tc-ZNS'in sergilediği hücre tutulum yüzdelerinin kontrol grubu olan Na^{99m}TcO₄ için elde edilen yüzdelere oranının 30.-60.-120.-240. dakikalarda sırasıyla 4,72-1,45-5,37-6,20 kat olduğu görülmüştür. ^{99m}Tc-ZNS Dopaminerjik nöron özelliğine sahip insan nöroblastoma SH-SY5Y hücre hattı üzerindeki tüm zaman parametreleri, çalışmanın yeterli tekrar sayısına ulaşması amacıyla 3'er kuyucuk çalışılmıştır (n=6). Çalışma sonuçlarının tekrarlanabilirliği ve radyoşaretli Zonisamid'in kontrol grubu olan daha fazla tutulumu sahip olması nedeni ile anlamlı olduğu görülmektedir.*



Şekil 4.10 SH-SY5Y hücrelerinde hücre tutulum etkinliğinin zamana bağlı değişimi grafiği

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması kapsamında ikinci nesil antiepileptik ilaç olan Zonisamid'in nükleer tıpta görüntüleme sıklıkla kullanılan ^{99m}Tc radyonüklidi ile radyoışaretlenmesi gerçekleştirilmiştir. Radyoışaretleme çalışmasının kalite kontrol çalışmaları TLRC ve HPLC yöntemleri ile tamamlanmıştır. Kalite kontrol çalışmalarının sonucunda radyoışaretleme veriminin % 95'in üzerinde olduğu belirlenmiştir. ^{99m}Tc -ZNS için *in vitro* kararlılığın 4 saat boyunca krunnduğu görünürken, radyoışaretleme sonrasında olası *in vivo* uygulamaların ilk 30 dakika içerisinde gerçekleştirilmesi gerekeceği görülmüştür. Deneysel lipofilite çalışmaları ile radyoışaretleli ZNS'in hidrofilik yapıya sahip olduğu belirlenmiştir.

ZNS'nin dopaminerjik nöron özelliğine sahip insan nöroblastoma SH-SY5Y hücre hattı üzerinde artan konsantrasyonlar ile birlikte sitotoksitesi arttığı tespit edilmiş, IC_{50} değeri belirlenmiştir. ^{99m}Tc -ZNS için SH-SY5Y hücreleri üzerinde hücre tutulumunun perteknetata kıyasla önemli oranda yüksek olduğu görülmüştür.

Elde edilen bu radyoışaretleli antiepileptik ilacın *in vitro* çalışmaları ile nörolojik süreçlerin görüntülenmesinde kullanılma potansiyeline sahip olduğu düşünülmektedir. Söz konusu radyoışaretleli ilacın Parkinson, Otizm vb nörolojik hastalıklarda görüntüleme süreçlerin izlenmesine yönelik kullanım potansiyelinin değerlendirilebilmesi amacı ile deney hayvanı modelleri üzerinde *in vivo* çalışmaların planlanması gerekmektedir.

Bu tez çalışmasıyla, radyoışaretleli antiepileptik ilaçların nükleer tıpta nöroonkoloji ve nörodejeneratif hastalıkların tanısına yönelik yeni ajanlar olarak geliştirilmesi yönünde sınırlı sayıda yapılan çalışmalara katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Akdağ, G., Algin, D. İ., Erdinç, O.O.**, 2016, Epilepsi, *Journal of Medicine, Beyin Farkındalığı Özel Sayısı/ Brain Awareness Special Issue*, 2016;38: 35-41.
- Alberio, T. and Fasano M.**, 2010, Proteomics in Parkinson's Disease: An Unbiased Approach towards Peripheral Biomarkers and New Therapies, *Journal of Biotechnology* 156(4):325–37
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2011.08.004>.
- Alberio, T., Lopiano, L. and Fasano, M.**, 2012, Cellular Models to Investigate Biochemical Pathways in Parkinson's Disease, *FEBS Journal* 279(7): 1146–55.
- Ancelet, C., Boulouis, G., Blauwblomme, T., Kossorotoff, M., Rodriguez-Regent, C., Mellerio, C., Grevent, D., Meder, J-F., Trystram, D., Oppenheim, C., Zerah, M., Puget, S., Sainte-Rose, C., Brunelle, F., Naggara, O.**, 2015, Imaging Moya-Moya Disease, *Rev Neurol*, 171(1):45-57. doi: 10.1016/j.neurol.2014.11.004.
- Apostolova, I., Niedzielska, D., Derlin, T., Koziolk, E. J., Amthauer, H., Salmen, B., Buchert, R.**, 2015, Perfusion Single Photon Emission Computed Tomography In A Mouse Model Of Neurofibromatosis Type 1: Towards A Biomarker Of Neurologic Deficits. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 35,8(1304–1312).
<https://doi.org/10.1038/jcbfm.2015.43>
- Aydın B.**, 2018, Metformin için biyoyumlu taşıyıcı sistem tasarımı: karakterizasyonu, radyoışaretleme ve in vitro çalışmalar, Yüksek Lisans Tezi Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 86s.
- Baker, G.A., Jacoby, A., Buck, D., Stalgis, C., Monnet, D.**, 1997, Quality of life of people with epilepsy: a European study, *Epilepsia* 38(3):353–62
- Baylav, N., Ö. Elçioğlu.**, 1968, Eczacılık Tarihi, *Yörük Matbaası*, 1., (12-20s)
- Bendix, K., Torben M., J.**, 2016, Revisiting nanoparticle technology for blood-brain barrier transport: Unfolding at the endothelial gate improves the fate of transferrin receptor-targeted liposomes, *Journal of Controlled*

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Release*,28;222:(32-46pp), doi: 10.1016/j.jconrel.2015.11.032.
- Biton, V.**, 2007, Clinical Pharmacology and Mechanism of Action of Zonisamide, *Clinical Neuropharmacology*, 30:4(230-240 pp). doi: 10.1097/wnf.0b013e3180413d7d.
- Bowen, M.L. and Orvig, C.**, 2008, 99m-Technetium Carbohydrate Conjugates As Potential Agents In Molecular Imaging, *Chemical Communications*, 41(5077–5091 pp).
- Brodie, M.J., Duncan, R., Vespignani, H., Solyom, A., Bitensky, V., Lucas, C.**, 2005, Dose-dependent safety and efficacy of zonisamide: a randomized, double-blind, placebo-controlled study in patients with refractory partial seizures, *Epilepsia*, 46(1):31–41
- Brodie, M.J.**, 2010, Antiepileptic drug therapy the story so far, *National Library of Medicine*, 19 (2010) 650-655.
- Brodie M.J., Ben-Menachem E, Chouette I, Giorgi L**, (2012) Zonisamide, Its pharmacology, efficacy and safety in clinical trials, *Acta Neurol Scand Suppl*, 194:19–28.
- Brusa, R., Zimmermann, F., Koh, D., Feldmeyer, D., Gass, P., Seeburg and Rolf, H.**, 1995, Sprengel early-onset epilepsy and postnatal lethality associated with an editing-deficient glur-b allele in mice, *Science*, 270,5242-1677-1680 4p.
- Çalış, Ü.**, 2016, Antiepileptik İlaçlar, *Antiepileptikler*.
- Çetin, M., Çapan, Y.**, 2004, Beyne İlaç Hedeflendirilmesi, Ankara Ecz. Fak. Derg. *J. Fac. Pharm*, Ankara 33 (4) 287 – 305.
- Coşkun, A.**, 2012, Beynimizde Çakan Şimşekler Epilepsi, *Bilim ve Teknik*.
- Delenclos, M., Jones, D. R., McLean, P. J., and Uitti, R. J.**, 2015, Biomarkers in Parkinson's Disease: Advances and Strategies, *Parkinsonism & Related Disorders* 22(106–108s).
- Erdik, E., Obalı, M., Yüksekışık, N., Öktemer, A., Pekel, T. ve İhsanoğlu, E.**, 2000, Genel Organik Kimya, Ankara, *Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Döner Sermaye İşletmesi Yayınları*; 3. Baskı, 835s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Erdoğan, F.F., 2014,** Yeni Antiepileptik İlaçlar, *Epilepsi*, 56-58ss. DOI: 10.5505/epilepsi.2014.07088
- Erfani, M., Doroudi, A., Hadisi, L., Andishmand, A., Mirshojaei, S. F., and Shafiei, M., 2013,** ^{99m}Tc-Tricabonyl Labeling Of Ofloxacin And Its Biological Evaluation In Staphylococcus Aureus As An Infection Imaging Agent. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, 56,12, (627–631pp).
- Erkinen, M.G., Kim, M.O., Geschwind, M.D., 2018,** Clinical Neurology and Epidemiology of the Major Neurodegenerative Diseases, *Europe PMC*, 10(4), DOI: 10.1101/cshperspect.a033118.
- Etüş, V., 2012,** Moyamoya Hastalığı, *Türk Nöroşirürji Dergisi*, 22:3(212-220ss).
- Fair J.D. and Kormos C.M., 2008,** Flash column chromatograms estimated from thin-layer chromatography data, *Journal Chromatography*, 1211(1-2), 49-54.
- Faught, E., Ayala, R., Montouris, G.G., 2001.** Randomized controlled trial of zonisamide for the treatment of refractory partial-onset seizures, *Neurology*, 57:1774–9
- Foyaca- Sibay, H., 2011,** Novel Treatment of Epilepsy, *Janeza Trdine 9*, 51000 Rijeka, Croatia.
- Freshney, R.I., 2006,** Microspheres Culture of Cells for Tissue Engineering: Basic Principles of Cell Culture, *John Wiley & Sons Inc.*, New York
- Gold, V., 1987,** Compendium of Chemical Terminology, *IUPAC Chemical Data*, 464p.
- Göksel, F.A., 1985,** Arşiv, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deontoloji Anabilim dalı
- Greiner-Sosanko, E., Giannoutsos, S., Lower, D.R., Virji, M.A., Krasowski, M.D., 2007,** Drug Monitoring: Simultaneous Analysis of Lamotrigine, Oxcarbazepine, 10-Hydroxycarbazepine, and Zonisamide by HPLC–UV and a Rapid GC Method Using a Nitrogen Phosphorus Detector for Levetiracetam, *Journal of Chromatographic Science*, 45(9):616-22. DOI: 10.1093/chromsci/45.9.616
- Gürler, S., 2011,** PC12 Hücrelerinde 1-metil 4-fenilpiridinyum (MPP+)

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

ile Oluşturulan Deneysel Parkinson Modelinde Zonisamid'in Ca²⁺ Sinyali, Oksidatif Stres, Hücre Canlılığı, Kaspaz Aktivitesi Üzerine Etkisi. Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi.

Han, X., Zhu, S., Wang, B., Chen, L., Li, R., Yao, W., and Qu, Z., 2014, Antioxidant Action of 7,8-dihydroxyflavone Protects PC12 Cells Against 6-hydroxydopamine-Induced Cytotoxicity. *Neurochemistry International*, 64,1(18–23pp).

Hitiris, N., Mohanraj, R., Norrie, J., Sills, G.J., 2007, Brodie MJ. Predictors of pharmaco-resistant epilepsy, *Epilepsy* 75(2-3):192–6.

Howells, J., 1975, World History of Psichiatri, Brunne /Mazel, New York, 13pp.

Ilse, Z., 2006, Technetium-99m Pharmaceuticals, Department of Medicinal/pharmaceutical Chemistry University of Vienna.

Inoue K, Nakagawa M, Goto R, Kinomura S, Sato T, Sato K, Fukuda H., 2003, Regional Differences Between Tc-99m-ECD and Tc99m-HMPAO SPECT in Perfusion Changes With Age And Gender In Healthy Adults. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 30(1489-1497pp).

Ito H, Inoue K, Goto R, Kinomura S, Taki Y, Okada K, Sato K, Sato T, Kanno I, Fukuda H., 2006, Database Of Normal Human Cerebral Blood Flow Measured By SPECT: I. Comparison Between I-123-IMP, Tc-99m HMPAO, and Tc-99m ECD as Referred with O-15 Labeled Water PET and Voxel-Based Morphometry, *Ann Nucl Med*, 20(131-138pp).

Jian W., Edom R.W., Lin Z.J. and Weng N., 2012, Chromatographic separation methods, Enabling Technologies in Drug Design and Development, 25

Kasap, M., Akpınar, G., 2011 Parkinson Hastalığı Tanısında Proteomiks Yaklaşımlarının Yeri ve Biyobelirteç Arayışları, *Türkiye Klinikleri J Med Sci.*;31:3(691-701pp).

Kılıçgil, G., 2017-2018, Antiepileptik İlaçlar, *Ankara Üniversitesi*.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Kito, M., Maehara, M., Watanabe, K.,** (1996), Mechanisms of T-type calcium channel blockade by zonisamide, *National Library of Medicine*, 5:2(115-119pp). DOI: 10.1016/s1059-1311(96)80104-x.
- Kovalevich, J., Langford, D.,** 2013, Considerations For The Use Of SH-SY5Y Neuroblastoma Cells In Neurobiology, *Methods Mol Biol.*, 1078:9-21. doi: 10.1007/978-1-62703-640-5_2
- Lennox, W.W.,B., Lennox, A.M.,** 1960, Epilepsy and lated disorders Toronto little Brown Comp. Boston, (11-38pp).
- Leppik, I.E.,** 2004, Zonisamide: chemistry, mechanism of action, and pharmacokinetics, *National Library of Medicine*, 13:1(5-9pp). doi: 10.1016/j.seizure.2004.04.016.
- Li, J., and Sabliov, C.,** 2013, PLA / PLGA Nanoparticles For Delivery Of Drugs Across The Blood-Brain Barrier, 2,3(241–257pp).
- Magiorkinis E., Sidiropoulou K., Diamantis A.,** 2010, Hallmarks in the history of epilepsy: Epilepsy in antiquity, *Epilepsy and Behavior* 17(1) 103-108.
- Maksimenco, O., Malinovskaya, J., Shipulo, E., Osipova, N., Razzhivina, V., Arantseva, D., and Gelperina, S.,** 2019, Doxorubicin-Loaded PLGA Nanoparticles For The Chemotherapy Of Glioblastoma: Towards The Pharmaceutical *Development, International Journal of Pharmaceutics*, 572:118733, DOI: 10.1016/j.ijpharm.2019.118733.
- Malviya, R., Bansal, V., Pal, O., P., and Sharma, P., K.,** 2014, High performance liquid chromatography: A short review, *Journal of Global Pharma Technology*, 2(5): 22-26p.
- Masuda Y, Utsui Y, Shiraishi Y,** 1979. Relationships between plasma concentrations of diphenylhydantoin, phenobarbital, carbamazepine, and 3-sulfamoylmethyl-1,2-benzisoxazole (AD-810), a new anticonvulsant agent, and their anticonvulsant or neurotoxic effects in experimental animals, *Epilepsia*, 20:623–33.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Mellerio, C., Chassoux, F., Legrand, L., Edjlali, M., Devaux, B., Meder, J.F., Oppenheim, C.**, 2018, Epilepsy Imaging, *The Neuroimaging of Brain Diseases* (109-141pp).
- Michael A. R., Wolfgang L.**, 2004, The Neurobiology Of Antiepileptic Drugs, *Nature Reviews Neuroscience*, 5(553–564pp).
- Mimaki, T., Suzuki, Y., Tagawa, T., Tanaka, J., Itoh, N. & Yabuuchi, H.**, 1988, [3H] zonisamide binding in rat brain. *Jpn J Psychiatry Neurol* 42(640-642pp), ISSN 0912-2036.
- Montagne, A., Nation, D.A., Pa, J., Sweeney, M.D., Toga, W.A., Zlokovic, B.V.**, 2016, Brain Imaging Of Neurovascular Dysfunction In Alzheimer's Disease, *Acta Neuropathol*, 131:(687-787pp), DOI 10.1007/s00401-016-1570-0.
- Morita S, Miwa H, Kondo (2005)**, T. Effect of zonisamide on essential tremor: a pilot crossover study in comparison with arotinolol, *Parkinsonism Relat Disord*.11:2(101-103).
- Mohsen, H., El-Dahshan, E.S.A., El-Horbaty, E.S.M., Salem, A.M.B.**, 2018, Classification Using Deep Learning Neural Networks For Brain Tumors, *Future Computing and Informatics Journal*, 3:1(68-71pp).
- Murata, M.**, 2004, Novel Therapeutic Effects of The Anti-Convulsant, Zonisamide, on Parkinson's Disease, *Curr Pharm Des*.10(6):687-693.
- Murray, C.J.L., Lopez A.D.**, 1996, Evidence-Based Health Policy-Lessons From The Global Burden of Disease Study. *Science* 274(740–743pp).
- Nabati, M., Namileh, V.B.**, 2019, Design of Novel Drugs (P3TZ, H2P3TZ, M2P3TZ, H4P3TZ and M4P3TZ) Based on Zonisamide for Autism Treatment by Binding to Potassium Voltage-gated Channel Subfamily D Member 2 (Kv4.2), *International Journal of New Chemistry*, 6:4(254-276pp).
- Neumaier, B., Deisenhofer, S., Sommer, C., Solbach, C., Reske, S.N. and Mottaghy, F.**, 2010, Synthesis And Evaluation Of 18F-Fluoroethylated

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Benzothiazole Derivatives For In Vivo Imaging Of Amyloid Plaques in Alzheimer's Disease, *Applied Radiation and Isotopes*, 68,6(1066–1072 pp).
- Ngugi, A.K., Bottomley, C., Kleinschmidt, I., Sander, J.W., Newton, C.R.,** 2010, Estimation Of The Burden Of Active And Life-Time Epilepsy, A Meta Approach, *Epilepsia*, 51, (883-890pp).
- Schmidt D, Jacob R, Loiseau P,** 1993. Zonisamide for add-on treatment of refractory partial epilepsy: a European double-blind trial, *Epilepsy Res*, 15:67–73.
- Ocak, M.,** 2015, Radiopharmaceuticals For Pet, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji ADB, 6:2(154,160ss), DOI:10.5152/tcb.2015.056.
- Olesena, J., and Leonardi, M.,** 2003, The Burden Of Brain Diseases In Europe, *European Journal of Neurology*, 10: 471–477.
- Orrison, W.W., Lewine, J.D., Sanders, J.A., Hartshorne, M.F.,** 1995, illustrations Functional Brain Imaging, Copyright by Mosby-Year Book, Inc., International Standard Book Number 0-8151-6509-9.
- Pardridge, W. M.,** 2012, Drug Transport Across The Blood-Brain Barrier, *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 32,11, (1959–1972pp).
- Park, K., M., Lee, B.I., Shin., K.,J., Ha, SY., Park, J., Se, K.,** 2019, Efficacy, tolerability, and blood concentration of zonisamide in daily clinical practice, *Journal of Clinical Neuroscience* 61, 44-47p.
- Pereira, S., Pinto, A., Alves, V., Silva, C.A.,** 2016, Brain Tumor Segmentation Using Convolutional Neural Networks in MRI Images, *IEEE Transactions On Medical Imaging*, 35:5.
- Perucca, P., Gilliam, F.G.,** (2012), Adverse Effects Of Antiepileptic Drugs, The Lancet Neurology, 11:9 (792-802pp).
- Poewe, W., Seppi, K., Tanner, C.M., Halliday, G.M., Brundin, P., Volkman, J., Schrag, A.E., Lang, A.E.,** 2017, Parkinson Disease, *Nature Reviews Disease Primers*,3:17013.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Reddy, K.A.**, 2011, Determination Of Zonisamide In Capsule Dosage Form By Using Rp-Hplc, *Int. J. Chem. Sci.*: 9:4(1698-1704ss), ISSN 0972-768X.
- Reynolds, E.H., Trimble, M.R.**, 2009, Epilepsy, Psychiatry, and Neurology, *Epilepsia*, 3,50:5, doi: 10.1111/j.1528-1167.2009.02039.x.
- Rogawski, M. A., Porter, R. J.** (1990). Antiepileptic Drugs: Pharmacological Mechanisms And Clinical Efficacy With Consideration Of Promising Developmental Stage Compounds. *Pharmacol Rev.* 42:(223-286pp), ISSN 0031-6997.
- Sackellares, J.C., Ramsay, R.E., Wilder, B.J., Browne, Shellenberger MK.** 2004, Randomized, controlled clinical trial of zonisamide as adjunctive treatment for refractory partial seizures, *Epilepsia* 45(6):610–7.
- Sadler, P.J.**, 2000, Technetium Chemistry and Radiopharmaceutical Applications, *Applied Organometallic Chemistry*, <https://doi.org/10.1002/aoc.127>.
- Saha, G.B.**, 2004, Fundamentals of Nuclear Pharmacy, *Springer*, 5: 383p.
- Sanoa, H., Nambu, A.**, March 2019, The Effects Of Zonisamide on L-DOPA–Induced Dyskinesia In Parkinson's Disease Model Mice, *Eurochemistry International*, 124(171-180pp).
- Saran, S., Menon, S., Shailajan, S., and Pokharna, P.**, 2012, Validated RP-HPLC method to estimate eugenol from commercial formulations like Caturjata Churna , Lavangadi Vati , Jatiphaladi Churna , Sitopaladi Churna and clove oil. *JOPR: Journal of Pharmacy Research*, 6,1, 53–60.
- Sarraguça M.C., Alves, G., Chontinho, P.**, 2017, A Novel HPLC Method For Determination Of Zonisamide In Human Plasma Using Microextraction By Packed Sorbent Optimised By Experimental Design, *Analytical Methods* 9(40) DOI: 10.1039/C7AY01912B
- Schauf CL.** Zonisamide enhances slow sodium inactivation in Myxicola, 1987, *Brain Res*, 413(1):185–8
- Schwochau, K.**, 2000, Technetium Chemistry and Radiopharmaceutical Applications, Wiley-VCH, Winheim.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Seino, M.**, 2004, Review of zonisamide development in Japan, *Seizure*, 13:1(S2-S4pp), <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2004.04.015>.
- Skehan, P., Storeng, R., Scudiero, D., Monks, A., McMahon, J, Vistica, D., Warren, J.T., Bokesch, H., Kenney, S., Boyd, M.R.**, 1990, New Colorimetric Cytotoxicity Assay for Anticancer-Drug Screening, *NCI J Natl Cancer Inst*, 82 (13), 1107-1112.
- Slasky, S.E., Bello, J.A.**, 2019, Updates in Brain Imaging, *Radiol Clin N Am* 57 <https://doi.org/10.1016/j.rcl.2019.07.010>.
- Sobue, K.**, 1999. Induction of Blood-Brain Barrier Properties İn Immortalized Bovine Brain Endothelial Cells By Astrocytic Factors” *Neurosci. Res.*, 35(155-164pp).
- Strafella, A.P., Bohnen, N.I, Perlmutter, J.S., Eidelberg, D., Pavese, N., Eimeren, T.V., Piccini, P., Politis, M., Thobois, S., Ceravolo, R., Higuchi, M., Kaasinen, V., Masellis, M., Peralta, M.C., Obeso, I., Pineda-Pardo, J.A., Cilia, R., Ballanger, B., Niethammer, M., Stoessl, J.A., IPMDS-Neuroimaging Study Group**, 2017, Molecular İmaging To Track Parkinson’s Disease And Atypical Parkinsonisms: New İmaging Frontiers, *National Library of Medicine*, 32:2(181–192pp), doi: 10.1002/mds.26907.
- Stumpf, W. E.** ,2012, Drugs in the Brain Cellular İmaging with Receptor Microscopic Autoradiography, *Progress in Histochemistry And Cytochemistry* 47(1): 1–26.
- Şenadım S., ALPAYDIN S.B., GÜVELİ, B.T., SARI, H., ATAKLI, D.**, (2017), Safety and Efficacy of Zonisamide in Refractory Epilepsy Patients: Clinical Experience From a Tertiary Center, *Prof. Dr. Mazhar Osman Ruh Sağlığı ve Sinir Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nöroloji Kliniği*, İstanbul
- Taggart, M. P., Tarn, M. D., Esfahani, M. M. N., Schofield, D. M., Brown, N. J., Archibald, S. J., Thompson, L. F.**, 2016, Development Of Radiodetection Systems Towards Miniaturised Quality Control Of PET And SPECT Radiopharmaceuticals. *Lab on a Chip*, 16(9), 1605–1616.
- Tarasów, E., Kulakowska, A., Łukasiewicz, A., Kapica-Topczewska, K., Korneluk-Sadzyńska, A., Brzozowska, J., Drozdowski, W.**, 2011,

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Moyamoya Disease: Diagnostic Imaging, *Journal List Pol J Radiol* v.76(1), PMC3389911
- Trapani, A., Tricarico, D., Mele, A., Maqoud, F., Mandracchia, D., Vitale, P., Scilimati, A.,** 2017, A novel injectable formulation of 6-fluoro-1-DOPA imaging agent for diagnosis of neuroendocrine tumors and Parkinson's disease. *International Journal of Pharmaceutics*, 519,1–2, 304–313.
- Theobald, A., E.,** 1989, Radiopharmaceuticals Using Radioactive Compounds in Pharmaceutics and Medicine, 184p, **Türk Epilepsi ile Savaş Derneği**, 1973.
- Yamamura, S., Hamaguchi, T., Ohoyama, K., Sugiura, Y., Suzuki, D., Kanehara, S., Nakagawa, M., Motomura, E., Matsumoto, T., Tanii, H., Shiroyama, T., Okada, M.** (2009). Topiramate And Zonisamide Prevent Paradoxical Intoxication Induced By Carbamazepine And Phenytoin. *Epilepsy Res.*, 84:(172-186pp), ISSN 1872-6844.
- Yamamura S, Ohoyama K, Nagase H, Okada M.,** 2009, Zonisamide Enhances Delta Receptorassociated Neurotransmitter Release In Striato-Pallidal Pathway. *Neuropharmacology*. 57:3(322-331).
- Yang, L., Rieves, D., Ganley, C.,** 2012 Brain Amyloid Imaging — FDA Approval of Florbetapir F18 Injection, *The New England Journal Of Medicine*, 6;367(10):885-7, DOI: 10.1056/NEJMp1208061
- Yeni, S.N., Gürses, C.,** 2015, Epilepsi Çalışma Grubu Tanı ve Tedavi Rehberi.
- Yeniceli, D.,** 2011, Development and Validation of a Simple and Efficient HPLC Method for the Determination of Zonisamide in Pharmaceuticals and Human Plasma, *Journal of Analytical Chemistry*, 68:5 (436–443ss) ISSN 10619348.
- Wang, X., Cui, M., Jia, J., Liu, B.,** 2015, ^{99m}Tc-Labeled-2-arylbenzoxazole Derivatives As Potential A β Imaging Probes For Single-Photon Emission Computed Tomography, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 89(331–339pp).
- Wilfong, A.A., Willmore, J.L.,** 2006, Zonisamide – a review of experience and usein partial seizures, *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 2(3) 269–280.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

Wu, L., Zhang, J., and Watanabe, W., 2011, Physical and chemical stability of drug nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63,6,, 456–469.



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam süresince ihtiyaç duyduğum her anda bana yol gösteren, güvenen, güler yüzünü, bilgi birikimini ve desteğini benden esirgemeyen, birlikte çalışmaktan büyük gurur duyduğum sevgili tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Ayfer YURT KILÇAR'a teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

9 yıllık Nükleer Bilimler bilim yolculuğumda, lisans ve lisan üstü öğrenim dönemim boyunca deneyim ve bilgi birikimlerini benimle paylaşan değerli hocam Prof. Dr. F. Zümrüt BİBER MÜFTÜLER'e, enstitü laboratuvarlarında her türlü çalışma imkânını sağlayan Ege Üniversitesi Nükleer Bilimler Enstitüsü Müdürü Prof. Dr. Fatma YURT ONARAN'a, laboratuvar çalışmalarım sırasındaki desteklerinden dolayı Doç. Dr. Çiğdem İÇHEDEF'e, hücre çalışmalarımdayki yardım ve desteklerinden dolayı Doç. Dr. E. İlker MEDİNE'ye, tez çalışmam boyunca manevi desteğini her zaman hissettiğim Araş. Gör. Dr. Özge KOZGUŞ GÜLDÜ'ye, laboratuvar çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan K. Buşra KARATAY'a, iş yerinde bu dönemde anlayışını esirgemeyen değerli müdürüm Rukiye KİTER'e, ekip arkadaşım Melis TÜRKYENER ÇELEBİ'ye ve Zerrin USLU'ya teşekkür ederim.

Hayatım boyunca aldığım kararlarda yanımda olan, yıllardır bu yolculukta maddi manevi desteklerini her zaman hissettiğim en canım aileme, yardımlarını esirgemeyen enstitüdeki arkadaşlarıma, birlikte kurduğumuz tüm hayallerimizin başlangıcı olan bu tez çalışmamda hala yanımda hissettiğim sevgili babama saygı, sevgi, özlemlerle sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Emine DERVİŞ

Doğum Yeri : İzmir/Konak

Doğum Yılı : 1991

Öğrenim Durumu: Yüksek Lisans

Toyo Matbaa Mürekkepleri /Ofset Mürekkepleri/ Ar-Ge Sorumlusu

Eğitim:

- Ege Üniversitesi – Fen Fakültesi / Kimya Bölümü Lisans Programı – 2011/2017
- Ege Üniversitesi – Nükleer Bilimler Enstitüsü / Nükleer Uygulamalar ABD Özel Öğrenci 2017/2018
- Ege Üniversitesi – Nükleer Bilimler Enstitüsü / Nükleer Uygulamalar ABD Tezli Yüksek Lisans Programı – 2019/2020 (Devam Ediyor)

YAYINLAR

- *In Vitro Incorporation of Radioiodinated Eugenol on Adenocarcinoma Cell Lines (Caco2, MCF7, and PC3) CANCER BIOTHERAPY AND RADIOPHARMACEUTICALS Volume 32, Number 3, 2017*
- *Green synthesis of silver nanoparticles by using eugenol and evaluation of antimicrobial potential, Applied Organometallic Chemistry, 2019 May 8, <https://doi.org/10.1002/aoc.4969>*
- *Radioiodinated Ginger Compounds (6-gingerol and 6-shogaol) and Incorporation Assays on Breast Cancer Cells, Anticancer Agents Med Chem. 2020 Jan 27. doi: 10.2174/1871520620666200128114215.*

Projeler:

- *In Vitro Koşullarda Oluşturulan Kronik Eksitotoksisitenin Nöral Membran Lipid Profili Üzerine Etkisinin Araştırılması (Tübitak Program Kodu:3001)*
- *Radyoşaretli Zencefil Bileşenlerinin (6-gingerol ve 6-shogaol) Estrojen Reseptör Duyarlılığının in vitro Yöntemlerle İncelenmesi Ege Üniversitesi Aliye Üster Vakfı Bilimsel Araştırma Projesi*
- *Parkinson Hastalığının Teşhisi Amacıyla Kullanılabilecek Yeni Radyoşaretli Bileşiklerin Tasarımı/Sentezi ve Potansiyellerinin In Vitro Yöntemlerle Belirlenmesi Ege Üniversitesi Aliye Üster Vakfı Bilimsel Araştırma Projesi*
- *"Prostat Kanseri Tedavisi için Sinerjistik Yaklaşımla Bir Radyoligand Tasarlanması; Secoisolariciresinol Diglucoside'in Radyoilyotlanarak*

Hormon Terapi ve Radyoterapi Etkilerinin İn Vitro Olarak İncelenmesi"
(Tübitak Proje Kodu: 1002)

Kongreler

- *Uluslararası Katılımlı 6. İlaç Kimyası: İlaç Etkin Maddesi Tasarımı, Sentezi, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi 'Secoisolariciresinol Diglucoside (SDG) Bileşiminin İzolasyonu, Radyoiodinasyonu' (Antalya, 2018)*
- *In Vitro Incorporation of Radioiodinated Eugenol on Adenocarcinoma Cell Lines (Caco2, MCF7, and PC3) Cancer Biotherapy And Radiopharmaceuticals Volume 32, Number 3, 2017*
- *The Fifth International Conference on Radiation and Applications in Various Fields of Research, Montenegro (RAD 2017) 'Isolation And Radiolabelling Of Ginger Components: 6- Gingerol And 6-Shogaol'*
- *The Fifth International Conference on Radiation and Applications in Various Fields of Research, Montenegro (RAD 2017) 'Radioiodination and In Vitro Evaluation of Phenolic Phytochemical in Clove Extract' (Sözlü Sunum 12-16 Haziran 2017, Karadağ)*
- *15. Ulusal Sinirbilim Kongresi 'Kronik Glutamat Toksikitesinin Gliya Hücre Canlılığına ve Membran Lipid Bileşimine Etkisi' (Poster Sunumu 07-10 Mayıs 2017, Sakarya Üniversitesi)*
- *XI. Ulusal Nükleer Bilimler Ve Teknolojileri Kongresi 'Indole-3-Carbinol Ve PLGA Enkapsüle Formunun 131I İle Radyoışaretlenmesi' (12-14 Ekim 2016, Kuşadası)*
- *4. İlaç Kimyası İlaç Etkin Maddesi Tasarımı, Sentezi, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi 'Zencefil Kökünün Ekstraksiyonu ve Kromatografik Analizi' (Poster Sunumu)*
- *4. İlaç Kimyası İlaç Etkin Maddesi Tasarımı, Sentezi, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi 'Karanfil Bitkisi Orijinli Eugenol Bileşiminin Gümüş Nanoparçacıklarla İle Konjugasyonu ve In Vitro Uygulamalar' (Poster Sunumu (17-20 Mart 2016, Kuşadası)*
- *27. Ulusal Kimya Kongresi 131-I ile İşaretli Eugenol'ün Radyokromatografik Yöntemlerle İncelenmesi (Sözlü Bildiri) 'Karanfil Bitkisi Orijinli Eugenol Bileşiminin I-131 ile Radyoiodinasyonu ve Bazı Kanser Hücrelerine Seçiciliğin Değerlendirilmesi' (Poster Bildiri) (23-28 Ağustos 2015, Çanakkale)*