

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

GLİSİLGLİSİN BAĞLI [<sup>18</sup>F]FDG İLE  
GLİSİLGLİSİN BAĞLI <sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub><sup>+</sup> SENTEZİ VE  
BİYOLOJİK DAVRANIŞLARININ  
*İN-VİVO* KARŞILAŞTIRMASI

Ahmet Murat ŞENİŞİK

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Serap TEKSÖZ

Nükleer Bilimler Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu : 622.02.01

Sunuş Tarihi : 01.09.2014

Bornova-İZMİR

2014



Ahmet Murat ŐENIŐIK tarafından Doktora tezi olarak sunulan ‘‘Glisilglisin Bağlı [<sup>18</sup>F]FDG ile Glisilglisin Bağlı <sup>99m</sup>Tc(CO<sub>3</sub>)<sup>+</sup> Sentezi ve Biyolojik Davranışlarının *Ön-vivo* Karşılaştırması’’ başlıklı bu alıŐma E.Ő. Lisansüstü Eğitim ve Őęretim Yönetmeliği ile E.Ő. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Őęretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 01.09.2014 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

**Jüri Üyeleri:**

**İmza**

**Jüri Başkanı : Prof. Dr. Perihan ÜNAK**

**Raportör Üye : Doç. Dr. Türkan ERTAY**

**Üye : Prof. Dr. B. Elvan Sayıt BİLGİN**

**Üye : Doç. Dr. Serap TEKSÖZ**

**Üye : Doç. Dr. Fazilet Zümrüt BİBER MÜFTÜLER**



# EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

## ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Doktora Tezi olarak sunduğum “Glisilglisin Bağlı [<sup>18</sup>F]FDG ile Glisilglisin Bağlı <sup>99m</sup>Tc(CO<sub>3</sub>)<sup>+</sup> Sentezi ve Biyolojik Davranışlarının *İn-vivo* Karşılaştırması” 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.

01/09/2014

Ahmet Murat ŞENİŞİK



**ÖZET****GLİSİLGLİSİN BAĞLI [<sup>18</sup>F]FDG İLE GLİSİLGLİSİN BAĞLI****<sup>99m</sup>Tc(CO<sub>3</sub>)<sup>+</sup> SENTEZİ VE BİYOLOJİK DAVRANIŞLARININ*****İN-VİVO* KARŞILAŞTIRILMASI**

ŞENİŞİK, Ahmet Murat

Doktora Tezi, Nükleer Bilimler Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Serap TEKSÖZ

Eylül 2014, 71 sayfa

Günümüzde radyoşaretli peptidlerin hedef dokuda görüntüleme ya da tedavi amaçlı kullanılabilmesi giderek önem kazanmaktadır. Pozitron Emisyon Tomografisi(PET) ve Tek Foton Emisyon Bilgisayar Tomografisi(SPECT) radyonüklid kökenli görüntüleme yöntemleridir. [<sup>18</sup>F]FDG peptidlerin radyoşaretlenmesinde yüksek radyosentez verimi ile PET görüntüleme ajanı olarak önemlidir. SPECT görüntüleme için <sup>99m</sup>Tc ile işaretli peptidler birçok hedef organın görüntülenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bu bilgilerin ışığı altında bu doktora tez projesinde bir dipeptid olan glisilglisin hem [<sup>18</sup>F]FDG hem de <sup>99m</sup>Tc(I) trikarbonil kuru ile ayrı ayrı radyoşaretlenmesi sağlanarak kalite kontrolleri yapılmıştır. Kalite kontrol çalışmaları ile [<sup>18</sup>F]FDG-Gly-Gly kompleksinin radyoşaretleme verimi % 98,65±0,35, <sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>-Gly-Gly kompleksinin radyoşaretleme verimi ise % 94,69±2,0 olarak bulunmuştur. Radyoşaretli dipeptidin biyolojik davranışları *in vivo* olarak incelenmiştir. Radyoşaretli dipeptidin deney hayvanları üzerinde etkisi PET ve SPECT görüntüleri alınarak karşılaştırılmıştır. Bunun yanısıra <sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>-Gly-Gly için biyodağılım çalışması gerçekleştirilmiştir. Dinamik görüntülerde her iki radyoşaretli kompleks için böbrek ve mesanede yüksek tutulum gözlenmiş ve vücuttan hem renal hem de hepatobiliar yol ile atıldığı anlaşılmıştır. <sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>-Gly-Gly için biyodağılım sonuçları SPECT görüntüleme ile benzer sonuçlar vermiştir.

**Anahtar sözcükler:** Glisilglisin, [<sup>18</sup>F]FDG, <sup>99m</sup>Tc(I) Trikarbonil Kuru, Radyoşaretli peptid, biyodağılım, statik ve dinamik görüntüleme.





**ABSTRACT****SYNTHESIS OF GLYCYLGLYCINE CONJUGATED WITH  
[<sup>18</sup>F]FDG GLYCYLGLYCINE CONJUGATED WITH <sup>99m</sup>Tc(CO<sub>3</sub>)<sup>+</sup>  
AND BIOLOGICAL BEHAVIOUR *IN-VIVO* COMPARISON**

ŞENİŞK, Ahmet Murat

Ph. D. in Department of Nuclear Science  
Supervisor: Assoc. Doc. Dr. Serap TEKSOZ  
September 2014, 71 pages

In present, radiolabeled peptides used for imaging or therapy the target tissue, are becoming important increasingly. Positron Emission Tomography (PET) and Single Photon Emission Computer Tomography (SPECT) are the methods of radionuclide imaging. [<sup>18</sup>F]FDG for radiolabeling of peptides is important as a PET imaging agent with high efficiency radiosynthesis. For SPECT imaging, peptides labeled with Tc-99m is widely used in many target organs for imaging.

In this doctoral thesis project is that radiolabeled dipeptide glycylglycine with both the [<sup>18</sup>F]FDG and <sup>99m</sup>Tc (I) tricarbonyl core, were performed quality controls separately. In quality control studies with [18F] FDG-Gly-Gly complex, radiolabeled yield was 98.65 % ± 0,35 and radiolabeled yields for <sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>-Gly-Gly complex was 94.69 % ± 2.0. Radiolabeled dipeptide was examined for biological behavior *in vivo*. Radiolabeled dipeptides' effects on laboratory animals is compared with PET and SPECT images. Moreover, biodistribution studies were performed for <sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>-Gly-Gly complex. Dynamic images for both radiolabeled complex was increased in the kidneys and bladder were observed and excretion from body that way was both hepatobiliary and renal. The biodistribution results for <sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>-Gly-Gly were similar with SPECT imaging's results.

**Keywords:** Glycylglycine, [<sup>18</sup>F]FDG, <sup>99m</sup>Tc(I) Tricarbonyl Core, radiolabeled peptide, biodistribution, static and dynamic imaging.



## TEŞEKKÜR

Çalışmam süresince bana büyük emeği geçen, desteğini her zaman yakından hissettiğim, karşılaştığım bütün zorlukları aşmamda bana yardımcı olan danışmanım Doç.Dr. Serap TEKSÖZ' e, yardım ve desteklerini esirgemeyen hocalarım Çiğdem İCHEDEF ve Ayfer YURT KILÇAR' a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Enstitü laboratuvarlarında her türlü çalışma olanağını sağlayan, engin bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Ege Üniversitesi Nükleer Bilimler Enstitüsü Müdürü ve aynı zamanda Nükleer Uygulamalar Anabilim dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Perihan ÜNAK' a teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarımızda bize destek veren Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim dalı Başkanı Prof. Dr. B. Elvan Sayıt BİLGİN' e ve ekibine çok teşekkür ederim.

Şu anda bu tezin okunabiliyor olmasında büyük emekleri geçen bana her zaman ve sınırsız destek veren başta eşim, çocuklarım ve aileme bu sonsuz ilgi, sevgi ve desteklerinden dolayı şükranlarımı sunarım.

Ahmet Murat ŞENİŞİK



**İÇİNDEKİLER**

	<u>Sayfa</u>
ÖZET .....	vii
ABSTRACT .....	ix
TEŞEKKÜR .....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xviii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xxi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xxii
1.GİRİŞ .....	1
2.GENEL BİLGİLER .....	6
2.1 Radyofarmasötikler .....	6
2.2 Organometalik Bileşikler .....	6
2.3 Teknesyum Koordinasyon Kimyası .....	7
2.4 Flor Kimyası .....	9
2.4.1 PET Radyofarmasötiği [ <sup>18</sup> F]FDG .....	10
2.5 Peptidler .....	12
2.5.1 Glisilglisin dipeptidi .....	13
2.6 Kromatografik Analiz Yöntemler .....	14
2.6.1 Kağıt kromatografisi .....	16

**İÇİNDEKİLER (devam)**

	<u>Sayfa</u>
2.6.2 İnce Tabaka Kromatografisi (TLC) .....	16
2.6.3 Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC).....	16
2.6.4 LC/MS-MS yapı analizi .....	16
2.7 Moleküler Görüntüleme .....	18
2.7.1 Manyetik Rezonans Görüntüleme (MR).....	19
2.7.2 Tek Foton Emisyon Bilgisayar Tomografisi (SPECT) .....	20
2.7.3 Pozitron Emisyon Tomografi (PET) .....	21
3. MATERYAL VE METOD .....	24
3.1 Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar .....	24
3.1.1 Kullanılan kimyasallar .....	24
3.1.2 Kullanılan cihazlar .....	25
3.2 İnaktif FDG ve Glisilglisin .....	26
3.2.1 Glisilglisin esterleştirme reaksiyonu .....	26
3.2.2 İnaktif FDG sentezi .....	27
3.2.3 İnaktif FDG-Gly-Gly kompleksinin sentezi .....	27
3.3 İnaktif FDG-Gly-Gly Kompleksinin Kalite Kontrolü .....	27
3.3.1 İnaktif FDG-Gly-Gly kompleksinin HPLC yöntemi ile kalite kontrolü.....	27

## İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
3.4 [ <sup>18</sup> F]FDG-Gly-Gly Kompleksinin Sentezi.....	28
3.5 [ <sup>18</sup> F]FDG-Gly-Gly Kompleksinin Kalite Kontrol Çalışmaları.....	28
3.5.1 [ <sup>18</sup> F]FDG-Gly-Gly kompleksinin TLRC yöntemi ile kalite kontrolü .....	28
3.5.2 [ <sup>18</sup> F]FDG-Gly-Gly kompleksinin HPLRC yöntemi ile kalite kontrolü.....	28
3.6 <sup>99m</sup> Tc(CO <sub>3</sub> ) <sup>+</sup> Korun Hazırlanması.....	29
3.7 Gly-Gly'nin <sup>99m</sup> Tc(CO <sub>3</sub> ) ile Radyoişaretlenmesi.....	29
3.8 <sup>99m</sup> Tc(CO <sub>3</sub> )-Gly-Gly Kompleksinin Kalite Kontrol Çalışmaları.....	29
3.8.1 <sup>99m</sup> Tc(CO <sub>3</sub> )-Gly-Gly kompleksinin TLRC yöntemi ile kalite kontrolü.....	29
3.8.2 <sup>99m</sup> Tc(CO <sub>3</sub> )-Gly-Gly kompleksinin HPLRC yöntemi ile kalite kontrolü....	30
3.9 <sup>99m</sup> Tc(CO <sub>3</sub> )-Gly-Gly Kompleksinin Lipofilite Analizi.....	30
3.10 <i>In Vivo</i> Çalışmalar .....	31
3.10.1 [ <sup>18</sup> F]FDG-Gly-Gly kompleksi ile PET görüntüleme.....	31
3.10.2 <sup>99m</sup> Tc(CO <sub>3</sub> )-Gly-Gly kompleksi ile SPECT görüntüleme .....	31
3.11 <sup>99m</sup> Tc(CO <sub>3</sub> )-Gly-Gly Kompleksi ile Biyodağılım Çalışması.....	32
3.12 İstatistiksel Analizler .....	32
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	33
4.1 İnaktif FDG-Gly-Gly Kompleksinin Kalite Kontrolü .....	33

## İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
4.1.1 HPLC sonuçları .....	33
4.1.2 LC/MS-MS sonuçları .....	37
4.2 [ <sup>18</sup> F]FDG-Gly-Gly Kompleksinin Kalite Kontrolü.....	37
4.2.1 [ <sup>18</sup> F]FDG-Gly-Gly kompleksine dair TLRC sonuçları.....	37
4.2.2 [ <sup>18</sup> F]FDG-Gly-Gly kompleksine HPLRC sonuçları .....	40
4.3 <sup>99m</sup> Tc(CO) <sub>3</sub> -Gly-Gly Kompleksinin Kalite Kontrol Çalışmaları .....	42
4.3.1 <sup>99m</sup> Tc(CO) <sub>3</sub> -Gly-Gly kompleksine dair TLRC sonuçları.....	42
4.3.2 <sup>99m</sup> Tc(CO) <sub>3</sub> -Gly-Gly kompleksine dair HPLRC sonuçları .....	44
4.4 Lipofilite Analizi Sonucu.....	46
4.5 İn Vivo Çalışmalar .....	47
4.5.1 [ <sup>18</sup> F]FDG-Gly-Gly kompleksine dair PET sonuçları .....	47
4.5.2 <sup>99m</sup> Tc(CO) <sub>3</sub> -Gly-Gly kompleksine dair SPECT sonuçları .....	53
4.5.3 <sup>99m</sup> Tc(CO) <sub>3</sub> -Gly-Gly kompleksinin biyodağılım çalışması sonuçları.....	58
4.5.4 İstatistik analiz sonuçları.....	61
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	63



**İÇİNDEKİLER (devam)**

	<u>Sayfa</u>
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	65
ÖZGEÇMİŞ.....	70

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Renyum trikarbonil ve teknesyum trikarbonil korlarının oluşturduğu kompleksler.....	9
2.2. Glisilglisin peptidleşme reaksiyonu.....	14
2.3. LC-MS/MS işleyiş diagramı.....	17
4.1 İnaktif FDG sentez reaksiyonu .....	33
4.2 Sentezlenen inaktif FDG ait HPLC kromatogramı.....	33
4.3 [ <sup>18</sup> F]FDG ait HPLC kromatogramı .....	34
4.4 Sentezlenen inaktif FDG (pembe) ve [ <sup>18</sup> F]FDG (siyah) ait HPLC kromatogramları .....	34
4.5 Glisilglisin bileşiğinin esterleştirme reaksiyonu.....	35
4.6 Boc-AOA süksinimid ester Gly-Gly bileşiğinin HPLC kromatogramı .	35
4.7 İnaktif FDG-Gly-Gly kompleksinin sentez reaksiyonu.....	35
4.8 Sentezlenen inaktif FDG-Gly-Gly kompleksine dair HPLC kromatogramı.....	36
4.9 Sentezlenen inaktif FDG (Siyah), Boc-AOA süksinimid ester Gly-Gly (Mavi) ve FDG-Gly-Gly (Pembe) ait HPLC kromatogramları.....	36
4.10 Boc-AOA süksinimid ester Gly-Gly bileşiğinin LC / MS-MS spektrumu ....	37
4.11 [ <sup>18</sup> F]FDG-Gly-Gly kompleksinin sentez reaksiyonu.....	38
4.12 [ <sup>18</sup> F]FDG ve [ <sup>18</sup> F]FDG-Gly-Gly komplekslerine ait TLRC kromatogramları.....	38

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.13 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ ait HPLRC kromatogramına ait Rt değerleri .....	40
4.14 $[^{18}\text{F}]\text{FDG-Gly-Gly}$ kompleksine ait HPLRC kromatogramı .....	40
4.15 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ (Pembe) ve $[^{18}\text{F}]\text{FDG-Gly-Gly}$ (Siyah) komplekslerine ait HPLRC kromatogramları .....	41
4.16. Tc(I) trikarbonil korunun sentez reaksiyonu .....	42
4.17 $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3^+$ ile radyoişaretli Gly-Gly kompleksinin kimyasal yapısı ...	43
4.18 $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3^+$ korunun ve $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$ kompleksinin metanol:su(2:1) banyosundaki TLRC kromatogramları .....	43
4.19 $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ , $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3^+$ koru ve $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$ kompleksine ait HPLRC kromatogramı.....	45
4.20 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ bileşiğinin ilk 30dk da alınan dinamik görüntüleri .....	47
4.21 $[^{18}\text{F}]\text{FDG-Gly-Gly}$ kompleksinin ilk 30dk da alınan dinamik görüntüleri.....	48
4.22 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ ve $[^{18}\text{F}]\text{FDG-Gly-Gly}$ kompleksleri için 30.dk statik görüntüleri ...	49
4.23 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ ve $[^{18}\text{F}]\text{FDG-Gly-Gly}$ kompleksleri için 60.dk statik görüntüleri....	49
4.24 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ ve $[^{18}\text{F}]\text{FDG-Gly-Gly}$ kompleksleri için 90.dk statik görüntüleri ...	49
4.25 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ ve $[^{18}\text{F}]\text{FDG-Gly-Gly}$ kompleksleri için 120.dk statik görüntüleri..	50
4.26 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ ve $[^{18}\text{F}]\text{FDG-Gly-Gly}$ kompleksleri için 150.dk statik görüntüleri..	50
4.27 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ ve $[^{18}\text{F}]\text{FDG-Gly-Gly}$ kompleksleri için 180.dk statik görüntüleri..	50
4.28 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ ve $[^{18}\text{F}]\text{FDG-Gly-Gly}$ kompleksleri için 240.dk statik görüntüleri..	51

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.29 [ <sup>18</sup> F]FDG için dozun organlara dağılımını .....	52
4.30 [ <sup>18</sup> F]FDG-Gly-Gly kompleksi için dozun organlara dağılımı.....	52
4.31 <sup>99m</sup> TcO <sub>4</sub> <sup>-</sup> için 30dk dinamik görüntüleri .....	53
4.32 <sup>99m</sup> Tc(CO <sub>3</sub> )-Gly-Gly kompleksi için 30dk dinamik görüntüleri.....	54
4.33 <sup>99m</sup> TcO <sub>4</sub> <sup>-</sup> ve <sup>99m</sup> Tc(CO <sub>3</sub> )-Gly-Gly kompleksleri için 30.dk statik görüntüleri	55
4.34 <sup>99m</sup> TcO <sub>4</sub> <sup>-</sup> ve <sup>99m</sup> Tc(CO <sub>3</sub> )-Gly-Gly kompleksleri için 60.dk statik görüntüleri	55
4.35 <sup>99m</sup> TcO <sub>4</sub> <sup>-</sup> ve <sup>99m</sup> Tc(CO <sub>3</sub> )-Gly-Gly kompleksleri için 90.dk statik görüntüleri	55
4.36 <sup>99m</sup> TcO <sub>4</sub> <sup>-</sup> ve <sup>99m</sup> Tc(CO <sub>3</sub> )-Gly-Gly kompleksleri için 120.dk statik görüntüleri	56
4.37 <sup>99m</sup> TcO <sub>4</sub> <sup>-</sup> ve <sup>99m</sup> Tc(CO <sub>3</sub> )-Gly-Gly kompleksleri için 150.dk statik görüntüleri	56
4.38 <sup>99m</sup> TcO <sub>4</sub> <sup>-</sup> ve <sup>99m</sup> Tc(CO <sub>3</sub> )-Gly-Gly kompleksleri için 180.dk statik görüntüleri	56
4.39 <sup>99m</sup> TcO <sub>4</sub> <sup>-</sup> ve <sup>99m</sup> Tc(CO <sub>3</sub> )-Gly-Gly kompleksleri için 240.dk statik görüntüleri	57
4.40 <sup>99m</sup> Tc(CO <sub>3</sub> )-Gly-Gly kompleksi için dozun organlara dağılımı.....	57
4.41 Na <sup>99m</sup> TcO <sub>4</sub> için dozun organlara dağılımı.....	58
4.42. <sup>99m</sup> Tc(CO <sub>3</sub> )-Gly-Gly kompleksi için organ/kan oranı.....	60
4.43 <sup>99m</sup> Tc(CO <sub>3</sub> )-Gly-Gly kompleksi için %ID/g değerleri .....	60

**ÇİZELGELER DİZİNİ**

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 SPECT'te kullanılan radyonüklidler ve üretim şekilleri .....	21
2.2 PET'te kullanılan radyonüklidler ve üretim şekilleri .....	23
4.1 [ <sup>18</sup> F]FDG ve [ <sup>18</sup> F]FDG -Gly-Gly komplekslerine ilişkin R <sub>f</sub> değerleri .....	38
4.2 <sup>99m</sup> Tc(CO) <sub>3</sub> <sup>+</sup> koru ve <sup>99m</sup> Tc(CO) <sub>3</sub> -Gly-Gly komplekslerine ilişkin R <sub>f</sub> değerleri .....	43
4.3 Gly-Gly, <sup>99m</sup> Tc(CO) <sub>3</sub> -Gly-Gly ve [ <sup>18</sup> F]FDG komplkeslerine ait lipofilite sonuçları .....	46
4.4 <sup>99m</sup> Tc(CO <sub>3</sub> )-Gly-Gly kompleksi için biyodağılım sonuçları .....	59

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
Gly-Gly	Glisilglisin
$^{99m}\text{Tc}$	Metastabil Teknesyum radyoizotopu
$^{18}\text{F}$	Flor-18
FDG	Sentezlenen Floro deoksi glukoz
$[\text{}^{18}\text{F}]\text{FDG}$	Aktif Floro deoksi glukoz
$[\text{}^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3]^+$	Teknesyum Trikarbonil Kuru
$\text{TcO}_4^-$	Teknesyum (VII) perteknetat iyonu
$^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)\text{-Gly-Gly}$	Glisin-Glisin bağlı $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)^+$ kuru
$[\text{}^{18}\text{F}]\text{FDG-Gly-Gly}$	Glisin-Glisin bağlı $[\text{}^{18}\text{F}]\text{FDG}$
FDG-GlyGly	Glisin-Glisin bağlı sentez FDG
$^{99}\text{Mo}$	Molibden
CO	Karbon monoksit
$\text{NaBH}_4$	Sodyum bor hidrür
Ar	Argon
Sn	Kalay
NaF	Sodyum florür

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)**

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Potasyum Karbonat
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Sodyum karbonat
TFA	Trifloro asetik asit
SOCl <sub>2</sub>	Tiyonül klorür
CH <sub>3</sub> OH	Metanol
Cd(Te)	Kadmiyum(Tellür)
<u>Kısaltmalar</u>	
AA	Aminoasit
MRG	Manyetik Rezonans Görüntüleme
SPECT	Tek Foton Emisyon Bilgisayar Tomografisi
PET	Pozitron Emisyon Tomografisi
t <sub>1/2</sub>	Radyoaktivite yarıömür
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
HPLRC	Yüksek performanslı sıvı radyo kromatografisi
TLC	İnce tabaka kromatografisi
TLRC	İnce tabaka radyo kromatografisi
R <sub>f</sub>	Taşınım mesafesi

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)**

R <sub>t</sub>	Retention zamanı
LC/MS-MS	Yapı analizinde kullanılan kütle spektrofotometresi
DMF	N-N-dimetil formamid
ACN	Asetonitril
PBS	Fosfat tamponu
SF	Serum fizyolojik



## 1. GİRİŞ

Son on yılda, moleküler biyolojide peptid reseptörleri ve peptid bağlı biyomoleküller ile ilgili yapılan çalışmalar giderek önem kazanmaktadır. Radyoişaretleme tekniklerinin ve biyokonjugatların yardımıyla çok sayıda peptid kökenli ajan geliştirilmiştir. Bu tür peptid kökenli ajanlar, proteinler ya da antikorlar gibi makromoleküller ile karşılaştırıldığında, düşük molekül ağırlıklı ve görüntüleme çalışmaları için sahip oldukları iyi farmakokinetik özellikleri nedeniyle üstünlük göstermektedirler. Bu küçük peptidler, proteinler ve antikorlar gibi makromoleküllerden farklı olarak kandan daha hızlı temizlenebilme, kan ve hedef olmayan dokulardan hızlı dağılım gösterebilme özelliklerine sahiptirler. Küçük peptidler düşük toksisite göstermeleri ve radyoişaretlemede oldukça başarılı olmaları nedeniyle de radyoişaretleme çalışmalarında tercih edilmektedirler (Chen and Conti, 2010).

Son yıllarda yapılan nükleer tıp çalışmalarında tümör hücrelerinin bazı peptid türlerine karşı duyarlı olduğu ve bu peptidler ile görüntülenebilmelerinin mümkün olduğuna ilişkin pek çok çalışma yapılmıştır. 850 üzerinde peptidin karakteristik reseptörleri için yüksek bir afiniteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Uygun bir peptid seçilerek belirli hedef dokuda görüntüleme ya da tedavi amaçlı radyoişaretleli peptidlerin kullanılabilmesi olanağını doğurmuştur (Weiner and Thakur, 2002).

Peptidlerin biyolojik aktivitesini korumak için peptid ve radyoişaretleme kısmı arasında bir bağ kurulmaktadır. Uygun bir şelatlama ajanı ile birleşmesi görüntüleme probunun biyodağılımı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Şelatlama ajanı görüntüleme probunun farmokinetiğini düzenlemek için kullanılmaktadır. Uzunluk, esneklik, hidrofilitik ve yükler (anyonik, katyonik ve nötr) uygun bir şelatlama ajanı seçmek için dikkate alınması gereken önemli faktörlerdir. Küçük peptidler ile yapılan pek çok radyoişaretleme çalışmalarında, şelatlayıcı ile peptidin görüntüleme özelliklerinin değişebildiği gösterilmektedir. Farklı şelatlama ajanları ile daha hassas görüntülemenin mümkün olabileceği gösterilmektedir (Chen and Conti, 2010).

Tümörlerin belirlenmesinde görüntüleme yöntemleri önemli role sahiptir. Pozitron Emisyon Tomografi (PET) ve Tek Foton Emisyon Bilgisayar Tomografi (SPECT) gibi yöntemler tümörün malignite derecesi, komşu dokulara invazyonu, tedaviye bağlı değişiklikleri ve rekürrens hakkında ek bilgiler sağlar. En sık

kullanılan PET görüntüleme ajanı olan [ $^{18}\text{F}$ ]FDG'nin yanında tümörlerin görüntülenmesi için radyoaktif işaretli aminoasit ve peptidler ile sintigrafik görüntüleme yöntemleri de kolay ulaşılabilir ve düşük maliyetli olması nedeniyle tümörlerin değerlendirilmesinde önemini korumaktadır (Schibli and Schubiger, 2002; Barber et al., 2005).

Pozitron Emisyon Tomografisinde (PET) görüntüleme ajanı olarak kullanılan  $^{18}\text{F}$ , çok basamaklı sentezlere izin verebilen fiziksel özellikleri nedeniyle peptidlerin radyoışaretlenmesinde tercih edilmektedir.  $^{18}\text{F}$ 'nin yaklaşık 110 dakika olan yarı ömrü ve düşük  $\beta^+$  enerjisi (635 keV) PET görüntülemede yüksek bir rezülasyon sağlamaktadır (Chen ve Conti, 2010).

Ancak  $^{18}\text{F}$ 'nin doğrudan peptidlerle işaretlenmesi zordur. Bu nedenle,  $^{18}\text{F}$ 'nin peptidlerle işaretlenmesinde bifonksiyonel işaretleme ajanı olan prostetik gruplar kullanılmaktadır. Prostetik grubun peptid ile birleşmesi ya amin gruplarının açılasyonu, amidasyon ve imidasyonu, tiyol gruplarının alkilasyonu, oksimlerdeki ve hidrazonlardaki yapıya benzeyen kemoselektif reaksiyonlar ve fotokimyasal birleşme ile ve son zamanlarda “click” kimya oluşumu ile mümkün olmaktadır (Wuest et al., 2009a,b).

Simpson ve arkadaşları [ $^{18}\text{F}$ ]FDG bileşimini bir prostetik grup yardımıyla biotin ile işaretlemeyi gerçekleştirmişlerdir. Oluşturdukları [ $^{18}\text{F}$ ]FDG ve biotin ile işaretli [ $^{18}\text{F}$ ]FDG için radyoışaretlemenin % 90'ın üzerinde bir verimle gerçekleştirdiğini rapor etmişlerdir (Simpson et al., 2011).

Wuest ve arkadaşları  $^{18}\text{F}$  radyonüklidini bir prostetik grup yardımıyla sistin içeren bir peptid ve protein grubu ile işaretlemeyi gerçekleştirmişlerdir. Elde ettikleri süksinimidil-4- $^{18}\text{F}$ florobenzoat ( $^{18}\text{F}$ SFB) kompleksinin TLRC ile kalite kontrolü için % 95'in üzerinde verim ve HPLRC ile kalite kontrolü için % 98'in üzerinde verim elde ettiklerini bildirmişlerdir (Wuest et al., 2009a).

Wuest ve arkadaşları, [ $^{18}\text{F}$ ]FDG'yi bir protein ve peptide bağlayabilmek için bir prostetik grup olan maleimid hekzil oksim (MHO) bileşiminden yararlanmışlardır. Bunun için, öncelikle [ $^{18}\text{F}$ ]FDG'nin MHO ile sentezi sağlamışlardır. Daha sonra bir tripeptid olan glutatyon (GSH) ve bir protein olan annexin A5 (anxA5) ile radyoışaretlemesi gerçekleştirilmiştir. TLRC ile kalite kontrolünde [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-MHO için % 79 verim elde edilirken [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-MHO-GSH için % 92 verim ve [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-MHO-anxA5 için % 58 verim olarak

bildirmişlerdir. Aynı bileşiklerin HPLRC ile kalite kontrolü yapıldığında saflaştırma sonrasında [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-MHO için % 95 verim elde edilirken [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-MHO-GSH için % 92 ve [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-MHO-anxA5 için % 43-58 bağlanma verimi rapor etmişlerdir (Wuest et al., 2008).

Olberg ve arkadaşlarının yaptığı peptid bağlı [ $^{18}\text{F}$ ]FDG bileşiği olan O-(2-(2-[ $^{18}\text{F}$ ]floroetoksi)-etil)-N-metilhidroksilamin ( $^{18}\text{F}$ -FENMA) için yaptıkları görüntüleme çalışmalarında vücuttan atılımının renal yoldan olduğu ve düşük kemik tutulumu ve yüksek mesane ve böbrek tutulumları saptanmıştır (Olberg et al., 2010).

Poethko ve arkadaşlarının yaptığı  $^{18}\text{F}$  işaretli başka bir peptid çalışmasında elde ettikleri (c(RGDfE)HEG)<sub>2</sub>-K-Dpr-[ $^{18}\text{F}$ ]FBOA ve Gluc-S-Dpr([ $^{18}\text{F}$ ]FBOA)TOCA komplekslerinin renal yollardan vücuttan atıldığı ve karaciğer, mesane ve böbrek tutulumunun saptandığı bildirilmiştir (Poethko et al., 2004).

Teknesyum-99m uygun yarı ömür ve gama enerjisine sahip olması nedeniyle görüntüleme amacıyla tercih edilen bir radyonüklittir. Günümüzde  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  ile işaretli peptidler birçok hedef organın görüntülenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bu çalışmalardan birinde Welling ve Alberto [ $^{18}\text{F}$ ]FDG ve  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  ile işaretli glukoz bileşikleri üzerinde yaptığı çalışma sonucunda her iki bileşiğinde görüntüleme ajanı olarak benzer sonuçlar verdiği gözlenmiştir (Welling and Alberto, 2010).

Bir diğer çalışmada Jun Oh ve arkadaşları  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  ile bir şeker grubunu işaretleyerek  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -1-thio- $\beta$ -D-glucose ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -1-TG) bileşiğini elde etmişlerdir. Elde ettikleri radyoışaretli bileşiğin TLRC kontrolü ile verimi hesaplamışlardır. Farklı konsantrasyonlarda radyoışaretleme verimi % 98.7 $\pm$ 1.5 olarak bildirilmiştir. HPLRC ile kalite kontrolü ile verim % 98,7 $\pm$ 1.5 olarak bulmuşlardır (Jun Oh et al., 2006).

Peptid bağlı  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  (c(RGDfK)-(Orn)<sub>3</sub>-[CGG- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ]) bileşiği Tsiapa ve arkadaşları tarafından sentezlenmiş ve TLRC ve HPLRC kontrolü ile % 98' in üzerinde radyoışaretleme verimi hesaplanmıştır (Tsiapa et al., 2013).

Tsiapa ve arkadaşlarının c(RGDfK)-(Orn)<sub>3</sub>-[CGG-<sup>99m</sup>Tc] ve <sup>99m</sup>Tc-PGC-c(RGDyK) ile yaptıkları görüntüleme çalışmasında iki yapının biyodağılımlarını karşılaştırmışlardır. Hidrofilik yapı gösteren c(RGDfK)-(Orn)<sub>3</sub>-[CGG-<sup>99m</sup>Tc] bileşiğinin vücuttan atılımının böbrek, lipofilik yapısı olan <sup>99m</sup>Tc-PGC-c(RGDyK) bileşiğinin ise karaciğer yolu ile olduğu gözlenmiştir (Tsiapa et al., 2013).

Radyoişaretli peptidlerin moleküler görüntüleme ve tümörlerin tedavisi için son yıllarda üretimi kolay, düşük maliyetli bir organometalik bileşik olan <sup>99m</sup>Tc(I) trikarbonil kuru ile peptidlerin radyoişaretlemesi ile ilgili pekçok çalışma yapılmıştır.

Fonge ve arkadaşları heksadeksil grupları ile <sup>99m</sup>Tc(CO<sub>3</sub>)<sup>+</sup> korunu radyoişaretlemeyi başarmışlardır. Elde ettikleri <sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>-N-heksadekilaminoetil-N<sup>3</sup>-aminoetilamin bileşiğinin verimini TLRC ile % 90' ın üzerinde ve HPLRC ile bileşiğinin verimi % 99 olarak bildirilmiştir (Fonge et al., 2009).

Alves ve arkadaşlarının peptid bağlı <sup>99m</sup>Tc(CO<sub>3</sub>)<sup>+</sup> bileşiği ile yaptıkları görüntüleme çalışmalarında elde edilen bileşiğin vücuttan atılımının renal yollardan olduğu ve tutulumun böbrek ve karaciğerde yoğunlaştığı bildirilmiştir (Alves et al., 2005).

Garcia-Garayoa ve arkadaşlarının neurotensin (NT) peptidi bağlı <sup>99m</sup>Tc(CO<sub>3</sub>)<sup>+</sup> bileşiği ile yaptıkları görüntüleme çalışmalarında elde edilen <sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>NT-VIII bileşiğin tutulumun böbrek ve karaciğerde yoğunlaştığı ve vücuttan atılımının renal yollardan gerçekleştiğini rapor etmişlerdir (Garcia-Garayoa et al., 2002).

Enstitümüzde 2009 yılında ilk kez <sup>18</sup>F ile işaretli magnetit nanoparçacıkları sentezlenerek biyolojik etkinliği MCF7 meme kanseri hücre hattında incelenmiştir. Radyoişaretli magnetit nanoparçacıkların bu hücrelere % 50' ye varan tutulumu olduğu gözlenmiştir (Toksöz et al., 2013). Bunun yanısıra enstitümüzde <sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub><sup>+</sup> kuru ile farklı moleküllerin radyoişaretme çalışmaları yapılmış olup halen çalışmalar sürdürülmektedir (Şenocak, 2010; İçhedef, 2010; Gedik et al., 2013).

Bu bilgilerin ışığı altında bu doktora tez projesinde bir dipeptid olan glisilglisininin hem [<sup>18</sup>F]FDG hem de <sup>99m</sup>Tc(I) trikarbonil kuru ile ayrı ayrı

radyoifaretlenmesi sağlanarak kalite kontrolleri yapılmıştır. Radyoifaretli dipeptidin biyolojik davranışlarının *in vivo* olarak karşılaştırılması hedeflenmiştir. Bu amaç için radyoifaretli bileşiğin [<sup>18</sup>F]FDG-Gly-Gly ile deney hayvanları üzerinde PET görüntüleme, <sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>-Gly-Gly ile SPECT görüntüleme ve biyodağılım çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Radyofarmasötikler

Radyofarmasötikler, hastada hiç bir fizyolojik etki yaratmadan nükleer tıpta hastalıkların teşhis ve tedavisinde kullanılan, yapısında bir radyoaktif çekirdek yani radyonüklid bulunduran bileşiklerdir. Radyofarmasötikler, radyonüklid kısım ve farmasötik kısım olmak üzere iki bileşenden oluşur. Radyonüklid kısmının sahip olduğu radyoaktivite sayesinde tesbit edilebilir veya tutunumun sağlandığı dokunun tedavisi sağlanabilir. Farmasötik kısım ile tutunum sağlanmak istenen bölgeye, radyonüklid kısmının taşınması sağlanır. Radyofarmasötiğin seçiminde hedef organın fizyolojik yapısı dikkate alınmalı ve uygun bir radyonüklid, uygun bir farmasötiğe takılarak işaretleme gerçekleştirilmelidir. Radyofarmasötiğin uygulanış amacına göre radyonüklidin enerjisine, radyonüklidin türüne, nükleer karakteristiğine dikkat edilmelidir. Radyofarmasötiklerin uygulama öncesinde kimyasal saflık, radyokimyasal saflık, mikrobiyolojik saflık kontrollerinden geçirilmesi gereklidir. İdeal bir radyofarmasötiğin sahip olması gereken bazı özellikler vardır. Buna göre, ideal bir radyofarmasötik, ucuz, kolay elde edilebilir veya sentezlenebilir olmalıdır. İdeal bir görüntüleme radyofarmasötiği foton ya da gama ışını yayınlamalıdır. İdeal bir görüntüleme radyofarmasötiğinin yaydığı fotonlar ve gama ışınları insan vücudunda bulunan karbon, azot, oksijen gibi düşük atom numaralı elementlerle etkileşime girmezler. Böylece alınan görüntüler daha kaliteli elde edilir. İdeal bir tedavi radyofarmasötiği ise beta, alfa ve Auger elektronu gibi parçacıklar yayınlayarak DNA zincirinde hasar oluşturarak tedavi sağlar (Ünak, 2003; Junnotula, 2006).

### 2.2 Organometalik Bileşikler

Klasik organometalik bileşikler, doğrudan geçiş metali-karbon bağı olan bileşiklerdir ve biyolojik sistemlerde oldukça nadir bulunur. Şimdiye kadar bulunan tek doğal organometalik bileşik koenzim, adenosil cobalamine B12 vitamindir. Biyo-organometalik bilim; immünoloji, reseptör araştırma ve geliştirme gibi alanlarda gelecekte potansiyel öneme sahip yeni gelişmekte olan bir disiplindir. Disiplinler arası araştırmalar yapan çok sayıda grupta bu hızlı gelişen alanda son zamanlarda kayda değer ilerlemeler göstermiştir. Organometalik önceleri hava ve nem duyarlı ve suda çözünmez bileşikler olarak tanımlanmışlardır. Ancak organometalik bileşikler gerçekten havada, sulu çözeltilerde, metal ve ligand sistemleri doğru seçildiğinde olağanüstü kararlılık

gösteren yapılardır. Nitekim, birçok organometalik kor içeren bileşik tıbbi amaçlı kullanılmaktadır (Schibli and Schubiger, 2002).

Son zamanlarda nükleer tıp ve radyofarmasi sadece klinik olarak uygulanabilir organometalik ilaçların gelişiminde öncü ve lider rol oynamıştır. Rutinde yaygın olarak kullanılan nükleer tıp SPECT görüntüleme ajanı olan Teknesyum-99m sestamibi (Cardiolite), klasik bir organometalik bileşiktir. Başlangıçta bir miyokard perfüzyon ajanı olarak geliştirilen, günümüzde de başarıyla tümör görüntüleme ve çok ilaca direnç tespiti için uygulanan Cardiolite nükleer tıpta rutin olarak kullanılan bir organometalik bileşiktir. Potansiyel tedavi amaçlı uygulamada birçok radyoaktif çekirdek geçiş metali olduğu için biyomoleküllere uygun ve etkin işaretleme işlemlerine ihtiyaç vardır. Organometalik geçiş metali bileşiklerin "yapay" karakteri, *in vivo* "doğal" ilaçlar ile karşılaştırıldığında belirgin bir üstünlük göstermektedir. Böylece, organometalik farmasötikler işaretleme için bir alternatif olabilir. Kimyasal literatürde organometalik bileşikler için kesin bir tanım yoktur. Klasik organometalikler, organo-fosforlu, veya sülfür-selenyum şelatlı geçiş metal kompleksleri de organometalikler olarak kabul edilebilir. Bu geniş tanımın uygulanması ile radyofarmaside geliştirilen ve nükleer tıpta kullanılan fosfor ve kükürt kökenli birçok kompleks organometalikler olarak kabul edilmektedir (Schibli and Schubiger, 2002).

### 2.3 Teknesyum Koordinasyon Kimyası

Periyodik tablodaki 43. element olan teknesyum (Tc), 1937 yılında Perrier ve Segre tarafından keşfedilmiştir. Teknesyum gümüş gri renkte ve erime sıcaklığı 2160°C olan yapay bir elementtir. Kimyasal özellikleri aynı grup elementi olan renyum ile benzerlik gösterir. Teknesyum -1'den +7'e kadar 8 yükseltgenme basamağına sahiptir. Bu yükseltgenme basamaklarının stabilitesi teknesyuma bağlanan ligandların kimyasal özelliklerine bağlıdır. Nükleer tıpta kullanılan ve 8 izomeri olan teknesyum ismini, tüm izotopları ve kendisi yapay olarak üretildiğinden Yunanca "yapay" kelimesinden almıştır. İki izotopu  $^{93}\text{Tc}$  ( $t_{1/2} = 165$  dk) ve  $^{94\text{m}}\text{Tc}$  ( $t_{1/2} = 52$  dak) pozitron yayması ve uygun yarı ömürleri nedeniyle pozitron emisyon tomografide (PET) kullanılmakla birlikte  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  ( $t_{1/2} = 6$  saat) izotopu 140keV düşük gama enerjisi ile görüntüleme amaçlı SPECT cihazlarında kullanılmaktadır (Saha, 1996; Barros et al., 2010).

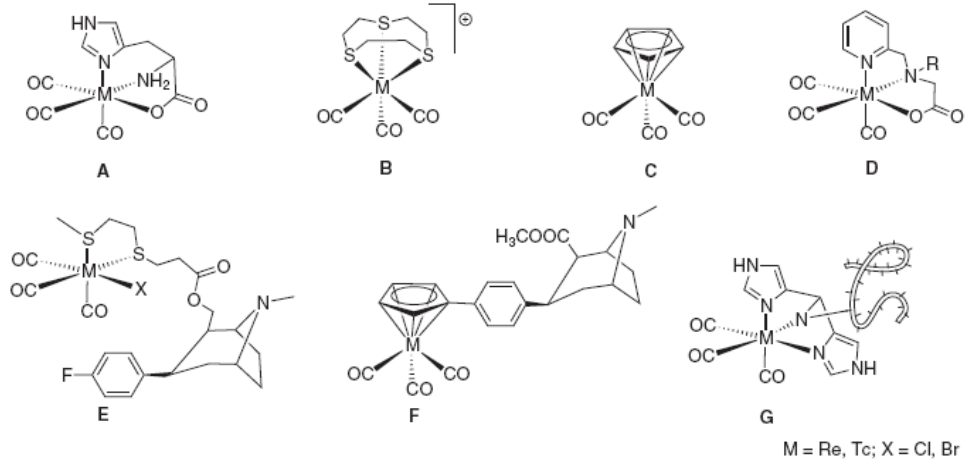
$^{99m}\text{Tc}$  sahip olduğu 6.01 saatlik yarıömrü ve 140 keV lik gama foton enerjisi sayesinde sintigrafik görüntülemeler için ideal bir rezülayona sahiptir. Bununla birlikte  $^{99}\text{Mo}$ -Tc jeneratörü ile steril, pirojensiz ve taşıyıcısız kolayca elde edilebilir olması klinik olarak kullanılmasının tercih nedenlerinden biridir (Saha, 1996; Barros et al., 2010; Kharisow and Mendez-Rojas, 2001).

Bu özelliklerinin dışında  $^{99m}\text{Tc}$ ' un en önemli üstünlüğü işaretleme veriminin yüksek olmasıdır. Düşük konsantrasyon hedefleri, işaretleme için gerekli yüksek spesifik aktiviteye  $^{99m}\text{Tc}$ -karbonil kuru,  $^{99m}\text{Tc}$ -nitrido ve  $^{99m}\text{Tc}$  (III) çekirdekler kullanılarak kolayca ulaşılabilir. Son zamanlarda,  $^{99m}\text{Tc}$  kalp, beyin, böbrek, karaciğer ve diğer organların yanı sıra tümör dokularının çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanım alanı bulmuştur (Kharisow and Mendez-Rojas, 2001; Welling and Alberto, 2010).

Alberto ve arkadaşları tarafından 1998 yılında, jeneratör ürünü olan  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  tan çıkılarak sodyum borhidrür ( $\text{NaBH}_4$ ) indirgeyici ajan yardımıyla 1 atm basınç altında CO gazı ile serum fizyolojik ortamında  $[\text{}^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  metal kompleksi sentezlenmiştir. Daha sonra kompleksteki su moleküllerinin bifonksiyonel ligandlarla yer değiştirmesi ile kompleksin biyomoleküllere bağlanması sağlanmaktadır. Yüksek esnekliğe sahip  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$  korun üç dişli şelat sistemleri daha iyi farmakokinetik davranış sağlamaktadır (Alberto et al., 1999; Schibli and Schubiger, 2002; İçhedef, 2010).

$[\text{}^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  kuru alifatik aminler ve karboksilat grupları ile kararsız kompleksler oluştururken, aromatik aminlerle yüksek termodinamik ve kinetik kararlılığa sahip kompleksler oluşturmaktadır (Alberto et al., 1998; İçhedef, 2010). Şekil 2.1' de histidin (A), tiyoeter (B), yarı-sandviç (C), aminokarboksilat kompleksleri (D), steroid ve peptidler (E-G) gibi bazı biyoaktif moleküllerin teknesyum ve renyum trikarbonil kurları ile oluşturdukları kompleksler bulunmaktadır (Abram and Alberto, 2006; İçhedef, 2010).





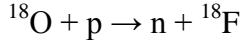
Şekil 2.1 Renyum trikarbonil ve teknesyum trikarbonil korlarının oluşturduğu kompleksler

Biyomoleküllerin işaretleme için en umut verici ve gelişmiş organometalik çekirdeklerden biri teknesyum-ve renyum-trikarbonil korudur. Merkezdeki metal +1 düşük yükseltgenme basamağındadır ve bu nedenle kimyasal olarak çok karardır.  $M(CO)_3^+$  koru ( $M = {}^{99m}Tc, {}^{188}Re$ ) küresel bir şekle sahip ve oldukça güçlü bir yapıdadır. Oktahedral koordinasyon küre yapısındaki bu kor uygun bir ligand sistemi ile birleşmesi durumunda merkezdeki metal başka ligandların yaklaşmasına veya tekrar yükseltgenmeye karşı korunmuş olmaktadır (Schibli and Schubiger, 2002).

$[M(H_2O)_3(CO)_3]^+$  ( $M = {}^{99m}Tc, {}^{188}Re$ ) kökenli radyofarmasötiklerle yapılan çalışmalar “fac- $[M(CO)_3]^+$ ” kompleksinin tek veya çok dişli ligandlarla yüksek karardılıktaki kompleksler oluşturduğunu göstermektedir. Bifonksiyonel yaklaşım için umut verici olan biyolojik amaca uygun ligand sistemleri ve şelatlayıcılar ile ilgili çalışmalar halen birçok araştırma grubu tarafından sürdürülmektedir ve bu yeni sınıf teknesyum/renyum bileşiklerinin gelecekteki radyofarmasötik araştırmalarında önemli rol oynayacağı düşünülmektedir (Abram and Alberto, 2006).

## 2.4 Flor Kimyası

Periyodik tabloda halojenler grubunun ilk elementi olan florun atom numarası 9 ve atom ağırlığı 19 dur. Flor -1 yükseltgenme basamağına sahip ve kimyasal yönden aktif bir elementtir.  ${}^{18}F$  parçacık hızlandırıcıda  $H_2{}^{18}O$  hedefinin protonlarla ışınlanması sonucunda  ${}^{18}O(p,n){}^{18}F$  nükleer reaksiyonu ile elde edilir.



635 keV' lik düşük  $\beta^+$  enerjili  $^{18}\text{F}$ , dokuda pozitron PET görüntülerinde yüksek doğrusal çözünürlüğe sahiptir.

Flor-18 mükemmel kimyasal ve nükleer özellikleri nedeniyle rutin PET görüntüleme için ideal bir radyonükliddir.  $^{11}\text{C}$  gibi diğer kısa ömürlü radyonüklitlerle karşılaştırıldığında,  $^{18}\text{F}$  için görüntüleme yöntemleri birkaç saatten fazla uzayabilen zaman alıcı çok basamaklı radyosenteze izin verebilecek kadar uzun 110dk bir yarı ömrü vardır (Simpson et al., 2011).

Çok sayıda ilaç-benzeri molekül başarılı bir şekilde  $^{18}\text{F}$  ile işaretlenmiş olmasına rağmen, peptidler ve proteinler gibi kompleks moleküllerin radyoışaretlenme optimizasyonun sağlanması radyokimyasal üstünlükler sağlamaktadır (Olberg et al., 2010; Simpson et al., 2011). Nükleer ve fiziksel özelliklerindeki üstünlüklere rağmen peptidlerin  $^{18}\text{F}$  işaretlenmesi çeşitli sorunları beraberinde getirir (Wuest et al., 2008, 2009a,b; Yang et al., 2011).

$^{18}\text{F}$  işaretleme stratejileri iki ayrı gruba ayrılabilir:  $^{18}\text{F}$  ile doğrudan işaretleme veya bir prostetik grup kullanılarak işaretlemedir (Chen and Conti 2010).

Doğrudan florlama yöntemi; elektrofilik ve nükleofilik yöntemler olarak iki ana bölüme ayrılmaktadır; elektrofilik yöntemde  $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$  kullanılarak sınırlı sayıda, spesifik olmayan işaretleme sağlanır ve işaretli ürünlerin düşük spesifik aktivitesinden dolayı daha az tercih edilir. Nükleofilik yöntemde  $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$  iyonu kullanarak doğrudan işaretleme reaksiyonu sağlanmaktadır (Chen and Conti 2010).

#### 2.4.1 PET Radyofarmasötigi $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$

1968 yılında, Çekoslovakya Charles Üniversitesi Organik Kimya Bölümü'nden Josef Pacak, Zdenek Tocik ve Miloslav Cerny, Floro Deoksi Glikoz (FDG) sentezini ilk kez tanımlamışlardır. Daha sonra, 1970' lerde Brookhaven Ulusal Laboratuvarı'ndan Tatsuo Ido ve Al Wolf,  $^{18}\text{F}$  işaretli FDG sentezi tanımlayan ilk grup olmuştur. 1976 yılında, bileşik ilk kez Pennsylvania Üniversitesi'nde Abass Alavi tarafından iki normal insan gönüllüye uygulanmıştır. Sıradan bir (PET olmayan) gama kamera ile elde edilen beyin

görüntüleri bu organdaki [ $^{18}\text{F}$ ]FDG konsantrasyonunu göstermiştir (Maschauer and Prante, 2009).

$^{18}\text{F}$  ile peptid işaretlemede en çok karşılaşılan bifonksiyonel işaretleme ajanı olarak bilinen prostetik gruplar gelir.  $^{18}\text{F}$  işaretli bileşik sentezinde yapı taşı olarak FDG kullanılmaktadır. Moleküler ağırlığı peptidler gibi yüksek bileşikler doğrudan [ $^{18}\text{F}$ ]FDG ile işaretlenememektedir. Peptidlerin içine şeker olarak [ $^{18}\text{F}$ ]FDG'nin tanıtılması radyoişaretli peptidlerin farmakokinetik gelişimine ilave üstünlükler sağlamaktadır (Chen and Conti 2010; Hultsch et al 2007; Wuest et al, 2009a,b; Simpson et al., 2011).

Prostetik grubun sentezi genellikle zaman alan zahmetli ve çok basamaklı sentezleri gerektirmektedir. Prostetik grubun peptid ile birleşmesi ya amin gruplarının açılması, amidasyon ve imidasyonu veya tiyol gruplarının alkilasyonu, oksimlerdeki ve hidrazonlardaki yapıya benzeyen kemoselektif reaksiyonlar ve fotokimyasal birleşme ile yada son zamanlarda click kimya oluşumu ile yapılabilmektedir (Wuest et al 2009a,b).

[ $^{18}\text{F}$ ]FDG nükleer tıpta pozitron emisyon tomografisinde (PET) en önemli görüntüleme radyoizleyicisidir. Yüksek radyosentez verimi bu radyoizleyiciyi dünyadaki birçok PET merkezinde kullanılabilir duruma getirmiştir (Wuest et al 2009b).

Klinik çalışmalarda PET radyoizleyici olarak tercih edilen [ $^{18}\text{F}$ ]-Florodeoksi glikoz ([ $^{18}\text{F}$ ]FDG) ise otomatik sentez ünitelerinde nükleofilik yer değiştirme yöntemine göre elde edilir. Bu yöntemde  $\text{K}^{18}\text{F}$  ile şeker molekülü arasındaki nükleofilik florinasyon reaksiyonunun sonucunda elde edilen ürün NaOH ile hidrolizin ardından saflaştırma ve sterilizasyon için bir seri reçine ve kolondan geçirilir (Olberg et al., 2010; Hamacher et al., 1986).

Geçtiğimiz on yıl boyunca, hedefe özgü [ $^{18}\text{F}$ ]FDG içeren alternatif PET radyofarmasötikleri araştırılmıştır. Bunun için, hedefe özgü PET görüntüleme probu geliştirmek önemli bir ön koşuldur. Hedeflerin uygun tespit edilmesi gerekmektedir (Chen and Conti 2010).

## 2.5 Peptidler

Aminoasitler yapılarında amin ( $\text{-NH}_2$ ), karboksil ( $\text{-COOH}$ ) ve yan zincir (R) den oluşan organik bileşiklerdir. Peptidler ise birbirine peptid bağlarıyla bağlı aminoasitlerin oluşturduğu bir yapıdır. Peptidler, peptid bağı sayısına göre değil, içerdikleri aminoasit (AA) sayısına göre sınıflandırılırlar (De et al., 2011).

Genellikle, görüntüleme ajanı olarak düşünülen peptidler, 50 aminoasit ağırlığından daha az molekül ağırlığına sahiptir. Bu küçük peptidler, protein ve antikorlar gibi makromoleküllerin üzerinde belirgin üstünlüklere sahiptir. Küçük peptidler olumlu farmakokinetiğe ve kan ve hedef olmayan dokulardan hızlı temizlenmesi ile karakterize olan doku dağılım şekillerine sahiptir. Bazı peptidler, hedef dokuya hızlı geçişi tanımlayan iyi geçirgenlik özelliklerine sahiptir. Buna ilave olarak, peptidler genellikle düşük toksisite ve immünojeniteye sahip ve kimyasal modifikasyon ve radyoışaretlemede oldukça esnektir. Çeşitli hastalıkların tanı ve tedavisi için klinik olarak kullanılan PET radyoışaretleli peptidlerin çeşitliliği nükleer tıpta yeni bir çağ açmıştır. Peptidlerin biyolojik aktivitesi hızlı bir şekilde azalarak endojen peptidazlar ile plazmadan dışarı atılmaktadır (Chen and Conti, 2010; Garcia-Garayoa et al, 2002; De et al., 2011; Weiner and Thakur, 2002; Barber et al., 2005).

Son yıllarda, peptidlerin çeşitli tümör hücre tiplerine göre karakteristik reseptörler olarak kullanılabilirdiği tespit edilmiştir. Böylece, radyoışaretleli peptidlerin teşhis ve tedavi amaçlı radyofarmasötikler olarak çeşitli uygulamalarda nükleer tıp alanında kullanımına başlanmıştır. Radyoışaretleli peptidlerin uygulandığı tümör hücreleri ile normal hücreler kıyaslandığında çeşitli peptid reseptörlerinin olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca, peptidlerin sahip olduğu hızlı doku geçişi ve düşük bağışıklık gibi uygun farmasötik özellikleri nedeniyle radyofarmaside kullanılmaktadır (Hultsch et al. 2007; De et al., 2011).

Farmakokinetik olarak peptidin lipofilik veya hidrofilik oluşu doku dağılımına katkıda bulunur. Lipofilik peptidler genellikle hepatobiliyer (karaciğer) yoldan atılırken, hidrofilik peptidler ise esas olarak böbrek sistemi (renal) yolu ile atılırlar (Weiner and Thakur, 2002).

Yüksek lipofiliteye sahip lanreotid veya 1-Nal3-oktreotid (NOC) gibi somatostatin analoglarının yüksek kan faaliyetleri ve daha yavaş renal (böbrek) atılımı göstermektedir. Bu nedenle radyoışaretleli peptidlerin çoğunda radyoaktivite

böbrekler tarafından tutulmaktadır. Tutulum megalin reseptörünün neden olduğu düşünülmektedir (Decristoforo, 2009; Hultsch et al., 2007).

Genel olarak, çoğu peptid kökenli PET problemleri, spesifik ve yüksek afiniteli reseptörler aracılığıyla fizyolojik şartlarda hayati önem taşıyan doğal oluşan peptidler esas alınarak tasarlanmıştır. Reseptörlere bağlı birçok peptid bazı hastalıklarda aşırı tutulum gösterir. Ancak birçok dokuda bulunan çeşitli peptidazlar ve proteazların oluşturduğu bozunma ile doğal olarak oluşan peptidler tipik olarak kısa biyolojik yarı ömre sahiptirler. Böylelikle, *in vivo* kararlılık, peptid kökenli PET problemlerin tasarımında önemli bir faktör oluşturmaktadır (Chen and Conti, 2010; De et al., 2011; Weiner and Thakur, 2002).

Ayrıca peptidin halkalı yapıya geçişi, peptidin üç boyutlu yapısını belirlemek ve reseptör afinitesi ve kararlılığını geliştirmek için uygulanmaktadır. Bu sebeple, peptidlerin biyolojik aktiviteleri üç boyutlu yapıları tarafından belirlenmektedir. Peptid yapılarının doğal olarak değişmesi biyolojik aktivitelerinde büyük kayba neden olmaktadır. Peptidlerin biyolojik aktivitesini korumak için peptid ve radyoışaretleyici kısım arasında bir bağ kurulmaktadır. Bu nedenle, peptidin aktif bağlayıcı kısmı ile radyoışaretli kısmının etkileşimi azaltılarak uygun bir bağlayıcının birleşmesi görüntüleme probunun biyodağılımının etkinliğini sağlayacaktır. Bağlayıcılar görüntüleme probunun farmokinetiğini düzenlemek için kullanılmaktadır (Chen and Conti, 2010; Wuest et al., 2009a; Weiner and Thakur, 2002).

Schibli ve Schubiger Tc/Re-trikarbonil ile işaretli peptidlerle yapılan çalışmaları incelemişler ve trikarbonil teknolojisinin yararlarını birkaç açıdan dikkat çekmişlerdir (Schibli and Schubiger, 2002).

### **2.5.1 Glisilglisin dipeptidi**

Glisin, proteine yapısal esneklik sağlayan ve protein yapılarının oluşmasında büyük önemi olan bir peptiddir. Glisilglisin en basit yapıdaki bir dipeptiddir. Daha büyük peptidlerin oluşumunda yer alan bu dipeptid biyokimyasal reaksiyonlarda tampon olarak kullanılmaktadır. Küçük peptidlerin sahip olduğu olumlu farmakokinetik ve kan, hedef olmayan dokulardan hızlı temizlenmesi özellikleri nedeniyle dikkat çekmektedir.

## 2.6 Kromatografik Analiz Yöntemler

Kromatografi, analizlenecek bir örnek karışımında bulunan bileşenlerin birbirinden ayrılması esasına dayanan ve bu sayede nicel ve nitel analizlerin gerçekleştirildiği yöntemlerin genel adıdır (Kılınç 2010; Dekker and Jonsson, 1987).

1848’ de Wal ve Thompson katılarda iyon değişiminin mümkün olabileceğini belirtmesi ile kromatografinin ilk adımları atılmış olur. 1855 yılında Alman kimyacı Friedrich Ferdinand Runge farklı renkteki boyaların ayırımı için filtre kağıdı ve çözücü kullanmıştır. Bu teknik bugün de kağıt kromatografisi olarak kullanılmaktadır. 1860’ da Christian Friedrich Schönbein ve öğrencisi Friedrich Goppelsroeder’in maddelerin filtre kağıdında çözgenle farklı hızlarda sürüklenmesine dair çalışmalar yapmıştır. 1892’ de Reed ilk defa kolon yardımıyla ayrımların olabileceğini kaydetmiştir. 1906 yılında Rus botanikçi Mikhail S. Tswett’in bitki ekstralarında kullanılan klorofilleri diğer pigmentlerden ayırmıştır. Bunun için Tswett, cam kolon içerisine doldurduğu toz  $\text{CaCO}_3$  içerisinden, bitkilerden izole ettiği bitki pigment ekstralarını geçirdiğinde, klorofil ve ksantofil gibi birçok bitki pigmentine ait renk ayrımları gözlemlemiş ve bu gözleminden yola çıkarak yeni geliştirdiği yönteme Yunanca’da chroma=renk ve graphein=yazma anlamına gelen “kromatografi” ismini vermiştir. 1935 yılında Holmes ve Adams organik iyon değiştirici reçinelerin sentezini gerçekleştirmiştir. 1938’ de Reichstein’in elüsyon kromatografisi üzerinde araştırmalar yapmış ve 1939’ da Brown ilk olarak sirküler kromatografisi kullanmıştır. 1940 yılında Tiselius frontal analizve yer değiştirme olayını ortaya atmıştır. 1941’ de Martin ve Synge kolon dağılma kromatografisinin kuramsal ilkelerini bulmuşlardır. 1951’de Kirchner bugün pratikte uygulanan ince tabaka kromatografisini tanıtmıştır. Aynı yıl Martin ve James gaz-sıvı kromatografisi yöntemi ile Nobel ödülü almışlardır. 1951’ de Alm çözücü programlamasını, 1953’te Wheaton ve Bauman eleme prensibini ileri sürmüşlerdir. 1956’da Sober ve Peterson ilk olarak iyon değiştiren selülozları hazırlamışlardır. 1959’ da Porath ve Flodin polidekstranların Jel filtrasyon kromatografisinde 1962’ de Mooresert polistrenlerin Jel filtrasyon kromatografisinde kullanılmasını öne sürmüşlerdir. 1967’ de Huber ve Hulsman kolon teknolojisindeki gelişmeler yüksek basınçlı pompa sistemleri ve duyarlı dedektörlerin kullanılması ile yüksek basınçlı sıvı kromatografisinin temellerini ortaya atmıştır. Önceleri düz yüzlemsel yapıda sabit fazlar kullanılmış ve bu teknikler daha sonra kağıt kromatografisi ve ince tabaka kromatografisi (TLC) olarak isimlendirilmiştir. Modern sıvı kolon kromatografisi ise 1969 yılında

HPLC'nin kullanıma girmeye başlamasıyla gelişme göstermiştir (Emekdaş vd., 1990).

Kromatografik yöntemle çeşitli biyolojik ve biyolojik olmayan moleküllerin ayrıştırılması, moleküllerin adsorban madde ile olan farklı ilişkisi esasına dayanır. Başka bir deyişle kromatografi, iki faz arasındaki örnek bileşenlerinin farklı bir şekilde dağılımlarına dayanmaktadır. Böylece, moleküllerin büyüklükleri, ağırlıkları, şekilleri, elektriksel yük ve adsorbsiyon gibi özelliklerindeki farklılıklardan faydalanılarak ayrılmaları sağlanır. Moleküllerin ayrılmasını sağlayan sabit bir faz ile bunun üzerinde hareket eden mobil bir faz vardır. Mobil faz, örnek bileşenlerini, sabit faz boyunca taşıyan, çeşitli fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip çözücü veya çözücü karışımlarıdır. Kullanılacak mobil fazın seçiminde, analizi yapılacak örnek madde bileşenlerinin özellikleri, kullanılacak sabit faz ve dedektörün özellikleri gibi bir çok parametreye dikkat edilmelidir. Mobil fazın içerisinde yer alan bileşenler, sabit faza ait dolgu maddesiyle etkileşimleri sebebiyle, bir miktar tutulurlar. Bu tutulma, örnekteki farklı bileşenler için farklı miktarlarda olur. Böylece bileşenler sabit fazın sonlarına doğru, farklı hızlarda ilerledikleri için, birbirinden ayrılmış vaziyette sabit fazı farklı zamanlarda terk ederler. Bu şekilde sabit fazdan çıkan bileşenlerin derişimleri uygun bir biçimde ölçülür ve zamana veya mobil fazın kullanılan hacmine karşı y-ekseninde işaretlenerek "kromatogram" denilen grafikler elde edilir. (Kılınç 2010; Emekdaş vd., 1990; Dekker and Jonsson, 1987).

### **2.6.1 Kağıt kromatografisi**

Bu yöntemde numune kromatografi kağıdının bir kenarına yakın bir noktaya damlatılır. Kağıt tank içinde bulunan solventin içine dikey olarak yerleştirilir. Solvent kağıtta ilerlerken bileşenleri farklı hızlarda sürükler. Bu işlemin sonucunda kağıt kurutulur ve renkli olmayan bileşenlerin görülebilmesi için renklendirici veya floresans verici madde uygulanır. Değerlendirme renklenme veya  $R_f$  değerine göre yapılır.

### **2.6.2 İnce Tabaka Kromatografisi (TLC)**

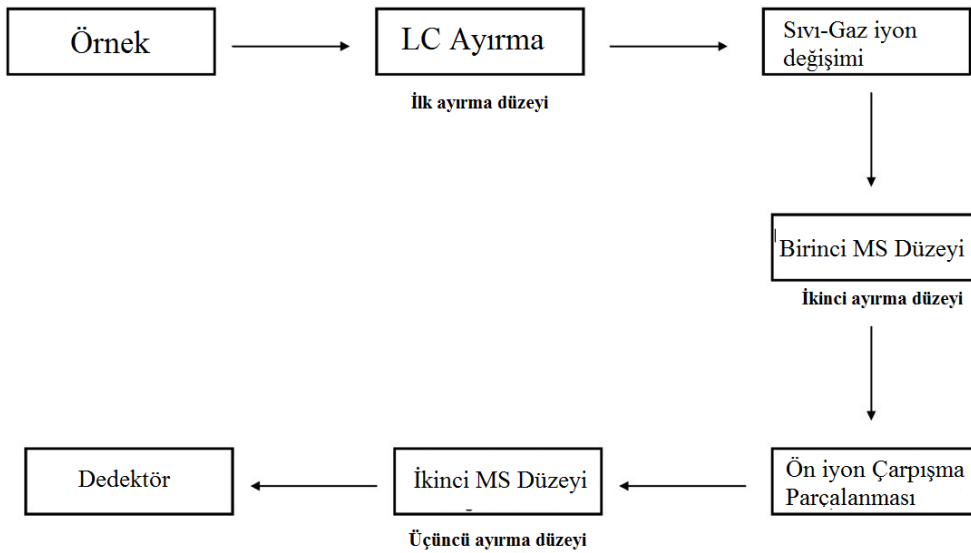
İnce tabaka kromatografisinde özel bir cihazla çeşitli adsorban maddelerin cam, alüminyum veya plastik plakalar üzerine kaplanmasıyla elde edilen tabakalar kullanılmaktadır. Silica jel, alümina, selüloz, poliamidler, iyon değiştiriciler gibi adsorbanlar kullanılmaktadır.

### 2.6.3 Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Kolon kromatografisinin geliştirilmiş şekli olan bu yöntemde taşıyıcı sıvı, içersinde adsorban maddenin bulunduğu kolona pompa ile basılarak akış hızı arttırılmakta, karışımı oluşturan bileşiklerin ayrılması tam ve hızlı olarak sağlanmaktadır. Ayrılan bileşikler kolon çıkışına bağlanan uygun bir dedektör ile tesbit edilerek kaydedilir.

### 2.6.4 LC/MS-MS yapı analizi

LC-MS/MS yaygın olarak, kan, plazma, idrar, doku ekstratları içinde potansiyel yeni ilaçlar ve bunların metabolitlerinin keşfi ve miktar tayini için, farmasötik endüstrisinde yoğun olarak kullanılmaktadır. Spesifik ve duyarlı, yüksek örnek hacmi sağlayan yüksek doğruluk ve hassasiyet ve algılama ve nicel düşük sınırlar gibi gereksinimleri karşılamaktadır. Çok yönlülüğü ve geniş uygulanabilirliği ile LC-MS/MS birçok oksidatif stres belirteçlerin belirlenmesinde üstünlük göstermektedir. LC-MS/MS özgüllüğü ve duyarlılığı karmaşık biyolojik karışımların çoklu bileşenlerinin eş zamanlı analizini sağlamaktadır. LC-MS/MS işleyiş diagramı Şekil 2.2'de verilmiştir (Winnik and Kitchin, 2008).



Şekil 2.2 LC-MS/MS işleyiş diagramı (Winnik and Kitchin, 2008)

LC analizi, kromatografisi istenen kompleks biyolojik bileşiklerin tek tek, üst üste ya da bantlar şeklinde ayrılmasını sağlamaktadır. LC-MS/MS ölçümlerinde genellikle iki mod kullanılmaktadır: tam tarama MS/MS nitel



karakterizasyonu ve seçici reaksiyonun izlenmesi (SRM) ise nicel olarak seçilen iyonları izlemek için bir tarama tablosu sağlamaktadır. Her iki ölçüm de bir LC pikinin zaman ölçeği üzerinde çok sayıda analit için ardışık okumalarını içermektedir. Bu analizin amacı, bir bileşiğin yapısını doğrulamak yada belirlemek için olası tüm iyonları bulmak için geniş bir kütle aralığını tarar. Tam tarama MS/MS zamana dayalı değildir. Yapı tayini, bir kütle spektrumu bileşiklerden iyonların teorik kütleler ile ürün iyonlarının nominal kütleleri karşılaştırmak için veri sistemi yazılımı kullanılarak gerçekleştirilir. Bir analitin yapısal onay işlemi tamamlandıktan sonra, nicel analizi SRM ile derhal gerçekleştirilmektedir (Winnik and Kitchin, 2008).

Radyoşaretli radyokimyasal verimin değerlendirilmesinde kullanılan İnce Tabaka Kromatografisi (TLC) ve Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) gibi radyokimyasal analizler ile radyoşaretli tüm ürünlerin tanımlanması reaksiyon mekanizmalarının anlaşılmasına ve radyoaktif olmayan bir referans ile karşılaştırılmasına bağlıdır. Ancak, Kütle Spektrometresi (MS) radyofarmasötiklerin nitel analizleri için daha duyarlı bir yöntem olarak bu sorunu çözdüğü düşünülmektedir (Koivula et al., 2010).

## 2.7 Moleküler Görüntüleme

Moleküler görüntüleme, moleküler ve hücresele düzeyde biyolojik süreçlerin karakterizasyonu ve ölçümü veya biyokimyasal, biyolojik, tanı veya tedavi uygulamaları için moleküler veya hücresele süreçlerin zaman-mekansal dağılımını dolaylı bir şekilde izlemek ve kaydetmek olarak tanımlanabilir. Son on yılda, moleküler görüntüleme alanı önemli gelişmeler göstermektedir. Bu durum, *in vitro/ex vivo* çalışmalarda daha uygun ve güvenilir, sağlam bir sistem içinde tüm vücut görüntülemeyi mümkün kılan moleküler görüntüleme ve ilaç geliştirme sürecini hızlandırmaktadır. Tümör tespiti ve hedefe özgü tedavi ve doz doğruluğunu değerlendirme çalışmalarında daha doğru istatistiksel sonuçlar verildiği gözlenmektedir. Böylece, moleküler görüntüleme, kanser, nörolojik ve kardiyovasküler bozukluklar gibi hastalıklara tanı konmasında birçok kolaylık sunmaktadır. Bununla birlikte, moleküler markerların non-invaziv dedeksiyonu daha erken tanı, daha erken tedavi ve daha iyi teşhis ve ilaç etkisinin gelişmesini sağlamaktadır (Chen and Conti, 2010; Schottelius and Wester, 2009).

Bugüne kadar, klinik ve klinik öncesi görüntüleme modelleri gelişmeye devam etmektedir. Görüntüleme modelleri iki kategoriye ayrılmıştır. Biri,

ultrason, MR ve CT gibi görüntüleme modelleri, hastalıktan kaynaklanan anatomik değişikliklerin izlenmesine olanak sağlamaktadır. İkinci gruptaki görüntüleme modelleri PET, SPECT ve optik biyoluminisans/floresans görüntüleme modelleridir. Bunlar ise *in-vivo* biyokimyasal olarak hastalığın fonksiyonel bilgisini sağlamaktadır. Birçok hibrit görüntüleme modeli iki veya daha fazla modelin birlikte kullanıldığı sistemlerdir. Çeşitli görüntüleme modelleri arasında, PET, SPECT ve optik görüntüleme gibi görüntüleme modelleri enjekte edilen moleküler problemlerin sinyallerini alarak görüntüleme sağlamaktadır. Optik görüntüleme ve MR ise hem eksojen hem de endojen moleküler problemler ile hastalıkları takip edebilmektedir. Moleküler görüntüleme görüntüleme problemlerinin önemli rolü nedeniyle biyolojik aktif problemlerin dizayn ve gelişmesi temel konularından biri olmaktadır. Bugüne kadar görüntüleme problemleri çeşitli görüntüleme ekipmanlarının (radyoizotoplar, florofosforlar ve nanoparçacıklar gibi) ve hedefleme ligandlarının (küçük moleküller, peptidler, proteinler, antikolar ve hücreler) gelişmesine katkı sağlamaktadır (Chen and Conti, 2010; Liu et al., 2010).

Radyonüklid kökenli görüntüleme; SPECT ve PET cihazları ile yapılmaktadır. Bu cihazlarda görüntü düşük miktardaki ilacın radyonüklid ile işaretlenerek hastaya uygulanması ile elde edilmektedir. Radyonüklid kökenli moleküler görüntüleme tekniklerinin (SPECT ve PET) diğer tekniklere (optik ve MRG) göre daha duyarlı, nicel ve doku girişim limitinin olmaması gibi üstünlükleri bulunmaktadır. Ancak hem SPECT hem de PET' de çözünürlüğün MRG gibi diğer görüntüleme tekniklerinden daha düşük olması ise istenmeyen bir özelliğidir (Hong et al., 2009; Schottelius and Wester, 2009).

Moleküler görüntülemenin geleneksel görüntüleme tekniklerine göre üstünlükleri bulunmaktadır. Ayrıca moleküler görüntüleme teknikleri hastalıkların farklı evrelerinde salgılanan biyolojik belirleyicilerin ölçümlerini de yapabilmektedir. Böylelikle tüm vücuttaki değişimlerin gözlenmesine olanak sağlayan bu yöntem ile *in-vitro* ve *ex-vivo* analizlerden daha güvenilir ve amaca uygun sonuçlar elde edilebilmektedir. Bu da iş yükünü azaltarak ilaç geliştirme yöntemlerinin hızlanmasını ve istatistiksel olarak daha doğru sonuçlar elde edilmesini sağlamaktadır. Hastalıkların çeşitli biyolojik belirleyicilerinin bulunması daha erken teşhis ve tedavi olanağı sunarak hastalığın sonucunu belirlemede ve böylece kişisel teşhis ve tedavi sağlanmış olmaktadır (Hong et al., 2009).

### 2.7.1 Manyetik Rezonans Görüntüleme (MR)

Manyetik rezonans görüntüleme (MR) insan vücudunun haritasını nükleer manyetik rezonans temeline dayanarak ortaya çıkaran güçlü bir tekniktir. Bu her bir dokunun radyofrekans titreşimlerine farklı şiddette cevap oluşturmasının bir sonucudur. Öncelikle proton momentlerini kısmi olarak kutuplaştırmak amacıyla güçlü bir manyetik alan ve bir radyofrekans pulsu (RF) uygulanır. Bu sırada RF fotonları protonlar tarafından absorblanarak yüksek enerji konumuna geçerler. Pulsun sonunda protonlar az miktarda elektromanyetik radyasyon oluşturarak düşük enerji seviyesine geri dönerler. Elektromanyetik radyasyonun oluşturduğu sinyal bobine aktarılarak görüntüye dönüştürülür (Felinto et al., 2007; Torchlin, 2006).

Manyetik nanoparçacıklar uygun tekniklerle hasta hücrelere tutunması sağlanarak onların anlık durumları veya hareketleri hakkında güçlü MR sinyalleri bilgiye dönüştürülür. Hücre içindeki manyetik nanoparçacıkların dışarıdan uygulanabilen manyetik kuvvetle yönlendirilebilmeleri, bunların sadece tutturuldukları hücredeki biyoaktif moleküllerin yerel olarak fonksiyonlarının hücrenin diğer bölgelerinden bağımsız olarak araştırılabilmelerine yardımcı olmaktadır (Felinto et al., 2007; Torchlin, 2006).

Günümüzde polimer kaplı demir oksit parçacıkları sağlık uygulamalarında kullanılmaktadır. Demir nanoparçacıklarının sahip oldukları yüksek manyetizasyon daha az MR kontrast ajanı kullanılması ile tümörlü bölgede daha iyi görüntü elde edilmesini sağlamaktadır (Felinto et al., 2007; Torchlin, 2006).

### 2.7.2 Tek Foton Emisyon Bilgisayar Tomografisi (SPECT)

1956 yılında Hal Anger, 10cm çaplı NaI(Tl) kristalini ve 7 adet foton çoğaltıcı tüpü (PMT) içeren ilk gama kamerayı icat etmiştir. 1970'li yılların sonlarına doğru birçok farklı SPECT sistemi üretilmiştir (Demir,1999).

Radyoaktif görüntüleme salınan fotonları alarak görüntü oluşturan ünite gama kamera ya da sintilasyon kamerası olarak adlandırılır. Cihazın ana ünitesi büyük disk şeklindeki sintilasyon kristalidir. Kristal içerisine az miktarda talyum katılmış sodyumiyodürden (NaI-Tl) yapılmıştır. Kristalin yapısı hassas olup basınç ve ısı değişikliklerinde kırılabileceği gibi nemden zarar görebilir. Bir gama kamera sisteminin temel bileşenleri; kolimatör, sintilasyon kristali, foto çoğaltıcı

tüpler, dalgaboyu analizötörü, katot ışın tüpü ve kontrol konsoludur (Domenico and Zavattini, 2009).

SPECT görüntülerinin kaynağının gama ışını emisyonu olduğu bilinmektedir. Enjekte edilen radyonüklid bir protein, peptid, ya da nörotransmitter gibi bir biyomoleküler liganda bağlı olabilir. Böylece bir hedefleme mekanizması sağlanmış olur (Blower, 2006; Schottelius and Wester, 2009).

Hastaya verilen radyofarmasötüğün içerdiği radyonüklid bozunarak gama ışını yayınlar ve ışın gama kamera tarafından algılanarak bir sinyal oluşturulur. Kolimatörün işlevi ise çevreden gelen istenmeyen ışınların giderilmesini sağlamaktır. Sonuç olarak hastadan gelen bu sinyal bilgisayar tarafından görüntüye dönüştürülmektedir (Hong et al., 2009; Demir 1999).

SPECT görüntüleme en çok kullanılan radyonüklidler Çizelge 2.1'de gösterilmiştir (Hamoudeh et al., 2008).

Çizelge 2.1 SPECT'te kullanılan radyonüklidler ve üretim şekilleri (Hamoudeh et al., 2008)

Element	Yarı ömür (saat)	Bozunum Şekli	Enerji (keV)	Üretim Şekli
$^{67}\text{Ga}$	78.3	$\gamma$	93 184 300	$^{68}\text{Zn} (n,p) ^{67}\text{Ga}$
$^{99\text{m}}\text{Tc}$	6.0	$\gamma$	140	$^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ Jeneratör
$^{111}\text{In}$	67.2	$\gamma$	171 245	$^{111}\text{Cd} (p,n) ^{111}\text{In}$
$^{123}\text{I}$	13.2	$\gamma$	159	$^{121}\text{Sn} (\alpha,2n) ^{123}\text{I}$
$^{131}\text{I}$	192	$\gamma$	284 364 637	$^{131}\text{Te} (\beta) ^{131}\text{I}$

Gama kameranın boyutuna göre, kalp, karaciğer gibi organların tümü görüntülenebilmektedir (Domenico and Zavattini, 2009; Demir 1999).

### 2.7.3 Pozitron Emisyon Tomografi (PET)

Pozitron emisyon tomografisi (PET), tıbbi görüntüleme alanında hızla gelişen bir yöntemdir. PET görüntüleme temel hedefi, hücresel, alt hücresel ve moleküler düzeyde biyolojik süreçleri görselleştirmek karakterize ve ölçüm etmektir. PET kısa yarı ömürlü pozitron radyonüklitler ile işaretlenmiş hedefe özgü bileşikler kullanan bir non-invaziv görüntüleme yöntemidir. PET görüntüleme geleneksel görüntüleme tekniklerinin üstünlüklerinden yararlanarak hastalığın farklı evrelerinde endikatif moleküler hedeflerin belirlenmesi için pozitron yayan problemleri kullanmaktadır. Detaylı anatomik görüntüler sağlayan MR ve CT gibi konvansiyonel görüntüleme modelleri dışında PET, radyoaktif izleyicileri kullanılarak biyolojik ve fizyolojik haritalanmasını sağlayan bir nükleer görüntüleme tekniğidir. PET görüntülemesinde saçılan radyonüklid vücutta (~1mm) mesafede pozitron-elektron etkileşimi sağlamaktadır. Her bir pozitron-elektron çifti iki tane farklı doğrultuda hareket eden 511 keV lik gama fotonu üretir ve bu iki gama fotonu nesne etrafındaki dedektörler tarafından yakalanmaktadır. Bu sayede sönüm zamanına göre kaynaktan olan mesafe ile lokalizasyonu bulunmaktadır (Chen and Conti, 2010).

PET görüntüleme probunun hedefe uygun tespit edilmesi gereklidir. Moleküler hedef iyi tanımlanmadan iyi bir PET görüntüleme probunun geliştirilmesi pek mümkün değildir. (Chen and Conti, 2010; Yang et al., 2011).

PET görüntüleme ile elde edilen verilerin işlenmesi ile yeni radyonüklidlerin geliştirilmesine katkı sağlanmaktadır (Minamimoto et al., 2010).

Yeni PET izleyiciler gelişmesiyle birlikte, klinikte daha iyi hedefleme farmakokinetiğine sahip PET görüntüleme radyofarmasötikleri yakın gelecekte, PET görüntülemenin kişiselleştirilmiş tıp fikrinin uygulanabilirliğini sağlayacaktır (Chen and Conti 2010).

Araştırma ve klinik kullanım için PET radyo izleyicilerin gelişiminde en sık kullanılan pozitron yayan radyonüklidler Çizelge 2.2'de gösterilmiştir (Tolmachev and Stone-Elander, 2010).

Çizelge 2.2 PET’te kullanılan radyonüklidler ve üretim şekilleri (Tolmachev and Stone-  
Elander, 2010)

Element	Yarı ömür(saat)	Bozunum Şekli	Enerji (keV)	ÜretimŞekli
<sup>11</sup> C	0,34	$\beta^+$	960	<sup>14</sup> N(p, $\alpha$ ) <sup>11</sup> C
<sup>18</sup> F	1,83	$\beta^+$	640	<sup>18</sup> O(p,n) <sup>18</sup> F
<sup>45</sup> Ti	3,08	$\beta^+$	511	<sup>45</sup> Sc(p,n) <sup>45</sup> Ti
<sup>44</sup> Sc	3,93	$\beta^+$	511	Jeneratör
<sup>48</sup> V	383,00	$\beta^+$	511	<sup>48</sup> Ti(p,n) <sup>48</sup> V
<sup>52</sup> Mn	134,20	$\beta^+$	511	<sup>52</sup> Cg(p,n) <sup>52</sup> Mn
<sup>55</sup> Co	17,53	$\beta^+$	511	<sup>54</sup> Fe(d,n) <sup>55</sup> Co
<sup>61</sup> Cu	3,40	$\beta^+$	511	<sup>60</sup> Ni(d,n) <sup>61</sup> Cu
<sup>64</sup> Cu	12,70	$\beta^+$	511	<sup>64</sup> Ni(d,n) <sup>64</sup> Cu
<sup>66</sup> Ga	9,49	$\beta^+$	511	<sup>66</sup> Zn(p,n) <sup>66</sup> Ga
<sup>68</sup> Ga	1,14	$\beta^+$	511	Jeneratör
<sup>71</sup> As	64,00	$\beta^+$	511	<sup>70</sup> Ge(d,n) <sup>71</sup> As
<sup>72</sup> As	26,00	$\beta^+$	511	<sup>72</sup> Ge(d,n) <sup>72</sup> As
<sup>74</sup> As	426,50	$\beta^+$	511	<sup>74</sup> Ge(d,n) <sup>74</sup> As
<sup>75</sup> Br	1,61	$\beta^+$	511	<sup>74</sup> Se(d,n) <sup>75</sup> Br
<sup>76</sup> Br	16,20	$\beta^+$	511	<sup>76</sup> Se(p,n) <sup>76</sup> Br
<sup>86</sup> Y	14,70	$\beta^+$	511	<sup>86</sup> Sr(p,n) <sup>86</sup> Y
<sup>89</sup> Zr	78,40	$\beta^+$	511	<sup>89</sup> Y(p,n) <sup>89</sup> Zr
<sup>94m</sup> Tc	0,87	$\beta^+$	511	<sup>94</sup> Mo(p,n) <sup>94m</sup> Tc
<sup>110m</sup> In	1,15	$\beta^+$	511	<sup>110</sup> Cd(p,n) <sup>110m</sup> In
<sup>124</sup> I	100,20	$\beta^+$	511	<sup>124</sup> Te(p,n) <sup>124</sup> I

### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1 Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar

##### 3.1.1 Kullanılan kimyasallar

- (Boc-aminooxy)acetic acid ((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>CNHOCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H) (Sigma)
- [<sup>18</sup>F]FDG (Celal Bayar Üniv. Nükleer Tıp Anabilim Dalı)
- Amonyak (NH<sub>3</sub>) (Merck)
- Argon (Ar) gazı
- Asetonitril (CH<sub>3</sub>CN) (Merck)
- Glisilglisin (Gly-Gly) (Sigma)
- Hidroklorik asit (HCl) (Merck)
- Karbonmonoksit (CO) gazı
- Kryptofix[222](4,7,13,16,21,24-Hexaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.8] hexacosane) (C<sub>18</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>) (Sigma)
- Mannose triflate (1,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-2-*O*-trifluoromethanesulfonyl-β-D-mannopyranose) (C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>F<sub>3</sub>O<sub>12</sub>S) (Sigma)
- Metanol (CH<sub>3</sub>OH) (Merck)
- Milipore filtre (0.22 µm)
- Na [<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub>] (Celal Bayar Üniv. Nükleer Tıp Anabilim Dalı)
- N-Hidroksisüksinimid (NHS) (Sigma)
- N-N-Dimetil formamid (DMF dry) (Sigma)

- PBS (pH=7) (Merck)
- Potasyum karbonat ( $K_2CO_3$ ) (Sigma)
- Serum Fizyolojik (SF) (% 0.9 NaCl çözeltisi)
- Sodyum borhidrür ( $NaBH_4$ ) (Sigma)
- Sodyum florür (NaF) (Sigma)
- Sodyum karbonat ( $Na_2CO_3$ ) (Sigma)
- Sodyum klorür (NaCl) (Merck)
- Sodyum/Potasyum tartarat ( $C_4H_4KNaO_6 \cdot 4H_2O$ ) (Riedel Heiden)
- Tetrahedrafuran (THF)(Sigma Aldrich)
- Trifloro asetik asit (TFA) (Merck)
- Disikloheksilkarbodiimid (DCC) (Aldrich)

### **3.1.2 Kullanılan cihazlar**

- RAD-501 Cd(Te) tek kanallı gamma sayım sistemi (E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı),
- HPLC Shimadzu (LC-10Atvp quaterner pompalı, SPD-10AV UV dedektörlü, FRC-10A fraksiyonlama kollektörü) (E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı),
- TLC Scanner (Bioscan AR-2000) (E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı),
- TLC küvetleri (Sigma) (E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı),



- Su banyosu Nüve BM 302 (E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı),
- Millipor (Milli-Q Gradient A-10) (E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü),
- Pozitron Emisyon Tomografisi (Philips TruFlight Select PET/CT 16 slice) (Celal Bayar Ü. Hastanesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı),
- Gama kamera (GE Infinia Camera System (SPECT), (Celal Bayar Ü. Hastanesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı),
- Siemens Cyclotron Eclipse RD Cihazı (Şifa Üniversitesi Bornova Uygulama ve Araştırma Hastanesi, Nükleer Tıp Bölümü),
- LC-MS/MS Cihazı (E. Ü. ARGEFAR)

### **3.2 İnaktif FDG ve Glisilglisin**

#### **3.2.1 Glisilglisin esterleştirme reaksiyonu**

100 mg Gly-Gly 5 mL 5 M HCl içinde çözüldü. Bu çözelti içerisine 5 mL THF eklenerek üzerinden 5 dk argon gazı geçirildi. Kapağı kapalı bir şekilde 24 saat oda sıcaklığında karıştırıcıya bırakıldı. Reaksiyon sonunda oluşan ürün liyofilize edilerek Gly-Gly-Cl elde edildi. Öte yandan, (Boc-aminooks) asetik asit (Boc-AOA) ve N-Hidroksisüksinimid (NHS) bileşiklerinin her birinden 0.7 mmol alınarak bir cam balon içerisine konuldu ve üzerine 5 mL kuru DMF ilave edilip karıştırıldı. Bu çözeltiye 0 °C'de 0.7 mmol disikloheksilkarbodiimid (DCC) ilave edilerek karıştırıldı. 5 dk argon geçirildikten sonra kapağı kapalı bir şekilde +4 °C de 24 saat karıştırıldı. Elde edilen çökelti süzgeç kağıdı ile süzüldü ve süzüntü izopropil alkol ile yıkanıp kristalize edildi. Çözelti vakum ortamında KOH pelletler yardımıyla kurutuldu. 2 mL kuru DMF içinde çözdürülerek HCl tuzları uzaklaştırıldı. Trietilamin (Et<sub>3</sub>N) ile nötralleştirildi. Elde edilen karışım içine 50 mg Gly-Gly-Cl, 5 mL kuru DMF ve 5 mL diklorometan ilave edilip içinden 5 dk argon gazı geçirildi. Kapağı kapalı olarak 24 saat manyetik karıştırıcıya bırakıldı. Ardından 2 defa 5 mL dietil eter ile yıkanıp çöktürme yapıldı ve kuruyuncaya kadar evaporatörde bırakıldı. Böylece Boc-AOA süksinimid ester Gly-Gly elde edilmiş oldu. Oluşan bileşiğin kalite kontrolü HPLC ve LC/MS-MS ile yapıldı (Ooya et al., 2000; Balamani and Sekar, 2011).

### 3.2.2 İnaktif FDG sentezi

Öncelikle 48 mg 1,3,4,6-tetra-O-asetil-2-O-triflorometansülfonil- $\beta$ -D-mannopyranose ve 38 mg 4,7,13,16,21,24-Hexaoxa-1,10-diaza-bisiklo [8.8.8] hexacosane (Kriptofiks-222) 5 mL asetonitril içinde çözüldü. Bu çözeltiliye 4.2 mg NaF ve 2.5 mg  $K_2CO_3$  ilave edilerek 100 °C'de 15 dk reflux edildi. Bu çözeltili buzdolabında 4 °C'de 24 saat bekletildi. Elde edilen çözeltili geri soğutucuda 50 °C'de kurutuldu. Kurutulmuş karışım, iki defa 5 mL su ile yıkandı. 5 mL 1 M HCl ilavesinden sonra karışım 85 °C'de 20 dk geri soğutucuda bekletildi. Diğer tarafta 1,5 gr DOWEX 1 x 8 (Cl<sup>-</sup> şeklinde 50-100 mesh) anyon değiştirici reçine bir beher içerisinde etüvde kurutuldu. Kurutulmuş reçineye 25 mL saf su ilave edilip bir gün bekletildi. Geri soğutucudan alınan çözeltinin pH'ı 1 olarak ölçüldü ve hazırlanan reçineden geçirildi. Reçineden geçirilen çözeltili gece boyunca 80 °C'de geri soğutucuda bırakıldı. Oluşan inaktif FDG bileşiğinin kalite kontrolleri HPLC ve LC/MS-MS ile yapıldı (Hamacher et al., 1986).

### 3.2.3 İnaktif FDG-Gly-Gly kompleksinin sentezi

5 mg Boc-AOA süksinimid ester Gly-Gly, 1 mL % 96 formik asit içeren 1 M HCl içinde çözüldü. 1 saat ultrasonik banyoda tutulduktan sonra 60 °C'de evaporatörde kuruması sağlandı. 3 mL diklorometan ve 3 mL dietil eter ilave edilerek kristalize olması sağlandı. 300  $\mu$ L saf su konularak koruyucu grup olan Boc aktive edildi ve FDG ile reaksiyona hazır hale getirilmiş oldu. Diğer taraftan, 3 mg inaktif FDG 500  $\mu$ L saf su içerisinde çözüldü. Bu bileşikten 0.6 mg/100  $\mu$ L inaktif FDG içersine 1.7 mg/ 100  $\mu$ L Boc-Gly-Gly ilave edilip 100 °C'de 30 dk inkübe edildi. Oluşan FDG-Gly-Gly kompleksi için HPLC ile kalite kontrolleri yapıldı (Balamanil and Sekar, 2011).

## 3.3 İnaktif FDG-Gly-Gly Kompleksinin Kalite Kontrolü

### 3.3.1 İnaktif FDG-Gly-Gly kompleksinin HPLC yöntemi ile kalite kontrolü

Bölüm 3.2'de hazırlanan bileşikler için HPLC çalışmaları ODS-2 HYPERSIL C18 (250 x 4.6 mm I.D.) (Thermo) kolonu kullanılarak, (SPD-10AV)UV-VIS dedektörü bulunan Shimadzu LC-10Atvp sisteminde gerçekleştirilmiştir. Mobil faz olarak Amonyum format (çözgen A) ve asetonitril (çözgen B) kullanılmıştır. Mobil faz akış sistemi % 70 A ve % 30 B olacak

şekilde programlanmıştır. UV dedektöründe dalga boyları 278 nm olacak şekilde çalışılmıştır. Sıcaklık 25 °C ve akış hızı ise 1 mL/dk olacak şekilde uygulanmıştır.

### 3.4 [<sup>18</sup>F]FDG-Gly-Gly Kompleksinin Sentezi

Bölüm 3.2.1’de elde edilen 1.7 mg/ 100 µL Boc-AOA süksinimid ester Gly-Gly çözeltisi üzerine 30 µL 1 mCi [<sup>18</sup>F]FDG ilave edilip 100 °C’de 30 dk inkübe edildi. Oluşan Gly-Gly bağlı [<sup>18</sup>F]FDG bileşiği için TLRC ve HPLRC ile kalite kontrolleri yapıldı.

### 3.5 [<sup>18</sup>F]FDG-Gly-Gly Kompleksinin Kalite Kontrol Çalışmaları

#### 3.5.1 [<sup>18</sup>F]FDG-Gly-Gly kompleksinin TLRC yöntemi ile kalite kontrolü

Bölüm 3.4’de hazırlanan radyoşaretli [<sup>18</sup>F]FDG-Gly-Gly bileşiğinin TLRC ile kalite kontrol çalışmasında sabit faz olarak (10 cm x 1.5 cm) boyutlarında hazırlanan silika jel kaplı alüminyum şeritler kullanıldı. Çözgen olarak su, asetonitril:su (1:1), metanol:su (1:1) sistemleri kullanılmıştır. Bu çalışmada hazırlanan ikişer adet TLRC şeridi hazırlandı ve bunlara [<sup>18</sup>F]FDG ve [<sup>18</sup>F]FDG-Gly-Gly örneklerinden damlatıldı (örnek TLRC şeridine başlangıcından 0.5 cm ileriye kılcal boru yardımıyla damlatılır). TLRC şeritlerine damlatılan örnekler kuruduktan sonra içinde çözgen bulunan TLC banyolarına yerleştirildi. Banyodaki çözgenler şeritler üzerinde yürüdükten sonra şeritler banyolardan çıkarılarak oda sıcaklığında kurutuldu. Bioscan AR-2000 TLRC kullanılarak şeritlerin her birinin radyokromatogramları alındı.

Elde edilen kromatogramlardan radyoaktif maddelerin taşındığı R<sub>f</sub> değerleri ve verimler elde edildi. Elde ettiğimiz sonuçların güvenilirliğini sağlamak amacıyla deneyler en az üç kez tekrarlanmıştır. TLRC kromatogramları Bölüm 4’te ayrıntılı olarak verilmiştir.

#### 3.5.2 [<sup>18</sup>F]FDG-Gly-Gly kompleksinin HPLRC yöntemi ile kalite kontrolü

Bölüm 3.4’de hazırlanan radyoşaretli [<sup>18</sup>F]FDG-Gly-Gly bileşiğinin HPLRC çalışmaları ODS-2 HYPERSIL C18 (250 x 4.6 mm I.D.) (Thermo) kolonu kullanılarak, (SPD-10AV)UV-VIS ve NaI(Tl) dedektörü bulunan

Shimadzu LC-10Atvp sisteminde gerçekleştirilmiştir. Mobil faz olarak Amonyum format (çözgen A) ve asetonitril (çözgen B) kullanıldı. Mobil faz akış sistemi % 70 A ve % 30 B olacak şekilde programlanarak UV dedektöründe dalga boyları 278 nm olacak şekilde çalışıldı. Ayrıca radyoaktivite dedektöründe de radyokromatogramları alındı. Sıcaklık 25 °C ve akış hızı ise 1 mL/dk olacak şekilde uygulanmıştır (Wuest et al., 2009).

### 3.6 $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)^+$ Korun Hazırlanması

Alberto ve arkadaşları tarafından belirlenen yönteme göre  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)^+$  koru hazırlandı (Alberto et al., 1998). Öncelikle 20 mg Na/K tartarat, 4,2 mg  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ve 5,5 mg  $\text{NaBH}_4$  tartımları alındıktan sonra 10 mL deney tüpüne konularak tüpün ağzı hava almayacak şekilde kapatıldı. Tüpten 5 dk argon gazı geçirilmesinin ardından 15 dk da CO gazı geçirildi. Üzerine yaklaşık aktivitesi 20 mCi olan 1 mL  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  ilave edilip 90 °C'de 30 dk inkübasyonu sağlandı. İnkübasyon sonunda çözelti buz banyosunda soğutulduktan sonra pH 7'ye ayarlanması için 1 M HCl: PBS (1:3) ilave edildi. Oluşan  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)^+$  korunun radyokimyasal verimi TLRC ile belirlendi.

### 3.7 Gly-Gly' nin $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ İle Radyoişaretlenmesi

1 mg Glisilglisin (Gly-Gly) 1 mL saf su içinde çözüldü. Oluşan çözeltinin pH 5.5 olarak ölçüldü. Bu çözeltiden 200 µg/ 200 µL alınıp üzerine hazırlanan 5 mCi/ 1 mL  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3^+$  koru ilave edildi. Çözeltinin pH'ı 7'e ayarlandı. 80 °C'de 30 dk inkübasyonun ardından oluşan  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)$ -Gly-Gly kompleksi soğumaya bırakıldı.  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3^+$  koru ile işaretli glisilglisin kalite kontrolü TLRC ve HPLRC ile yapıldı.

### 3.8 $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ -Gly-Gly Kompleksinin Kalite Kontrol Çalışmaları

#### 3.8.1 $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ -Gly-Gly kompleksinin TLRC yöntemi ile kalite kontrolü

Bölüm 3.6 ve 3.7'de hazırlanan radyoişaretli bileşiklerinin TLRC ile kalite kontrol çalışmalarında sabit faz olarak 10 cm x 1.5 cm boyutlarında silika jel kaplı alüminyum şeritler hazırlandı. Çözgen sistemleri olarak asetonitril, metanol:su (2:1) ve metanol:su (3:1) kullanıldı. Bu çalışmada hazırlanan TLRC

şeritlerine  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3^+$  ve  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$  örneklerinden damlatıldı. TLRC şeritlerine damlatılan örnekler kuruduktan sonra içinde çözünenin bulunduğu TLC banyolarına yerleştirildi. Banyodaki çözünen şeritler üzerinde yürüdüktan sonra şeritler banyolardan çıkarılarak oda sıcaklığında kurutuldu. Bioscan AR-2000 TLRC tarayıcı kullanılarak şeritlerin her birinin radyokromatogramları alındı.

Elde edilen kromatogramlardan radyoaktif maddelerin taşındığı  $R_f$  değerleri ve verimler elde edildi. Elde ettiğimiz sonuçların güvenilirliğini sağlamak amacıyla deneyler en az üç kez tekrarlandı. TLRC kromatogramları Bölüm 4'te ayrıntılı olarak verilmiştir.

### **3.8.2 $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$ kompleksinin HPLRC yöntemi ile kalite kontrolü**

Bölüm 3.6 ve 3.7'de hazırlanan radyoşaretli bileşiklerinin HPLRC çalışmaları ODS-2 HYPERSIL C18 (250 x 4.6 mm I.D.) (Thermo) kolonu kullanılarak, (SPD-10AV)UV-VIS dedektörü bulunan Shimadzu LC-10Atvp sisteminde gerçekleştirildi. Mobil faz olarak % 0.1 trifloroasetik asit (TFA) (çözgen A) ve Metanol (çözgen B) kullanıldı. Mobil faz akış sistemi, ilk 3 dakika % 100 A; 3.1-9 dakika % 75 A, % 25 B; 9.1-20 dakika arasında % 66 A (% 34 B)'dan % 0 A (% 100 B) ulaşıncaya kadar lineer gradient uygulandı; 20-28 dakika % 100 B; 28.1-30 dakika % 100 A olacak şekilde programlandı. Radyoaktif dedektör olarak NaI(Tl) sintilasyon dedektörü kullanıldı. Sıcaklık 25 °C ve akış hızı ise 1 mL/dk olacak şekilde uygulandı.

### **3.9 $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$ Kompleksinin Lipofilite Analizi**

Radyoşaretlenen  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$  kompleksinin lipofilite analizi n-oktanol/ PBS kullanılarak gerçekleştirildi. Bir santrifüj tüpüne 500 µL n-oktanol ve 500 µL PBS (pH 7) koyulduktan sonra  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$  örneğinden 100 µL alınarak bu karışıma ilave edildi ve 1500 rpm'de 30 dk süreyle santrifüjlendi. Santrifüj sonrasında tüplerde ayrılan üst ve alt fazlarından 100'er µL alınarak aktiviteleri Cd(Te) dedektörü ile sayıldı. Aynı işlemler üç kez tekrarlanarak ortalaması alındı. Elde edilen deneysel ve teorik sonuçlar 4. Bölüm'de verilmiştir.

### 3.10 *In vivo* Çalışmalar

Görüntüleme çalışması Ege Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan alınan 2011-82 nolu izin belgesi doğrultusunda gerçekleştirilmiştir.

#### 3.10.1 [<sup>18</sup>F]FDG-Gly-Gly kompleksi ile PET görüntüleme

[<sup>18</sup>F]FDG-Gly-Gly kompleksinin biyolojik davranışlarını incelemek üzere Celal Bayar Üniversitesi Hastanesi Nükleer Tıp A.D.'da erkek Wistar Albino sıçanları üzerinde Philips PET/CT cihazı (Philips TruFlight Select PET/CT 16 slice, BT 30 mAs 120 keV, dinamik 30 dk 1 frame 128 slice, statik 10 dk 1 frame 128 slice) kullanılarak görüntüleme çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Sıçanların tedirginliklerinin giderilmesi ve acı hissetmemeleri amacıyla enjeksiyon öncesi her bir sıçana intra masküler (IM) olarak (100 µL) ketamin (50 mg/kg)/ ksilazin (10 mg/kg) aneztezisi uygulanmıştır. Görüntüleme çalışmalarında kullanılan radyoşaretli bileşikler ( [<sup>18</sup>F]FDG ve [<sup>18</sup>F]FDG-Gly-Gly) Bölüm 3.4' de verildiği gibi hazırlanmış ve herbir sıçan başına 500 µCi/ 0.3 mL olacak şekilde radyoşaretli bileşiklerden intra venöz olarak enjeksiyonlar yapılmıştır. Enjeksiyonu yapılan herbir sıçan için ilk 30 dk dinamik ve 30., 60., 90., 120., 150., 180. ve 240. dakikalarda statik görüntüler alındı ve tüm görüntülerde ilgi alanları (ROI-Region of Interest) belirlenmiştir.

#### 3.10.2 <sup>99m</sup>Tc(CO<sub>3</sub>)-Gly-Gly kompleksi ile SPECT görüntüleme

<sup>99m</sup>Tc(CO<sub>3</sub>)-Gly-Gly kompleksinin biyolojik davranışlarını incelemek üzere Celal Bayar Üniversitesi Hastanesi Nükleer Tıp A.D.' da erkek Wistar Albino sıçanları üzerinde Gama Kamera (GE İnfina Gama Kamera, dinamik 64x64 matris 30 s 1 frame, statik 256x256 matris 5 dk 1 frame) kullanılarak görüntüleme çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Sıçanların tedirginliklerinin giderilmesi ve acı hissetmemeleri amacıyla enjeksiyon öncesi her bir sıçana im olarak (100 µL) ketamin(50 mg/kg)/ ksilazin(10 mg/kg) aneztezisi uygulanmıştır. Görüntüleme çalışmalarında kullanılan sıçanlardan birine (A sıçanı) 656 µCi/0.2 mL <sup>99m</sup>Tc(CO<sub>3</sub>)-Gly-Gly kompleksi ve diğer sıçana (B sıçanı) 575 µCi/0.2 mL <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> bileşiği kuyruk venine intra venöz olarak enjekte edilmiştir. Enjeksiyonu yapılan herbir sıçan için ilk 30 dk dinamik ve 30., 60., 90., 120., 150., 180. ve 240. dakikalarda statik

görüntüler alınarak tüm görüntülerde ilgi alanları (ROI-Region of Interest) belirlenmiştir.

### 3.11 $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$ Kompleksi ile Biyodağılım Çalışması

$^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$  kompleksinin biyolojik etkinliğini incelemek üzere Ege Üniversitesi Nükleer Bilimler Enst.'de erkek Wistar Albino sıçanları üzerinde biyodağılım çalışmaları gerçekleştirildi.

Biyodağılım çalışmaları Celal Bayar Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarlarından temin edilen 10 adet erkek Wistar Albino sıçanı ( 250-400 gr) ile yapılmıştır. Sıçanların tedirginliklerinin giderilmesi ve acı hissetmemeleri amacıyla enjeksiyon öncesi her bir sıçana im olarak (100  $\mu\text{L}$ ) ketamin (50 mg/kg)/ksilazin(10 mg/kg) aneztezisi uygulandı. Biyodağılım çalışmalarında kullanılan  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$  kompleksi herbir sıçana 0.2 mL 3.7  $\mu\text{Ci}$  aktivite ile kuyruk venine intra venöz olarak enjekte edildi. Enjeksiyonu yapılan herbir sıçan için % enjekte edilen doz/g bulmak amacıyla, tüm önemli organları kesilip darası alınmış plastik kaplara koyuldu ve tartıldı. Organ içeren kapların 30., 90. ve 180. dakikalarda Cd (Te) detektör ile sayımları alındı.

### 3.12 İstatistiksel Analizler

Biyodağılım çalışmaları sonucunda elde edilen veriler istatistiksel olarak SPSS 16 programında değerlendirilmeye çalışılmıştır. Tüm verilerin varyans analizleri (Univariate Variance Analyses) yapılarak uygulanan değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme sonuçları 4. bölümde bulunmaktadır.

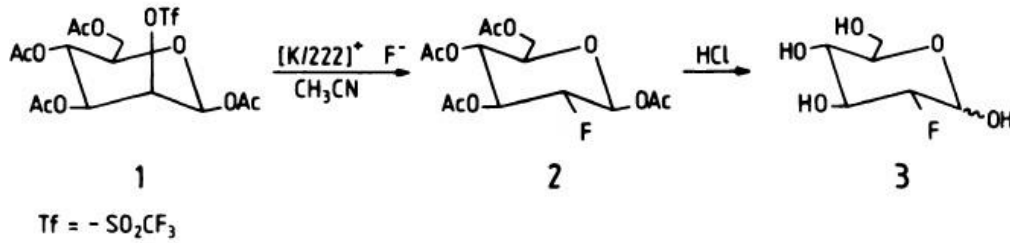
## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1 İnaktif FDG-Gly-Gly Kompleksinin Kalite Kontrolü

#### 4.1.1 HPLC Sonuçları

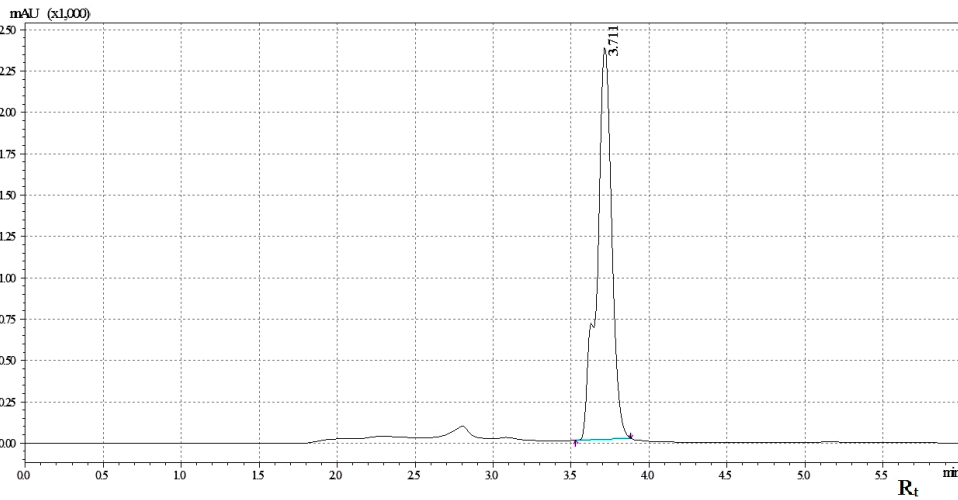
##### 4.1.1.1 İnaktif FDG

Bölüm 3.2.2’ de verilen yöntemle sentezlenen inaktif FDG’nin reaksiyonu Şekil 4.1’de verilmiştir (Hamacher et al., 1986). Elde edilen inaktif FDG’nin HPLC analizi UV dedektöründe 278 nm dalga boyunda yapıldı.



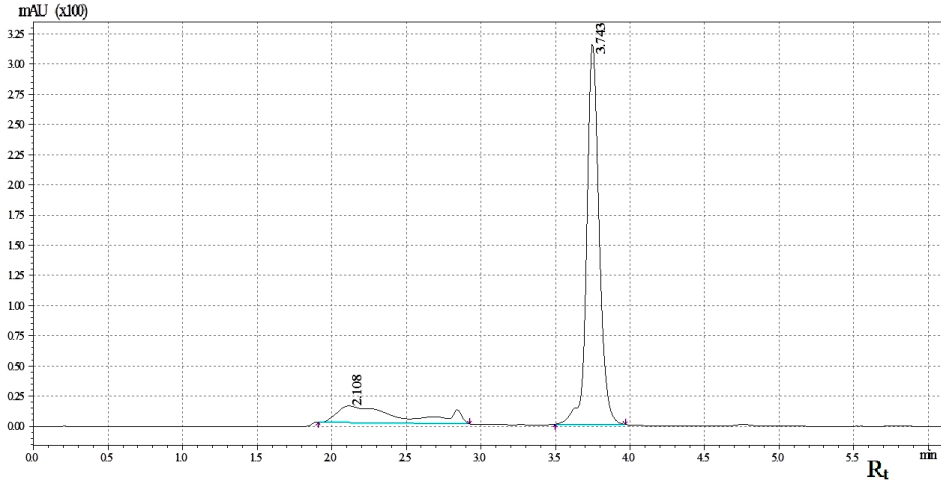
Şekil 4.1 İnaktif FDG sentez reaksiyonu

Elde edilen kromatogram [<sup>18</sup>F]FDG’nin aynı dalga boyundaki kromatogramıyla karşılaştırılmıştır. Şekil 4.2’ de görüldüğü gibi inaktif FDG’nin R<sub>t</sub>’si 3,71 olarak bulunmuş verim ise % 100 olarak hesaplanmıştır.



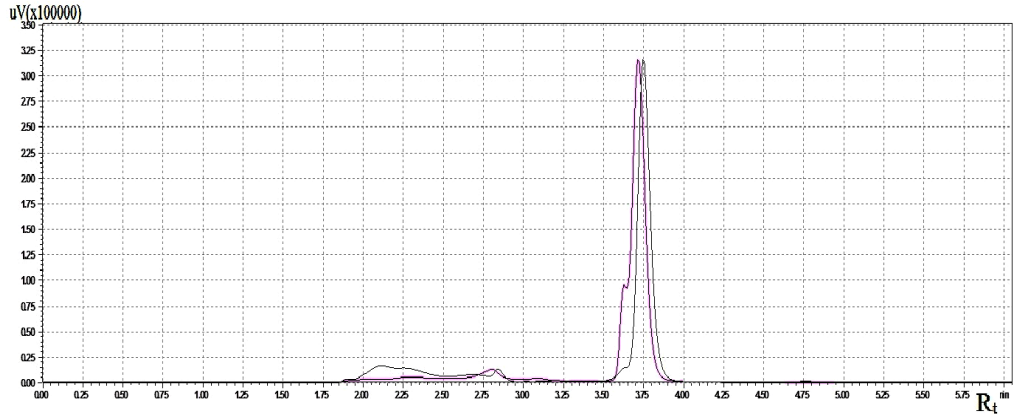
Şekil 4.2 Sentezlenen inaktif FDG bileşiğine ait HPLC kromatogramı





Şekil 4.3 [ $^{18}\text{F}$ ]FDG bileşiğine ait HPLC kromatogramı

Şekil 4.2’de sentezlenen inaktif FDG, Şekil 4.3 [ $^{18}\text{F}$ ]FDG’ ye ait kromatogramlar görülmektedir. Şekil 4.2 ve Şekil 4.3 ile elde edilen kromatogramların üstüste çakıştırılmış hali Şekil 4.4’ te verilmiştir.



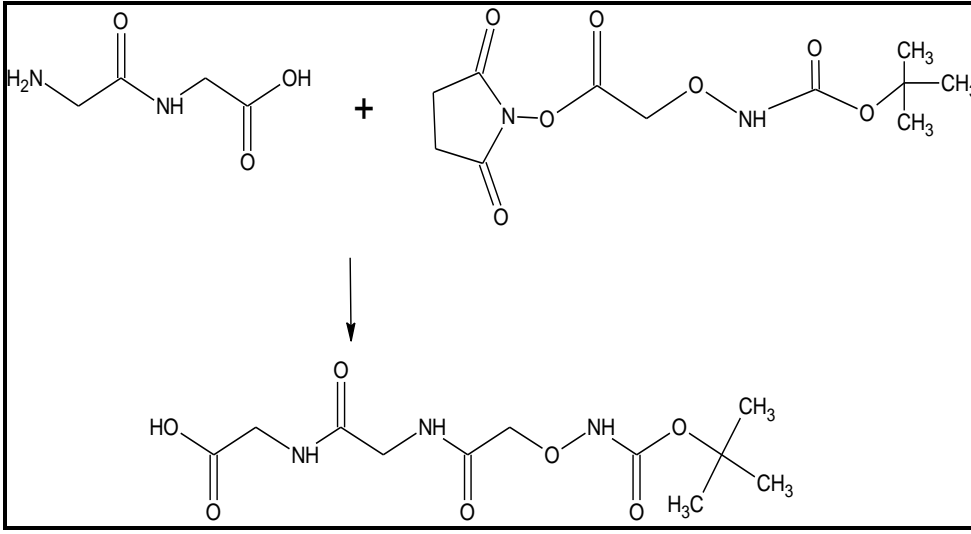
Şekil 4.4 Sentezlenen inaktif FDG (pembe) ve [ $^{18}\text{F}$ ]FDG (siyah) ait HPLC kromatogramları

Her iki yapı için alınan HPLC kromatogramları değerlendirildiğinde sentezlenen inaktif FDG nin ticari olarak temin edilen [ $^{18}\text{F}$ ]FDG’ nin piki ile aynı  $R_t$ ’ ye sahip olması sentezin başarılı olduğunun bir kanıtı olmaktadır.

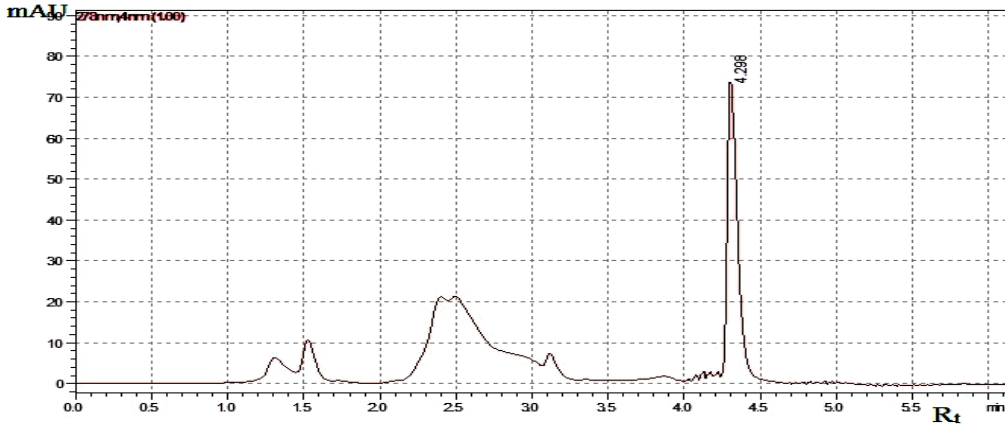
#### 4.1.1.2 Gly-Gly bileşiğinin esterleşme reaksiyonu

Bölüm 3.2.1’ de belirtildiği gibi sentezlenen Boc-AOA süksinimid ester Gly-Gly bileşiğine ait reaksiyon Şekil 4.5’ te verilmiştir. Bölüm 3.3.1’ de belirtilen HPLC şartlarına göre alınan kromatogram Şekil 4.6’ da verilmiştir. UV

dedektörle 278 nm dalgaboyunda alınan verilere göre sentezlenen bileşiğin alıkonma zamanı ( $R_t$ ) 4,29' dur.



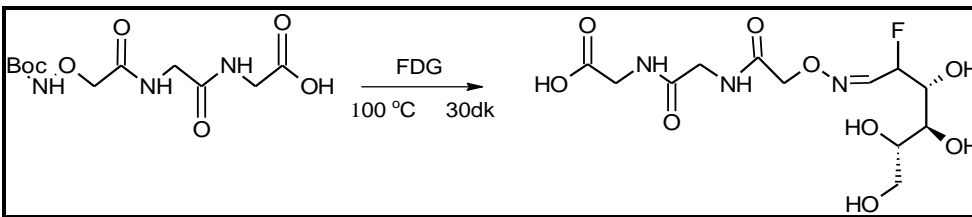
Şekil 4.5 Glisilglisin bileşiğinin esterleştirme reaksiyonu



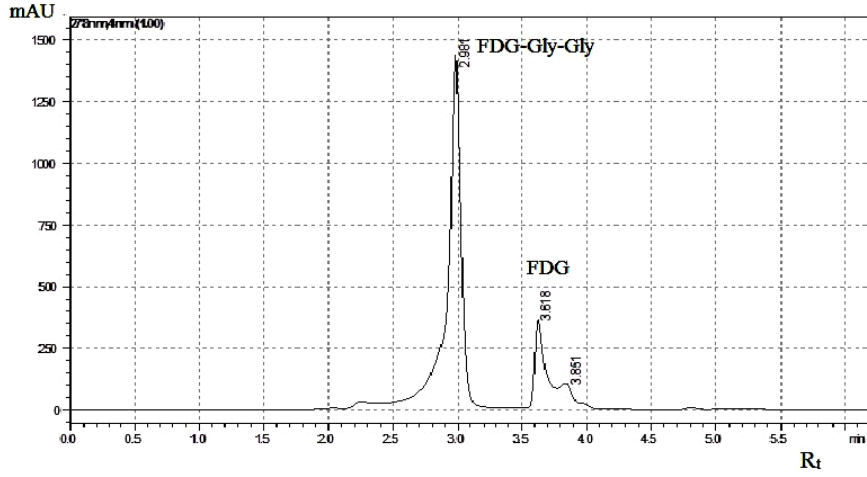
Şekil 4.6 Boc-BOA süksinimid ester Gly-Gly bileşiğinin HPLC kromatogramı

#### 4.1.1.3 İnaktif FDG-Gly-Gly kompleksi

Bölüm 3.2' de belirtilen sentez reaksiyonu Şekil 4.7 ile verilmiştir.



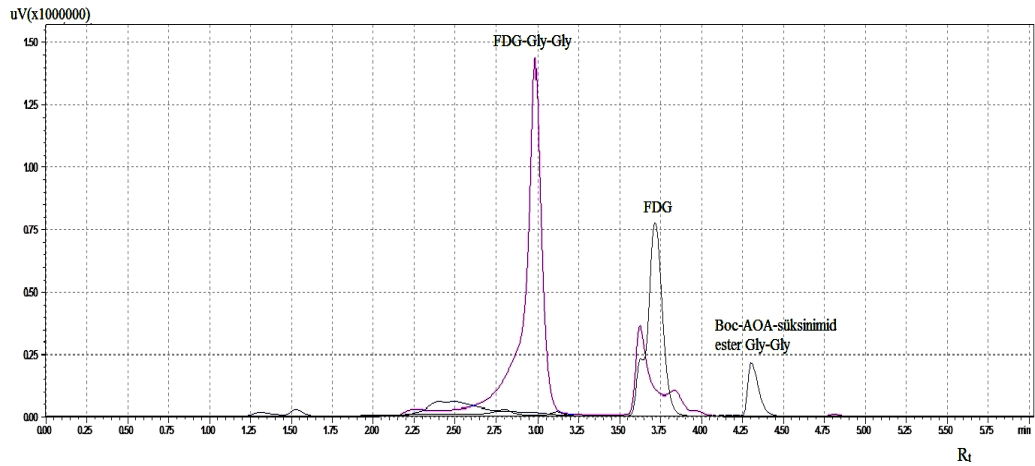
Şekil 4.7 İnaktif FDG-Gly-Gly kompleksinin sentez reaksiyonu



Şekil 4.8 Sentezlenen inaktif FDG-Gly-Gly kompleksine dair HPLC kromatogramı

Sentezlediğimiz inaktif FDG' nin Gly-Gly ile reaksiyonuna ait HPLC kromatogramı Şekil 4.8' de verilmiştir.

Şekil 4.8' e göre FDG-Gly-Gly kompleksinin UV dedektörü ile 278 nm dalga boyunda alınan HPLC kromatogramında  $R_t$  2,98 ve 3,62 olan iki pik gözlenmiştir. Bu pikler, sentezlenen inaktif FDG' ye ait pik ve Boc-AOA-Gly-Gly' e ait piklerden farklı olması FDG-Gly-Gly sentezinin başarılı olduğu konusunda bilgi vermektedir. Sentez basamaklarına ilişkin kromatogramlar Şekil 4.9' da verilmiştir.

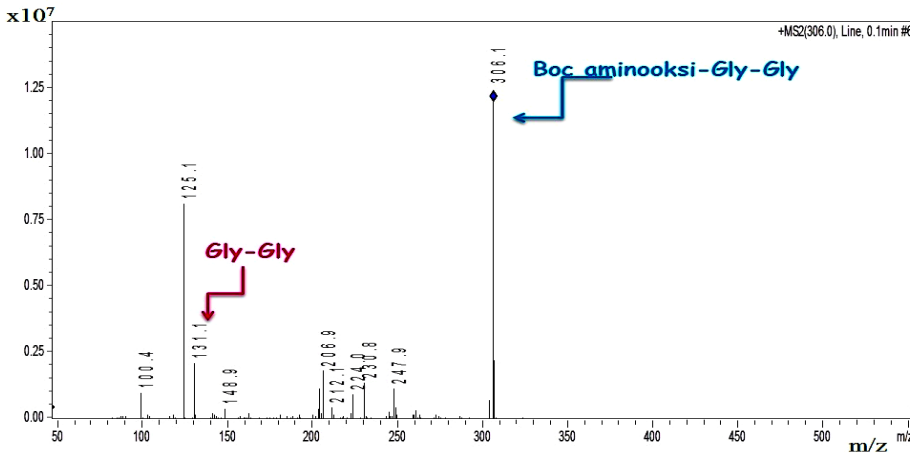


Şekil 4.9 Sentezlenen inaktif FDG (Siyah), Boc-AOA süksinimid ester Gly-Gly (Mavi) ve FDG-Gly-Gly (Pembe) ait HPLC kromatogramları

Şekil 4.9' dan görüldüğü gibi, Boc-AOA süksinimid ester Gly-Gly ve sentezlenen inaktif FDG' nin inkübasyonu sonucu  $R_t$ ' si 2,98 olan pik, FDG-Gly-Gly ait olup % 81,1 verim ile elde edilmiştir.  $R_t$ ' si 3,61 olan pik reaksiyona girmeden kalan FDG' nin varlığını ve  $R_t$ ' si 3,85 olan pik Boc-AOA süksinimid ester Gly-Gly bileşiğini belirtmektedir. Buna göre reaksiyon sonunda Boc-AOA süksinimid ester Gly-Gly bileşiğinin tümü kullanılırken % 18,9 oranında reaksiyona girmeden kalan FDG olduğu görülmektedir.

#### 4.1.2 LC/MS-MS sonuçları

Boc-AOA süksinimid ester Gly-Gly için yapı analizleri sonuçları Şekil 4.10' da gösterilmiştir. LC-MS spektrumundan Gly-Gly dipeptidine ait m/z değeri 131,1 (M+H)<sup>+</sup> gözlenirken aynı bileşik için teorik m/z değeri 131,12 olarak hesaplanmıştır. Boc-AOA süksinimid ester Gly-Gly bileşiğine ait m/z değeri 306,1 (M+H)<sup>+</sup> gözlenirken aynı bileşik için teorik m/z değeri 306,28 olarak hesaplanmıştır.

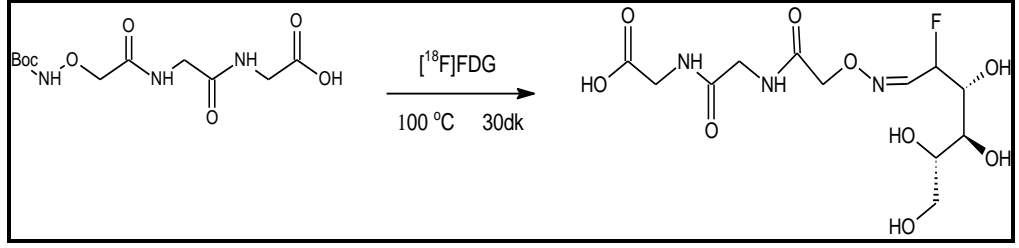


Şekil 4.10 Boc-AOA süksinimid ester Gly-Gly bileşiğinin LC/MS-MS spektrumu

## 4.2 [<sup>18</sup>F]FDG-Gly-Gly Kompleksinin Kalite Kontrolü

### 4.2.1 [<sup>18</sup>F]FDG-Gly-Gly kompleksine dair TLRC sonuçları

Sentezlenen [<sup>18</sup>F]FDG-Gly-Gly kompleksinin sentez reaksiyonu Şekil 4.11' de verilmiştir. [<sup>18</sup>F]FDG-Gly-Gly bileşiğinin TLRC ile kalite kontrolünde çözen olarak su, asetonitril:su (1:1), metanol:su (1:1) sistemleri kullanılmıştır.

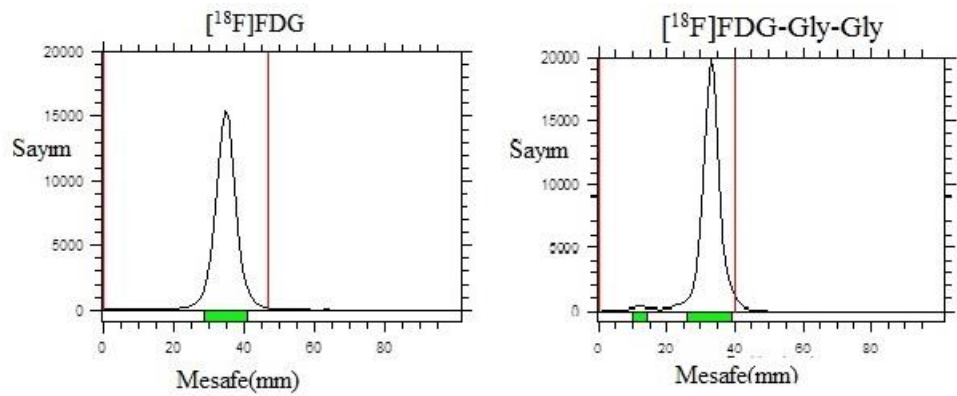


Şekil 4.11 [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Gly-Gly kompleksinin sentez reaksiyonu

En iyi sonuç çözgen olarak saf su kullanılan TLC banyosu ile elde edilmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.1 ve Şekil 4.12’de verilmiştir. Verilen grafiklere göre, [ $^{18}\text{F}$ ]FDG için  $R_f$  değeri 0,74 ve [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Gly-Gly bileşiği için  $R_f$  değeri 0,83 olarak bulunmuştur. Buna göre [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Gly-Gly bileşiği %  $98,65 \pm 0,35$  verim ile elde edilmiştir ( $n=6$ ).

Çizelge 4.1 [ $^{18}\text{F}$ ]FDG ve [ $^{18}\text{F}$ ]FDG -Gly-Gly komplekslerine ilişkin  $R_f$  değerleri

Banyo Çözeltilisi	$R_f$	
	[ $^{18}\text{F}$ ]FDG	[ $^{18}\text{F}$ ]FDG -Gly-Gly
Su	0,74	0,83
Asetonitril:Su(1:1)	0,85	0,89
Metanol:Su (1:1)	0,71	0,72



Şekil 4.12 [ $^{18}\text{F}$ ]FDG ve [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Gly-Gly komplekslerine ait TLRC kromatogramları

[<sup>18</sup>F]FDG ile yapılan çalışmalarda farklı TLC banyoları kullanılmış, işaretlenen bileşiğin yapısına ve işaretleme koşullarına göre uygun banyolar seçilmiştir.

Simpson ve arkadaşları [<sup>18</sup>F]FDG bileşiğini bir prostetik grup yardımıyla biotin ile işaretleme yapılmıştır. Elde ettikleri [<sup>18</sup>F]FDG ve biotin ile işaretli [<sup>18</sup>F]FDG bileşiğinin TLRC ile kalite kontrolünde çözgen olarak etanol:etil asetat (1:1) kullanmışlardır. Buna göre, [<sup>18</sup>F]FDG için % 100 ve elde ettikleri radyoşaretli bileşik için % 90'ın üzerinde verim elde ettiklerini bildirmişlerdir (Simpson et al., 2011).

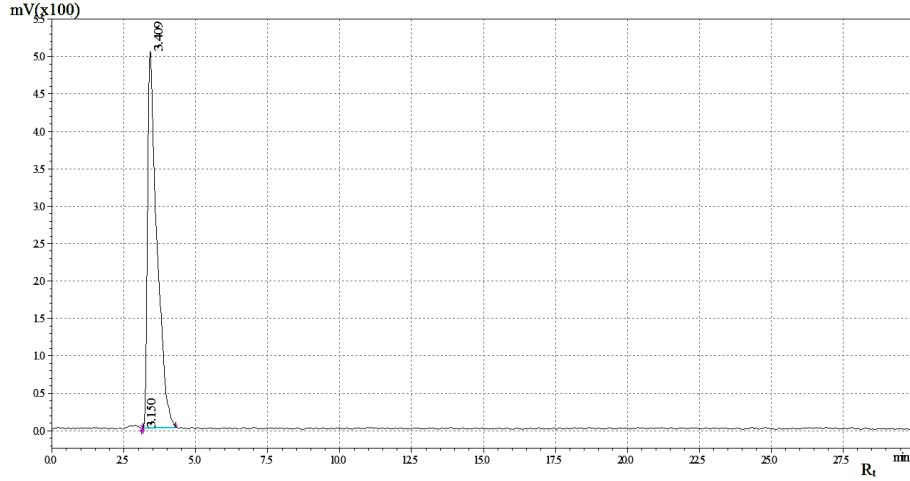
Koivula ve arkadaşları <sup>18</sup>F radyonüklidini serotonin 5HT ile radyoşaretleme yapılmıştır. Elde ettikleri p-[<sup>18</sup>F]MPPF bileşiğinin TLRC ile kalite kontrolünde çözgen olarak CH<sub>3</sub>CN:H<sub>2</sub>O (90:10) kullanmışlardır. Buna göre, elde ettikleri radyoşaretli bileşik için saflaştırma işleminin ardından % 95' in üzerinde verim elde ettiklerini bildirmişlerdir (Koivula et al., 2010).

Wuest ve arkadaşları <sup>18</sup>F radyonüklidini bir prostetik grup yardımıyla sistin içeren bir peptid ve protein grubu ile işaretleme yapılmıştır. Elde ettikleri [<sup>18</sup>F]SFB bileşiğinin TLRC ile kalite kontrolünde çözgen olarak EtOAc/hekzan (50/50) kullanmışlardır. Buna göre elde ettikleri radyoşaretli bileşik için % 95' in üzerinde verim elde ettiklerini bildirmişlerdir (Wuest et al., 2009a).

Wuest ve arkadaşları, [<sup>18</sup>F]FDG' yi bir protein ve peptide bağlayabilmek için bir prostetik grup olan maleimid heksil oksim (MHO) dan yararlanmışlardır. Bunun için, öncelikle [<sup>18</sup>F]FDG' nin MHO ile sentezi sağlamışlardır. Daha sonra bir tripeptid olan glutatyon (GSH) ve bir protein olan annexin A5 (anxA5) ile radyoşaretleme yapılmıştır. TLRC ile kalite kontrolünde çözgen olarak CH<sub>3</sub>CN/su (80/20) kullanmışlardır. Buna göre, [<sup>18</sup>F]FDG-MHO için % 79 verim elde edilirken [<sup>18</sup>F]FDG-MHO-GSH için % 92 ve [<sup>18</sup>F]FDG-MHO-anxA5 için % 58 olarak bildirmişlerdir (Wuest et al., 2008).

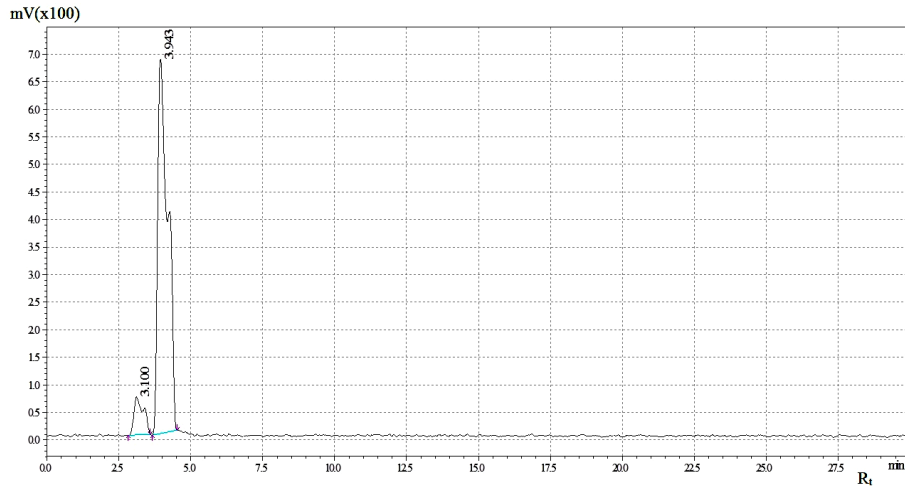
#### 4.2.2 [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Gly-Gly kompleksine dair HPLRC sonuçları

[ $^{18}\text{F}$ ]FDG ve [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Gly-Gly bileşiğinin HPLRC kromatogramları Şekil 4.13 ve Şekil 4.14' te verilmiştir. Siklotron ürünü [ $^{18}\text{F}$ ]FDG  $R_t$  3,41 olarak bulundu.



Şekil 4.13 [ $^{18}\text{F}$ ]FDG ait HPLRC kromatogramına ait  $R_t$  değerleri

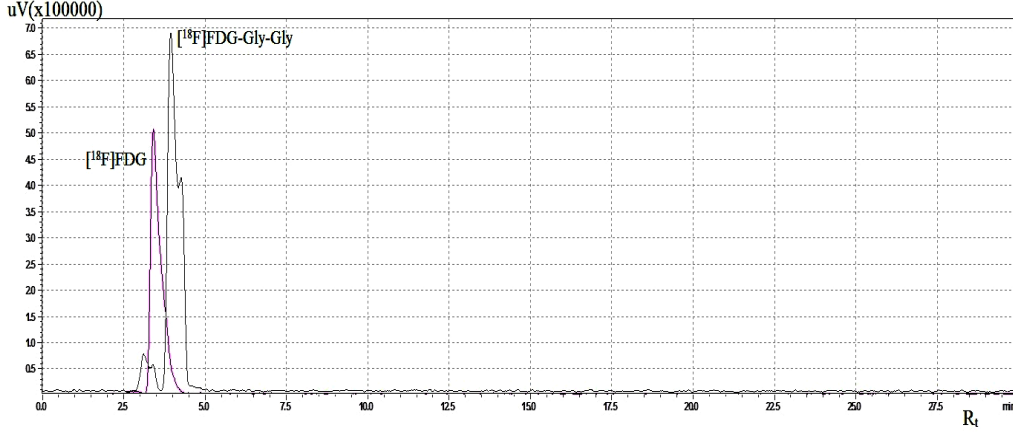
Şekil 4.14' e göre [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Gly-Gly kompleksine ait HPLRC kromatogramından  $R_t$  3,10 ve 3,94 olan iki pik elde edilmiştir. [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Gly-Gly kompleksini gösteren ikinci pik % 91,25 verim ile elde ettiği görülmüştür.



Şekil 4.14 [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Gly-Gly kompleksine ait HPLRC kromatogramı

Şekil 4.15' te [ $^{18}\text{F}$ ]FDG ve [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Gly-Gly komplekslerinin HPLRC kromatogramları gösterilmiştir.  $R_t$  3,41 olan pembe renkli [ $^{18}\text{F}$ ]FDG piki, Boc-

AOA süksinimid ester Gly-Gly ile inkübasyonu sonucu oluşan  $[^{18}\text{F}]\text{FDG-Gly-Gly}$  kompleksine ait siyah renkli pikin  $R_t$  3,94 olarak bulunmuştur.  $[^{18}\text{F}]\text{FDG-Gly-Gly}$  kompleksi % 91,25 verim ile elde edilmiştir.



Şekil 4.15  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  (Pembe) ve  $[^{18}\text{F}]\text{FDG-Gly-Gly}$  (Siyah) komplekslerine ait HPLRC kromatogramları

Simpson ve arkadaşlarının elde ettikleri  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  ve biotin ile işaretli  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  bileşiğinin HPLRC ile yaptıkları kalite kontrol çalışmaları C18 kolonu asetonitril (% 0,15 trifloroasetik asit ihtiva eden)/Su (50/50) akış gradyentinde ve 1 mL/dk akış hızında 40 dakikalık bir süre boyunca gerçekleştirilmiştir. Buna göre,  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  ve elde ettikleri radyoşaretli bileşik için % 100 verim elde ettiklerini bildirmişlerdir (Simpson et al., 2011).

Koivula ve arkadaşlarının elde ettikleri 4- $[^{18}\text{F}]\text{-floro-N-[2-[1-(2-metoksifenil)-1-piperazinil]etil-N-2-piridinil-benzamid (p-[18F]MPPF)}$  bileşiğinin HPLRC ile kalite kontrolünde C18 kolonu çözgen sistemi olarak THF / MeOH / 0.05 M NaOAc (18:27:55) ve 3 mL/dk akış hızı kullanılmıştır. Buna göre, elde ettikleri radyoşaretli bileşik için % 27,9±9,5 verim elde edildiğini rapor etmişlerdir (Koivula et al., 2010).

Wuest ve arkadaşlarının elde ettikleri süksinimidil-4- $[^{18}\text{F}]\text{florobenzoat ([}^{18}\text{F]SFB)}$  kompleksinin HPLRC ile kalite kontrolünde C18 kolonu, 2 mL/dk akış hızı ve çözgen sistemi olarak A çözgeni CH<sub>3</sub>CN; B çözgeni % 0,1 TFA olmak üzere 0-35 dk % 20 A, 35-40dk % 80 A gradyenti kullanılmıştır. Buna göre, radyoşaretli kompleks için % 98' in üzerinde verim elde ettiklerini belirtmişlerdir (Wuest et al., 2009a).

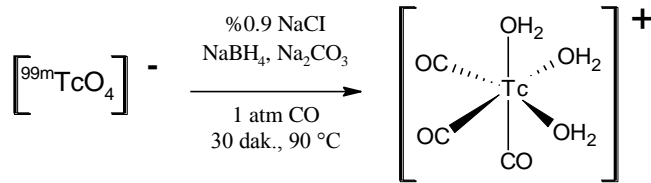


Wuest ve arkadaşlarının [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-MHO-GSH ([ $^{18}\text{F}$ ]FDG-maleimidheksiloksim-glutasyon) bileşikleri için HPLRC ile kalite kontrolünde C18 kolonu, 1 mL / dk akış hızı ve çözgen sistemi  $\text{CH}_3\text{CN}/ 0.1 \text{ M}$  Amonyum format (30/70) gradyenti kullanılmıştır. Buna göre, saflaştırma sonrasında [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-MHO için %95 verim elde edilirken [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-MHO-GSH için % 92 ve [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-MHO-anxA5 ([ $^{18}\text{F}$ ]FDG- maleimidheksiloksim-aneksin A5) için verimi % 43-58 olarak bulmuşlardır (Wuest et al., 2008).

### 4.3 $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$ Kompleksinin Kalite Kontrol Çalışmaları

#### 4.3.1 $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$ kompleksine dair TLRC sonuçları

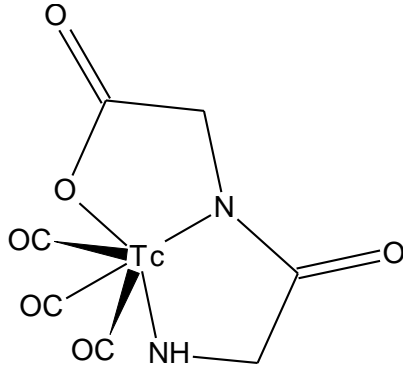
Teknesyumun farklı yükseltgenme basamaklarında oluşturduğu birçok kompleks nükleer tıpta uzun yıllardır kullanılmaktadır. İlk kez 1995 yılında Alberto ve arkadaşları tarafından +1 yükseltgenme basamağındaki  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  ile  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3^+$  koru sentezlenerek daha sonraki yıllarda  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{I})$  ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır (Alberto et al., 1998; Alves et al., 2005; Liu et al., 2010; N'Dongo et al., 2010). Bu çalışmada literatürdeki yöntem kullanılarak  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3^+$  koru CO gazı ile sentezlenmiştir (Şekil 4.16) ( Alberto et al., 1998).



Şekil 4.16 Tc(I) trikarbonil korunun sentez reaksiyonu ( Alberto et al., 1998).

Sentezlenen  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3^+$  korunun kalite kontrolü TLRC analizi ile asetonitril, metanol:su (2:1), metanol:su (3:1) banyoları kullanılarak yapıldı.  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3^+$  koru için en iyi sonuç metanol:su (2:1) banyosu ile elde edilmiştir. Buna göre,  $R_f$  değeri 0,032 ve radyoışaretleme verimi ise % 99,8±0,2 olarak bulundu (n=10).

Gly-Gly bağlı [ $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3$ ] $^+$  kompleksinin önerilen kimyasal yapısı Şekil 4.17' de verilmiştir.

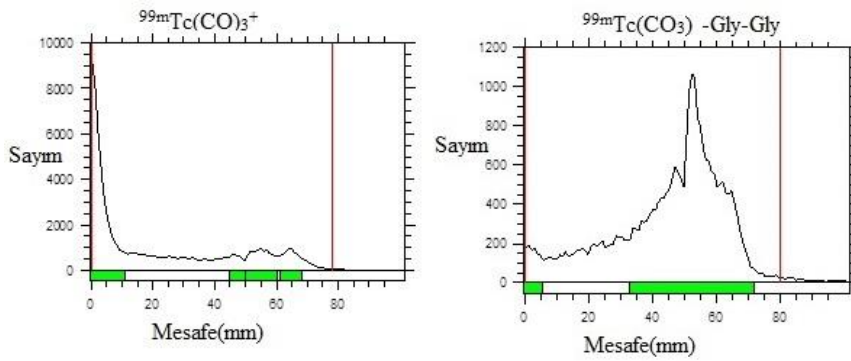


Şekil 4.17  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3^+$  ile radyoişaretli Gly-Gly kompleksinin kimyasal yapısı

$^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$  kompleksi için TLRC analizleri asetonitril, metanol:su (2:1), metanol:su (3:1) banyoları kullanılarak gerçekleştirildi. En iyi sonuç metanol:su (2:1) banyosunda gözlenmiştir.

Çizelge 4.2  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3^+$  koru ve  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$  bileşiklerine ilişkin  $R_f$  değerleri

Banyo Çözeltisi	$R_f$	
	$^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3^+$	$^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$
Asetonitril	0,03	0,79
Metanol:Su (2:1)	0,03	0,65
Metanol:Su (3:1)	0,03	0,71



Şekil 4.18  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3^+$  korunun ve  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$  kompleksinin metanol:su(2:1) banyosundaki TLRC kromatogramları

Buna göre,  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$  kompleksi çözgenle birlikte TLRC kağıdında yukarı doğru yürürken ( $R_f=0,65$ )  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3^+$  koru uygulama

noktasında ( $R_f=0,03$ ) kalmıştır, radyoışaretleme verimi %  $94,69\pm 2$  olarak bulundu ( $n=10$ ). Elde edilen  $R_f$  değerleri Çizelge 4.2’ de verilmiştir. Şekil 4.18’ de  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)^+$  koruna ve  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$  kompleksine ait TLRC kromatogramlar görülmektedir.

Alberto ve arkadaşlarının sentezlediği  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)^+$  korunun TLRC ile kalite kontrolünde çözgen olarak MeOH/HCl (95:5) kullanmışlardır. Buna göre,  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)^+$  koru için % 95’ in üzerinde verim elde edildiğini bildirmişlerdir (Alberto et al., 1998).

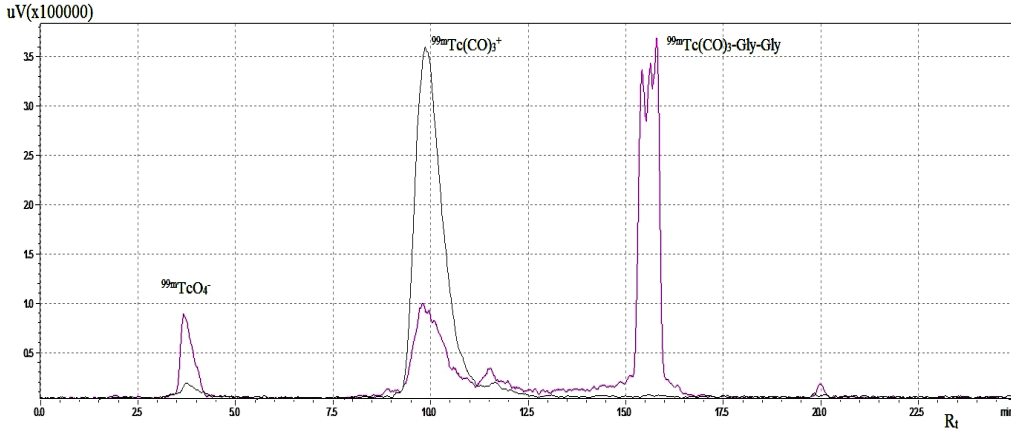
Fonge ve arkadaşları heksadeksil grupları ile  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)^+$  korunu radyoışaretleme başarımlarıdır. Elde ettikleri radyoışaretleli bileşiklerin TLRC kontrolünde çözgen olarak MeOH/EtOAc/Net<sub>3</sub> (10:10:0.5) kullanmışlardır. Buna göre,  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-N-heksadekilaminoetil-N’-aminoetilamin}$  bileşiğinin verimi % 90’ ın üzerinde olarak rapor edilmiştir (Fonge et al., 2009).

Jun Oh ve arkadaşlarının  $^{99m}\text{Tc}$  ile bir şeker grubunu işaretleyerek  $^{99m}\text{Tc-1-thio-}\beta\text{-D-glucose}$  ( $^{99m}\text{Tc-1-TG}$ ) kompleksini elde etmişlerdir. Elde ettikleri radyoışaretleli kompleksin TLRC kontrolünde çözgen olarak aseton ve SF kullanmışlardır. Farklı konsantrasyon yoğunluklarında ortalama verim %  $98,7\pm 1,5$  olarak verilmiştir (Jun Oh et al., 2006).

Tsiapa ve arkadaşları peptid bağlı  $^{99m}\text{Tc}$  bileşiği sentezlemişlerdir. Elde ettikleri radyoışaretleli yapının TLRC kontrolünde çözgen olarak (% 0,9 NaCl), aseton ve piridin/CH<sub>3</sub>COOH/H<sub>2</sub>O kullanmışlardır. Buna göre, c(RGDfK)-(Orn)<sub>3</sub>-[CGG- $^{99m}\text{Tc}$ ] için % 98’in üzerinde verim bildirmişlerdir (Tsiapa et al., 2013).

#### 4.3.2 $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$ kompleksine dair HPLRC sonuçları

Bölüm 3.8.2’ de verilen koşullara göre elde edilen HPLRC kromatogramına göre  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  için  $R_t$  3.66 olarak gözlenirken  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3^+$  koruna ilişkin  $R_t$  9,79 olarak gözlenmiştir.  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$  kompleksi için ise  $R_t$  15,79 olarak gözlenmiştir (Şekil 4.19).



Şekil 4.19  $^{99m}\text{TcO}_4^-$ ,  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)_3^+$  koru ve  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)_3\text{-Gly-Gly}$  kompleksine ait HPLRC kromatogramı

Alberto ve arkadaşlarının sentezlediği  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)_3^+$  korunun HPLRC ile kalite kontrolü için % 95'in üzerinde verim elde ettiklerini saflaştırmanın ardından verimin % 98' in üzerinde olduğunu rapor etmişlerdir (Alberto et al., 1998).

Jun Oh ve arkadaşları radyoişaretli ( $^{99m}\text{Tc-1-TG}$ ) kompleksi için HPLRC ile kalite kontrolünde C18 kolonu, 1mL / dk akış hızı ve A çözgeni su içinde % 0,1 trifluoroasetik asit ve B çözgeni  $\text{CH}_3\text{CN}$  içinde % 0,1 trifluoroasetik asit olmak üzere 0-10 dk % 100 A; 10-20 dk % 50 A; 20-30 dk % 100 B olacak şekilde uygulanmıştır. Buna göre verim %  $98,7 \pm 1.5$  olarak bulunmuştur (Jun Oh et al., 2006).

Barros ve arkadaşları  $^{99m}\text{Tc-D-glucose-MAG}_3$  ( $^{99m}\text{Tc-MAG}_3\text{-G}$ ) ve  $^{99m}\text{Tc-MAG}_3$  radyobileşiklerinin HPLRC ile kalite kontrolünde C18 kolonu, 0,5 mL / dk akış hızı ve A çözgeni % 0,1 trifluoroasetik asit ve B çözgeni MeOH olmak üzere 0-3 dk % 100 A; 3-9 dk % 75 A; 9-20 dk % 66 B; 20-30 dk % 100 A olacak şekilde uygulanmıştır. Buna göre verim % 95' in üzerinde rapor edilmiştir (Barros et al., 2010).

Tsiapa ve arkadaşlarının elde ettikleri radyoişaretli kompleksin HPLRC ile kalite kontrolünde C18 kolonu, 1 mL/ dk akış hızı ve A çözgeni su içinde % 0,1 TFA ve B çözgeni % 90  $\text{CH}_3\text{CN}$  içinde % 0,1 TFA olmak üzere 0-20 dk % 95 A; 20-25 dk % 75 A olacak şekilde uygulanmıştır. Buna göre verim c(RGDfK)-(Orn)<sub>3</sub>- [CGG- $^{99m}\text{Tc}$ ] için % 98'in üzerinde ölçülmüştür (Tsiapa et al., 2013).

Fonge ve arkadaşları  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-N-hekzadesilaminoetil-N'-aminoetilamin}$  için HPLRC kalite kontrolünde C18 kolonu, 0,9 mL/ dk akış hızı ve 0.05 M amonyum asetat tamponu pH 6.8 / etanol izokratik karışımı (25 / 75) çözgen sistemi olacak şekilde uygulanmıştır. Bu sisteme göre verim % 99 olarak bildirilmiştir (Fonge et al., 2009).

#### 4.4 Lipofilite Analizi Sonucu

Gly-Gly ve  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$  için teorik ve deneysel lipofilite değerleri Çizelge 4.3' de verilmektedir.  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$  kompleksine ait deneysel lipofilite (logP) değeri  $-1.69\pm 0.08$  (n=3) olarak bulundu. Bu sonuç ile  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$  kompleksinin Gly-Gly' e göre lipofilitesinin azaldığı anlaşılmaktadır.

Çizelge 4.3 Gly-Gly,  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$  ve  $^{18}\text{F}$ FDG komplekslerine ait lipofilite sonuçları

	Teorik lipofilite	Deneysel lipofilite
Gly-Gly	$-0,98 \pm 0,38$	-
$^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$	-	$-1,69\pm 0,08$
$^{18}\text{F}$ FDG	0,22	

Tsiapa ve arkadaşları  $c(\text{RGDfK})\text{-(Orn)}_3\text{-[CGG-}^{99m}\text{Tc]}$  bileşiği deneysel lipofilite değerini logP  $-2,45\pm 0,01$  olarak bulmuşlar ve radyoışaretli kompleksin hidrofilik bir yapıya sahip olduğunu rapor etmişlerdir (Tsiapa et al., 2013).

Alves ve arkadaşlarının farklı ligandların  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3^+$  kuru ile yaptıkları radyoışaretlemelelerinde farklı ligand yoğunlukları için farklı log P değerleri elde etmişlerdir. Buna göre kullanılan ligandların log P değerlerinin  $-2,35$  ile  $0,87$  arasında bulunmuş ve hidrofilik özellik gösterdikleri rapor edilmiştir. Alves ve arkadaşlarına göre, hidrofilik özellik gösteren radyoışaretli bileşiklerin vücuttan daha hızlı temizlendiği belirtilmiştir (Alves et al., 2005).

## 4.5 İn Vivo Çalışmalar

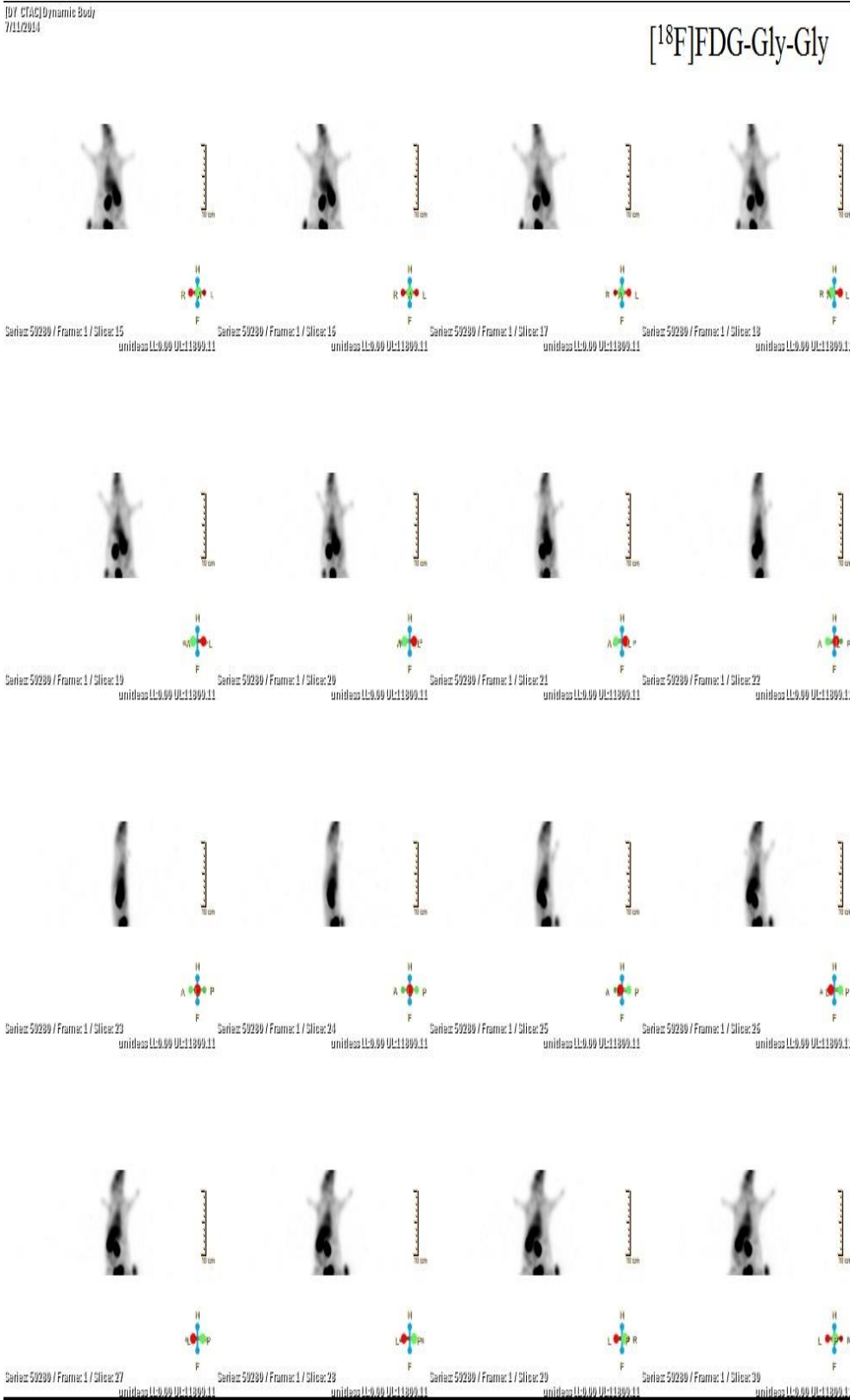
### 4.5.1 [<sup>18</sup>F]FDG-Gly-Gly kompleksine dair PET sonuçları

Bu aşamada kullanılan sıçanlardan (300-400 gr) birine [<sup>18</sup>F]FDG-Gly-Gly diğerine sadece [<sup>18</sup>F]FDG enjekte edilerek ilk 30 dk dinamik ve 30.,60.,90.,120.,150.,180. ve 240. dakikalarda statik görüntüleri alındı. Şekil 4.20' de [<sup>18</sup>F]FDG için 30 dk da alınan dinamik görüntüleri verilmiştir.



Şekil 4.20 [<sup>18</sup>F]FDG bileşiğinin ilk 30 dakikada alınan dinamik görüntüleri

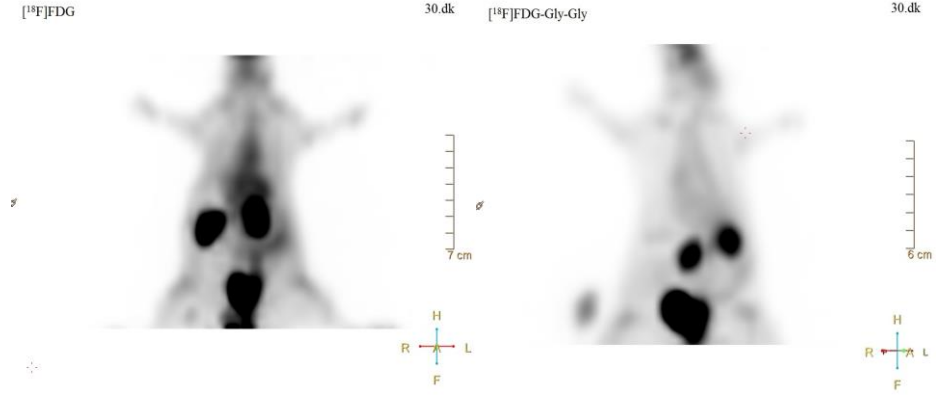
Şekil 4.21’ de  $[^{18}\text{F}]\text{FDG-Gly-Gly}$  için 30 dakikada alınan dinamik görüntüleri verilmiştir.



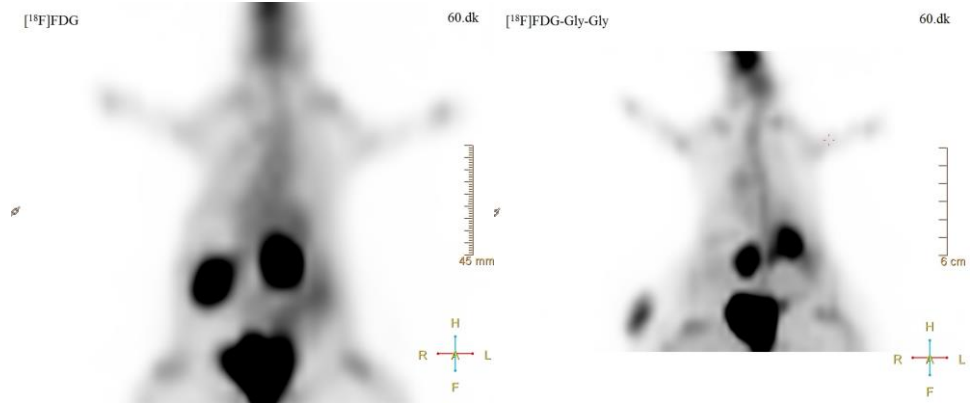
Şekil 4.21  $[^{18}\text{F}]\text{FDG-Gly-Gly}$  kompleksinin ilk 30 dakikada alınan dinamik görüntüleri



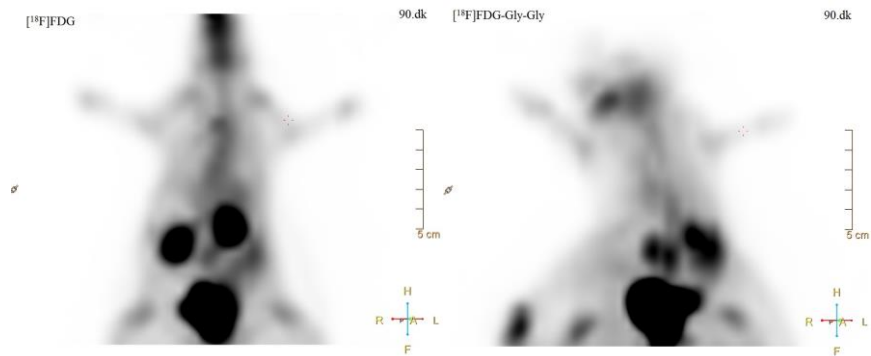
Şekil 4.22, 4.23, 4.24, 4.25, 4.26, 4.27, 4.28' de [ $^{18}\text{F}$ ]FDG ve [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Gly-Gly komplekslerinin sırasıyla 30.,60., 90., 120., 150., 180.ve 240. dakikalarda alınan statik görüntüleri verilmiştir.



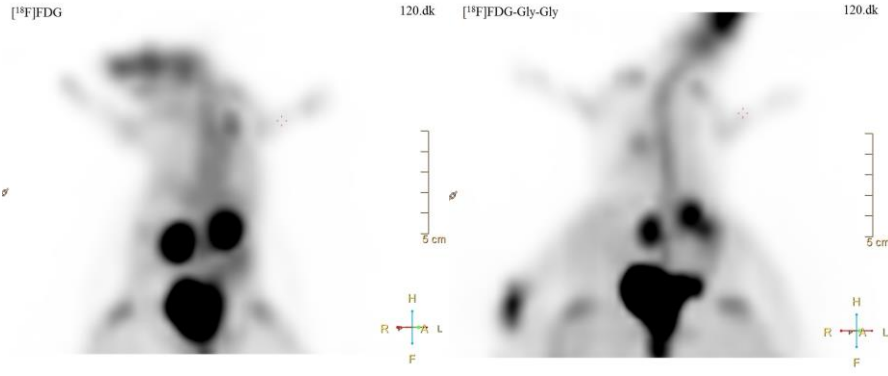
Şekil 4.22 [ $^{18}\text{F}$ ]FDG ve [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Gly-Gly kompleksleri için 30.dk statik görüntüleri



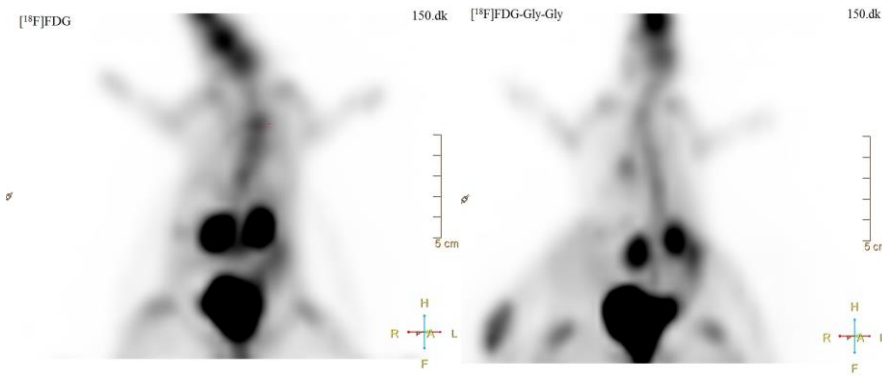
Şekil 4.23 [ $^{18}\text{F}$ ]FDG ve [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Gly-Gly kompleksleri için 60.dk statik görüntüleri



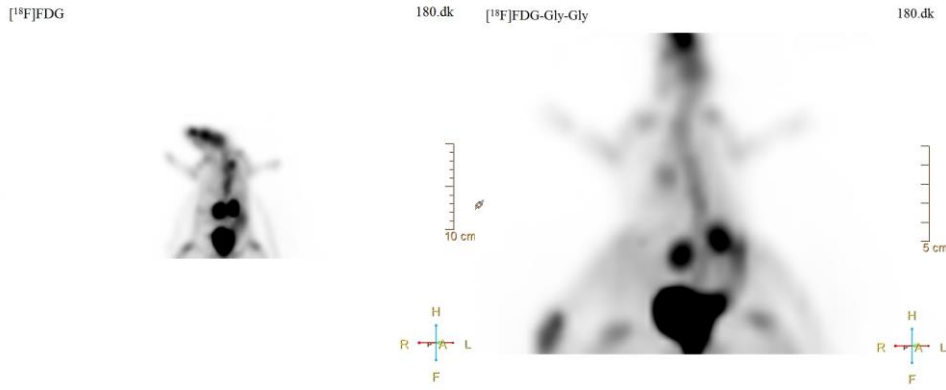
Şekil 4.24 [ $^{18}\text{F}$ ]FDG ve [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Gly-Gly kompleksleri için 90.dk statik görüntüleri



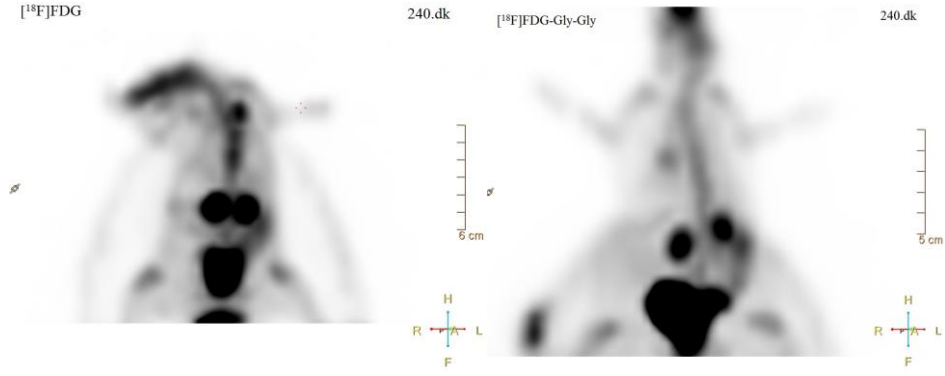
Şekil 4.25  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  ve  $[^{18}\text{F}]\text{FDG-Gly-Gly}$  kompleksleri için 120.dk statik görüntüleri



Şekil 4.26  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  ve  $[^{18}\text{F}]\text{FDG-Gly-Gly}$  kompleksleri için 150.dk statik görüntüleri



Şekil 4.27  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  ve  $[^{18}\text{F}]\text{FDG-Gly-Gly}$  kompleksleri için 180.dk statik görüntüleri

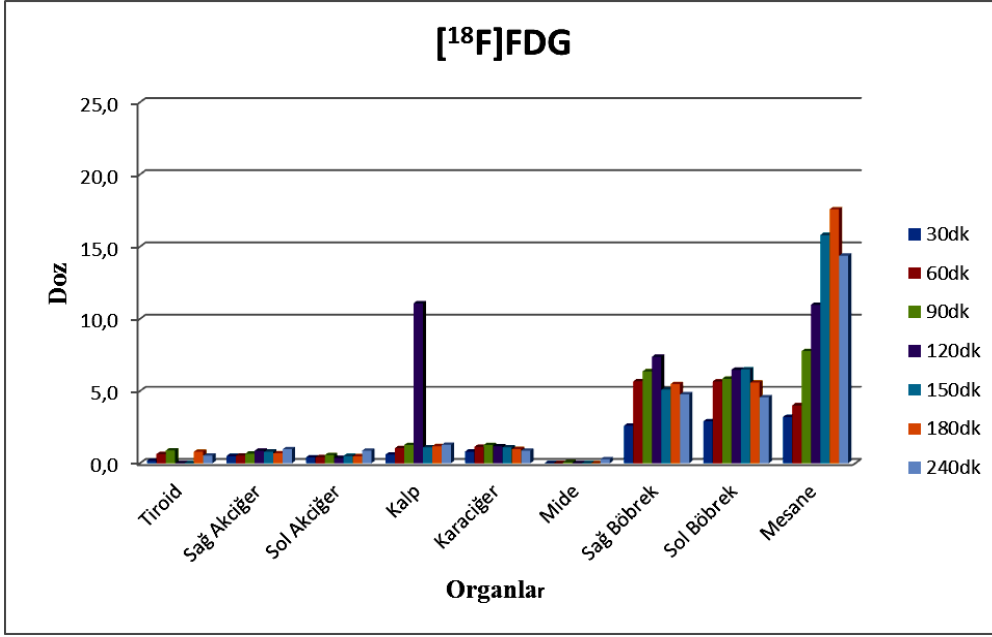


Şekil 4.28  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  ve  $[^{18}\text{F}]\text{FDG-Gly-Gly}$  kompleksleri için 240.dk statik görüntüleri

Şekil 4.22, 4.23, 4.24, 4.25, 4.26, 4.27, 4.28' deki verilere göre,  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 'nin kalp, böbrek, mesane, ve midede belirgin tutulumları gözlemlenirken  $[^{18}\text{F}]\text{FDG-Gly-Gly}$ 'nin sadece böbrek, mesane ve mide de belirgin tutulumları gözlenmiştir.

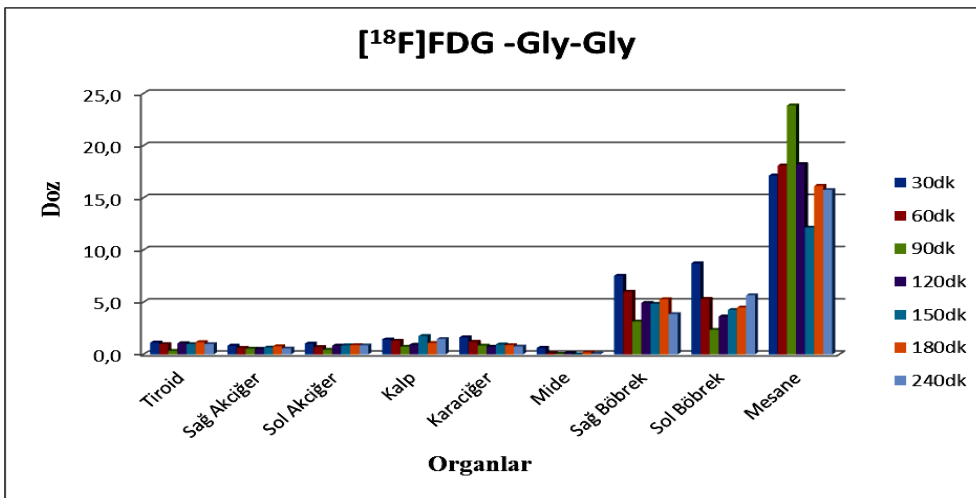
Şekil 4.29 ve 4.30' da  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  ve  $[^{18}\text{F}]\text{FDG-Gly-Gly}$  organlara göre doz dağılım grafikleri verilmiştir.

Şekil 29' da  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 'nin 120. dk belirgin kalp tutulumu gözlemlenmektedir. Buna göre  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 'nin kalp tutulumu 120. dk en yüksek değerini ( $11,07 \pm 0,18$ ) almıştır. Sağ böbrekte en yüksek tutulum 120. dk ( $7,37 \pm 0,97$ ) sol böbrekte en yüksek tutulum ise 150. dk ( $6,50 \pm 1,95$ ) gözlenmiştir. Mesanede en yüksek tutulum 180. dk ( $17,58 \pm 0,51$ ) görülmektedir. Bu verilere göre  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 'nin kandan hızlı temizlendiği ve vücuttan renal yollardan uzaklaştığı anlaşılmaktadır.



Şekil 4.29 [18F]FDG için dozun organlara dağılımı

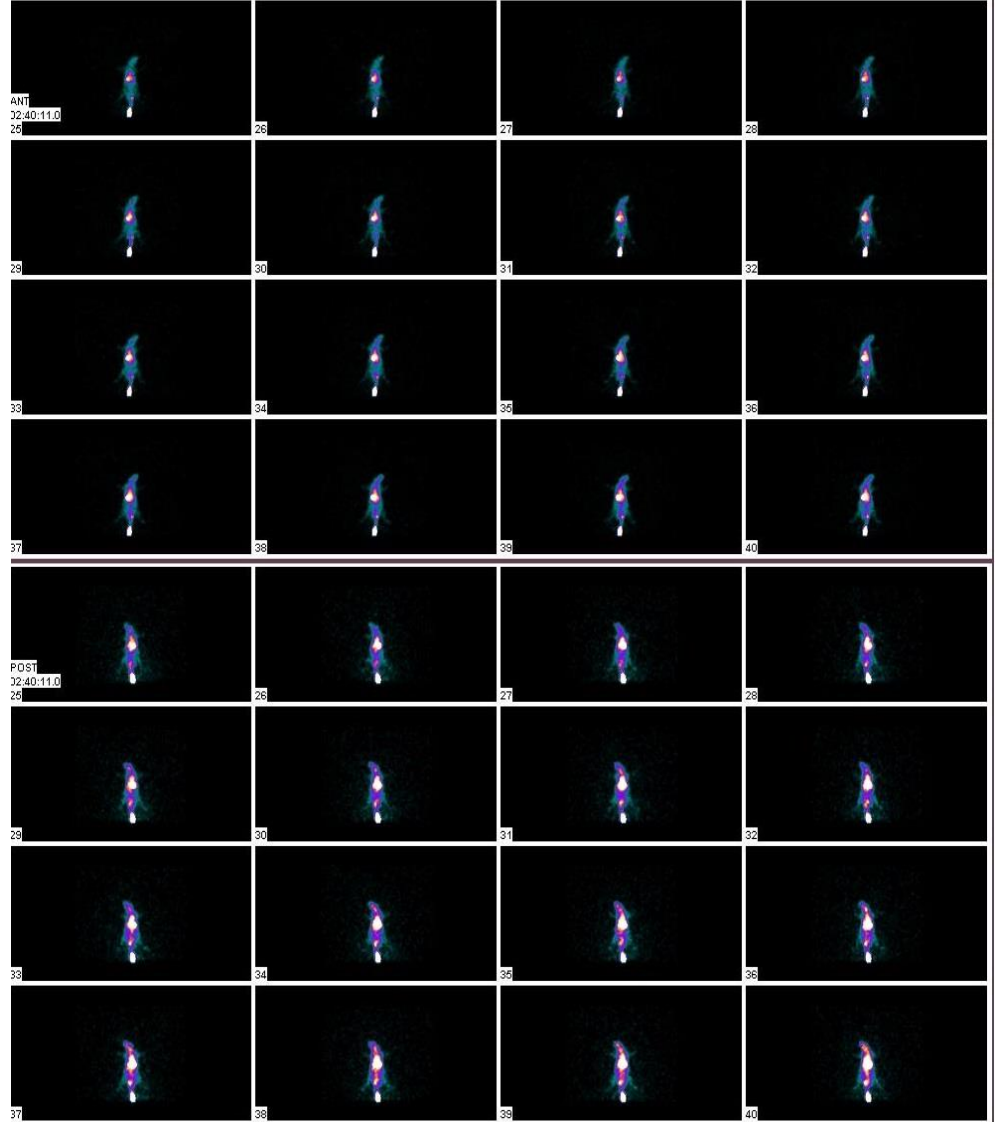
Şekil 4.30' da [18F]FDG-Gly-Gly için böbrek ve mesane dışındaki organlarda belirgin bir tutulum gözlenmemektedir. [18F]FDG-Gly-Gly kompleksinin kandan hızlı temizlendiği ve vücuttan renal yollardan uzaklaştığı anlaşılmaktadır. Sağ böbrek dozu 30. dk en yüksek değerine ulaşmış ( $7,53 \pm 0,85$ ) zamanla 240. dk ya kadar azalma göstermiştir. Sol böbrek dozu 30. dk en yüksek değerine ulaşmış ( $8,73 \pm 0,6$ ) aynı şekilde zaman içerisinde azalma gözlenmiştir. Mesane dozu 90. dk en yüksek değere ulaşmış ( $23,8 \pm 0,74$ ) sonra 240. dk ya kadar zamanla azalmıştır.



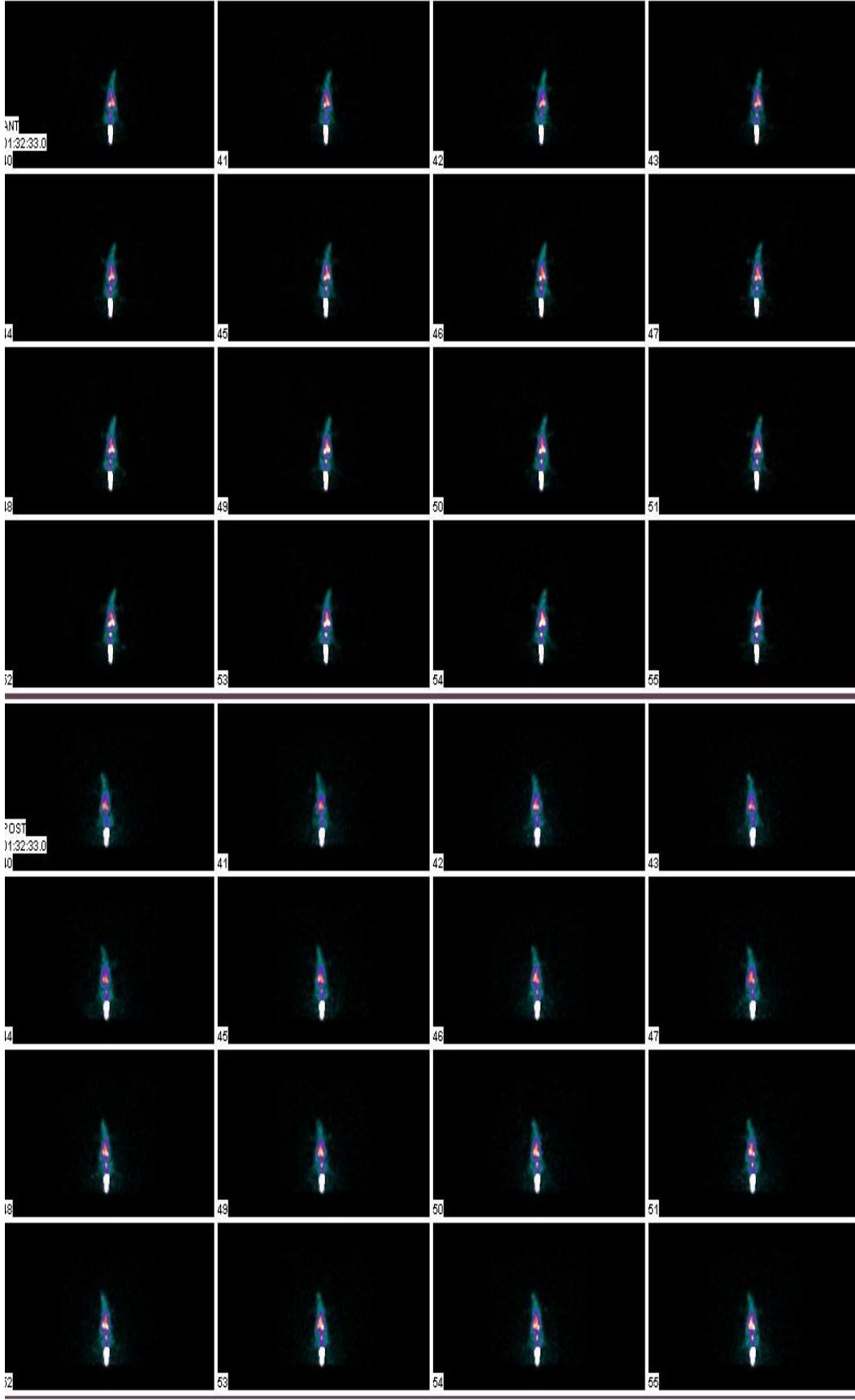
Şekil 4.30 [18F]FDG-Gly-Gly kompleksi için dozun organlara dağılımı

#### 4.5.2 $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)_3\text{-Gly-Gly}$ kompleksine dair SPECT sonuçları

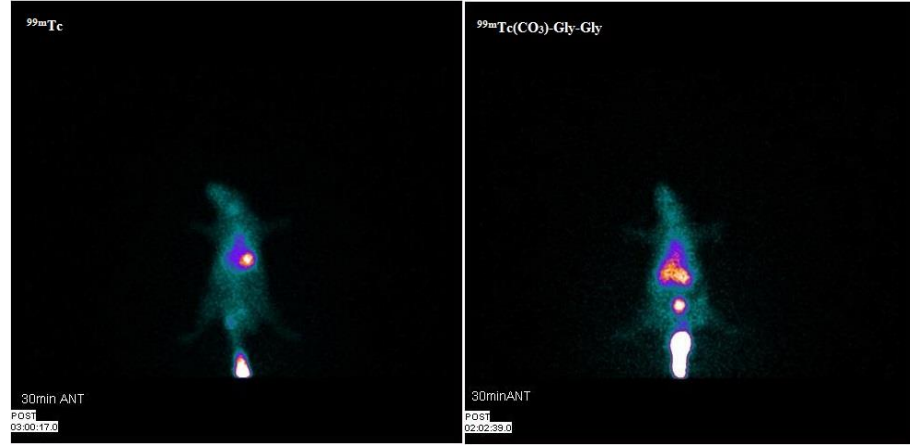
Kullanılan sıçanlardan (200-250 gr) birine  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)_3\text{-Gly-Gly}$  kompleksi verilirken diğerine sadece  $^{99m}\text{Tc}$  perteknetat verilerek ilk 30 dakikada dinamik ve 30., 60., 90., 120., 150., 180. ve 240. dakikalarda statik görüntüleri alındı. Bu görüntüler Şekil 4.31, Şekil 4.32, Şekil 4.33, Şekil 4.34, Şekil 4.35, Şekil 4.36, Şekil 4.37, Şekil 4.38 ve Şekil 4.39' da verilmiştir.



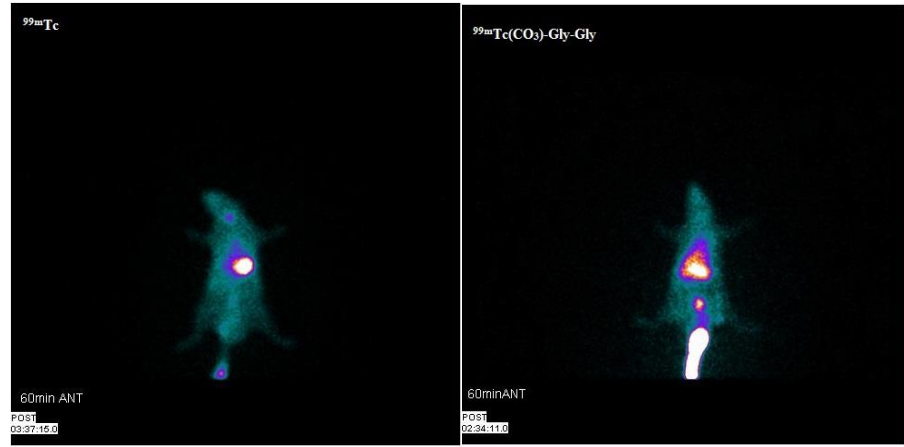
Şekil 4.31  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  için 30dk dinamik görüntüleri



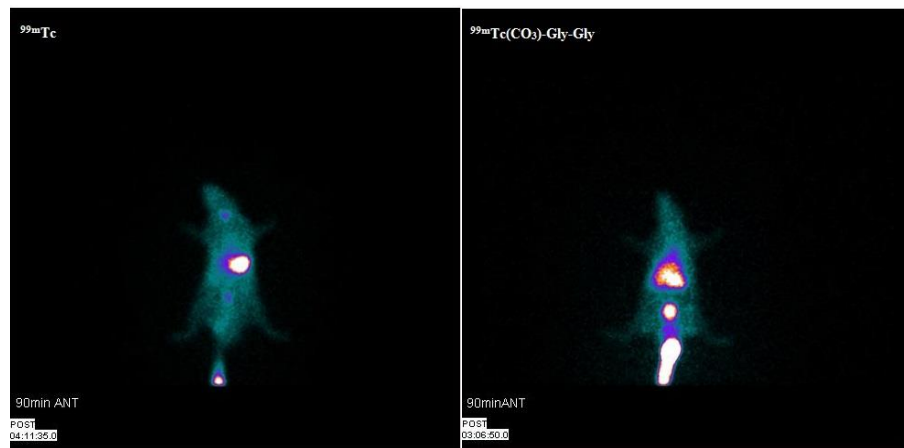
Şekil 4.32  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)\text{-Gly-Gly}$  kompleksi için 30dk dinamik görüntüleri



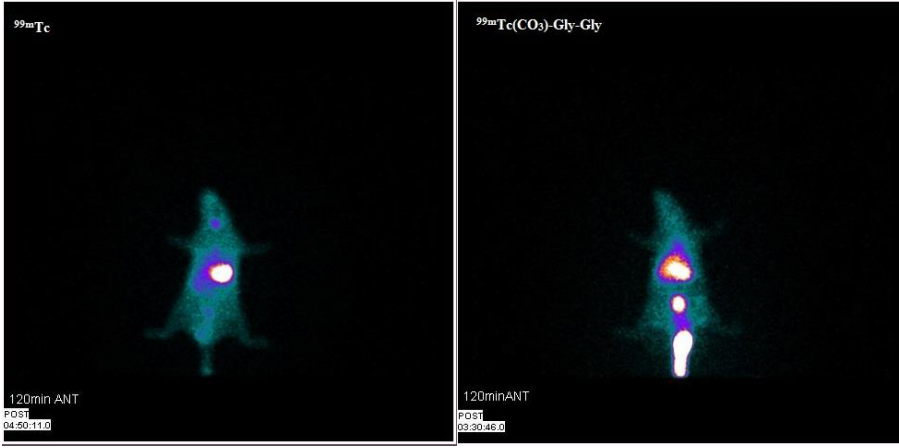
Şekill 4.33  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  ve  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)\text{-Gly-Gly}$  kompleksleri için 30.dk statik görüntüleri



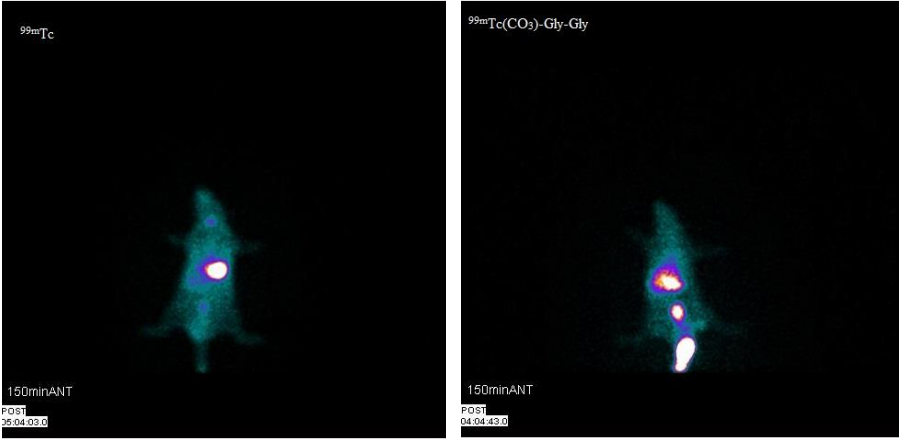
Şekill 4.34  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  ve  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)\text{-Gly-Gly}$  kompleksleri için 60.dk statik görüntüleri



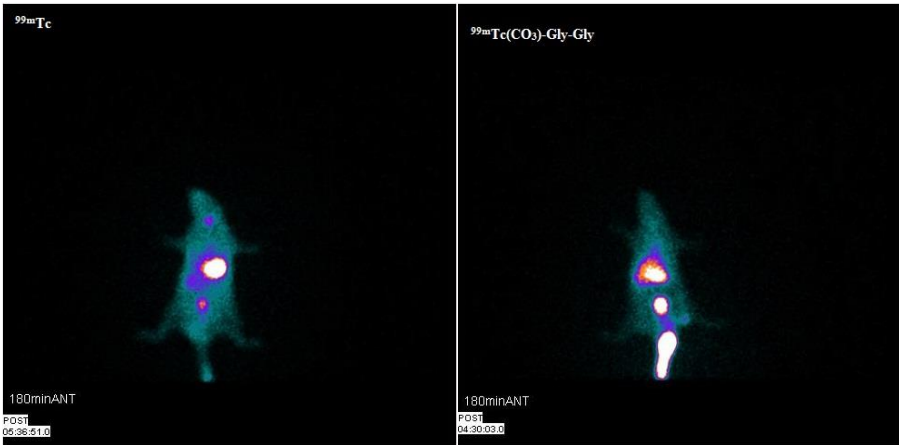
Şekill 4.35  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  ve  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)\text{-Gly-Gly}$  kompleksleri için 90.dk statik görüntüleri



Şekill 4.36  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  ve  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)\text{-Gly-Gly}$  kompleksleri için 120.dk statik görüntüleri

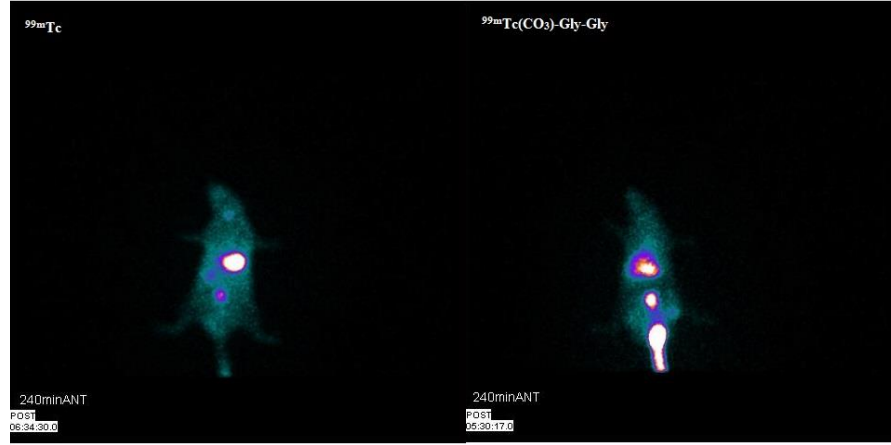


Şekill 4.37  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  ve  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)\text{-Gly-Gly}$  kompleksleri için 150.dk statik görüntüleri

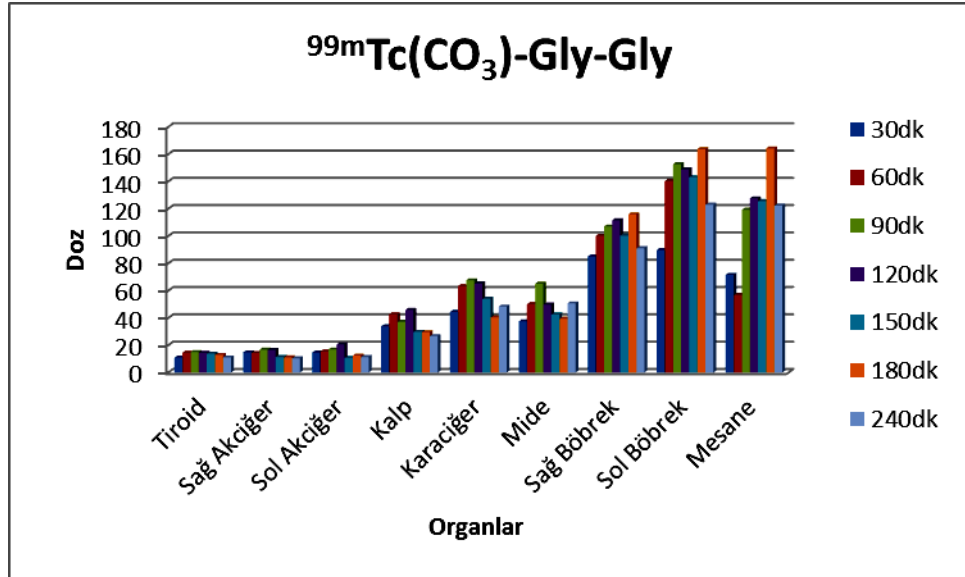


Şekill 4.38  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  ve  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)\text{-Gly-Gly}$  kompleksleri için 180.dk statik görüntüleri





Şekil 4.39  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  ve  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)\text{-Gly-Gly}$  kompleksleri için 240.dk statik görüntüleri



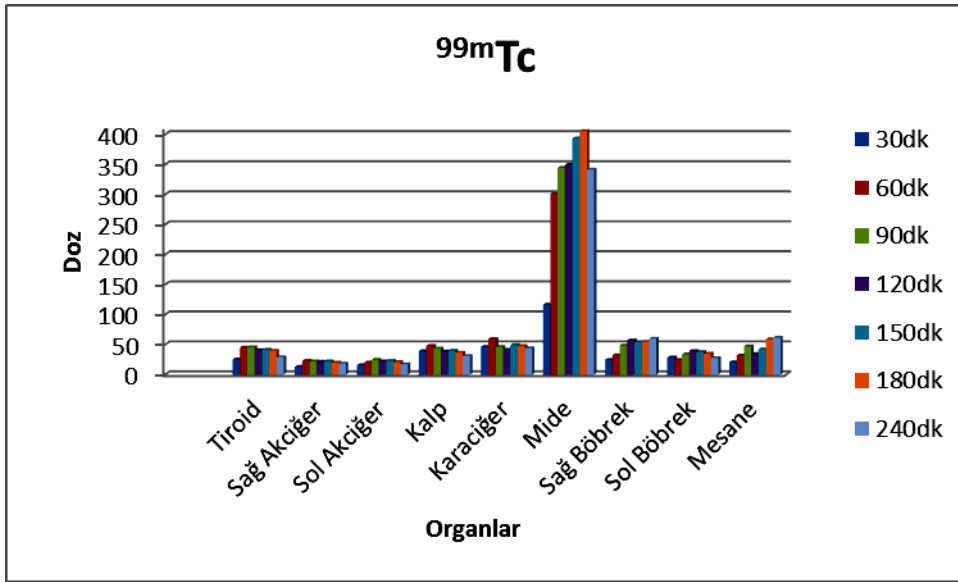
Şekil 4.40  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)\text{-Gly-Gly}$  kompleksi için dozun organlara dağılımı

Şekil 4.31, 4.32, 4.33, 4.34, 4.35, 4.36, 4.37, 4.38, 4.39' da görüldüğü gibi,  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)\text{-Gly-Gly}$  hızlı bir şekilde tüm organlarda tutulum gösterirken  $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$  için beklenildiği gibi yüksek oranda mide tutulumu gözlenmiştir.  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)\text{-Gly-Gly}$  vücutta tutulum süresinin  $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ ' in tutulum süresinden daha uzun olduğu görüldü.

Şekil 4.40' a göre sağ böbrek, sol böbrek ve mesanede en yüksek tutulumlar 180. dk ( $115,93 \pm 0,20$ ;  $163,68 \pm 0,24$  ve  $164,17 \pm 0,22$ ) görülmektedir. Kalpte en yüksek tutulum 120. dk ( $45,95 \pm 0,18$ ), Karaciğer ve mide de ise 90. dk ( $67,50 \pm 0,17$  ve  $65,05 \pm 0,13$ ) görülmektedir.  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)\text{-Gly-Gly}$  vücuttan atılımı mesane-böbrekler yoluyla olmuştur.  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)\text{-Gly-Gly}$  hidrofilik yapıda olması

nedeniyle bu sonuç beklenmektedir ve Tsiapa ve arkadaşlarının elde ettikleri sonuç ile uyum içersindedir.

Tsiapa ve arkadaşlarının sentezlediği c(RGDfK)-(Orn)<sub>3</sub>-[CGG-<sup>99m</sup>Tc] ile yaptıkları görüntüleme çalışmasında enjeksiyon sonrasında 65 dk sürekli görüntüleri alınmıştır. 30. dakikada böbrek tutulumunun (%ID/g 58,44 ± 8,80) yüksek olması ve radyoışaretili peptidin hidrofilik yapı göstermesi nedeniyle vüctan atılımı böbrekler yolu ile olduğu rapor etmişlerdir. Lipofilik yapıya sahip bir başka kompleks olan <sup>99m</sup>Tc-PGC-c(RGDyK)' ın ise 120. dakikada yüksek bağırsak tutulumu (%ID/g 22,16±5,66) ve karaciğer yolu ile vüctan atıldığı görülmüştür (%ID/g 59,39±11,65)(Tsiapa et al., 2013).



Şekil 4.41 Na <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub> için dozun organlara dağılımı

Şekil 4.41' e göre Na <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub> en yüksek tutulumu midede göstermiştir. Mide 180. dk en yüksek tutulumu (405,93±0,24) göstermiştir. Sağ ve sol böbrek 120.dk en yüksek tutulumu (56,71±0,21 ve 39,43±0,29) göstermişlerdir. Mesane en yüksek tutulumunu 240. dk (61,53±0,31) karaciğer ise 60. dk (59,12±0,17) göstermektedir.

#### 4.5.3 <sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>-Gly-Gly kompleksinin biyodağılım çalışması sonuçları

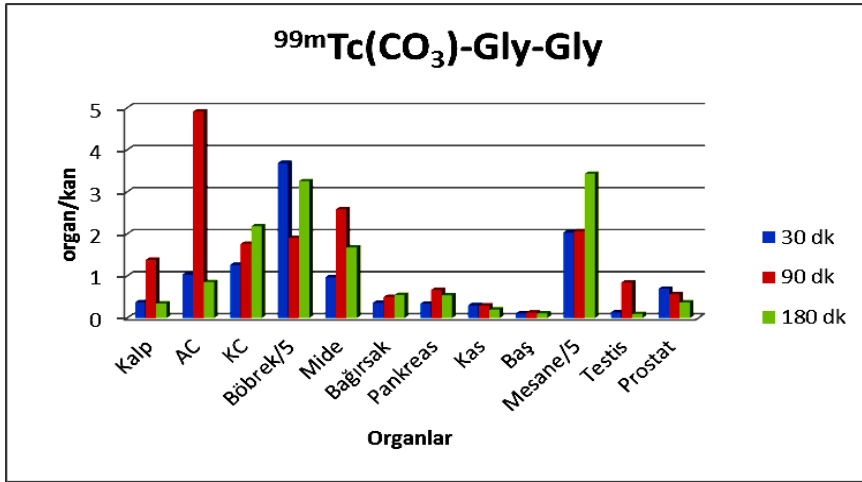
Bu çalışmada, <sup>99m</sup>Tc(CO<sub>3</sub>)-Gly-Gly kompleksinin biyolojik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Biyodağılım çalışmaları dokuz adet Wistar Albino

erkek sıçanı kullanılarak gerçekleştirildi. *In vivo* çalışmaların sonuçları, Çizelge 4.4' de verilmiştir. Biyodağılım sonuçlarına göre, radyoişaretli bileşiğin ilk 30 dakikada kan yolu ile tüm vücuda dağıldığı görülmüştür. Sonraki 90 dakika içinde karaciğer, böbrek mide, pankreas ve prostat tutulumlarında düşüş görülürken bağırsak ve mesane tutulumlarında yüksek artış izlenmektedir.

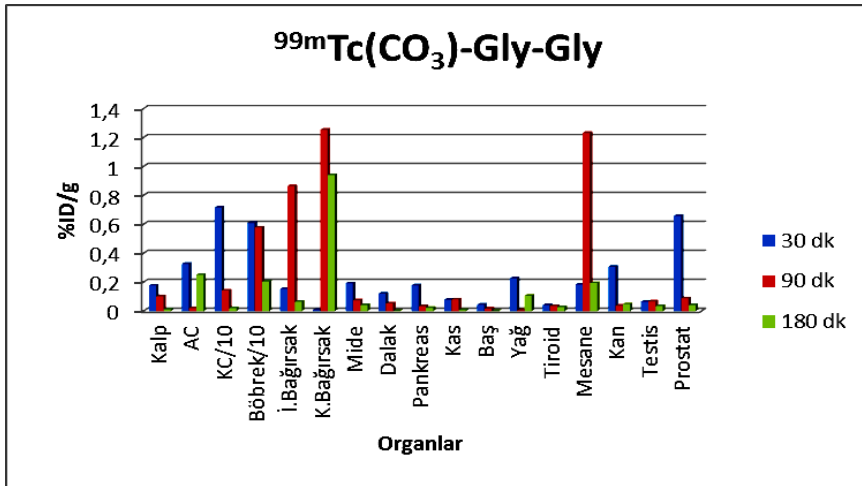
Çizelge 4.4  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)\text{-Gly-Gly}$  kompleksi için biyodağılım sonuçları

ID/g%	30 dk	90 dk	180 dk
Kalp	0,09±0,03	0,12±0,06	0,07±0,04
AC	0,24±0,03	0,27±0,11	0,15±0,07
KC/10	0,3±0,06	0,34±0,02	0,4±0,17
Böbrek/10	0,44±0,05	0,13±0,06	0,21±0,03
İ.Bağırsak	0,1±0,05	0,05±0,002	0,11±0,04
K.Bağırsak	0,05±0,02	0,05±0,01	0,1±0,06
Mide	0,19±0,01	0,12±0,06	0,21±0,05
Dalak	0,09±0,01	0,12±0,08	0,1±0,02
Pankreas	0,09±0,02	0,03±0,01	0,1±0,05
Kas	0,08±0,02	0,05±0,04	0,04±0,02
Baş	0,03±0,01	0,01±0,001	0,02±0,01
Yağ	0,06±0,006	0,003±0,001	0,02±0,01
Tiroid	0,02±0,006	0,004±0,005	0,01±0,002
Mesane	0,29±0,13	0,1±0,02	0,2±0,12
Kan	0,25±0,07	0,07±0,01	0,2±0,1
Testis	0,03±0,07	0,06±0,008	0,02±0,009
Prostat	0,16±0,09	0,04±0,008	0,09±0,02

Çizelge 4.4 ve Şekil 4.42' ye göre  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)\text{-Gly-Gly}$  kompleksinin vücuttan hem renal hem de hepatobiliar yol ile atıldığı gözlenmektedir.



Şekil 4.42  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)\text{-Gly-Gly}$  kompleksi için organ/kan oranı



Şekil 4.43  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)\text{-Gly-Gly}$  kompleksi için %ID/g değerleri

Şekil 4.43' e göre  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO}_3)\text{-Gly-Gly}$  kompleksinin kanda ilk 30. dk en yüksek tutulum değerine ulaşmıştır (%ID/g  $0,31\pm 0,02$ ). Aynı şekilde böbreklerde 30. dk en yüksek tutulumu (%ID/g  $6,09\pm 0,03$ ), mesane 90. dk en yüksek tutulumu (%ID/g  $1,23\pm 0,21$ ) göstermiştir.

Tsiapa ve arkadaşlarının sentezlediği  $c(\text{RGDFK})\text{-(Orn)}_3\text{-[CGG-}^{99m}\text{Tc]}$  ile yaptıkları biyodağılım çalışmasında enjeksiyon sonrasında 5., 30. ve 60. dakikalarda sayım alınmıştır. 60. dakikada hızlı kan temizlenmesi ve en düşük tutulum midede gözlenmiştir (%ID/g  $0,28\pm 0,07$ ). 60. dakikada karaciğer

tutulunun en düşük (%ID/g  $0,77 \pm 1,68$ ) olması radyoşaretli peptidin karaciğer yolu ile atıldığını göstermemektedir. 60. dakikada böbrek tutulumlarının yüksek olması (%ID/g  $77,54 \pm 6,68$ ) vücuttan atılımın böbrekler yolu ile yapıldığını göstermektedir (Tsiapa et al., 2013).

Fonge ve arkadaşlarının elde ettikleri lipofilik radyoşaretli peptidler ile yaptıkları biyodağılım sonuçlarına göre; radyoşaretli peptidler karaciğer yolu ile vücuttan atılmaktadır. 60. dakikada karaciğer tutulumu oldukça yüksektir. (%ID/g 38,8) Akciğerlerde tutulum yüksek olmaktadır. 60. dakikadan sonra akciğer tutulumu azalmaktadır. Böbrek tutulumları düşük olmuştur. İhmal edilebilir mide tutulumu radyoşaretli bileşiklerin *in vivo* stabilitesi olarak bildirilmiştir (Fonge et al., 2009).

Alves ve arkadaşlarının [ $^{99m}\text{Tc-L}^6\text{-(GGG)-Bombesin(7-14)NH}_2$ ] radyoşaretli kompleksi ile yaptıkları biyodağılım çalışmalarında enjeksiyondan sonra 1., 4. ve 24. saat sonrasında ölçümler alınmıştır. Vücuttan temizlenme böbrek yoluyla olmuştur. Böbrekler, karaciğer ve bağırsaklarda yüksek tutulum gözlemlenmiştir. Hidrofilik yapıda olan radyoşaretli bileşiklerin böbrekler yolu ile temizlendiği belirtilmiştir (Alves et al., 2005).

#### 4.5.4 İstatistik analiz sonuçları

Biyodağılım sonucu elde edilen verilerin istatistiksel analizleri (Univariate Variance Analysis) SPSS 16 programı kullanılarak yapılmıştır.  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$  için organlar arasında Pearson korelasyonu uygulanmıştır. Pearson korelasyonuna göre işaretli bileşiğin tutulumu ile organlar arasında bir ilişki tanımlanmıştır. Anlamlılık düzeyi (P) değeri ile ifade edilecek olursa  $P < 0.05$  değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir. Bu yöntemle elde edilen sonuçlar bazı organlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa işaret etmiştir. Buna göre;

- ✓ Kalp ile Akciğer, Kas
- ✓ Akciğer ile dalak, testis
- ✓ Karaciğer ile Mide, dalak, ince bağırsak
- ✓ Böbrek ile Yağ, tiroid

- ✓ İnce bağırsak ile mide, karaciğer
- ✓ Mide ile pankreas, ince bağırsak, karaciğer
- ✓ Dalak ile akciğer, karaciğer
- ✓ Pankreas ile mide
- ✓ Testis ile kan

istatistiksel anlamlı bir farklılık söz konusudur. Organ - süre ilişkisine bakılarak yapılan değerlendirmeye göre ise böbrekte zamanla anlamlı bir tutulum gözlenmiştir  $P < 0.05$  ( $R^2 = 0.913$ ).

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada öncelikle glisilglisininin [ $^{18}\text{F}$ ]FDG ile çok basamaklı işaretlenmesinde yol gösterici olarak inaktif FDG sentezi sağlanmıştır ve siklotron ürünü [ $^{18}\text{F}$ ]FDG ile kalite kontrolü yapılarak sonuçları karşılaştırılmıştır.

Öncelikle sentezlenen Boc-AOA süksinimid ester Gly-Gly için LC/MS-MS analizi yapılmış ve sentezin gerçekleştiği görülmüştür.

Glisilglisininin FDG ile bağlanmasında arabağlayıcı grup olarak Boc-Aminooksi succinimide ester grubu kullanıldı. Çok basamaklı bu sentezin ardından elde edilen glisilglisin bağlı FDG için kalite kontrolleri HPLC ile sağlandı. HPLC analizi sonucunda 278 nm dalga boyunda FDG-Gly-Gly kompleksinin % 81,1 verim ile sentezlendiği elde edilen kromatoğramdan anlaşıldı.

Aynı şekilde glisilglisininin [ $^{18}\text{F}$ ]FDG ile bağlanmasında da arabağlayıcı grup olarak Boc-Aminooksi succinimide ester grubu kullanıldı. Çok basamaklı bu sentezin ardından elde edilen glisilglisin bağlı [ $^{18}\text{F}$ ]FDG için kalite kontrolleri HPLRC ve TLRC ile sağlandı. Buna göre, FDG-Gly-Gly kompleksi TLRC ile %  $98,65 \pm 0,35$  verim ( $n=6$ ). HPLRC ile % 91,25 verim alındı. Bununla birlikte glisilglisininin  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{I})$  trikarbonil koru ile doğrudan işaretlenmesi sağlandı. Elde edilen glisilglisin bağlı  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{I})$  trikarbonil korunun kalite kontrolleri TLRC ve HPLRC ile gerçekleştirildi. TLRC sonucuna göre [ $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3$ ] $^+$  korun  $R_f$  değeri 0,03 ve radyoişaretleme verimi %  $99,8 \pm 0,2$  olarak bulunurken  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3$ -Gly-Gly için  $R_f$  değeri 0,65 verimi ise %  $94,69 \pm 2$  olarak bulundu ( $n=10$ ). Aynı yapılar için HPLRC ile yapılan çalışmalarda da yüksek verim elde edildiği görülmüştür.

Yapılan lipofilite çalışmalarının sonucu olarak glisilglisininin  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{I})$  trikarbonil kor ile işaretlenmesi ile  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3$ -Gly-Gly kompleksinin lipofilitesinin glisilglisininin teorik lipofilitesine göre azaldığı gözlenmiştir.

Radyoişaretleli her iki yapı için gerçekleştirilen görüntüleme çalışmalarında benzer sonuçlar alınmıştır.

Yüksek verim ile elde edilen [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Gly-Gly kompleksi için PET görüntüleme çalışmaları böbrek ve mesane dışındaki organlarda belirgin bir

tutulum gözlenmemektedir. [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Gly-Gly kkompleksinin kandan hızlı temizlendiği ve vücuttan renal yollardan uzaklaştığı anlaşılmaktadır.

$^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO}_3)\text{-Gly-Gly}$  kompleksi böbrek ve mesanede yüksek tutulum gösterirken vücuttan atılımı da mesane-böbrekler yoluyla olmuştur.

$^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$  için biyodağılım çalışmaları sonuçlarına göre,  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$  kompleksinin vücuttan hem renal hem de hepatobiliyer yol ile atıldığı gözlenmektedir.  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-Gly-Gly}$  için görüntüleme sonuçları biyodağılım sonuçları ile uyum göstermektedir.

Sonuç olarak glisilglisinbağı [ $^{18}\text{F}$ ]FDG ve glisilglisin bağı  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3^+$  koru sentezlenmiş sonuçları *in-vivo* olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen yeni radyoişaretli bileşiklerin görüntüleme ajanı olarak literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.



## KAYNAKLAR DİZİNİ

- Alberto, R., Schibli, R., Egli, A., Abram, U., Kaden, Th.A., and Schubiger, P.A.**, 1998, A novel organometallic aqua complex of technetium for the labeling of biomolecules: Synthesis of  $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$  from  $[\text{}^{99\text{m}}\text{TcO}_4]^-$  in aqueous solution and its reaction with a bifunctional ligand, *J. Am. Chem. Soc.*, 120: 7987 -7988pp.
- Alves, S., Paulo, A., Correia, J.D.G., Gano, L., Smith, C.J., Hoffman, T.J. and Santos, I.**, 2005, Pyrazolyl Derivatives as Bifunctional Chelators for Labeling Tumor-Seeking Peptides with the fac- $[\text{M}(\text{CO})_3]^+$  Moiety (M= $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , Re): Synthesis, Characterization, and Biological Behavior, *Bioconjugate Chem.*, 16: 438-449p.
- Balamani, J. and Sekar, M.**, 2011, Synthesis and Analgesic activity studies of Simple new Aspirin Enkephalin analogues, *Hygeia.J.D.Med*, 3: 1-15p.
- Barber, T.A., Harbers, G.M., Park, S., Gilbert M. and Healy, K.E.**, 2005, Ligand density characterization of peptide-modified biomaterials, *Biomaterials*, 26: 6897–6905p.
- Barros, A.L.B., Cardoso, V.N., Mota, L.D.G., Leite, E.A., Oliveira, M.C. and Alves, R.J.**, 2010, A novel D-glucose derivative radiolabeled with technetium-99m: Synthesis, biodistribution studies and scintigraphic images in an experimental model of Ehrlich tumor, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20: 2478–2480pp.
- Blower, P.**, 2006, Towards molecular imaging and treatment of disease with radionuclides: the role of inorganic chemistry, *Dalton Trans.*, 1705–1711p.
- Chen, K. and Conti, P.S.**, 2010, Target-specific delivery of peptide-based probes for PET imaging, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62: 1005–1022pp.
- Decristoforo, C.**, 2009, Technetium-99m Labelled Regulatory Peptide for Tumour Imaging, Clinical Department of Nuclear Medicine, Medical University Innsbruck, Austria, IAEA Radioisotopes and Radiopharmaceuticals Series, 2077(1): 64-62pp.
- Dekker, M., Jonsson, J.A., Ed.**, 1987, *Chromatographic Theory and Basic Principles*, New York
- Demir, M.**, 1999, Gama kameralardaki yeni teknik gelişmeler ve gama kamera seçiminin değerlendirilmesi, *Tur. J. Nucl. Med.*, 8 (2): 83-95s.
- Domenico, G.D. and Zavattini, G.**, 2009, Advances in SPECT Instrumentation (Including Small Animal Scanners), Department of Physics, University of Ferrara, Ferrara, Italy
- Emekdaş G., Güngör S., Gün H., ve Kocabeyoğlu Ö.**, 1990, Kromatografik Yöntemler, *Gaziantep Üni. Tıp Fakültesi Dergisi*, 1: 108-118ss.
- Fawdry R.M.**, 2007, Radiolysis of 2- $[\text{}^{18}\text{F}]$ fluoro-2-deoxy-D-glucose (FDG) and the role of reductant stabilisers, *Applied Radiation and Isotopes*, 65: 1193–1201p.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Fonge, H., Jin, L., Cleynhens, J., Bormans, G. and Verbruggen, A.,** 2010,  $^{99m}\text{Tc}$ -tricarbonyl labeled agents for cell labeling: Development, biodistribution in normal mice and preliminary *in vitro* evaluation, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 18: 396–402pp.
- Garcia-Garayoa, E., Blauenstein, P., Bruehlmeier, M., Blanc, A., Iterbeke, K., Contrth, P., Tourwe, D. and Schubiger, A.,** 2002, Preclinical Evaluation of a New Stabilized Neurotensin(8–13) Pseudopeptide Radiolabeled with  $^{99m}\text{Tc}$ , *The Journal of Nuclear Medicine*, 43: 374-383pp.
- Gedik, B., Teksöz, S., İçhedef, Ç., Kilçar, A.Y., Medine, E.İ. and Uçar, E.,** 2013, Thymidine kinase enzyme selective imaging radiopharmaceutical:  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ -Ganciclovir, *Radiochim. Acta*, 101: 123-128pp.
- Hamacher, K., Coenen, H.H. and Stocklin, G.,** 1986, Efficient Stereospecific Synthesis of No-Carrier-Added 2- $^{18}\text{F}$ -Fluoro-2-Deoxy D-Glucose Using Aminopolyether Supported Nucleophilic Substitution, *J Nucl. Med.* 27: 235-238pp.
- Hamoudeh, M., Kamleh, M.A., Diab, R. and Fessi, H.,** 2008, Radionuclides delivery systems for nuclear imaging and radiotherapy of cancer, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60: 1329–1346pp.
- Hnatowich D.J., Chang F. and Qu T., M.,** 1999, Technetium-99m labeled peptides an investigation of multiple HPLC peaks, *Applied Radiation and Isotopes* 50: 911-921p.
- Hultsch, C., Berndt M., Bergmann R. and Wuest F.,** 2007, Radiolabeling of multimeric neurotensin (8–13) analogs with the short-lived positron emitter fluorine-18, *Applied Radiation and Isotopes*, 65: 818–826pp.
- İçhedef, Ç.,** 2010, Guanin ve türevlerinin  $\text{M}(\text{CO})_3^+$  (M=Tc ve Re) korları ile işaretli manyetik özellikli nanoparçacıklarının oluşturulması ve biyolojik aktivitelerinin incelenmesi, *Doktora Tezi*, E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, 103s.
- Junnotula, S.,** 2006, Rhenium Complexes With O, N, S Ligands, MSc Thesis, University of Missouri-Columbia, 83p (unpublished).
- Jun Oh, S., Ryu, J.S., Yoon, E.J., Bae, M.S., Choi, S.J., Park, K.B. and Moon, D.H.,** 2006,  $^{99m}\text{Tc}$ -labeled 1-thio-beta-D-glucose as a new tumor-seeking agent: Synthesis and tumor cell uptake assay, *Applied Radiation and Isotopes*, 64: 207–215p.
- Kharisow, B.I., Mendez-Rojas, M.A.,** 2001, State of the art coordination chemistry of radioactive elements, *Russ. Chem.*, 70: 865p.
- Koivula T., Laine I, Lipponen T., Perhola O. and Ka"ma"ra E.L.J.,** 2010, Assessment of labelled products with different radioanalytical methods: study on  $^{18}\text{F}$ -fluorination reaction of 4- $^{18}\text{F}$ fluoro- N-[2-[1-(2-methoxyphenyl)-1-piperazinyl]ethyl-N-2-pyridinyl]benzamide ( $\text{p}^{18}\text{F}$ MPPF), *Radioanal Nucl Chem*, 286: 841–846pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)**

- Liu, Y., Oliveria, B.L., Correia, J.D.G., Santos, I.C., Santos, I., Spingler and Alberto, R.**, 2010, Syntheses of bifunctional 2,3-diamino propionic acid-based chelators as small and strong tripod ligands for the labelling of biomolecules with  $^{99m}\text{Tc}$ , *Org. Biomol. Chem.*, 8: 2829–2839p.
- Ma Y., Huang B.X., Channing M.A. and Eckelman W.C.**, 2002, Quantification of Kryptofix 2.2.2 in 2- $^{18}\text{F}$ ]FDG and other radiopharmaceuticals by LC/MS/MS, *Nuclear Medicine and Biology*, 29: 125–129p.
- Maschauer, S. and Prante, O.**, 2009, A series of 2-O-trifluoromethylsulfonyl-D-mannopyranosides as precursors for concomitant  $^{18}\text{F}$ -labeling and glycosylation by click chemistry, *Carbohydrate Research*, 344: 753–761p.
- Mezo, G., Szabo, I., Kertesz, I., Hegedus, C.R. and Manead, M.**, 2011, Efficient synthesis of an (aminoxy) acetylated-somatostatin derivative using (aminoxy)acetic acid as a 'carbonyl capture' reagent, *Journal of Peptide Science*, 17: 39-46pp.
- Minamimoto R., Hamabe Y., Miyaoka T., Theeraladanon C., Oka T., Matsui T. and Inoue T.**, 2010, Correlation of PET and AMS analyses for early kinetics of 2-fluoro-2-deoxyglucose (FDG) a *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*, 268: 1321–1323p.
- Namavari, M., Cheng, Z., Zhang, R. De, A., Levi, J., Hoerner, J.K., Yaghoubi, S.S., Syud, F.A. and Gambhir, S.S.**, 2009, A Novel Method for Direct site-specific Radiolabeling of Peptides Using  $^{18}\text{F}$ ]FDG, *Bioconjug Chem.* 20(3): 432–436pp.
- N'Dongo, H.W.P., Raposinho, P.D., Fernandes, C., Santos, I., Can, D., Schmutz, P., Spingler, B. and Alberto, R.**, 2010, Preparation and biological evaluation of cyclopentadienyl-based  $^{99m}\text{Tc}$ -complexes [(Cp-R) $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ ] mimicking benzamides for malignant melanoma targeting, *Nuclear Medicine and Biology*, 37: 255–264pp.
- Olberg D.E., Cuthbertson A., Solbakken M., Arukwe J.M., Qu H., Kristian A., Bruheim S., and Hjelstuen O.K.**, 2010, Radiosynthesis and Biodistribution of a Prosthetic Group ( $^{18}\text{F}$ -FENMA) Conjugated to Cyclic RGD Peptides, *Bioconjugate Chem.* 21: 2297–2304pp.
- OOya, T., Arizono, K. and Yui, N.**, 2000, Synthesis and Characterization of an Oligopeptide-terminated Polyrotaxane as a Drug Carrier, *Polym. Adv. Technol.*, 11: 642-651p.
- Petrig J., Schibli R., Dumas C., Alberto R., and Schubiger P.A.**, 2001, Derivatization of glucose and 2-deoxyglucose for transition metal complexation: Substitution reactions with organometallic  $^{99m}\text{Tc}$  and Re precursors and fundamental NMR investigations., *Chem.-Eur. J.*, 7: 1868-1873p.
- Poethko, T., Schottelius, M., Thumshirn, G., Hersel, U., Herz, M., Henriksen, G., Kessler, H., Schwaiger, M. and Wester, H.J.**, 2004, Two-Step Methodology for High-Yield Routine Radiohalogenation of Peptides:  $^{18}\text{F}$ -Labeled RGD and Octreotide Analogs, *J Nucl Med*, 45:892–902pp.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Saha, G.B.**, 1996, The Chemistry of Tc-99m-Labeled Radiopharmaceuticals, Cleveland, Ohio.
- Schibli, R.**, 2003, Synthetic and structural considerations of organometallic compounds of the elements technetium and rhenium for use in radiopharmacy, Department of Chemistry and Applied Biosciences ETH, Zürich.
- Schibli, R. and Schubiger, P.A.**, 2002, Current use and future potential of organometallic radiopharmaceuticals, European Journal of Nuclear Medicine, 29(11): 1529-1542pp.
- Schibli, R., Dumas, C., Petrig, J., Spadola, L., Scapozza, L., Garcia-Garayoa, E. and Schubiger, P.A.**, 2005, Synthesis and *in vitro* Characterization of Organometallic Rhenium and Technetium Glucose Complexes against Glut 1 and Hexokinase, Bioconjugate Chem., 16: 105-112pp.
- Schottelius, M. and Wester, H.J.**, 2009, Molecular imaging targeting peptide receptors, Methods 48:161–177p.
- Şenocak, K.**, 2010,  $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3^+$  Korum İle İşaretli Bisfosfonat Bileşiminin Radyofarmasötik Potansiyelinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, 42s.
- Simpson, M., Trembleau, L., Cheyne, R.W. and Smith, T.A.D.**, 2011, One-pot production of  $^{18}\text{F}$ -biotin by conjugation with  $^{18}\text{F}$ -FDG for pre-targeted imaging: Synthesis and radio-labelling of a PEGylated precursor, Applied Radiation and Isotopes, 69: 418–422pp.
- Tsiapa, I., Loudos, G., Varvarigou, A., Fragogeorgi, E., Psimadas, D., Tsotakos, T., Xanthopoulos, S., Mihailidis, D., Bouziotis, P., Nikiforidis, G.C., and Kagadis, G.C.**, 2013, Biological evaluation of an ornithine-modified  $^{99m}\text{Tc}$ -labeled RGD peptide as an angiogenesis imaging agent, Nuclear Medicine and Biology 40; 262–272pp.
- Toksöz, F., Ünak, P., Medine, E.İ., Sakarya, S., Bekiş, R., Ünak, G. and Timur, S.**, 2013,  $^{18}\text{F}$ FDG Conjugated Magnetic Nanoparticle Probes: Synthesis and *In Vitro* Investigation on MCF7 Breast Cancer Cells, Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 2953: 1789–1796pp.
- Tolmachev, V. and Stone-Elander, S.**, 2010, Radiolabelled proteins for positron emission tomography: Pros and cons of labelling methods, Biochimica et Biophysica Acta, 1800; 487–510pp.
- Ünak P.**, 2003, Ulusal Radyofarmasi Kursu Ders Notları Bölüm I, Radyonüklidlerin Üretimi.
- Weiner R.E. and Thakur M.L.**, 2002, Radiolabeled peptides in the diagnosis and therapy of oncological diseases, Applied Radiation and Isotopes, 57: 749–763p.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)**

- Welling, M.M. and Alberto, R.**, 2010, Performance of a  $^{99m}\text{Tc}$ -labelled 1-thio-beta-D-glucose 2,3,4,6-tetra-acetate analogue in the detection of infections and tumours in mice: a comparison with [ $^{18}\text{F}$ ]FDG, *Nuclear Medicine Communications*, 31: 239–248pp.
- Wuest, F., Berndt, M., Bergmann, R., Van den Hoff, J. and Pietzsch, J.**, 2008, Synthesis and Application of [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Maleimidehexyloxime ([ $^{18}\text{F}$ ]FDG-MHO): A [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Based Prosthetic Group for the Chemoselective  $^{18}\text{F}$ -Labeling of Peptides and Proteins, *Bioconjugate Chem*, 19: 1202–1210pp.
- Wuest, F., Köhler, L., Berndt, M. and Pietzsch, J.**, 2009, Systematic comparison of two novel, thiol-reactive prosthetic groups for  $^{18}\text{F}$  labeling of peptides and proteins with the acylation agent succinimidyl-4-[ $^{18}\text{F}$ ]fluorobenzoate ([ $^{18}\text{F}$ ]SFB), *Amino Acids*, 36:283–295p.
- Wuest, F., Hultsch, C., Berndt, M. and Bergmann, R.**, 2009, Direct labelling of peptides with 2-[ $^{18}\text{F}$ ]fluoro-2-deoxy-D-glucose ([ $^{18}\text{F}$ ]FDG), *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 19: 5426–5428pp.
- Yang, M., Gao, H., Zhou, Y., Ma, Y., Quan, Q., Lang, L., Chen, K., Niu, G., Yan, Y. and Chen, X.**, 2011,  $^{18}\text{F}$ -Labeled GRPR Agonists and Antagonists: A Comparative Study in Prostate Cancer Imaging, *Theranostics*, 1: 220-229p.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ahmet Murat ŞENİŞİK

Doğumyeri : İzmir

Doğum Yılı : 29.08.1979

### Öğrenim Durumu:

Lisans 1996-2000 Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Fizik

Yüksek Lisans 2000-2003 Dokuz Eylül Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,  
Fizik Bölümü

Doktora 2009- Ege Üniversitesi Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer  
Uygulamalar Anabilim Dalı

### Mesleki Durumu:

2003- Şifa Üniversitesi Bornova Sağlık ve Uygulama Hastanesi, Radyasyon  
Onkolojisi Anabilim Dalı, Radyoterapi Fizikçisi, Bornova, İzmir