

**KURKUMİN YÜKLÜ KATI LİPİT
NANOPARTİKÜLLERİN HAZIRLANMASI
VE ^{99m}Tc İLE İŞARETLENEREK TAVŞANLARDA
İN VİVO OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

Ayşe YENİLMEZ

Yüksek Lisans Tezi

Nanobilim ve Nanomühendislik Anabilim Dalı

Nanobiyoteknoloji Bilim Dalı

Yrd. Doç. Dr. Hayrettin EROĞLU

Yrd. Doç. Dr. Arif Kürşad AYAN

2015

Her hakkı saklıdır

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEKLİSANS TEZİ

KURKUMİN YÜKLÜ KATI LİPİT NANOPARTİKÜLLERİN
HAZIRLANMASI VE ^{99m}Tc İLE İŞARETLENEREK
TAVŞANLARDA İN VİVO OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Ayşe YENİLMEZ

NANOBİLİM ve NANOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI
Nanobiyoteknoloji Bilim Dalı

ERZURUM
2015

Her Hakkı Saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

**KURKUMİN YÜKLÜ KATI LİPİT NANOPARTİKÜLLERİN HAZIRLANMASI
VE ^{99m}Tc İLE İŞARETLENEREK TAVŞANLARDA İN VİVO OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Yrd. Doç. Dr. Hayrettin EROĞLU danışmanlığında, Yrd. Doç. Dr. Arif Kürşad AYAN ortak danışmanlığında, Ayşe YENİLMEZ tarafından hazırlanan bu çalışma 14/07/2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Nanobilim ve Nanomühendislik Anabilim Dalı – Nanobiyoteknoloji Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği/oy çokluğu (.../...)** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Nurban KISHALI

İmza :

Üye : Prof. Dr. Akgün ALSARAN

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Erbil KAVCI

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Arif Kürşad AYAN

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Hayrettin EROĞLU

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 23/07/2015 tarih ve 29/1007 nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ertan YILDIRIM
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KURKUMİN YÜKLÜ KATI LİPİT NANOPARTİKÜLLERİN HAZIRLANMASI VE ^{99m}Tc İLE İŞARETLENEREK TAVŞANLARDA İN VİVO OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Ayşe YENİLMEZ

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Nanobilim ve Nanomühendislik Anabilim Dalı
Nanobiyoteknoloji Bilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Hayrettin EROĞLU
Ortak Danışman: Yrd. Doç. Dr. Arif Kürşad AYAN

Nükleer tıpta görüntü elde etmenin en önemli ve vazgeçilmez basamağı olan radyofarmasötüğün hedef organa bağlanması, görüntü netliği açısından tartışılmaz bir öneme sahiptir. Son yıllarda; görüntü netliğinin artırılması, kolay ve ucuz üretilmesi, zararlı etkenlerin en aza indirgenmesi gibi daha birçok nedenlerden dolayı yeni radyofarmasötiklerin araştırılmasına önem verilmiştir. Bu düşünceler ışığında;

Nükleer tıbbın görüntüleme kullanımına sunmak amacıyla başlatılan bu çalışmanın ilk aşamasında, kurkumin yüklü katı lipit nanopartikül (C-KLN) mikroemülsiyon ve ultrasonikasyon yöntemiyle hazırlanmıştır. Yapılan LD (lazer kırınımı) analizine göre bu partiküllerin nano boyutta olduğu, XRD (X ışını kırınımı) ve FT-IR (kızılötesi spektroskopisi) analizine göre kurkuminin katı lipit nanopartiküllere yüklendiği ve enkapsülasyondan sonra amorf yapıda olduğu, SEM ve TEM görüntülerine göre küresel ve nanoboyutta olduğu, TGA analizine göre ise kurkuminin sıcaklığa karşı stabil olduğu sonucuna varılmıştır. Çalışmanın ikinci aşamasında, C-KLN'ler ^{99m}Tc ile işaretlenmiş ve sintigrafik yöntemlerle tavşanlar üzerinde in vivo çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Elde edilen görüntü ve biyolojik dağılımlar incelendiğinde kalp ile akciğerler, karaciğer ve dalakta tutulumların olduğu görülmüştür.

Elde edilen sonuçlar doğrultusunda ^{99m}Tc ile işaretli C-KLN'nin seçici bir görüntüleme ajanı olabileceği düşünülmektedir. Özellikle de karaciğer ve dalak görüntülenmesinde ^{99m}Tc- analoglarına alternatif yeni bir radyofarmasötik olabileceği kanısına varılmıştır.

2015, 119 sayfa

Anahtar Kelimeler: Kurkumin, katı lipit nanopartikül, ^{99m}Tc, sintigrafi, biyodağılım, tavşan

ABSTRACT

MS Thesis

THE PREPARATION OF THE SOLID LIPID NANOPARTICLES LOADED WITH CURCUMIN AND EVALUATION AS IN VIVO ON RABBITS BY LABELLING WITH ^{99m}Tc

Ayşe YENİLMEZ

Ataturk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Nanoscience and Nanoengineering
Nanobiotechnology

Advisor: Asst. Prof. Dr. Hayrettin EROĞLU
Co-advisor: Asst. Prof. Dr. Arif Kürşad AYAN

The connection of the radiopharmasotic to the focus organ which is the most important and indispensable step to take image in medicine has an unquestionable importance in respect of the image clearness. In recent years, due to many more reasons such as the increasing of the image clearness, producing easily and cheaply and decreasing to the minimum level of the side-effects, the research of the radiopharmasotic has been given importance. In the light of these thoughts;

In the first stage of this research started to get these radiolabeled particles used in imaging in the nuclear medicine, C-SLN was prepared with method the microemulsion ve ultrasonics. It was concluded that according to the LD (laser diffraction) analyses these particles were in the nano size, according to the XRD (X ray diffraction) and FT-IR (infrared spectroscopy) analyses curcumin was loaded to solid lipid nanoparticles and was amorphous after encapsulation, according to the SEM and TEM images analyses the solid lipid particles were in the spherical and nano size, as a result of TGA analyses the particles were stable against temperature. In the second stage of the research, the C-SLNs were labeled with ^{99m}Tc and with the help of scintigraphic ways and the in vivo studies were carried on rabbits. When the scintigraphic images and bio-distribution which were obtained were examined, it was concluded that there were radioactive uptake in heart- lungs, liver and spleen. According to the results obtained, the C-SLN labeled with ^{99m}Tc was thought to be a imaging agent. It was concluded that especially, in the imaging of the liver and spleen, it might be a new radiopharmasotic as an alternative to ^{99m}Tc-derivatives.

2015, 119 pages

Keywords: Curcumin, solid lipid nanoparticle, ^{99m}Tc, scintigraphy, bio-distribution, rabbit

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmalarımın planlanmasından tamamlanmasına kadar çalışmalarımın her aşamasında sonsuz desteği olan, verdiği bilgiler ve sunduğu önerilerle şahsımı cesaretlendiren, her zaman ve her konuda yanımda olan, akademik ortamda olduğu kadar beşeri ilişkilerde de engin fikirleriyle yetişme ve gelişmeye katkıda bulunan, bana yol gösteren, ilgisini ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen saygıdeğer hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Hayrettin EROĞLU'na minnet ve şükranlarımı sunarım. Kendisinin ödenmesi mümkün olmayan bir borcun karşılığı olarak özden teşekkürlerimi kabul etmesini diliyorum.

Görüntüleme çalışmalarımda bilgi ve birikimleriyle tezime değerli katkıları olan ortak danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Arif Kürşad AYAN'a,

Çalışmalarım boyunca her türlü konuda bana yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Nurhan KİSHALI'ya, Sayın Prof. Dr. Akgün ALSARAN'a, Kimya, Çevre ve Gıda Mühendisliği, Fen Kimya Bölümü, Nükleer Tıp A.B.D. ve Histoloji Embriyoloji A.B.D. çalışanları ve öğretim üyelerine,

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi tezimin her aşamasında da yanımda olan, neşesiyle bana her zaman moral veren ve desteğini her zaman hissettiğim can arkadaşım Hande YILMAZ'a,

Ve şüphesiz beni yetiştirip bugünlere getiren hayatım boyunca sevgi, ilgi ve desteklerini eksik etmeyen, sıkıntılarımı paylaşan, her zaman sabırlı ve hoşgörülü olan ailemin her bireyine ayrı ayrı, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayşe YENİLMEZ

Temmuz, 2015

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	16
2.1. Nükleer Tıp ve Tarihi.....	16
2.2. Radyofarmasötik.....	17
2.3. Radyonüklid Üretimi.....	22
2.3.1. Nükleer reaktörler.....	24
2.3.2. Yüklü parçacık hızlandırıcıları.....	25
2.3.3. Radyonüklid jeneratörler.....	27
2.4. ⁹⁹ Mo- ^{99m} Tc Jeneratörü.....	29
2.5. Teknesyum ve Kimyası.....	31
2.6. Radyofarmasötiklerin Kalite Kontrolleri.....	33
2.6.1. Radyonüklidik kalite kontrol.....	33
2.6.2. Radyokimyasal kalite kontrol.....	33
2.6.3. Kimyasal kalite kontrol.....	34
2.6.4. Biyolojik Kalite Kontrol.....	34
2.7. Radyoışaretleme Yöntemleri.....	35
2.7.1. İzotop değişimi metodu.....	36
2.7.2. Yabancı işaretin girişi metodu.....	37
2.7.3. Biyofonksiyonel şelatlar ile işaretleme metodu.....	37
2.7.4. Biyosentez metodu.....	37
2.7.5. Recoil (Geri Tepme) işaretleme metodu.....	37
2.7.6. Eksitasyon işaretleme metodu.....	38
2.8. Radyonüklid Görüntüleme Yöntemleri.....	38

2.8.1. Planar görüntüleme sistemleri	39
2.8.2. Tomografik görüntüleme sistemleri (üç boyutlu)	40
2.8.2.a. Tek foton yayan tomografi (SPECT).....	40
2.8.2.b. Pozitron yayan tomografi (PET)	41
2.9. Nanoteknoloji ve Uygulama Alanları.....	42
2.10. İlaç Taşınmasında Nanoteknoloji	44
2.11. Nanopartiküler İlaç Taşıma Sistemleri	45
2.12. Nanopartiküler İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Çeşitleri	47
2.12.1. Lipozomlar	48
2.12.2. Dendrimerler	49
2.12.3. Miseller.....	50
2.12.4. Karbon nanotüpler	52
2.12.5. Kuantum noktalar	52
2.12.6. Katı lipit nanopartiküller	52
2.13. Katı Lipit Nanopartiküllerin Genel Özellikleri	53
2.14. Katı Lipit Nanopartikül Hazırlama Yöntemleri	55
2.14.1. Yüksek basınçlı homojenizasyon yöntemi	55
2.14.1.a. Sıcak homojenizasyon	55
2.14.1.b. Soğuk homojenizasyon.....	56
2.14.2. Yüksek hızda karıştırma ve / veya ultrasonikasyon yöntemi	57
2.14.3. Mikroemülsiyon yöntemi	57
2.14.4. Çözücü emülsifikasyon-evaporasyon veya çözücü difüzyon yöntemi.....	58
2.15. Katı Lipit Nanopartiküllerin Karakterizasyonu.....	59
2.15.1. Partikül büyüklüğü ve dağılımı tayini	59
2.15.2. Partikül şekli tayini.....	60
2.15.3. Etken madde yüklemesi ve yükleme kapasitesi	60
2.15.4. KLN'lerin stabilitesi.....	62
2.15.5. KLN'lerin liyofilizasyonu	63
2.15.6. KLN'lerin toksisitesi	63
2.15.7. KLN'lerin sterilizasyonu	63
2.15.8. KLN'lerin uygulama yolları	64
2.16. Kurkumin ve Özellikleri.....	66

3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	69
3.1. Kullanılan Maddeler ve Araç Gereçler	70
3.2. Boş KLN'lerin ve Kurkumin yüklü KLN'lerin Hazırlanması	71
3.3. Karakterizasyon Çalışmaları	72
3.3.1. Refraktif indisinin belirlenmesine yönelik çalışmalar.....	72
3.3.2. Partikül boyutu ve dağılımının belirlenmesine yönelik çalışmalar	72
3.3.3. Partikül şeklinin belirlenmesine yönelik çalışmalar.....	72
3.3.4. TGA çalışmaları	73
3.3.5. FT-IR çalışmaları	73
3.3.6. XRD çalışmaları	73
3.4. Kurkumin Yüklü KLN'lerin ^{99m} Tc ile işaretlenmesine yönelik çalışmalar	73
3.5. İn Vivo Çalışmalar	74
3.5.1. Deney hayvanlarının hazırlanması	74
3.5.2. ^{99m} Tc-C-KLN'nin hayvanlara uygulanması	74
4. ARASTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	75
4.1. Refraktif İndisinin İncelenmesi	75
4.2. Partikül Boyutu ve Dağılımının İncelenmesi	75
4.3. Partikül Şeklinin İncelenmesi.....	93
4.4. TGA Analizi	96
4.5. FT-IR Analizi	97
4.6. XRD Analizi.....	99
4.7. İn Vivo Çalışmalara Ait Bulguların İncelenmesi	101
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	110
KAYNAKLAR	112
EKLER.....	119
EK 1. Etik Kurul Raporu	119
ÖZGEÇMİŞ	120

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

°	Derece
C	Santigrat
Θ	Kırınım açısı
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
dk	Dakika
g	Gram
H/BG	Hedef/Background Oranı
HeLa	Servikal Kanseri Hücre Hattı
i.v	İntra venöz enjeksiyon
keV	Kilo elektronvolt
mbar	Milibar
mCi	Mili Curie
MCF-7	Meme Kanseri Hücre Hattı
ml	Mililitre
n	Nötron
nm	Nanometre
p	Proton

Kısaltmalar

^{99m} Tc	Teknesyum
^{99m} Tc-C-KLN	Teknesyum ile işaretli kurkumin yüklü katı ipit nanopartikül
C-KLN	Kurkumin Yüklü Katı Lipit Nanopartikül
FT-IR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopi
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
KLN	Katı Lipit Nanopartikül
PET	Pozitron Yayan Tomografi
LD	Lazer Kırınımı

PLGA	Poli (Laktik-Glikolik Asit)
SEM	Taramalı Elektron Mikroskop
SPECT	Tek Foton Yayan Bilgisayarlı Tomografi
TEM	Geçirimli Elektron Mikroskop
TGA	Termogravimetrik analiz
XRD	X Işını Kırınımı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Radyoaktif olarak işaretlenmiş teşhis amaçlı kullanılan en yaygın nanopartiküller.	14
Şekil 2.1. Bir nükleer reaktörün şematik gösterimi	25
Şekil 2.2. 30 MeV'lik bir siklotron.....	26
Şekil 2.3. Siklotronun üstten ve yandan şematik gösterimi	27
Şekil 2.4. Bir radyonüklid jeneratörünün şematik gösterimi	29
Şekil 2.5. ^{99}Mo - $^{99\text{m}}\text{Tc}$ bozunma ve üreme eğrisi	30
Şekil 2.6. ^{99}Mo 'un bozunma şeması	30
Şekil 2.7. Perteknetat iyonunun kimyasal yapısı	32
Şekil 2.8. Gama kameranın çalışma prensibi ve bileşenleri	39
Şekil 2.9. Gama kamera	40
Şekil 2.10. PET Görüntüleme (Anonim 2015c) solda eski model PET cihazı, sağda yeni model PET cihazı	41
Şekil 2.11. Nanoteknolojinin kullanım alanları	42
Şekil 2.12. Nanoteknoloji temelli bazı ilaç taşıyıcı sistemler	45
Şekil 2.13. Nanopartiküllerin tıpta kullanım alanları	46
Şekil 2.14. Lipozom'un yapısı	48
Şekil 2.15. Dendrimer'in yapısı	49
Şekil 2.16. Misel yapısı.....	51
Şekil 2.17. Karbon nanotüp (sol) ve kuantum noktalar (sağ)	52
Şekil 2.18. Sıcak homojenizasyon yöntemi ile KLN üretimi	56
Şekil 2.19. KLN'lerde oluşan etken madde yükleme modelleri	62
Şekil 2.20. Kurkuminin terapötik etkileri	66
Şekil 2.21. Kurkumin ve türevlerinin kimyasal yapısı	67
Şekil 4.1. 4°C'deki KLN'nin partikül boyut dağılımı (0.gün).....	77
Şekil 4.2. 4°C'deki KLN'nin partikül boyut dağılımı (7.gün).....	77
Şekil 4.3. 4°C'deki KLN'nin partikül boyut dağılımı (14.gün).....	78
Şekil 4.4. 4°C'deki KLN'nin partikül boyut dağılımı (35.gün).....	78
Şekil 4.5. 25°C'deki KLN'nin partikül boyut dağılımı (0.gün).....	79

Şekil 4.6. 25°C'deki KLN'nin partikül boyut dağılımı (7.gün).....	80
Şekil 4.7. 25°C'deki KLN partikül boyut dağılımı (14.gün).....	80
Şekil 4.8. 25°C'deki KLN partikül boyut dağılımı (35.gün).....	81
Şekil 4.9. 40°C'deki KLN'nin partikül boyut dağılımı (0.gün).....	82
Şekil 4.10. 40°C'deki KLN'nin partikül boyut dağılımı (7.gün).....	82
Şekil 4.11. 40°C'deki KLN'nin partikül boyut dağılımı (14.gün).....	83
Şekil 4.12. 40°C'deki KLN'nin partikül boyut dağılımı (35.gün).....	83
Şekil 4.13. 4°C'deki C-KLN'nin partikül boyut dağılımı (0.gün).....	84
Şekil 4.14. 4°C'deki C-KLN'nin partikül boyut dağılımı (7.gün).....	85
Şekil 4.15. 4°C'deki C-KLN'nin partikül boyut dağılımı (14.gün).....	85
Şekil 4.16. 4°C'deki C-KLN'nin partikül boyut dağılımı (35.gün).....	86
Şekil 4.17. 25°C'deki C-KLN'nin partikül boyut dağılımı (0.gün).....	87
Şekil 4.18. 25°C'deki C-KLN'nin partikül boyut dağılımı (7.gün).....	87
Şekil 4.19. 25°C'deki C-KLN'nin partikül boyut dağılımı (14.gün).....	88
Şekil 4.20. 25°C'deki C-KLN'nin partikül boyut dağılımı (35.gün).....	88
Şekil 4.21. 40°C'deki C-KLN'nin partikül boyut dağılımı (0.gün).....	89
Şekil 4.22. 40°C'deki C-KLN'nin partikül boyut dağılımı (7.gün).....	90
Şekil 4.23. 40°C'deki C-KLN'nin partikül boyut dağılımı (14.gün).....	90
Şekil 4.24. 40°C'deki C-KLN'nin partikül boyut dağılımı (35.gün).....	91
Şekil 4.25. Farklı ölçeklerde alınmış olan boş KLN'nin SEM görüntüleri	94
Şekil 4.26. Farklı ölçeklerde alınmış olan boş KLN'nin TEM görüntüleri.....	94
Şekil 4.27. Farklı ölçeklerde alınmış olan C-KLN'nin SEM görüntüleri.....	95
Şekil 4.28. Farklı ölçeklerde alınmış olan C-KLN'nin TEM görüntüleri.....	95
Şekil 4.29. C-KLN'ye ait termogravimetrik analiz sonucu	96
Şekil 4.30. KLN'nin FT-IR analiz sonucu.....	97
Şekil 4.31. C-KLN'nin FT-IR analiz sonucu.....	98
Şekil 4.32. Kurkuminin FT-IR analiz sonucu.....	98
Şekil 4.33. Kurkumin, C-KLN ve boş KLN'nin XRD analiz sonucu	100
Şekil 4.34. ^{99m} Tc-C-KLN'nin tavşanlara intra venöz uygulamasından hemen sonra gama kamera ile alınan dinamik görüntüler	102
Şekil 4.35. ^{99m} Tc-C-KLN'nin tavşanlara intra venöz uygulamasından hemen sonra gama kamera ile alınan dinamik görüntüler	102

Şekil 4.36. $^{99m}\text{Tc-C-KLN}$ 'nin tavşanlara intra venöz uygulamasından hemen sonra gama kamera ile alınan dinamik görüntüler	103
Şekil 4.37. $^{99m}\text{Tc-C-KLN}$ 'nin tavşanlara intra venöz uygulamasından hemen sonra gama kamera ile alınan dinamik görüntüler	103
Şekil 4.38. $^{99m}\text{Tc-C-KLN}$ 'nin tavşanlara intra venöz uygulamasından hemen sonra gama kamera ile alınan dinamik görüntüler	104
Şekil 4.39. $^{99m}\text{Tc-C-KLN}$ 'nin tavşanlara intra venöz uygulamasından hemen sonra gama kamera ile alınan dinamik görüntüler	104
Şekil 4.40. $^{99m}\text{Tc-C-KLN}$ 'nin tavşanlara i.v enjeksiyonundan 1 saat sonra çekilen statik görüntüler (Anterior-Posterior).....	105
Şekil 4.41. $^{99m}\text{Tc-C-KLN}$ 'nin tavşanlara i.v enjeksiyonundan 2 saat sonra çekilen statik görüntüler (Anterior-Posterior).....	105
Şekil 4.42. $^{99m}\text{Tc-C-KLN}$ 'nin tavşanlara i.v enjeksiyonundan 3 saat sonra çekilen statik görüntüler (Anterior-Posterior).....	106
Şekil 4.43. $^{99m}\text{Tc-C-KLN}$ 'nin tavşanlara i.v enjeksiyonundan 4 saat sonra çekilen statik görüntüler (Anterior-Posterior).....	106
Şekil 4.44. $^{99m}\text{Tc-C-KLN}$ 'nin tavşanlara i.v enjeksiyonundan 24 saat sonra çekilen statik görüntüler (Anterior-Posterior).....	107

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Hazırlanan KLN formülasyonları	6
Çizelge 1.2. KLN ve NLC formülasyonların % bileşimi.....	9
Çizelge 1.3. Kurkumin yüklü KLN formülasyonu	12
Çizelge 1.4. Katı lipid nanopartiküllere yüklenen farklı etken maddeler.....	13
Çizelge 2.1. Yaygın olarak kullanılan radyoizotop jeneratör sistemleri.....	28
Çizelge 2.2. Genel radyoişaretleme metodları	36
Çizelge 2.3. KLN hazırlanmasında kullanılan lipidler ve yüzey etken maddeler	53
Çizelge 3.1. Kullanılan maddeler.....	70
Çizelge 3.2. Kullanılan cihazlar.....	70
Çizelge 3.3. Formülasyonda kullanılan maddeler ve parametler.....	71
Çizelge 4.1. Saf su, KLN ve C-KLN'nin refraktif değerleri	75
Çizelge 4.2. 4°C'de bekletilen KLN'nin partikül boyutu ve dağılımı sonuçları	76
Çizelge 4.3. 25°C'de bekletilen KLN'nin partikül boyutu ve dağılımı sonuçları	79
Çizelge 4.4. 40°C'de bekletilen KLN'nin partikül boyutu ve dağılımı sonuçları	81
Çizelge 4.5. 4°C'de bekletilen C-KLN'nin partikül boyutu ve dağılımı sonuçları	84
Çizelge 4.6. 25°C'de bekletilen C-KLN'nin partikül boyutu ve dağılımı sonuçları	86
Çizelge 4.7. 40°C'de bekletilen C-KLN'nin partikül boyutu ve dağılımı sonuçları	89
Çizelge 4.8. 99mTc-C-KLN'nin tavşanlara i.v enjeksiyonundan sonra elde edilen Hedef/Background (BG) oranları	107

1. GİRİŞ

Bilimin ve teknolojinin baş döndürücü bir hızla ilerlediği günümüzde tıp alanında da pek çok gelişmeler ve ilerlemeler kaydedilmektedir. Tıpta çeşitli fizyolojik ve fonksiyonel olayların anlaşılmasına yardımcı olarak temel bilimlere ışık tutan nükleer tıp, canlılara verilen radyoaktif maddelerin yaydıkları ışınların özel yöntemleri ile hastalıkların tanısı, tedavisi ve takibinde yeni ufuklar açmaktadır (Görpe ve Cantez 1992).

Nükleer tıp, radyoaktif maddelerle işaretli kimyasal moleküller ve biyolojik materyaller yardımıyla, hastalıkların teşhis ve tedavisi ile uğraşan bir tıp dalıdır. Radyolojideki görüntüleme yöntemlerinin aksine, nükleer tıpta organların yapısından çok işlevi ve çalışma bozuklukları incelenir. En basit ifade ile radyoloji organların anatomisi ile uğraşırken, nükleer tıp organların fizyolojisi (fonksiyonu) ile ilgilenir (Anonim 2015a).

Nükleer tıpta kullanılan ve radyoaktif özellik taşıyan farmasötik dozaj şekilleri radyofarmasötik; radyofarmasötiklerin formülasyonu, hazırlanması, kalite kontrolü, farmakokinetiği ve toksisitesiyle uğraşan bilim dalı ise radyofarmasi olarak adlandırılır (Özer 2004).

Nükleer tıpta kullanılan radyofarmasötiklerin yaklaşık %95'i tanı ve %5'i de tedavi amacıyla kullanılır. İşaretlenmiş bileşik şeklindeki bir radyofarmasötik iki etkin bileşimden oluşur. Bunlardan birisi biyoaktif bileşen, diğeri de radyonüklittir. Yapısında bulundurduğu radyonüklidi vücudun içinde bilgi alınması istenen organ ve dokuya götüren, organda lokalize olarak organ hakkında fizyolojik bilgi veren etken madde biyoaktif bileşendir. Radyonüklit ise yayınladığı radyasyondan faydalanarak vücut dışından izlenebilen veya vücut içinde bulunduğu dokuyu tahrip ederek iyileştiren bileşendir. Radyonüklidler vücuda, incelenecek organa ve lezyona uygun bir biyoaktif bileşiğe bağlanarak veya tek başına verilebilir. Gerek görüntüleme gerekse tedavi

amacıyla olsun uygun radyofarmasötiklerin geliştirilmesi için, uygun biyoaktif bileşenin seçilip, uygun radyonüklidler ile işaretlenmesi gerekir (Saha 1992; Büyükkaya 2011).

Radyonüklidin vücut içerisindeki dağılımının görüntülenmesi ile anatomik bilgiler, bu dağılımın zamana göre değişikliklerinin saptanması ile de fizyolojik bilgiler elde edilir. İlgili organa gitmiş olan radyonüklid, kendi doğasından gelen ışınlarını sürdürür. Bu ışınlar, vücut dışına yerleştirilmiş radyasyon dedektörleri ile kaydedilir. Bu yöntem sintigrafi olarak adlandırılır ve sintigrafi bir tanı yöntemidir. İncelenecek her organ için farklı bir radyofarmasötik verilir ve bu radyofarmasötiğin tetkik edilecek organda tutuluşu, dağılımı, atılışı gibi özellikleri incelenir. Radyoaktif madde hedef organda ne kadar yoğunlukta tutulur ve zemin aktivite ne kadar az olursa görüntüleme kaliteside o kadar iyi olur (Anonim 2015a).

Görüntüleme sistemleri, kullanılan radyoaktif madde ve görüntüleme cihazının özelliklerine göre Planar görüntüleme ve Tomografik görüntüleme olarak ikiye ayrılmaktadır;

Planar Görüntü: Gama ışını yayan radyoaktif maddelerle gama kamera adı verilen cihazlar kullanılarak tek düzlemde çekilip iki boyutlu görüntünün alınmasıdır.

Tek Foton Yayan Tomografi (SPECT): Vücut içerisindeki radyoaktif madde dağılımının üç boyutlu olarak yani tomografik olarak görüntülenmesidir.

Pozitron Yayan Tomografi (PET) : Mevcut teknolojide ki en gelişmiş görüntüleme tekniği olup, pozitron ışınması yapan radyoaktif maddelerin özel görüntüleme aygıtları yardımıyla vücuttaki dağılımlarının belirlenip üç farklı uzaysal düzlemde kesitsel görüntülerin alınmasıdır. Pozitron yayan tomografinin SPECT'ten en önemli farkı kullanılan radyofarmasötikler ve bunları algılayabilen dedektörlerin tasarımıdır (Görpe ve Cantez 1992).

Son zamanlarda kendinden sıkça söz ettiren fizik, kimya, mühendislik, biyoloji, tıp gibi pek çok bilim dalını birleştiren bilim alanından birisi de nanoteknolojidir. Tıp alanında nanoteknoloji, çeşitli hastalıkların özellikle kanser türlerinin erken teşhisinde, fiziksel ve patolojik süreçleri incelemede ve tedavide nanopartiküllerin kullanılması ile kendini gösterir. Nanopartiküllerin radyoaktif maddelerle etiketlenerek tanı ve tedavi amacıyla nükleer tıbbın kullanımına kazandırılmasına yönelik çalışmalar hız kesmeden devam etmektedir.

Nanopartiküller sahip olduğu boyut özelliklerinden dolayı dolaşımında daha uzun süre kalır. Bundan dolayı nanopartiküllerin tıp alanında özellikle hastalıkların teşhis ve tedavisinde kullanımı büyük bir önem arzeder. Bir radyonüklid ile işaretli farmasotiklerin düşük dozlarda alınması temeline dayanan radyonüklid görüntüleme Planar, SPECT ve PET görüntülemeyi içerir. Genelde, nanopartiküllerin biyolojik dağılımını, farmakokinetik özelliklerini, hedefleme etkinliğini belirlemek amacıyla nanopartiküller radyonüklid ile işaretlenir. Görüntülemedeki yüksek hasasiyetinden dolayı radyoaktif işaretli nanopartiküller, tıp alanında özellikle hastalıkların erken, güvenilir ve doğru teşhisi için ümit vaadeden ajanlar olarak bilim dünyasına sunulmuştur. Her ne kadar radyoaktif işaretli nanopartiküller prelinik safhada olsa bile, yakın gelecekte tanı alanında büyük bir etki yaratacağı düşünülüyor (Barros *et al.* 2012).

Geleneksel tedavide gözlemlenen olumsuzlukları ortadan kaldırmak, zayıf kararlılık ve zayıf çözünürlük gösteren, biyolojik yarı ömrü kısa olan ve önemli derecede yan etkilere sahip olan biyofarmasötiklerin hücresel düzeylerdeki etkinliğini artırmak, istenmeyen yan etkilerini azaltıp, biyoyararlanımını ve buna bağlı olarak da terapötik etkinliğini artırmak, etkin ve güvenli tedavi sağlamak amacıyla nanoteknolojiden faydalanılarak nanopartiküler ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir (Kaş 2002; Farokhzad and Langer 2006; Wang *et al.* 2012).

Nanopartiküller çözünmüş, hapsedilmiş ya da adsorbe olan etken maddeyi kontrollü olarak salabilen katı kolloidal partiküllerdir. Etken maddelerin spesifik özelliklerini maskeleyerek, bu maddelerin stabilitesini arttırmaları ve sahip oldukları nanometre

boyutlarından dolayı etken maddenin membran bariyerlerden geçmesine olanak sağlarlar (Kaş 2002; Farokhzad and Langer 2006; Youan 2008). Bu partiküllerin taşıyıcı sistem olarak geliştirilmesindeki ana amaç; partikül büyüklüğü, yüzey özellikleri ve farmakolojik aktif ajanların salınım kinetiklerinin kontrol edilerek, ilacın kontrollü olarak salınması, etki etmeleri istenen bölgede toplanması ve böylece terapötik olarak optimum doz ve oranının elde edilmesidir. Sahip oldukları bu avantajlardan dolayı nanopartiküllerin taşıyıcı bir sistem olarak kullanılması büyük bir önem taşımaktadır (Kaş 2002; Gindy and Prud'homme 2009; Kim *et al.* 2010).

Nanopartiküller kullanım alanına ve uygulama yoluna bağlı olarak çok çeşitli olabilirler. Polimerler (PLGA nanopartikülleri vb.), inorganik maddeler (altın nanopartikülleri vb.) veya lipitler (katı lipit nanopartiküller vb.) kullanılarak nanopartiküller hazırlanabilir (Mehnert and Mäder 2001; Kaş 2002; Hong *et al.* 2009; Sun *et al.* 2013; Yeong *et al.* 2014).

İlk patentleri 1993 ve 1996 yılında alınan katı lipit nanopartiküllere birçok araştırma guruplarının çalışmaları sayesinde değişik etken maddeler yüklenerek karakterize edilmiş, in vivo ve in vitro etkinlikleri değerlendirilmiştir (Wissing *et al.* 2004).

Katı lipit nanopartiküllere yüklenen etken maddelerden biriside kurkumin olmuştur. Kurkumin, lipit peroksidasyonunu baskılayan ve reaktif oksijen türlerini yok ederek inflamatuvar (iltihaba neden olan) bileşiklerin oluşumunu azaltan bir antioksidandır. Geleneksel olarak anoreksi, öksürük, diabetik yaralar, karaciğer hastalıkları, romatizma, sinüzit ve harici deri yaralanmalarının önlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Miquel *et al.* 2002; Waranyoupalin *et al.* 2009).

Biyoaktif özellik gösteren bir molekülün aktivitesi, biyoyararlılığına, kararlılığına, absorpsiyonuna ve çözünürlüğüne bağlıdır. Farmakolojik olarak geniş kapsamlı biyoaktiviteye sahip olan kurkumin, ayrıca antikanserojen, antiinflamatuvar, antibakteriyel, antiviral, hipoglisemik, antioksidan ve alzaymırı önleyici rol oynar. Ancak kurkuminin biyoaktivitelerinin çeşitliliğine ve hastalıkları önleme ve tedavi etme

potansiyeline rağmen düşük çözünürlüğü ve sulu çözeltilerdeki kararsızlığı nedeniyle düşük biyoyararlılık gösterir ve bu nedenle terapötik bir ajan olarak kullanılmasını engelleyen en önemli problemi oluşturur (Kakkar *et al.* 2013a; Tapal and Tiku 2012).

Kurkuminin biyoyararlılığını iyileştirmek için çok sayıda yaklaşım kullanılmıştır. Miseller, nanopartiküller, fosfolipit-kompleksleri, hidrojel bazlı kapsülleme, mikroemülsiyonlar ve amorf katı dispersiyona dayanan formülasyonlar geliştirilmiştir (Miquel *et al.* 2002; Tapal and Tiku 2012; Villanueva *et al.* 2013; Kakkar *et al.* 2013a).

Kurkuminin sınırlayıcı etkilerini minimuma indirmek için düşünülen çözüm yollarından biriside katı lipit nanopartikül formülasyonları olmuştur. 1990'lı yıllarda mevcut koloidal taşıyıcı sistemlere alternatif bir taşıyıcı sistem olarak geliştirilen katı lipit nanopartiküller, sistemik toksisite ve sitotoksitesinin düşük olması, organik çözücü kalıntısı içermemesi, geniş ölçekte üretimlerinin mümkün olması, yağ emülsiyonlarının, lipozomların ve polimerik nanopartiküllerin avantajlarını bir arada barındırması gibi özelliklere sahip olduğu için KLN'lere olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır.

Bu bilgiler ışığında nükleer tıbbın görüntüleme kullanımına sunmak amacıyla başlatılan bu çalışmada;

- Katı lipit nanopartikül (KLN) formülasyonunun hazırlanması ve kurkuminin hazırlanan formülasyona yüklenerek gerekli karakterizasyon çalışmalarının yapılması,
- Hazırlanan kurkumin yüklü nanopartikülün radyoaktif yöntemlerle işaretlenerek organizmadaki doku ve organlarda ki radyofarmasötik etkinliğinin araştırılması amaçlanmaktadır.

Böylece, hem kurkuminin biyolojik yarılanma ömrü uzatılmış olacak hem de nükleer tıpta kullanılan ^{99m}Tc- analoglarına yeni bir alternatif sunulacaktır.

Katı lipit nanopartiküller ve radyoaktif olarak işaretlenmiş nanopartiküller ile ilgili bazı çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

Yapılan bir çalışmada, diazepam yüklü KLN'lerin partikül boyutları ve kararlılıkları üzerine dondurarak kurutmanın ve otoklavlama ile sterilizasyonun etkisi incelenmiştir. Mikroemülsiyon tekniği ile hazırlanan KLN'lerin, otoklavlama ile sterilize edilebildiği, sterilizasyondan sonra bile partikül büyüklüğünde kayda değer bir artışın olmadığı, bütün KLN dispersiyonlarının kolloidal büyüklükte ve küresel şekilde olduğu bildirilmiştir. Yine, dondurarak kurutulan tüm KLN formülasyonlarının, bir yıl sonra bile suda rahatlıkla yeniden disperse edilebildiği; fakat dondurarak kurutma işleminin daha büyük boyutlarda KLN'lerin elde edilmesine neden olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada hazırlanan KLN formülasyonları Çizelge 1.1'de gösterilmektedir (Cavalli *et al.* 1997).

Çizelge 1.1. Hazırlanan KLN formülasyonları (Cavalli *et al.* 1997)

Formülasyon	Kullanılan lipit ve yüzde bileşimi	Kullanılan sürfaktan ve yüzde bileşimi	Kullanılan ko-sürfaktan ve yüzde bileşimi	Kullanılan etkin madde ve yüzde bileşimi
A (KLN)	Acidan N12 (%7,53)	Epikuron 200 (%3,9)	Taurodeoikolat (%13,8)	Diazepam (%1,20)
B (KLN)	Behenik asit (%7,53)	Epikuron 200 (%3,9)	Tauodeoksikolat (%13,8)	Diazepam (%2,25)
S (KLN)	Stearik asit (%7,53)	Epikuron 200 (%3,9)	Tauodeoksikolat (%13,8)	Diazepam (%1,88)

İnsan granülositleri üzerine yapılan bir çalışmada, compritol ve setil palmitat katı lipitleri ile hazırlanan KLN'ler ve polistiren polimeri ile hazırlanan nanopartiküllerin fagositoz oranları incelenmiştir. İncelenen bu çalışmada lipitler ile hazırlanan KLN'lerin fagositoz oranlarının polimer ile hazırlanan nanopartiküllere oranla daha düşük olduğu kanısına varılmıştır (Müller *et al.* 1997).

Yapılan bir başka çalışmada, pribedil yüklü KLN'ler homojenizasyon tekniği ile hazırlanıp pribedilin biyoyararlılığı ve plazma profilleri araştırılmıştır. Yapılan çalışma

sonucunda KLN şeklinde hazırlanmış olan priedilin biyoyararlılığının artmış olduğu ve plazmada daha uzun süre kaldığı bildirilmiştir (Müller *et al.*2000).

Yapılan başka bir çalışmada retinol yüklü KLN içeren krem ile retinol içeren krem; cilt esnekliği, nem miktarı ve cilt düzgünlüğü parametreleri ele alınarak incelenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda, retinol yüklü KLN formülasyonlarının daha olumlu sonuçlar verdiği rapor edilmiştir (Müller *et al.* 2000).

Cavalli *et al.* (2002) yaptıkları çalışmada, taşıyıcı sistem amacıyla Tobramisin (TOB) yüklü KLN'leri mikroemülsiyon yöntemi ile hazırlanmış ve tobramisin oküler biyoyararlanımı, preoküler alıkonması, oküler toleransı, potansiyel irritasyonu tavşan gözü üzerinde incelenmiştir. Bu çalışma sonucunda TOB yüklü KLN dispersiyonunun göz sıvısı solüsyonu ile hazırlanan TOB solüsyonuna göre stabil bir prekorneal film oluşturduğu, gözde daha uzun süre kaldığı, iyi bir şekilde tolere edildiği ve oküler irritasyona neden olmadığı bildirilmiştir.

Videira *et al.* (2002) inhalasyon yoluyla uygulanan ve radyoaktif olarak işaretlenmiş KLN'lerin ratlardaki biyodağılımını incelendikleri çalışmalarında, hazırlanan KLN'lerin partikül boyutu, polidispersite indeksi ve zetapotansiyel değerleri incelenmiştir. KLN'lerin partikül boyutunun 200 nm, polidispersite indeksinin 0,245 ve zeta potansiyelinin -17.2 mV olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada ticari olarak kullanılan lipofilik özellikteki D,L-hexamethylpropyleneamineoxime (HMPAO) şelat ajanı, ^{99m}Tc ise radyonüklid olarak kullanılmıştır. Hazırlanan KLN'lerin ^{99m}Tc -HMPAO ile inkübe edilerek işaretlenmesi sağlanmış ve KLN'lerin işaretlenme verimi %97 olarak bulunmuştur. Yapılan çalışma sonucunda inhalasyonla verilen KLN'lerin lenf nodüllerinde daha fazla birikim gösterdiği bundan dolayı KLN'lerin lenfleri hedeflemede kullanılabileceği belirtilmiştir.

Kozmetik uygulamalardaki KLN'lerin avantajlarını belirlemek amacıyla yapılan başka bir çalışmada, KLN'nin deri üzerindeki okluzif etkisi ile KLN'nin deri hidrasyonu üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Okluzif etkisi, partikül büyüklüğüne bağlı olarak

değerlendirilmiştir. Yüksek okulasyon faktörlerinin 400 nm'nin altında olan KLN'lerde elde edilebildiği saptanmıştır. KLN'nin deri hidrasyonu üzerindeki etkisi gönüllüler üzerinde incelenmiş, bu amaçla KLN içeren ve içermeyen krem formülasyonları kullanılmıştır. KLN içeren kremin deri hidrasyonu üzerinde çok önemli bir etkisinin olduğu sonucuna varılmıştır (Wissing and Müller 2003).

İmmünoşpresif, antifertilite, antineoplastik, antienflamatuvar özelliğe sahip etken bir madde olan Triptolid (TP)'in topikal olarak uygulanabilmesi amacıyla yapılan bir başka çalışmada, triptolid solüsyonu ve T-KLN'leri hazırlanarak karakterizasyon çalışmaları ve in vitro penetrasyon ve antienflamatuvar çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Triptolid solüsyonuna göre KLN ve mikroemülsiyon şeklinde hazırlanan Triptolid'in derideki penetrasyonun daha fazla olduğu sonucuna varılmıştır (Mei *et al.* 2003).

Trotta *et al.* (2003) çözücü emülsifikasyon-difüzyon yöntemi ile toksik olmadığı bilinen çözücüler ve sürfaktantlar ile gliserin monositrat nanopartiküllerin hazırlanabilirliğini konu alan çalışmalarında, sürfaktan olarak benzil alkol veya bütül laktat kullanılarak, emülsifikasyon-difüzyon yöntemi ile katı lipit nanopartiküllerin hazırlanmasının mümkün olduğu bildirilmiştir.

Yapılan bir başka çalışmada, antikanser özelliğe sahip All-trans retinoik asit (ATRA)'in oral biyoyararlanımını artırmak için, ATRA yüklü KLN'ler hazırlanmış ve ATRA yüklü KLN'lerin partikül boyutu, partikül dağılımı, ilaç yükleme etkinliği, zeta potansiyeli ile uzun dönemli fiziksel stabilitesi incelenmiştir. Farmakokinetik çalışmalarda ise, ATRA-KLN emülsiyonu ATRA çözeltisi kullanarak karşılaştırmalı olarak ratlar üzerinde oral uygulama ile gerçekleştirilmiştir. ATRA yüklü KLN'lerin oral olarak uygulandığı ratlarda, daha fazla ATRA plazma konsantrasyonlarına ulaşıldığı bildirilmiştir. Sonuç olarak KLN şeklinde hazırlanan ATRA'nın absorpsiyonunun önemli ölçüde artmış olduğu sonucuna varılmıştır (Hu *et al.* 2004).

Souto *et al.* (2004) yaptıkları çalışmada, klotrimazol yüklü etken maddesi ile KLN ve NLC (nano yapıllı lipit carrier) kolloidal taşıyıcı sistem formülasyonlarını hazırlayarak;

bu taşıyıcı sistemlerin fiziksel stabilitesi, yükleme etkinliği ve *in vitro* salım profili araştırılmıştır. Bu çalışmada hazırlanan KLN ve NLC formülasyonları Çizelge 1.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 1.2. KLN ve NLC formülasyonların % bileşimi (Souto *et al.* 2004)

Formülasyon	Kullanılan katı lipit ve yüzde bileşimi	Kullanılan sürfaktan ve yüzde bileşimi	Kullanılan etkin madde ve yüzde bileşimi	Kullanılan sıvı lipit ve yüzde bileşimi
A (KLN)	Dynasan [®] 116 (%9,5)	Tiloksapol (%3)	Klotrimazol (%0,5)	-
B (KLN)	Dynasan [®] 116 (%19)	Tiloksapol (%5)	Klotrimazol (%1)	-
C (NLC)	Dynasan [®] 116 (%13,5)	Tiloksapol (%5)	Klotrimazol (%1)	Mglyol [®] 812 (%5,5)

Yapılan bu çalışmada hazırlanan KLN’ler ve NLC’ler yüksek basınçlı homojenizasyon yöntemi ile hazırlanmıştır. KLN den farklı olarak NLC’de hem katı lipit hem de sıvı lipit bir arada kullanılarak hibrit bir sistem elde edilmiştir. Hazırlanan formülasyonlar üç farklı (4, 20 ve 40°C) sıcaklıklarda bekletilmiş ve partikül boyut dağılımının oda sıcaklığında 500 nm’nin altında olduğunu, 4°C’de bekletilen formülasyonların ise daha büyük partikül boyutuna sahip olmakla birlikte yine de nanometre aralığında olduğu saptanmıştır. Klotrimazolün diğer KLN formülasyonlarındakine kıyasla NLC’de daha fazla olduğu bildirilmiştir. Yine *in vitro* salım incelemeleri sonucunda, en fazla klotrimazol salım hızının NLC şeklinde hazırlanan formülasyonda olduğu gözlemlenmiştir (Souto *et al.* 2004).

Özellikle kozmetik uygulamalarda kullanılmak amacıyla yapılan başka bir çalışmada, kurkuminoid yüklü katı lipit nano partiküller hazırlanmış ve bu partiküllerin partikül boyutu, boyut dağılımı ve kimyasal-fiziksel stabilitesi incelenmiştir. Yapılan bu çalışma sonucunda kurkuminoid yüklü katı lipit nanopartiküllerin boyutlarının yaklaşık 450 nm olduğu ve 6 ay boyunca stabil kaldığı sonucuna varılmıştır (Tiyaboonchai *et al.* 2007).

Yapılan başka bir çalışmada, antikanser özelliği olan ferrosifen yüklü lipit nanopartikül formülasyonlarını hazırlanıp karakterizasyon çalışmaları yapıldıktan sonra 9L glima hücrelerinde tümör modeli oluşturulmuş ratlara intratümöral olarak uygulanmış ve etkinliğini incelenmiştir. Sonuç olarak; kontrol gruplarına göre nanopartikül formülasyonlarının tümör hacminde daha fazla küçülme sağladığı rapor edilmiştir (Allard *et al.* 2009).

Yapılan diğer bir çalışmada ise, kurkuminin nano formülasyonu ve serbest çözeltisi hazırlanıp, karakterizasyon çalışmaları yapıldıktan sonra karşılaştırılmalı olarak farelerdeki hücrelere alınımı değerlendirilmiştir. Kurkuminin nanoformülasyon şekli serbest kurkumin çözeltisine göre hücreler tarafından daha fazla alındığı ve daha uzun süre dolaşımda kaldığı saptanmıştır (Mohanty and Sahoo 2010).

Mulik *et al.* (2010) yaptıkları çalışmada ise, kurkumin transferrin içeren katı lipit nanopartikül formülasyonu şeklinde hazırlanmıştır. Transferrin içeren kurkumin yüklü nanopartikül, kurkumin yüklü nanopartikül ve serbest kurkumin solüsyonu karşılaştırılmalı olarak incelenmiştir. Karakterizasyon çalışmaları yapıldıktan sonra meme kanseri hücreleri üzerindeki anti kanser etkinliği değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda transferrin içeren kurkumin yüklü nanopartikül formülasyonunun anti kanser etkinliğinin diğerlerine göre daha baskın olduğu bulunmuştur.

Yapılan başka bir çalışmada, kurkuminoid yüklü KLN'lerin antimalarya etkinliği değerlendirilmiştir. Bu amaçla önce kurkumin yüklü katı lipit nanopartiküller yüksek hızda karıştırma ve ultrasonikasyon yöntemi ile hazırlanarak fizikokimyasal özellikleri incelenmiştir. Yapılan çalışmada Cu-KLN'lerin 120-250 nm arasında, küresel bir şekilde, -28 ile -45 mV arasında bir zeta potansiyele sahip olduğu belirtilmiştir. İn vivo çalışmalar ise *Plazmodyum berghei* ile enfekte edilmiş fareler üzerinde çalışılmıştır. Kurkuminin antimalarya etkinliği farelerin hayatta kalma süreleri göz önüne alınarak belirlenmiş, lipit ile enkapsüle edilen kurkumin solüsyonunun uygulandığı tedavi grubunun, serbest kurkumin çözeltisinin uygulandığı grup ve kontrol grubu ile kıyaslaması yapılmıştır. Malarya ile enfekte edilmiş kontrol grubundaki fareler 5-7 gün

içerisinde, serbest kurkumin çözeltilisinin uygulandığı grup 9-11 gün içerisinde ve kurkumin yüklü katı lipit nanopartikül solüsyonunun uygulandığı tedavi grubu ise 15-21 gün içerisinde ölmüşlerdir. Sonuç olarak tedavi grubundaki farelerin yaşam süresinin daha uzun olduğu göz önüne alınarak kurkumin yüklü katı lipit nanopartiküllerin antimalarya etkinliğinin daha fazla olduğu bildirilmiştir (Nayak *et al.* 2010).

Yapılan başka bir çalışmada, kurkuminin nano süspansiyonu ve kurkumin solüsyonunun HeLa ve MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksitesisi incelenmiştir. Kurkumin nano süspansiyonun daha az lokal iritasyona sebebiyet verdiği ve eritrosit hemoliz oranının daha az olduğu saptanmıştır (Gao *et al.* 2011).

Yapılan bir diğer çalışmada, ratlarda serebral iskemi reperfüzyon hasarına karşı kurkuminin etkisi araştırılmıştır. Kurkumin, mikroemülsiyon tekniği ile hazırlanarak KLN içerisinde hapsedilmiş ve serebral iskemi reperfüzyonu oluşturulan ratlara oral yoldan uygulanmıştır. Çalışma sonucunda kurkumin yüklü katı lipit nanopartikülleri; kurkumin çözeltisi ve boş KLN formülasyonların uygulandığı gruplar ile karşılaştırıldığında, lipit peroksidasyonunun inhibe edildiği, nitrit ve asetil kolin esteraz seviyelerinde azalma olduğu; buna karşın süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon ve mitokondriyal kompleks enzim aktivitelerinde önemli derecede artış gözlemlendiği bildirilmiştir (Kakkar *et al.* 2013a).

Yine yapılan bir başka çalışmada, kurkumin yüklü KLN'ler kurkumin çözeltisi ile karşılaştırılmıştır. Kurkumin yüklü KLN'ler mikroemülsiyon tekniği ile hazırlanıp ^{99m}Tc ile radyoaktif olarak işaretledikten sonra tavşanlara i.v olarak uygulanmış ve gama sintigrafik çalışmalarla kurkumin yüklü KLN'lerin beyindeki hücreler tarafından alındığı ispatlanmıştır. Ayrıca kurkuminin KLN şeklinde hazırlanmasıyla, oral biyoyararlılığının artırıldığı da rapor edilmiştir. Bu çalışmada hazırlanan KLN formülasyonu Çizelge 1.3'de gösterilmiştir (Kakkar *et al.* 2013b).

Çizelge 1.3. Kurkumin yüklü KLN formülasyonu (Kakkar *et al.* 2013b)

Formülasyonun adı	Kullanılan katı lipid ve yüzde bileşimi	Kullanılan sürfaktan ve yüzde bileşimi	Kullanılan kosürfaktan ve yüzde bileşimi	Kullanılan etken madde
C-KLN	Compritol 888 ATO® (%7,27)	Polisorbat 80 (%45,45)	Soya lesitin (%0,58)	Kurkumin -

Yapılan bir başka nanopartikül biyodağılım çalışmasında, paklitaksel yüklü KLN'ler (P-KLN) hazırladıktan sonra, ^{99m}Tc ile radyoaktif olarak işaretlenmiştir. Bu çalışmada sodyum perteknatat (Na^{99m}TcO₄), rutinde kullanılan kalay tuzları yerine farklı olarak sodyum borohidrit ile indirgenmiştir. P-KLN formülasyonu, paklitaksel formülasyonu ile kıyaslanmıştır. P-KLN'lerin işaretlenme etkinliğinin %95'den daha fazla olduğu ince katman silika jel yüklü plaklar ve gama sayacı kullanılarak bulunmuştur. 100 nm'nin altında olan P-KLN'lerin beyin konsantrasyonunda daha fazla bulunduğu bildirilmiştir. Ayrıca beyin hücreleri tarafından alınımını desteklemek amacıyla ratlar üzerinde sintigrafik çalışmalar yapılmıştır. Gama kamera ile alınan planar ve tomografik görüntülerde P-KLN'lerin beyine ulaştığı tespit edilmiştir (Banerjee *et al.* 2014).

Kumar *et al.* (2014) yaptıkları çalışmada ise, kurkumin yüklü hibrit polimer ve lipid temelli nanopartiküller hazırlanarak bu partiküllerin MCF-7 hücreleri üzerindeki antitümör etkinliği değerlendirilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda nanopartikül boyutunun 187 nm olduğunu ve MCF-7 hücrelerinde ki tümör için alternatif ilaç taşıyıcı sistem olabileceği kanısına varılmıştır.

Katı lipid nanopartiküller emülsiyon, lipozom ve polimerik nanopartiküllerin sağladığı avantajların kombinasyonunu içerdiği için son yıllarda giderek artan bir ilgi görmektedir. Etken maddelerin kontrollü olarak salımına imkan sağlaması, kimyasal ve fiziksel bozunmaya karşı etken maddeyi korumasından dolayı pek çok araştırmacı KLN üzerinde yoğun olarak çalışmıştır. Katı lipid nanopartiküllere yüklenen farklı etken maddeler Çizelge 1.4'de özet halinde verilmiştir.

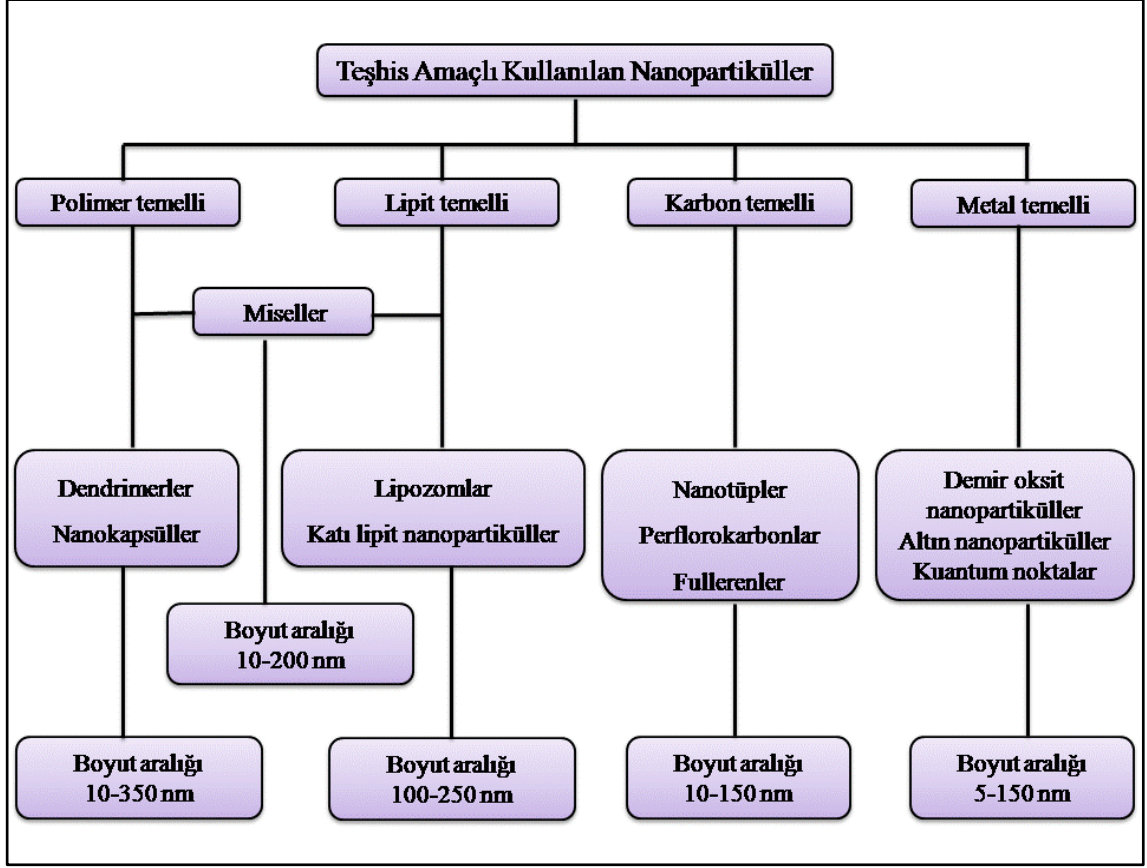
Çizelge 1.4. Katı lipit nanopartiküllere yüklenen farklı etken maddeler

Etken madde	Referans
Diaprezam	Cavalli <i>et al.</i> 1997
Retinol	Müller <i>et al.</i> 2000
Tobramisin	Cavalli <i>et al.</i> 2002
Triptolid	Mei <i>et al.</i> 2003
All-trans retinoik asit	Hu <i>et al.</i> 2004
Klotrimazol	Souto <i>et al.</i> 2004
Ferrosifen	Allard <i>et al.</i> 2009
	Tiyaboonthai <i>et al.</i> 2007
	Mohanty and Sahoo 2010
	Mulik <i>et al.</i> 2010
Kurkumin	Nayak <i>et al.</i> 2010
	Gao <i>et al.</i> 2011
	Kakkar <i>et al.</i> 2013a
	Kakkar <i>et al.</i> 2013b
	Kumar <i>et al.</i> 2014
Paklitaksel	Banerjee <i>et al.</i> 2014

Yukarıda kısaca bahsedilen çalışmalardan da görüldüğü gibi, katı lipit nanopartiküllerin mevcut koloidal taşıyıcı sistemlere alternatif taşıyıcı bir sistem olarak kullanımları için araştırmalar hızla yapılmaktadır. Kolay üretim, ucuz maliyet imkânı sayesinde KLN'lere olan ilgi giderek artmaktadır.

Radyoaktif işaretli bileşiklerin görüntüleme için yüksek hasasiyetinden dolayı radyoaktif işaretli nanopartiküller tıp alanında klinik uygulamalar için büyük bir öneme sahiptir. Ayrıca radyoaktif işaretli nanopartiküller dolaşımında uzun süre kaldıkları için erken tanı için umut vaat etmektedirler. Bu amaçla radyoaktif olarak işaretlenmiş teşhis

amaçlı kullanılan en yaygın nanopartiküller Şekil 1.1’de verilmiştir. Radyoaktif olarak işaretlenmiş nanopartiküller ile ilgili yapılan bazı çalışmalar ise aşağıda özetlenmiştir.



Şekil 1.1. Radyoaktif olarak işaretlenmiş teşhis amaçlı kullanılan en yaygın nanopartiküller (Barros *et al.* 2012).

Tümör teşhisi için lipozomların uygulanabilirliğini konu alan çalışmada, farklı kanser türüne sahip 17 hastaya ^{111}In -DTPA ile işaretli PEG'leştirilmiş lipozomlar enjekte edildikten sonra sintigrafik görüntüler değerlendirilmiş ve radyoaktif işaretli lipozomların tümör için teşhis ajanı olabileceği belirtilmiştir (Harrington *et al.* 2001).

Yapılan başka bir çalışmada ^{188}Re -BMEDA ile işaretli lipozomların, kolon tümörü oluşturulmuş farelerdeki biyodağılımı, farmakokinetiği ve görüntüleme çalışmaları yapılmıştır. Enjeksiyondan 1 saat, 4 saat, 24 saat, 48 saat, ve 72 saat sonra MicroSPECT/CT görüntüleri çekilmiş ve değerlendirilmiştir. Enkapsüle edilmemiş

^{188}Re -BMEDA ile karşılaştırıldığında, ^{188}Re -BMEDA ile işaretli lipozomların tümör hücreleri tarafından daha yüksek oranda alındığı tespit edilmiştir. Yine biyodağılım çalışmaları ile de enjeksiyondan 24 saat sonra enkapsüle edilmemiş ^{188}Re -BMEDA ile karşılaştırıldığında, ^{188}Re -BMEDA ile işaretli lipozomların tümör hücrelerinde daha fazla tutulum gösterdiği kanıtlanmıştır (Chang *et al.* 2007).

Petersen *et al.* (2011) yaptıkları çalışmada, ^{64}Cu ile işaretli lipozomların kolon kanseri oluşturulmuş fareler üzerindeki etkinliği incelenmiştir. Yapılan biyodağılım çalışmaları ve çekilen PET görüntüsünden sonra ^{64}Cu ile işaretli lipozomların PET görüntüleme ajanı olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.

KLN'lerin i.v enjeksiyonundan sonra canlıdaki biyodağılımını anlamak amacıyla yapılan başka bir çalışmada, ilk önce KLN'ler hazırlanmış daha sonra bu KLN'ler ^{64}Cu ile radyoaktif olarak işaretlenmiştir. Gerekli karakterizasyon çalışmaları yapıldıktan sonra, PET ve gama sayacı yardımıyla ^{64}Cu -KLN'lerin biyodağılımı ve farmakokinetiği incelenmiştir. Sonuç olarak katı lipit nanopartikülerin teşhis amacıyla kullanılabilir olduğu rapor edilmiştir (Andreozzi *et al.* 2011).

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Nükleer Tıp ve Tarihi

Bilimin ve teknolojinin baş döndürücü bir hızla ilerlediği günümüzde tıp alanında da pek çok gelişmeler ve ilerlemeler kaydedilmektedir. Tıpta çeşitli fizyolojik ve fonksiyonel olayların anlaşılmasına yardımcı olarak temel bilimlere ışık tutan nükleer tıp, canlılara verilen radyoaktif maddelerin yaydıkları ışınların özel yöntemleri ile hastalıkların tanısı, tedavisi ve takibinde yeni ufuklar açmaktadır (Görpe ve Cantez 1992).

Nükleer tıp, radyoaktif maddelerle işaretli kimyasal moleküller ve biyolojik materyaller yardımıyla, hastalıkların teşhis ve tedavisi ile uğraşan bir tıp dalıdır. Radyolojideki görüntüleme yöntemlerinin aksine; nükleer tıpta organların yapısından ziyade, fonksiyonu ve çalışma bozuklukları incelenir. En basit ifade ile radyoloji daha çok organların anatomisi ile uğraşırken, nükleer tıp organların fizyolojisi (fonksiyonu) ile ilgilenir (Anonim 2015a).

Çok yönlü ve karmaşık bir geçmişe sahip olan nükleer tıp; fizik, kimya, mühendislik ve tıp gibi farklı alanlardaki bilim adamlarının katkılarıyla zenginleşmiştir. Kökeni birçok bilimsel keşife dayanır. Bu keşiflerin içinde en dikkate değer olanı 1895 yılında X-ışınlarının keşfi ve 1930'lu yılların ortalarında yapay radyoaktivitenin keşfidir. 1937 yılında Berkeley'deki Kaliforniya Üniversitesi'nde bir lösemi hastasının tedavi edilmesi yapay radyoaktivitenin ilk klinik uygulaması olmuştur. 1946 yılında bir tiroit kanseri hastasının radyoaktif iyot ile tedavi edilmesiyle hastalığın tamamen kaybolması, nükleer tıbbın dönüm noktasını teşkil etmiştir. Bu olay nükleer tıbbın başlangıcı sayılabilir. Radyoaktif iyotun kullanımıyla tiroit hastalığının teşhisi ve tiroit fonksiyonlarının ölçümünde artış olmuş ve radyoaktif iyotun değeri şüphe götürmez bir hâl almıştır. Altmışlı yılların ortalarında ve takip eden yıllarda nükleer teknolojiye gelişmelerle nükleer tıp özel bir alan olmaktan çıkıp uzmanlık disiplini haline gelmiştir. Ayrıca,

radyofarmasötikler kullanılarak hastalıkların tedavi edilebilmesi ve organların şekil ve yapılarının görüntülerinin elde edilebilmesi önem kazanmıştır. Bugün 100'den fazla farklı radyoaktif ilâç ile vücuttaki başlıca her organ sistemiyle ilgili başka hiçbir prosedürle alınamayan bilgiler nükleer tıp biliminin sayesinde alınabilmektedir (Anonymous 2015a).

2.2. Radyofarmasötik

Nükleer tıpta kullanılan ve radyoaktif özellik taşıyan farmasötik dozaj şekillerine **radyofarmasötik**, radyofarmasötiklerin formülasyonu, hazırlanması, kalite kontrolü, dozlara bölünmesi, farmakokinetiği ve toksisitesiyle uğraşan bilim dalına ise **radyofarmasi** denilir (Özer 2004).

Şuan reaktör, jeneratör veya siklotron kaynaklı radyonüklidleri kullanarak üretilen, kanser dahil olmak üzere bazı hastalıkların tedavisinde ve pek çok hastalığın teşhisinde kullanılan 100'e yakın radyofarmasötik bulunmaktadır (Çalışkan 2012).

Günümüz nükleer tıbbında hemen hemen radyofarmasötiklerin %95'i teşhis, %5'i ise tedavi amacıyla kullanılır. Radyofarmasötikler pek çok durumda izleyici miktarlarda kullanıldıkları için farmakolojik etkiye sahip değildirler. Bu durumlarda herhangi bir doz- cevap ilişkisi göstermezler ve böylece de geleneksel ilâçlardan farklılık gösterirler. Tedavi edici etkisi olan radyofarmasötikler ise, vücut üzerindeki etkilerini radyasyon (ışın) denen fiziksel özellikleri ile gösterirler. İnsanlara verildikleri için radyofarmasötikler, steril ve apirojen olmalıdırlar ve bir geleneksel ilâç için gerekli olan tüm kalite kontrol ölçümlerine tâbi tutulurlar (Saha 1992).

Radyofarmasötik terimi yaygın olarak kullanılmasına rağmen radyoizleyici, radiodiagnostic ajan, işaretli izleyici gibi terimler de çeşitli gruplar tarafından kullanılmıştır. Sonradan kullanılan bu isimlendirmeler, bu bileşiklerin gerçek anlamda ilâç olarak değil primer olarak teşhis amaçlı ajanlar olarak kullanıldıklarını savunur. Bu görüşlerin aksine FDA, radyofarmasötikleri teşhis veya tedavi ajanları olmalarına

bakmadan, ilâç olarak kategorize etmektedir. Dikkat edilmesi gereken bir diğerk nokta da radyokimyasallar ile radyofarmasötikler arasındaki farklılıktır. Radyokimyasalların sterilite ve apirojenite eksikliğinden dolayı insanlara verilmesi uygun değildir. Diğerk taraftan radyofarmasötikler steril ve apirojendirler ve insanlara güvenle verilebilirler. Radyokimyasallar steril ve apirojen hale getirilseler bile ilâç ruhsatlama ile ilgili ulusal ve uluslararası mevzuatlar tamamlanmadan radyofarmasötik olarak kullanılamazlar (Saha 1992).

Birçok biyolojik süreç ölçümünün hassas bir şekilde yapılabilmesine izin verdiği için radyofarmasötikler büyük bir öneme sahiptir. Manyetik rezonans görüntülemesi (MR), X-ışını görüntülemesi ve bilgisayarlı X-ışını görüntülemesi gibi yöntemlerle iyi bir görüntü alınsa da bu yöntemlerle alınan biyolojik bilgiler sınırlıdır. Örneğin, bütün manyetik rezonans yöntemleri için biyolojik ölçüm yapılacak bölgenin konsantrasyonu (molaritesi) milimolar mertebesinde iken, radyofarmasötikler için bu limit pikomolar mertebesinde dir. Görüntüleme de ki bu hassaslık avantajları nedeniyle radyofarmasötikler, birçok hastalığın teşhisinde kullanılmaktadırlar (Cherry *et al.* 2012).

İşaretlenmiş bileşik şeklindeki bir radyofarmasötik iki etkin bileşimden oluşur. Bunlardan birisi **biyoaktif bileşen** diğerk de **radyonüklittir**.

❖ **Biyoaktif Bileşen**

Yapısında bulundurduğu radyonüklidi vücudun içinde bilgi alınması istenen organ, doku veya bölgeye götüren, organda lokalize olarak organ hakkında fizyolojik bilgi veren etken maddedir (Saha 1992).

Biyoaktif bileşenin, vücuttaki biyolojik davranışı, yapılması istenilen incelemeye uygun, vücudun belirli bir organ, doku veya bölgesinde lokalize olmalıdır. Tanı için gerekli zaman ve yeterli miktarda lokal radyasyon birikimi sağlandıktan sonra vücuttan hızlı bir şekilde atılmalıdır. Bu şekilde taşıdığı radyoaktivitenin tamamını istenilen yere götürece k ve inceleme bittikten sonra, vücutta daha fazla kalmayacaktır.

Radyofarmasötiğin kullanıldığı andaki aktivitesinin yarıya inmesi için geçen süreye **fiziksel yarı ömür** (T_{fizik}), radyofarmasötiğin vücuttan dışkı, idrar, solunum veya diğer yollar ile atılarak başlangıçtaki miktarının yarıya inmesi için geçen süreye **biyolojik yarı ömür** ($T_{biyolojik}$) denir. Radyonüklidin vücutta kalma süresi, radyofarmasötiğin biyolojik yarı ömrü ve taşıdığı radyonüklidin fiziksel yarı ömrünün birlikte sorumlu oldukları **etkin (efektif) yarı ömür** (T_{eff}) denilen bir kavram ile ilgilidir. Etkin yarı ömür ise, aşağıda eşitlikle ifade edilir:

$$\frac{1}{T_{(eff)}} = \frac{1}{T_{(fizik)}} + \frac{1}{T_{(biyolojik)}} \quad (2.1)$$

Gerek görüntüleme gerekse tedavi amacıyla uygun radyofarmasötiklerin geliştirilmesi için, uygun biyoaktif bileşenin seçilip, uygun radyonüklidler ile işaretlenmesi gerekir (Görpe ve Cantez 1992).

❖ Radyonüklid

Yayınladığı radyasyondan yararlanarak vücut dışından izlenebilen (tanı) veya vücut içinde bulunduğu dokuyu tahrip eden (tedavi) bileşendir.

Radyonüklid, vücudun hedeflendirilen bölgesine uygun bir farmasötikle kontrol edilir. İlgili organa gitmiş olan radyonüklid, kendi doğasından gelen ışınlarını sürdürür. Bu ışınlar, vücut dışına yerleştirilmiş radyasyon dedektörleri ile kaydedilir. Radyofarmasötiğin gittiği bölgede eğer bir doku farklılaşması varsa dedektörün kaydettiği radyasyon şiddeti azalacak veya artacaktır. Dolayısıyla, organın film üzerine alınmış görüntüsünde farklı renkteki kısımlar hastalıklı bölgeler olarak algılanacaktır (Büyükkaya 2011).

Teşhis ve tedavi amacıyla kullanılan radyonüklid atomlar birbirlerinden farklı özelliklere sahiptir. Teşhis amacıyla kullanılan radyonüklidin yayınladığı radyasyon

vücut dışından izlenebilmeliyken; tedavi amacıyla kullanılan radyonüklidin vücut içinde bulunduğu dokuyu tahrip etmesi gerekir (Sarıkaya ve Enginar 2013).

Teşhis amacıyla kullanılacak bir radyonüklid aşağıdaki özelliklere sahip olması gerekmektedir (Saha 1992; Qaim 2001; Büyükkaya 2011):

- Radyonüklidin yarılanma süresi hastada en az doz birikimi ve en az yan etki sağlayacak kadar kısa olmasının yanı sıra sintigrafik inceleme yapabilecek kadar da uzun ömürlü ve etkin olmalıdır.
- Radyonüklidin fiziksel yarı ömrü H/BG (Hedef/Background) oranının maksimuma ulaştığı süreden daha fazla olmalıdır (≈ 6 saat).
- Tanı amacıyla kullanılacak radyonüklid saf gama yayıcısı olmalıdır. Gama radyasyonu ile birlikte beta veya alfa radyasyonları gibi parçacık özelliği taşıyan radyasyonlar yayınlamamalıdır. Radyonüklidin alfa ya da beta yayınlaması tercih edilmez. Çünkü bu parçacıkların lineer enerji transferi (LET) değerleri, yani birim yolda aktardıkları enerji miktarı çok yüksektir. Dolayısıyla, alfa ve betalar vücut dışına çıkamaz ve görüntülenemez. Ayrıca verdikleri radyasyon dozu oldukça büyüktür. Gama ışınları ise vücut dışına çıkıp görüntülenebilir.
- Tanı amacıyla kullanılacak radyonüklidin gama enerjisi 100 keV ile 250 keV arasında olmalıdır. Çünkü gama kameranın foto çoğaltıcı tüpün bu enerji aralığında maksimum duyarlılığa sahiptir. Yüksek enerjili radyonüklid kullanımı görüntü kalitesini düşürür.
- Radyonüklidin bozunması sırasında yüksek oranda tekli ve yüksek enerjiye sahip gama ışını verebilmelidir. İyi bir görüntü sağlanabilmesi için fotonun yoğunluğunun yüksek olması istenir.
- Radyonüklidin bozunma ürünü kararlı olmalıdır. Bozunma ürünü radyonüklid, fazladan doz içermemeli ve görüntüde de karışıklığa neden olmamalıdır.
- Radyofarmasötikğin kimyasal kararlılığı yüksek olmalıdır. İstenilen ve hedeflenen yapıya ulaşmadan bozunmamalıdır.
- Radyonüklid kolayca elde edilebilmeli ve fiyatı da makul olmalıdır.
- Verilen radyofarmasötikğin hastada toksik bir etki göstermemesi gerekir.

- Tanı amacıyla kullanılacak radyonüklidin birçok bileşikle kolaylıkla bağ yapabilmesi gereklidir.

Tedavide kullanılacak bir radyonüklidin ise aşağıdaki özelliklere sahip olması gerekmektedir:

- Teşhis radyofarmasötiklerinin aksine tedavi radyofarmasötikleri hücreleri yok etmek içindir. Bu nedenle tedavi radyofarmasötikleri saf beta yayıcısı olmalıdır. Betaların yüksek LET değerleri dokuları kolay öldürebilmelerine neden olur.
- Hastalıklı dokuları yok etmek için, tedavi radyofarmasötiklerinde radyonüklidlerin yüksek enerjili parçacıklar yayması istenir.
- Uygun bozunma karakteristiğine ve biyokimyasal aktiviteye sahip olmalıdır.
- Bozunma şekline bağlı olarak istenen yarı ömür 6 saat ile 7 gün arasında olmalıdır.
- H/BG oranı yüksek olmalıdır yani hedef dokuda yüksek oranda birikirken normal dokuda birikmemelidir.
- Biyokimyasal reaktivitesi teşhis için kullanılan radyonüklidlerden beklenen özellikler ile aynıdır. Bununla beraber tedavi amacı ile kullanılan radyofarmasötiklerin daha uzun süre kararlı kalması istenir.
- Verilen radyofarmasötiğin hastada toksik bir etki göstermemesi gerekir.
- Tedavi amacıyla kullanılacak radyonüklidin de birçok bileşikle kolaylıkla bağ yapabilmesi gereklidir.
- Radyofarmasötiklerin temin edilmesi kolay ve ucuz olmalıdır (Volkert *et al.* 1991; Qaim 2001; Büyükkaya 2011).

Radyofarmasötikler geliştirilirken yukarıda belirtilen ideal kavramlar genellikle tam manasıyla sağlanamamıştır. Fakat hastaya radyonüklid verileceği zaman mümkün olan en düşük radyasyon dozu tasarlanmalı ve sintigrafik incelemenin en yüksek verimle yapılabilmesi için yeni radyofarmasötiklerin geliştirilmesinde, ideal şartlara en yakın sınırlar belirlenmelidir.

2.3. Radyonüklid Üretimi

Doğada bulunan radyonüklitler çok uzun yarı ömürleri sebebiyle nükleer tıpta kullanılmaya uygun değildir. Bir başka deyişle nükleer tıpta kullanılan radyonüklitlerin hepsi yapay olarak elde edilirler ve üretim yöntemleri bakımından genel olarak üç gruba ayrılırlar;

- ❖ Nükleer reaktörler,
- ❖ Yüklü parçacık hızlandırıcıları,
- ❖ Radyonüklid jeneratörler

Nükleer tıpta kullanılan radyonüklidlerin tümü çeşitli tiplerdeki nükleer reaktörler veya parçacık hızlandırıcılarda üretilir. Bu üretimler aşağıda belirtilen belli başlı nükleer reaksiyonlardan herhangi birisi ile gerçekleşebilir (Görpe ve Cantez 1992).

Fisyon (bölünme): Ağır çekirdekli bir atomun ikiye ve daha fazla parçaya bölünmesidir. Oluşan daha küçük parçalara fisyon ürünü atomlar denir. Bu olay spontan olarak veya nötron bombardımanı sırasında olabilir ve genellikle gama ışını şeklinde enerji salınımı olur. Uranyum ve Plutonyum bu yolla parçalanırlar ve bazı radyonüklidler bu yolla elde edilir. Örneğin, Uranyum-235'den bölünme yoluyla ⁹⁰Stronsiyum, ⁹⁹Molibden, ¹³¹İyod, ¹³³Xenon gibi nüklidler elde edilir.

Füzyon (birleşme): Hafif çekirdeklerin birleşerek daha ağır bir çekirdek oluşturmasına füzyon denir. Bu sırada nötron ve enerji salınımı olur. Bu olay aşağıdaki reaksiyonla ifade edilebilir;



Bu reaksiyon döteryum çekirdeklerinin aşırı hızlandırmaları ile çok yüksek sıcaklıklarda gerçekleşir. Nükleer tıpta uygulama alanı yoktur, daha çok termonükleer silah teknolojisinde kullanılır.

Nötron yakalaması veya aktivasyonu: radyonüklidler en sık bu yöntemle elde edilir. İki şekilde gerçekleşir.

- Nükleer reaktörde bulunan stabil bir çekirdek içine bir nötron gönderilmesi ve bunun sonucunda bir gama ışını salınmasıdır ve (n,γ) şeklinde gösterilir. Elde edilen ürün ana nüklidin bir izotopu olduğundan kimyasal yöntemlerle ayrılamaz.

Bu reaksiyon şematik olarak aşağıdaki eşitlikle ifade edilir;



- Çekirdeğe bir nötron gönderilmesi ve bunun sonucunda bir proton ve atom numarası farklı bir element oluşması olayıdır. Bu reaksiyonda, hedef ve ürün çekirdekler farklı elementlere ait olduklarından kimyasal yöntemlerle ayrılabilirler.

Bu reaksiyon şematik olarak aşağıdaki eşitlikle ifade edilir;



Nötron aktivasyonu yöntemi nükleer tıptan başka adli tıpta da kullanılır. Ağır metallerin dokularda araştırılmasında, serumda eser miktarlarda bulunan elementlerin ölçümünde, insan saçının ayırıcı tanısında yardımcı olan bir yöntemdir (Görpe ve Cantez 1992).

2.3.1. Nükleer reaktörler

Nükleer tıpta kullanılan ve nükleer reaktörlerde üretilen radyonüklidler, nükleer reaktörlerdeki subnükleer parçacıklarla (nötron, proton vb.) bombardımanı yoluyla elde edilen kararsız çekirdeklerdir (Görpe ve Cantez 1992).

Temel ilke: Bir nükleer reaktörün bölünmeye uğrayabilen zenginleştirilmiş Uranyum-235 (^{235}U) ve doğal Uranyum-238 (^{238}U)'den oluşan bir çekirdeği vardır. U-235 spontan olarak çekirdek bölünmesine uğrar ve iki ayrı hafif çekirdeğe dönüşür, bu arada iki ya da üç bölünme nötronu yayar. Bu fisyon nötronları diğer U-235 ve U-238 atomlarını bombardıman ederler.

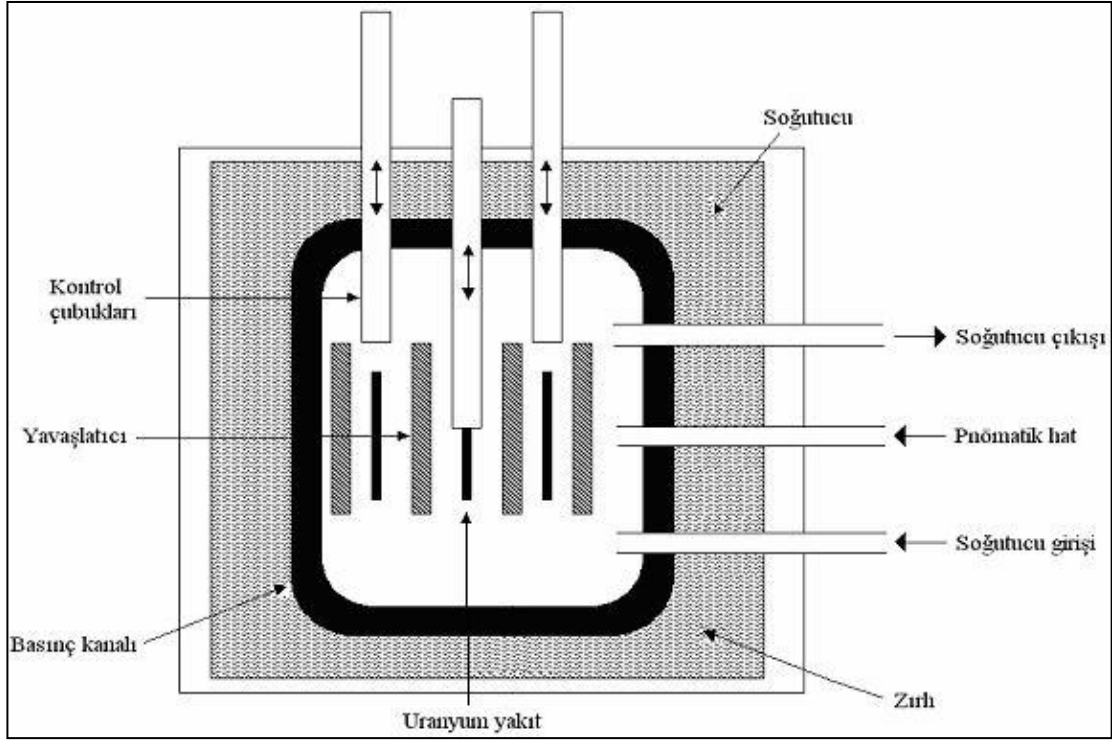
Uranyumun nötron yayarak bozunması aşağıdaki denklem ile ifade edilebilir;



U-236 çok kararsız olup hızla, bir ileri bölünmeye daha gider. Böylece bir dizi fisyon nötronu ve bunların bombardımanı sonucu fisyon ürünleri oluşur. Nükleer reaktördeki bu kontrollü duruma nükleer zincir reaksiyonları adı verilir.

Bir nükleer reaktörün şematik gösterimi Şekil 2.1'de şematik olarak gösterilmektedir. Uranyum reaktörün yakıt hücrelerini oluşturur. Yakıt hücrelerinin çevresinde moderatör denilen ve bölünme nötronlarını yavaşlatmak amacıyla bulundurulmuş çubuklar vardır. Böylece oluşan bu yavaş nötronlar zincirleme bölünme olaylarını daha etkili bir şekilde başlatırlar. En sık kullanılan moderatör döteryum içeren ağır su ya da grafitir. Ayrıca kontrol çubukları denilen gerek yakıt hücrelerini birbirinden ayırt etmek için, gerekse bunların arasında yerleşmek üzere konulan kuvvetli nötron absorbe edici materyaller bulunur. Kadmiyum veya borondan yapılmışlardır. Yakıt hücreleri ve kontrol çubukları kontrollü bir zincir reaksiyonlarını oluşturmak için dikkatli bir şekilde yerleştirilmelidirler. Eğer çubuklar yanlış yerleştirilirse aşırı sayıda istenmeyen nükleer bölünme oluşabilir ki buda reaktör çekirdeğinin erimesine neden olabilir. Çubukların

arttırılması nötron absorpsiyonunu artırır ve zincirleme reaksiyonları sonlandırır. Bu özellikten reaktörü kapatmada yararlanır (Görpe ve Cantez 1992).



Şekil 2.1. Bir nükleer reaktörün şematik gösterimi (Büyükkaya 2011)

2.3.2. Yüklü parçacık hızlandırıcıları

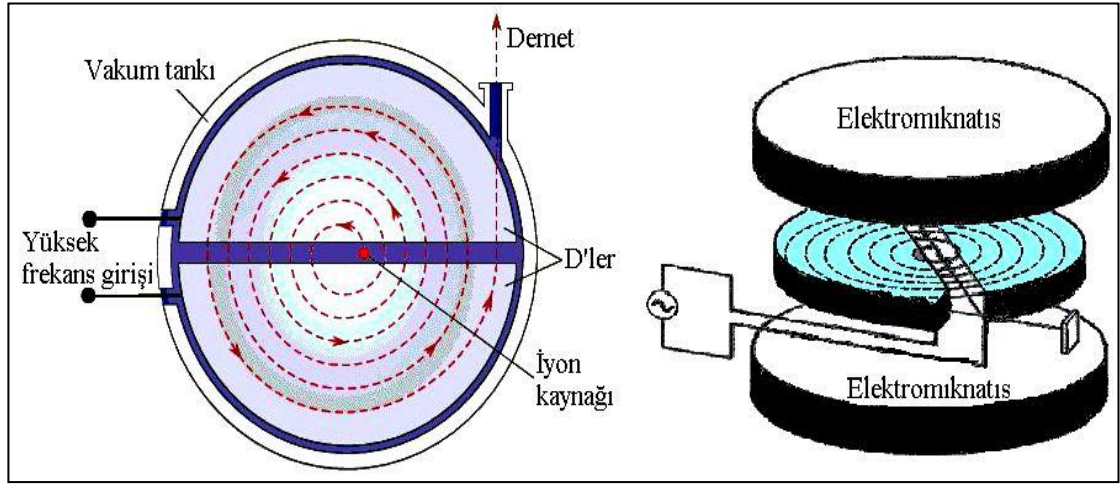
Siklotronlar alfa, döteron, proton, triton gibi yüklü parçacıkların vakum altında spiral bir rota izlerken hızlandırılması esasına dayanarak çalışır. Normal şartlar altında yüklü parçacıklar yeterli enerjileri olmadığı için atom çekirdeği veya yörüngelerindeki parçacıklarla etkileşemezler. Aynı yükler birbirlerini iterler. Ancak bu yüklü parçacıklara yeterli enerji temin edilirse bu itme gücünü yenerek çekirdeğe penetre olabilir ve etkileşimde bulunabilirler. İşte siklotron bu enerjiyi temin eden araçtır.



Şekil 2.2. 30 MeV'lik bir siklotron (Anonymous 2015b)

Çalışma prensibi: Büyük bir elektromanyetik alanın kutupları arasına yerleştirilmiş bir çift içi boş yarım daire şeklinde (D şeklinde) elektrottan oluşur. D'ler birbirinden ince bir aralıkla ayrılmıştır. Yüklü parçacıklar aralığın orta kısmına konulan bir iyon kaynağından elde edilir. İşlem sırasında elektrotlara yüksek frekanslı alternatif akım uygulanır. Kaynaktan çıkan parçacıklar uygulanan voltaj nedeniyle yarım dairelerden birine yönelirler. Manyetik alandan dolayı D içinde dairesel hareketler çizerek ortadaki ince aralığa gelirler, buradan karşıdaki yarım daireye geçerek dairesel hareketlerine devam ederler. İnce aralıktan her geçişte 200 keV'luk enerji kazanarak giderek hızlanırlar.

Siklotron aktivasyonlarında genelde yüklü partiküllere pozitif yük yüklenir, bu nedenle ürünler elektron yakalanması veya pozitron yayılımı ile bozunurlar. Çekirdeğe pozitif yük eklenmesi atom numarasını değiştirir. Bu nedenle siklotron ürünleri genellikle carrier-free'dir. Nükleer reaktörlerde elde edilene göre daha küçük miktarlarda ürün elde edilir. Bu nedenle siklotron ürünleri daha pahalıya mal olur.



Şekil 2.3. Siklotronun üstten ve yandan şematik gösterimi (Büyükkaya 2011)

Siklotronda üretilen ve nükleer tıpta kullanılan radyonüklidlere örnek olarak ^{11}C , ^{15}O , ^{13}N , ^{18}F , ^{67}Ga , ^{111}In , ^{123}I ve ^{201}Tl verilebilir (Görpe ve Cantez 1992; Cherry *et al.* 2012).

2.3.3. Radyonüklid jeneratörler

Bir radyonüklid jeneratörü, bir apareyde bulunan ana-yavru nüklid çiftinin ayrılmasına ve yavru nüklidin ürün olarak elde edilmesine imkân veren bir sistemdir. Yavru ürün, ana nüklidin bölünmesiyle devamlı olarak tazelenir ve tekrar tekrar sağılabilir (Görpe ve Cantez 1992).

Nükleer tıpta yaygın olarak kullanılan radyoizotop jeneratör sistemleri Çizelge 2.1'de gösterilmiştir. Bunların içinde en önemlisi ve en çok kullanılanı ^{99}Mo - $^{99\text{m}}\text{Tc}$ jeneratör sistemidir. $^{99\text{m}}\text{Tc}$, 140 keV enerjili gama fotonu yayar. Bu özellikteki ışınlar gama kameralar için çok idealdir. 6 saatlik bir yarı ömür, görüntüleme avantaj sağlayıp radyasyon dozunun az olması yönünden elverişlidir. Ayrıca, biyoaktif moleküller ile geniş bir işaretleme spektrumuna sahiptir (Görpe ve Cantez 1992).

Çizelge 2.1. Yaygın olarak kullanılan radyoizotop jeneratör sistemleri (Saha 1992).

Ana nüklid	T _{1/2}	Yavru nüklid	Bozunma tipi	T _{1/2}
⁶² Zn	9,3 saat	⁶² Cu	β ⁺ , EC	9,7 dakika
⁶⁸ Ge	275 gün	⁶⁸ Ga	β ⁺ , EC	68 dakika
⁸² Sr	25 gün	⁸² Rb	β ⁺ , EC	1,3 dakika
⁸⁷ Y	80 saat	^{87m} Sr	IT	2,8 saat
⁹⁹ Mo	66,7 saat	^{99m} Tc	IT	6 saat
¹¹³ Sn	120 gün	^{113m} In	IT	99,4 dakika
⁸¹ Rb	4,58 saat	^{81m} Kr	β ⁺ , EC	13,3 saniye

*EC: elektron yakalama

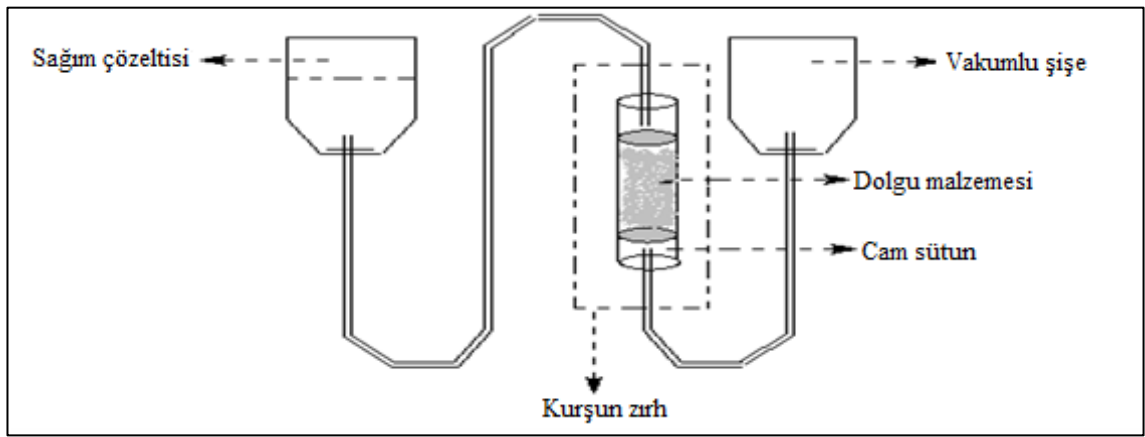
IT: izomerik geçiş

İdeal bir jeneratör sistemi aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır (Kowalsky and Perry 1987; Saha 1992).

- Şayet klinik uygulamalarda kullanılacaksa, jeneratörden elde edilen ürün steril ve ajirojen olmalıdır.
- Yavru nüklidin kimyasal özellikleri ana nüklidin kimyasal özelliklerinden farklı olmalıdır.
- Jeneratör olarak %0,9 NaCl çözeltisi ile sağılmalı ve kimyasal reaksiyon olmamalıdır.
- Yavru nüklid kısa yarı-ömürlü gama yayıcı bir radyonüklid olmalıdır.
- Ana nüklidin yarı-ömrü, yavru nüklidin yeniden oluşması için kısa olmalı, fakat pratik uygulama için de yeteri kadar uzun olmalıdır.
- Yavru nüklidin kimyası bilhassa kit formunda bileşikler hazırlanabilmesi için uygun olmalıdır.
- Pahalı olmamalı ve kullanıcıya minimum doz vermesi için etkin bir zırhı olmalıdır.

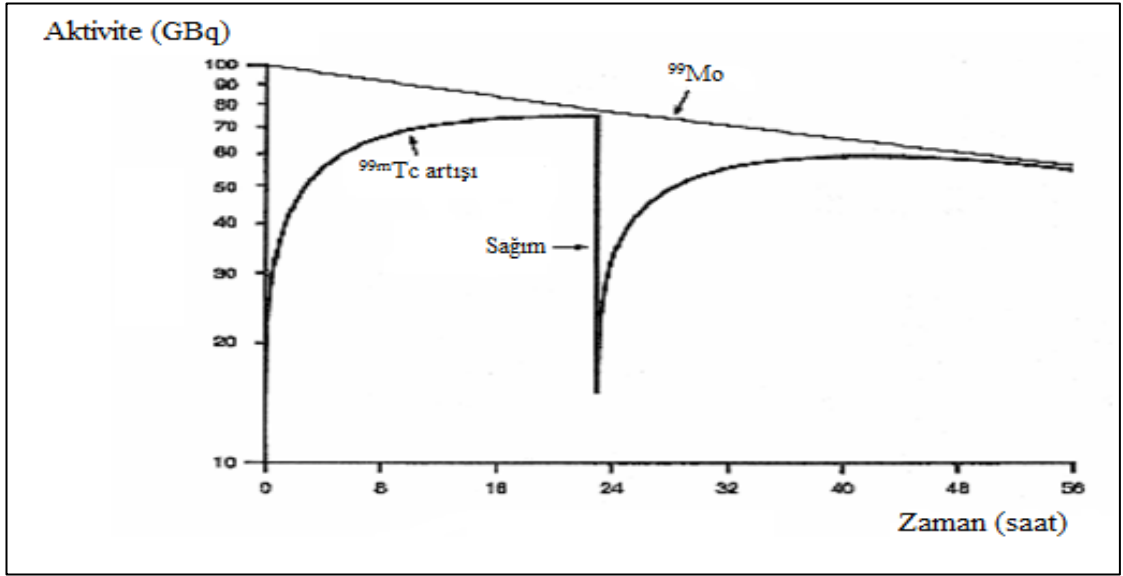
2.4. ^{99}Mo - $^{99\text{m}}\text{Tc}$ Jeneratörü

Nükleer tıptaki en önemli jeneratör sistemi ^{99}Mo - $^{99\text{m}}\text{Tc}$ jeneratörüdür. Bu sistemde, ana radyonüklid (^{99}Mo) bir β^- bozunumu yapar, böylece farklı kimyasal yapıda yavru radyonüklid ($^{99\text{m}}\text{Tc}$) oluşur (Saha 1992). Bu jeneratör sistemi şematik olarak Şekil 2.4'te gösterilmiştir.

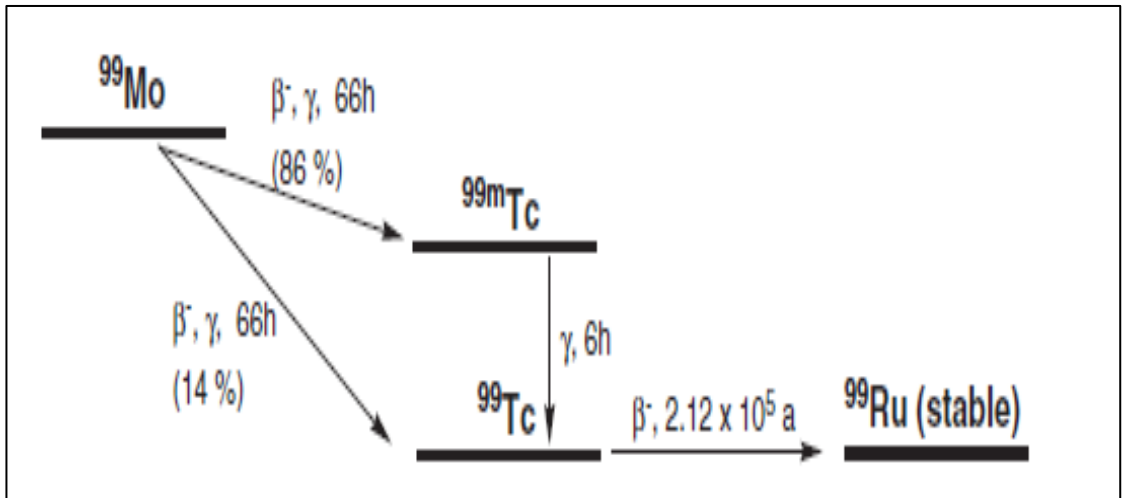


Şekil 2.4. Bir radyonüklid jeneratörünün şematik gösterimi (Büyükkaya 2011)

Bu sistemde ana nüklid Molibdenin adsorbe edildiği ve karşılıklı iyon değişimine olanak veren alüminyum bir sütun bulunur. Sütunun alt ucunda delikli cam bir ızgara, tepesinde ise plastik bir halka vardır. Ticari olarak hazırlanan sistemlerde sterilizasyon, zırhlama ve aletin otomatizasyonu sağlanmaktadır. Rölatif olarak daha uzun ömürlü olan ana nüklid radyoaktif bozunma ile sürekli olarak yavru nüklidi doğurur. Ana nüklid iyon değiştirici sütun üzerinde kalırken yavru nüklid çeşitli ayrıştırma yöntemleri ile ana nüklidden ayrıştırılır ve bu işleme sağılma denir. Serum fizyolojikle sağılan yavru nüklid sütunun alt ucunda birikir. Genellikle $^{99\text{m}}\text{Tc}$ jeneratörden her 24 saatte bir sağılır, çünkü iki radyonüklid arasında dengeye gelme zamanı yaklaşık olarak 23 saattir. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 'in zamanla spesifik aktivitesi azaldığından, kaliteli görüntü elde etmek için jeneratör iki haftada bir değiştirilir (Görpe ve Cantez 1992).



Şekil 2.5. ^{99}Mo - $^{99\text{m}}\text{Tc}$ bozunma ve üreme eğrisi (Büyükkaya 2011)



Şekil 2.6. ^{99}Mo 'un bozunma şeması (Powsner and Powsner 2006)

^{235}U 'in parçalanması ile ^{99}Mo oluşur. ^{99}Mo 'un, 740 – 780 keV enerjili beta bozunumu ile %86'sı $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 'e; %14'ü ^{99}Tc 'a dönüşür. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 'in yarı ömrü 6,01 saat olup 140,5 keV gama saçarak izomerik geçiş ile ^{99}Tc 'a dönüşür. ^{99}Tc beta saçılımı ile ve $2,12 \times 10^5$ yıl yarı ömürle ^{99}Ru 'a dönüşür (Abram and Alberto 2006).

2.5. Teknesyum ve Kimyası

1937 de İtalya da Perrier ve Segre tarafından, Molibden elementinin siklotronunda hızlandırılmış döteronlarla bombardıman edilmesiyle keşfedilmiştir. Teknesyum Yunanca da suni anlamına gelen "technetos" kelimesinden esinlenerek aynı araştırmacılar tarafından adlandırılmış ve kimyasal sembolü Tc olarak belirlenmiştir (Vêrtes *et al.* 2011).

^{99m}Tc ile ^{99}Tc izomer atomlardır. Çekirdeklerinde aynı sayıda nötron ve proton içerip farklı enerji seviyelerinde bulunan atomlara **izomer** denir. İzomerler 'm' harfiyle gösterilir ve bu simge atomun normalden daha yüksek bir enerji seviyesinde olduğunu belirtir. Bu durumdaki atomlara 'metastabil izomerler' denir. Metastabil izomerler çekirdeklerindeki fazla enerjiyi gama ışını olarak yayarak daha düşük enerjili bir hale dönme eğilimindedirler. ^{99m}Tc , düşük enerji seviyesinde olan ^{99}Tc atomuna dönüşmek ister ve bu esnada gama ışını yayar.

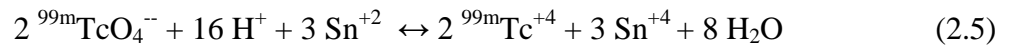
- Sintigrafi için ideal olan 140 keV'lik enerjiye sahip bir gama ışını yayıcı olması,
- Klinik uygulamalar için uygun olan 6 saatlik yarı ömre sahip olması,
- Kimyasal bir substrata bağlandığında oluşan kompleksin yüksek hedef/hedef olmayan bölge dağılımı göstermesi,
- $^{99}\text{Mo} / ^{99m}\text{Tc}$ jeneratörlerinden kolayca elde edilebilmesi,
- Kalite kontrol çalışmalarının kolay yapılabilmesi

gibi özelliklere sahip olduğundan dolayı ^{99m}Tc nükleer tıpta en yaygın olarak kullanılan radyonüklid olmuştur (Çalışkan 2012).

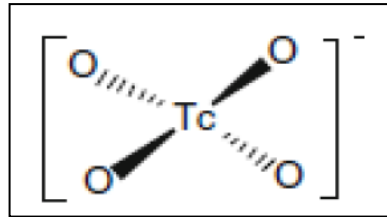
Teknesyum periyodik cetvelde VII-B grubunda yer alır ve -1 ile +7 değerleri arasında değişen 8 tane oksidasyon basamağı olması sebebiyle çok yönlü bir kimyasal yapıya sahiptir. +7 ve +4 basamakları en kararlı halleri olup; oksit, sülfür, halojenür ve perteknetat halleri mevcuttur.

Jeneratörlerden elde edilen Sodyum Perteknetat ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$) formunun oksidasyon basamağı +7'dir. Fakat $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ (perteknetat), +7 oksidasyon basamağında kimyasal olarak reaktif değildir. TcO_4^- 'ün kimyasal reaksiyonlara girebilmesi için Tc^{+7} 'nin daha düşük oksidasyon basamaklarında bulunması gerekir. Bunun için gerekli olan indirgenme işlemi çeşitli indirgeyici ajanlar (Kalay Klorür, Kalay Tartarat, Kalay Sitrat, konsantre HCl, sodyum metabisülfid ve askorbik asit) kullanılarak yapılabilir. Bazı durumlarda ligandın kendisi de indirgeyici ajan gibi davranır. Rutinde en çok kullanılan indirgeyici ajan Kalay Klorürdür (Saha 1992).

Bu reaksiyon mekanizması aşağıdaki denklem ile ifade edilir:



Bu eşitliğe göre $^{99\text{m}}\text{Tc}^{+7}$ den $^{99\text{m}}\text{Tc}^{+4}$ 'e indirgenir. Farklı fizikokimyasal şartlarda +3 ve +5 değerlerine de indirgenmektedir. Jeneratörden elde edilen $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ çözeltisi içindeki $^{99\text{m}}\text{Tc}$ miktarı çok düşüktür. Dolayısıyla $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 'yi indirgemek için çok az Sn^{+2} ye ihtiyaç vardır. Genelde reaksiyonun tamamlandığından emin olabilmek için Sn^{+2} miktarı $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 'un 106 katı fazla kullanılır. Yıllarca süren araştırmalara rağmen $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 'nin reaksiyon mekanizmaları tam olarak açığa kavuşmamıştır (Saha 1992; Çalışkan 2012).



Şekil 2.7. Perteknetat iyonunun kimyasal yapısı (Çalışkan 2012)

^{99}Mo - $^{99\text{m}}\text{Tc}$ jeneratöründen elde edilen Perteknetat iyonu nükleer tıpta şu alanlarda kullanılır (Çalışkan 2012):

- Tiroid sintigrafisi,

- İşaretli kompleksler oluşturmak için ligandlara bağlanma,
- Tükürük bezi sintigrafisi,
- Gözyaşı bezleri sintigrafisi,
- Mide sintigrafisi.

2.6. Radyofarmasötiklerin Kalite Kontrolleri

Radyofarmasötikler insanlara uygulanmak amacıyla hazırlandıkları için diğer tüm ilaçlar gibi radyofarmasötikler de sıkı bir kalite kontrol testlerinden geçirilmek zorundadırlar. Bu testlerden radyokimyasal saflık ve radyonüklidik saflık testleri radyonüklit içerdiklerinden dolayı radyofarmasötikler için özeldir ve konvansiyonel ilaçlara uygulanamazlar (Saha 1992; Sampson 1999).

2.6.1. Radyonüklidik kalite kontrol

Radyonüklidik saflık, bir radyofarmasötikte var olan istenilen radyonüklid aktivitesinin, toplam radyoaktiviteye oranı şeklinde tanımlanır. Safsızlıklar nükleer reaktörlerdeki ikincil nükleer reaksiyonlardan kaynaklanır. İstenilen radyonüklidten başka var olan radyonüklidler hastaya gereksiz ya da fazla radyasyon dozu verilmesine sebep olur. Ayrıca sintigrafik görüntüleme, görülmek istenilen organı örtebilir bu da sintigrafik görüntülerin anlaşılmasını zorlaştırır. Radyonüklidik safsızlık tayininde alfa, beta, gama spektroskopisi teknikleri veya sayım sistemleri kullanılır. Her radyonüklidin yarı ömrü ve yaydığı radyasyonun karakteristik özelliklerden yola çıkarak belirlenir (Saha 1992).

2.6.2. Radyokimyasal kalite kontrol

İşaretlemede kullandığımız radyonüklidin toplam radyoaktivitesinin ne kadarının istenilen bileşiğe bağlanmış olup olmadığının belirlenmesidir. Radyokimyasal safsızlık sıcaklık, pH, ışık değişimi, indirgeyici ve yükseltgeyici ajanların varlığındaki bozunmalardan kaynaklanabilir (Saha 1992).

Çoğu tanı radyofarmasötiklerinde, radyokimyasal saflığın %95'in üzerinde olması istenir. Aksi takdirde radyokimyasal safsızlıklar farklı biyolojik dağılıma sebep olur ve görüntü kalitesini olumsuz anlamda etkiler (Saha 1992).

Radyokimyasal saflık tayininde kâğıt kromatografisi, ince tabaka kromatografisi (TLC), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), jel kromatografisi, elektroforez, iyon değişimi ve distilasyon metodları kullanılır. Radyokromatogramların değerlendirilmesi klâsik sayım tekniği ile veya otomatik olarak spektrum verebilen sistemlerle yapılır (Saha 1992; Taşçı vd 2003).

2.6.3. Kimyasal kalite kontrol

Radyofarmasötikler için uygulanacak olan kimyasal kalite kontrol parametreleri; pH, osmotik basınç, partikül büyüklüğü, renk, berraklık, $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ konsantrasyonu şeklinde özetlenebilir. Kimyasal saflık tayinlerinde spektrofotometrik ve kromatografik yöntemler kullanılabilir (Saha 1992; Sampson 1999).

2.6.4. Biyolojik Kalite Kontrol

Radyofarmasötiklerin büyük çoğunluğu enjeksiyon yolu ile hastaya verildiği için, radyofarmasötikler steril ve apirojen olmalıdır.

Sterilite: Sterilite bir radyofarmasötikte bakteri veya mikroorganizmaların bulunmaması olarak ifade edilir. Tüm radyofarmasötikler insanlara uygulanmak amacıyla tasarlandıkları için, hastaya verilmeden önce uygun metodlarla sterilize edilmelidir. Otoklav, membran filtrasyon ve sterilite testleri sterilize metodlarındandır (Saha 1992).

Pirojenite: Pirojenler mikroorganizmaların metabolizasyonu sonucu üretilen protein yada polisakkaritlerdir. Pirojenler genellikle suda çözünür ve ısıya dayanıklıdır.

Pirojenlerin kaynağı genelde endotokin olarak adlandırılan bakteriyal ürünleri olup parenteral ilaçların hazırlanmasında kullanılan su ve çeşitli kimyasal maddelerde olabilir. Radyofarmasötik solüsyonu hastaya enjekte edildikten sonra, pirojenler ateş, titreme, baş ağrısı, eklemlerde ağrı, halsizlik gibi septomlara neden olurlar. Pirojenik reaksiyonlar nadiren ölümcüldür. Pirojenler, otoklav ve filtre ile sterilize edilemezler. Pirojenik kontaminasyondan kaçınmak için çok saf kimyasallar ve steril malzemeler kullanmak gerekir. Pirojenite kontrolü için rutinde uygulanan testler USP 32 tavşan testi ve *limulus amoebocyte lysate* (LAL) testidir (Saha 1992).

Toksisite: Radyofarmasötikler insanlara uygulanmaya başlanmadan önce, diğer ilaçlar gibi toksik etkisi ve güvenli dozu belirlenmelidir. Radyofarmasötiklere bağlı toksik etkiler vücudun farklı doku ve organlarda fizyolojik fonksiyonlarında değişiklik oluşturabilir hatta ölüme kadar gidebilir (Saha 1992).

2.7. Radyoişaretleme Yöntemleri

Tıp alanında β^- yayınlayan radyonüklidlerin kullanımı sınırlı olmasına rağmen, γ yayınlayan radyonüklidlerin kullanım alanı daha geniştir. γ yayınlayan radyonüklidler özellikle farklı organların in vivo görüntülemesinde kullanılır (Saha 1992).

Radyoaktif olarak işaretli bir bileşikte, biyoaktif bileşiğine ait olan atomlar veya atom grupları radyonüklidteki benzer ya da farklı atom veya atom grupları ile yer değiştirir. İşaretleme sürecinde, biyoaktif bileşenlerin başarılı bir şekilde işaretlenmesi için birçok fizikokimyasal özellik göz önünde bulundurulmalıdır. Klinik kullanımlarda işaretli bileşikler hazırlamada başlıca 6 önemli teknik vardır. Bu işaretleme metotları Çizelge 2.2'de özetlenmiştir (Saha 1992).

Çizelge 2.2. Genel radyoışaretleme metodları (Saha 1992)

Radyoışaretleme Metodları	Örnekler
İzotop değişimi	^{125}I işaretli T3 (^{125}I -triiodothyronine) ve ^{125}I -T4 (^{125}I - thyroxine) ^{14}C , ^{32}S , ^3H - işaretli bileşikler
Yabancı bir işaret girişi	Tüm $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - radyofarmasötikleri ^{125}I ile işaretli proteinler ^{125}I ile işaretli hormonlar ^{111}In ile işaretli hücreler
Bifonksiyonel şartlar ile işaretleme	^{111}In -DTPA-albumin $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA-antikor
Biyosentez	^{75}Se -selenometiyonin ^{57}Co -siyanokobalamin ^{14}C ile işaretli bileşikler
Geri tepme ile işaretleme (Recoil)	^3H - işaretli bileşikler
Eksitasyon (Excitation)	^{123}I - işaretli bileşikler (^{123}Xe den bozulma) ^{77}Br - işaretli bileşikler (^{77}Kr den bozulma)

2.7.1. İzotop değişimi metodu

Moleküldeki bir veya birden fazla atomun, aynı elementin farklı kütle numaralarına sahip izotopları ile yer değiştirmesi esasına dayanır (Saha 1992).

2.7.2. Yabancı işaretin girişi metodu

Radyonüklitin biyoaktif bileşene kovalent veya kordine kovalent bağlarla bağlanması esasına dayanır (Saha 1992).

2.7.3. Biyofonksiyonel şelatlar ile işaretleme metodu

EDTA, DTP gibi biyofonksiyonel şelat ajanları çeşitli proteinlerin işaretlenmesinde kullanılır. Bu metotta önce proteinler biyofonksiyonel şelat ajanları ile kompleks oluşturur daha sonra oluşan bu kompleks şelasyon ajanları vasıtasıyla uygun radyonüklid ile işaretlenir (Saha 1992).

2.7.4. Biosentez metodu

Biosentezde, canlı bir organizma radyoaktif izleyici içeren kültür ortamında büyütülür. Radyonüklid, organizmanın metabolitik işlemleri sonucu oluşan metabolitlere katılır. Daha sonra metabolitler kimyasal olarak ayrılır. Örneğin, B12 vitamini *Streptomyces Griseus*'un ürediği bir kültür ortamına ⁶⁰Co veya ⁵⁷Co ilave edilerek radyoaktif olarak işaretlenebilir (Saha 1992).

2.7.5. Recoil (Geri Tepme) işaretleme metodu

Nükleer reaksiyon sırasında, çekirdekten partiküller yayıldığında, hedef materyaldeki diğer moleküller ile etkileşmesi sonucu ortamda iyonlar oluşmasıdır. Yüksek enerjili atomlar işaretleme veriminin düşmesine ve spesifik aktivitenin yüksek olmasına sebep olur. Kullanım alanı geniş değildir (Saha 1992).

2.7.6. Eksitasyon işaretleme metodu

İşaretlenmek istenen molekülün, ana radyonüklitin nükleer bozunması sonucu oluşan iyonlarla kompleks oluşturmasıdır. Düşük verimli bir metottur (Saha 1992).

2.8. Radyonüklid Görüntüleme Yöntemleri

Nükleer tıpta görüntü elde etmenin yolu radyoaktif maddenin hedef organda tutulmasıyla sağlanır. Radyoaktif madde hedef organda ne kadar yoğunlukta tutulur ve zemin aktivite ne kadar az olursa görüntüleme kaliteside o kadar iyi olur.

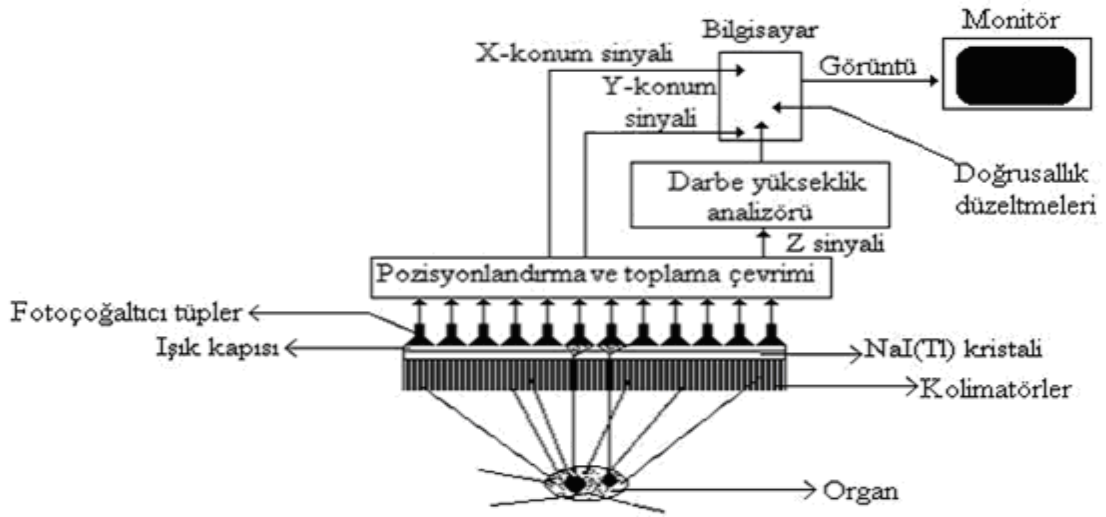
Radyonüklidin vücut içerisindeki dağılımının görüntülenmesi ile anatomik bilgiler, bu dağılımın zamana göre değişikliklerinin saptanması ile de fizyolojik bilgiler elde edilir. Radyonüklidin vücut içerisindeki dağılımı, radyasyonun parlamalar halinde ışığa cevirdiği (sintilasyon) dedektörlerle belirlenir. Bundan dolayı bu yöntem sintigrafi olarak adlandırılır. Sintigrafi bir tanı yöntemidir. İncelenecek her organ için farklı bir radyofarmasötik verilir ve bu radyofarmasötiğin tetkik edilecek organda tutuluşu, dağılımı, atılışı gibi özellikleri incelenir (Anonim 2015a).

Görüntüleme sistemleri, tetkik edilecek organa uygun olarak seçilen radyofarmasötiğin, radyoaktif bir element ile kimyasal olarak bağlanıp hastaya verilmesinden sonra hedef organdan çıkan ışınların vücut dışından dedekte edilmesi ilkesine göre çalışır (Demir 2008).

Görüntüleme sistemleri, kullanılan radyoaktif madde ve görüntüleme cihazının özelliklerine göre ikiye ayrılmaktadır:

2.8.1. Planar görüntüleme sistemleri

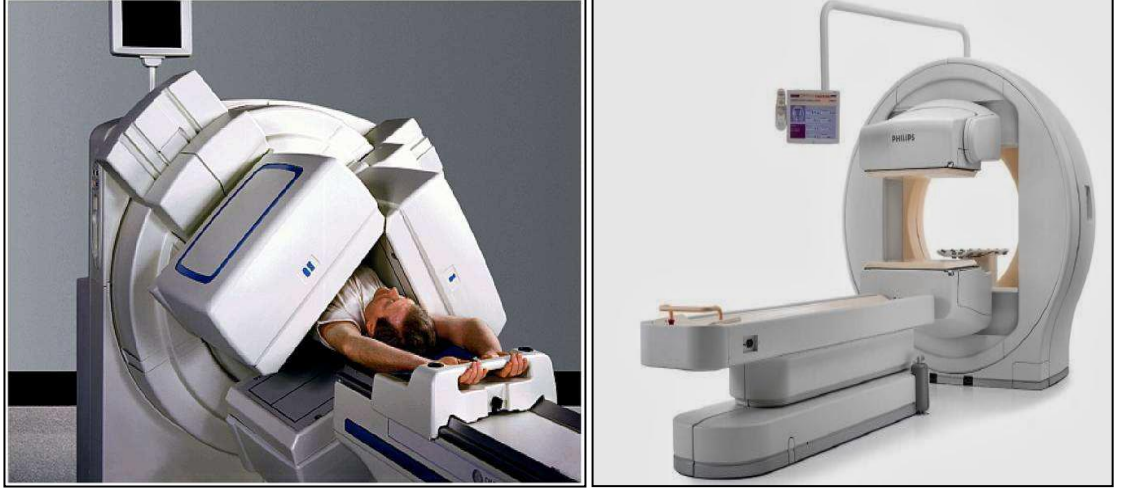
Vücuda verilen radyofarmasötüğün yaydığı gama ışınların, bir gama kamera tarafından saptanması ve bilgisayar ortamında iki boyutlu olarak görüntü haline getirilmesi ilkesine dayanarak çalışır. Gama kameralar ilk kez 1957’de Anger tarafından geliştirildiği için bu isimle de anılırlar. Çalışma temeli şudur; sintilasyon dedektörü olan inorganik kristaller (NaI(Tl)) gama ışınlarına duyarlıdır ve gama ışınlarına maruz kaldıklarında florasan etki göstererek bir ışık oluşur. Bu ışık, dedektörün arka kısmındaki fotoçoğaltıcı tüpte çoğaltılıp elektrik akımına çevrilir. Bu elekttriksel akım, bir bilgisayara aktarılır ve görüntü elde edilir (Büyükkaya 2011).



Şekil 2.8. Gama kameranın çalışma prensibi ve bileşenleri (Büyükkaya 2011)

Elektromanyetik radyasyonun tüm çeşitleri gibi gama ışınları da izotropik olarak yayılır. Sadece bir dedektör kullanarak görüntü elde etmeye çalışmak ışının hastanın vücudundan çıktığı nokta ve dedektöre geldiği nokta arasında bir bağlantı olmayacağından başarısız olacaktır. Bu sebepten gama kameralarda kolimatörler kullanılır. Kolimatörler, gama kameralarda kristalin ön tarafında bulunan, genellikle kurşundan imal edilen yapılardır. Kolimatörün amacı görüntülenmek istenen bölgenin dışında kalan istenmeyen gama ışınlarını absorbe ederek görüntü netliğini arttırmaktır. Kolimatörler kurşun üzerine açılmış delikler ve bunların arasında bölmeler olacak

şekilde imal edilir. Bu deliklerin uzunluğu, çapı ve sayısı görüntü kalitesine etki eder. Gama kameraların başlıca avantajı, görüntüyü hızlı bir şekilde oluşturması ve böylece kısa sürede birçok görüntü kaydederek bir organdaki kan akışı gibi hareketli biyolojik süreçlerin incelenmesine olanak vermesidir (Görpe ve Cantez 1992; Büyükkaya 2011).



Şekil 2.9. Gama kamera (Anonim 2015b)

2.8.2. Tomografik görüntüleme sistemleri (üç boyutlu)

İki boyutlu görüntüleme sistemlerinde genellikle görüntülenmek istenen alanın altından ve üstünden gelen background ve skatter ışınlar dedektör tarafından algılanır. Tomografik görüntüleme sistemleri:

1. Tek foton yayan tomografi (SPECT)
2. Pozitron yayan tomografi (PET) olmak üzere ikiye ayrılır (Görpe ve Cantez 1992).

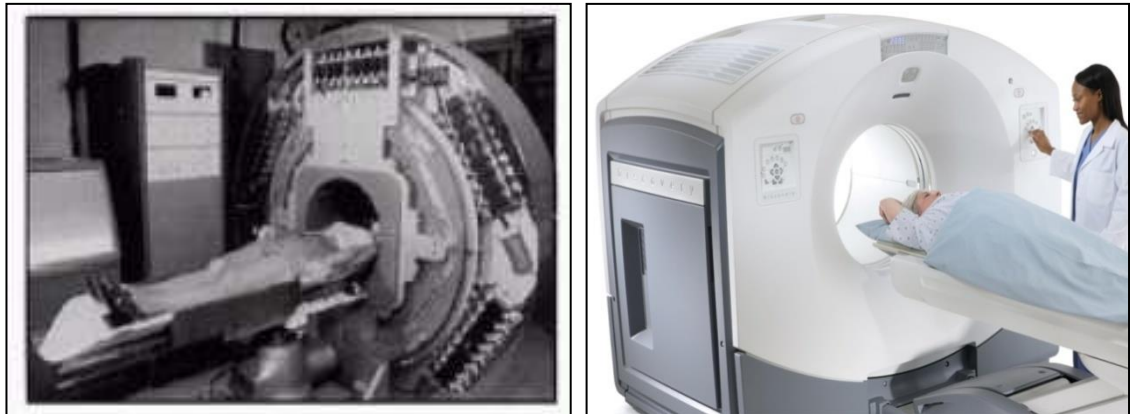
2.8.2.a. Tek foton yayan tomografi (SPECT)

Bu sistemde hasta sabit olarak SPECT masası üzerinde yatarken 360 derece dönebilen bir kamera kullanılır. Kamera hastanın etrafında dönerken belirli aralıklarla durarak gama ışını yayılımlarını tespit eder. SPECT görüntülemeye kullanılan radyonüklitler; ^{99m}Tc , ^{67}Ga , ^{111}In ve ^{123}I 'dir. Düzlemsel gama kameralardan farkı, hastanın etrafında

dönerek farklı açılardan görüntü alabilmesi ve bu görüntüleri bilgisayar ortamında birleştirerek değişik organ kesitlerinin incelenmesine olanak sunuyor olmasıdır (Görpe ve Cantez 1992; Sharp *et al.* 2005; Çalışkan 2012).

2.8.2.b. Pozitron yayan tomografi (PET)

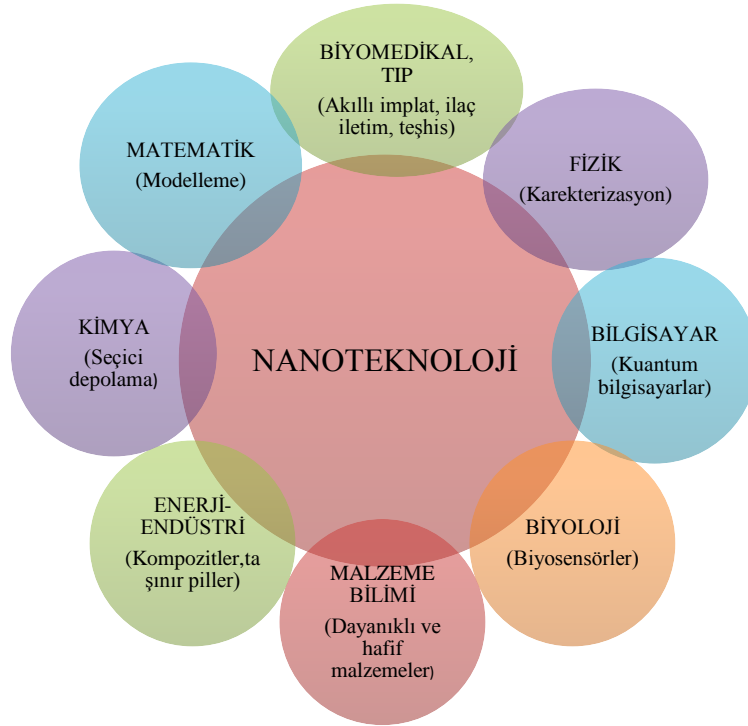
Nükleer Tıp görüntüleme yöntemleri içinde en gelişmiş olanıdır. Birçok hastalığın fizyopatolojisinin anlaşılmasında PET görüntülerinin büyük bir katkısı olmuştur. Anatomik görüntülere ilaveten organların fizyolojisi hakkında da bilgi veriyor olması diğer görüntüleme yöntemlerine göre en büyük avantajıdır. Pozitron yayan tomografinin SPECT'den en önemli farkı kullanılan radyofarmasötikler ve bunları algılayabilen dedektörlerin tasarımıdır. PET görüntülemeye pozitron yayan radyofarmasötikler kullanılır. En önemlileri ve en sık kullanılanları ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F , ^{82}Ru , ^{68}Ga 'dir. Vücudun yapı taşları olan moleküller (su, CO, CO₂, yağ asitleri vb.) bu radyonüklidlerle işaretlenebilmekte ve böylece gerek normal fonksiyonların gerekse hastalıkların altında yatan biyokimyasal ve biyolojik süreçlerin araştırılması PET ile mümkün olmaktadır (Görpe ve Cantez 1992; Sharp *et al.* 2005).



Şekil 2.10. PET Görüntüleme (Anonim 2015c) solda eski model PET cihazı, sağda yeni model PET cihazı

2.9. Nanoteknoloji ve Uygulama Alanları

Son yıllarda kendinden sıkça söz ettiren bilim dallarından biriside nanoteknolojidir. Nano kelimesi Latince ‘nanus’ kelimesinden türetilmiş ve cüce anlamına gelir. Nanometre, bir metrenin milyarda biri karşılığına gelen bir uzunluk ölçüsüdür. Yani, 1 nanometre 10^{-9} metredir ki bu da yan yana dizilmiş 3-5 atom kadar bir uzunluktur (Şenel 2009).



Şekil 2.11. Nanoteknolojinin kullanım alanları

Nanoteknoloji, 1-1000 nm boyutlarındaki malzemelerin dizayn edilmesini, kontrol edilmesini ve atomal seviyede değiştirilip işlevsel hale getirilmesini sağlayan, bu malzemelerden elde edilmiş fonksiyonel sistemlerin uygulanmasını inceleyen, disiplinler arası araştırma geliştirme faaliyetlerinin tümünü temsil eden bir bilim dalıdır (Poole and Owens 2003; Park 2007; Sahoo *et al.* 2007).

Nanoteknoloji yardımıyla maddeyi oluşturan atomların diziliş biçimleri değiştirilip çeşitli başka biçimler verilebilir. Maddeler nano boyutta olağanüstü davranışlar gösterir. Normal koşullarda ışığı ve elektiriği iletmeyen maddeler, nano büyüklükte tam tersi özellikler gösterebilir. Yine normal boyutlarda sert olmayan maddeler, nano boyutlarda elmastan bile sert olabilir. Malzemelerin nano boyutlarda normalde göremediğimiz üstün özelliklerinin ortaya çıkması nanoteknolojiyi ilgi odağı haline getirmiştir (Şenel 2009).

Nanoteknoloji yardımıyla, nanometre boyutlarındaki malzemelerin sahip oldukları üstün fiziksel özellikler kullanılarak çeşitli alanlarda (bilişim ve iletişim, elektronik, biyoteknoloji, farmakoloji, tıp, savunma, tekstil, makine ve inşaat sanayi vb.) teknolojik devrim niteliğinde yeni ürünler elde edilebilmektedir (Singh 2005).

Nanoteknolojinin kapsamı, uygulama alanlarına göre şu iki konu ile ilişkilendirilebilir:

- **Moleküler kontrol:** İstenen ürünlerin elde edilebilmesi için atomların düzenlenmesini amaçlayan bir yöntemdir. Tüm ürünlerin özellikleri atomların nasıl düzenlendiklerine bağlıdır. Moleküler düzeyde ürün ve yan ürünlerin kontrolü esasına dayanır. Mevcut durumdaki makroskobik üretim metodları, moleküler düzeyde çalışmak için yetersizdir. Moleküler nanoteknoloji, moleküler kimya ve fizik ile mekaniksel tasarım, yapısal analiz, bilgisayar bilimi, elektrik mühendisliği ve sistem mühendisliğinin mühendislik temellerini birleştiren, yeni gelişmekte olan disiplinler arası bir sahadır.
- **Kolay tekrarlanabilirlik:** Düşük maliyetli üretimin gerçekleşmesi için nanoteknoloji uygulamasının kolay tasarlanması ve kolay tekrarlanması gerekmektedir. Nanoboyutlardaki ürünlerin, kaliteleri yüksek ve maliyetleri düşüktür (Kaffashi 2013).

Tıp ve malzeme sahasında nanoteknoloji araştırmaları hızlı bir gelişme göstermektedir. Yakın gelecekte ise insanlığın hizmetine sunulacak ürünlerin bu alanlarda olması beklenmektedir.

2.10. İlaç Taşınmasında Nanoteknoloji

İlaç sektörü, beşeri ve veteriner hekimlikte tedavi edici, koruyucu ve teşhis amaçlı olarak kullanılan sentetik, bitkisel, hayvansal ve biyolojik kaynaklı kimyasal maddeleri farmasötik teknolojiye uygun olarak üreterek kullanıma sunan bir sanayi dalıdır (Anonim 2015d).

İlaç sektörü için yeni ilaç taşıyıcı sistemler ilaç sahasında alternatif oluşturmaktadır. İlaç sektörünün üzerinde yoğun çalıştığı alanlar var olan ilaçların ürün ömrünün uzatılması, güvenilirliğinin geliştirilmesi, etkinliğinin artırılması veya ürünün performansının iyileştirilmesi olup, nanoteknoloji, bu alanlardaki birçok avantajı nedeniyle ilaç sektörü tarafından yoğun bir şekilde kullanılmaktadır (Kaffashi 2013).

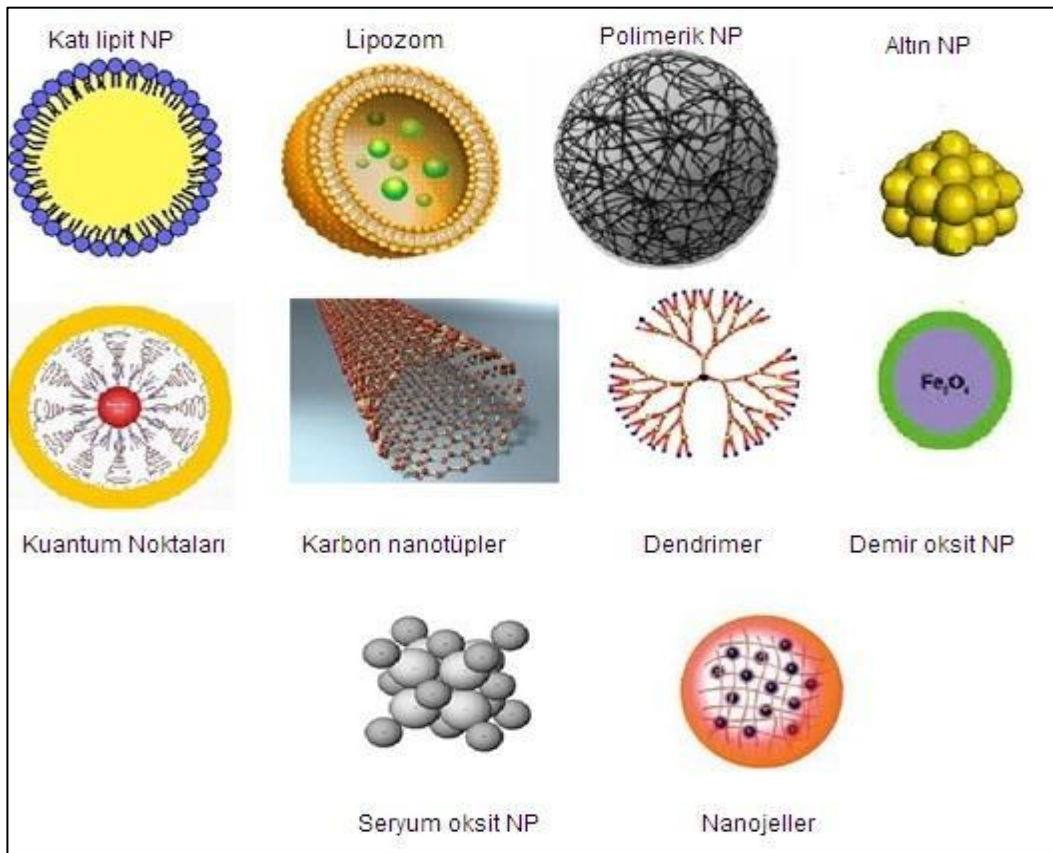
Yeni ilaç taşıma sistemlerinin en önemli özelliği; etken maddenin hedef bölgeye gitmesi ve gönderilen hedef bölgede kontrollü salımının yapılabilmesidir. Ayrıca esneklik, fiziksel durum, şekil, boyut, yüzey özellikleri gibi fiziksel özellikleri de dikkate değer konulardır (Pillai and Panchagnula 2001).

Nanoteknoloji temelli ilaç taşıyıcı sistemlerin geleneksel yöntemlere göre avantajları ise; düşük toksisite, artırılmış biyoyararlanım ve ucuz tedavi maliyeti olarak sıralanabilir. Nanoteknoloji temelli ilaç taşıyıcı sistemler tedavinin yanı sıra teşhiste de kullanılmaktadırlar (Kaş 2002).

İlaç teknolojisi diğer disiplinlere göre nanoteknoloji ile daha erken tanışmıştır. İlaç etken maddelerinin çeşitliliğinin artmasıyla birlikte bu etken maddelerin yan etkilerin azaltılması, biyoyararlanımının artırılması amacıyla birçok ilaç taşıyıcı sistemler

(mikroküre, niozom, lipozom, mikrokapsül, nanosünger, nanopartikül, mikroemülsiyon gibi) geliştirilmiştir (Kaş 2002).

Nanoteknoloji esasına dayanan ilaç taşıyıcı sistemlerden bazıları lipozomlar, kuantum noktalar, karbon nanotüpler, miseller, dendrimerler, nanokapsüller ve nanopartiküllerdir.



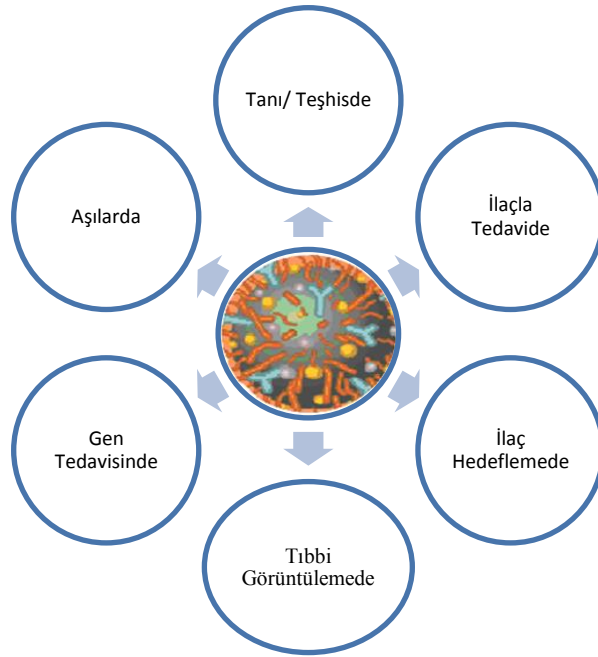
Şekil 2.12. Nanoteknoloji temelli bazı ilaç taşıyıcı sistemler (Kaffashi 2013)

2.11. Nanopartiküler İlaç Taşıma Sistemleri

Geleneksel tedavide gözlemlenen olumsuzlukları ortadan kaldırmak, zayıf kararlılık ve zayıf çözünürlük gösteren, biyolojik yarı ömrü kısa olan ve önemli derecede yan etkilere sahip olan biyofarmasötiklerin hücresel düzeylerdeki etkinliğini artırmak, istenmeyen yan etkilerini azaltıp, biyoyararlanımını ve buna bağlı olarak da terapötik

etkinliğini artırarak, etkin ve güvenli tedavi sağlamak amacıyla nanoteknolojiden faydalanılarak nanopartiküler ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir (Kaş 2002; Farokhzad and Langer 2006; Wu *et al.* 2011).

Nanopartiküller, boyutları 10–1000 nm arasında olan, çözünmüş, hapsedilmiş veya adsorbe olan etken maddeyi kontrollü olarak salan katı kolloidal partiküllerdir. Nanopartiküller, nanoküre ve nanokapsül olarak da isimlendirilmiştir. Nanokapsülde etken madde bir polimerik membran ile çevrilidir. Nanokürede ise etken madde matriks sistem içerisinde homojen olarak dağılmıştır. Etkili ilaç taşıyıcı sistem olarak biyoparçalanabilir nanopartiküllerin üretilmesi son yıllarda büyük ilgili odağı haline gelmiştir (Kaş 2002).



Şekil 2.13. Nanopartiküllerin tıpta kullanım alanları

Nanopartiküler ilaç taşıma sistemleri, polimerik nanopartikül, katı lipit nanopartikül, lipozom, yüzey ya da yağ modifiyeli hidrojeller gibi sistemleridir. İlaç taşıma sistemlerinin yüzey modifiyelerinin araştırılması, nano boyuttaki yapıların fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak daha iyi anlaşılmasını sağlar. Bunun için; yüzey yüklerinin, polidisperslik indekslerinin, partikül boyutunun ve zeta potansiyelinin

ölçülmesi, kararlılık, ilaç salımı ve yükleme kapasitesi gibi fizikokimyasal özellikler incelenmektedir (Sahoo *et al.* 2007).

Nanopartiküler ilaç taşıma sistemlerinin avantajları şu şekilde özetlenebilir:

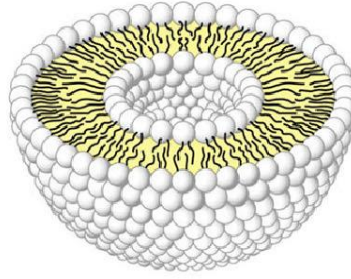
- İstenilen zamanda istenilen bölgeye hedeflenebilirler,
- Küçük boyutları nedeniyle damarlardan geçebilir ve fagositler tarafından tanınmaları zordur,
- Karaciğer, dalak, akciğer, omurilik ve lenf gibi hedef organlara ulaşmak için hücre ve doku boşluğuna nüfuz edebilirler,
- Sıcaklığa, pH'ya, biyobozunurluğa hassas olduklarından dolayı kontrollü salınım yapma özelliğine sahiptirler,
- Etken maddelerin toksik ve yan etkilerini azaltabilir hatta yok edebilirler,
- Kontrollü ilaç salınımı elde etmek için taşıyıcı materyallerin kombinasyonunu ve seçiciliğini sağlarlar,
- Endüstriyel çapta üretimi ve klinik alanda uygulanması kolaydır,
- Yüksek kapsülasyon ve ilaç yükleme kapasitesine sahiptirler,
- Matrikste homojen ilaç dağılımından dolayı tercih edilirler (Kaş 2002; Farokhzad and Langer 2006; Reddy *et al.* 2006; Li *et al.* 2007).

2.12. Nanopartiküler İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Çeşitleri

Mevcut metodlara alternatif olarak yeni ilaç taşıma sistemlerinin geliştirilmesiyle, etken maddelerin yan etkilerinin ortadan kalkması sağlanmıştır. Emülsiyonlar, lipozomlar, niozomlar, katı lipit nanopartiküller gibi lipit bazlı sistemler hidrofobik ilaçların zayıf çözünürlük sorunlarının üstesinden gelmek için geliştirilmektedir. Nanopartiküler ilaç taşıyıcı sistemlerin çeşitleri aşağıda özetlenmiştir.

2.12.1. Lipozomlar

Kolloidal ilaç taşıyıcı sistemlerden biri olan lipozomlar, yaklaşık 0,02-3,5 μ çapındaki küresel veziküllerdir. Hücre membranına benzer yapıda olan çift tabakalı lipit yapısından oluşur. Lipozomlar, hidrofilik ve hidrofobik etken maddeleri taşıma ve koruma yeteneklerine sahip olduklarından dolayı yaygın bir şekilde ilaç taşıma sistemi olarak kullanılmaktadır (Kaş 2002; Shao *et al.* 2006; Ishida *et al.* 2006).



Şekil 2.14. Lipozom'un yapısı (Hong *et al.* 2009)

Lipozomlar'ın avantajları aşağıda özetlenmiştir (Kaş 2002):

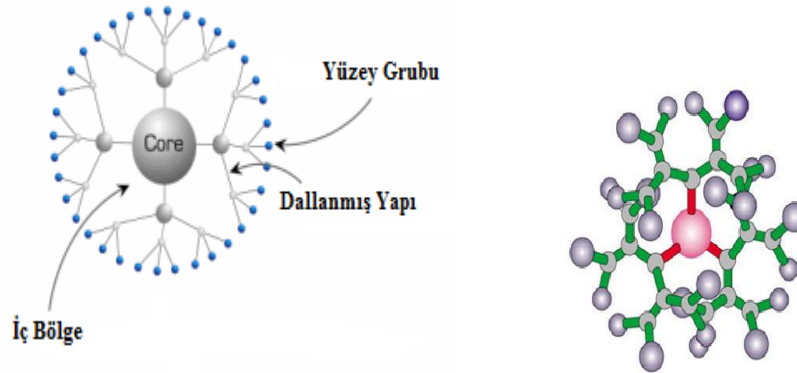
- Vücudun yapı taşı olan fosfolipitlerden oluştukları için biyolojik olarak yıkılırlar, immünojenik ve toksik özellik göstermezler,
- Etkin maddeyi enzimatik etkilerden korurlar,
- Küçük dozlarda terapotik etki sağlayabilirler,
- Kontrollü salım yapabilirler,
- Yan ve toksik etkileri azaltır veya tamamen ortadan kaldırabilirler,
- Yarılanma ömrü kısa olan maddelerin yarılanma ömrünü uzatabilirler,
- Suda ve yağda çözünen etken maddeleri taşıyabilirler,
- İlacı hedeflenen bölgeye götürebilirler,
- Özel bölgelere hedeflenebilirler,
- İlacın toksisitesini azaltabilirler.

Lipozomların dezavantajları aşağıda özetlenmiştir (Kaş 2002).

- Fiziksel ve kimyasal olarak stabilite sorunu olduğundan dolayı raf ömrünün kısa olması,
- Endüstriyel boyutta üretimlerinin zor olması,
- Ekonomik olmamaları,
- Uzun hedefleme yapılamamaları,
- Sterilize sorunlarının olmasıdır.

2.12.2. Dendrimerler

Yunancada ağaç benzeri anlamında kullanılan “dendra” kelimesinden esinlenerek isimlendirilmiştir. Dendrimerler, boyutları 10-100 nm arasında değişen makromolekülleri bir arada tutan bir çekirdek, dallanmış molekülardan oluşan iç bölge ve birçok sayıda fonksiyonel grubu olan suda çözünebilir, hedefleme ve modifiye yapılabilen küresel ilaç taşıyıcılardır. İç çekirdek moleküllerin merkezini oluşturur ve dışa doğru dallanarak genişler. Dendrimerlerin yüzey alanına, fonksiyonel gruplar sayesinde gerek hidrofilik gerekse hidrofobik etken maddeler yüklenebilir (Tomalia 2005; Bharali *et al.* 2009; Pal and Nayak 2010).



Şekil 2.15. Dendrimer'in yapısı

Dendrimerler, ilaç taşıma sistemi olarak tanı ve teşhis amacıyla kullanılmaktadır. Etken maddeler ya iç bölgeye veya kimyasal yöntemlerle yüzeye bağlanarak istenilen bölgelere hedefleme yapılmaktadır.

Dendrimerlerin avantajları aşağıda özetlenmiştir.

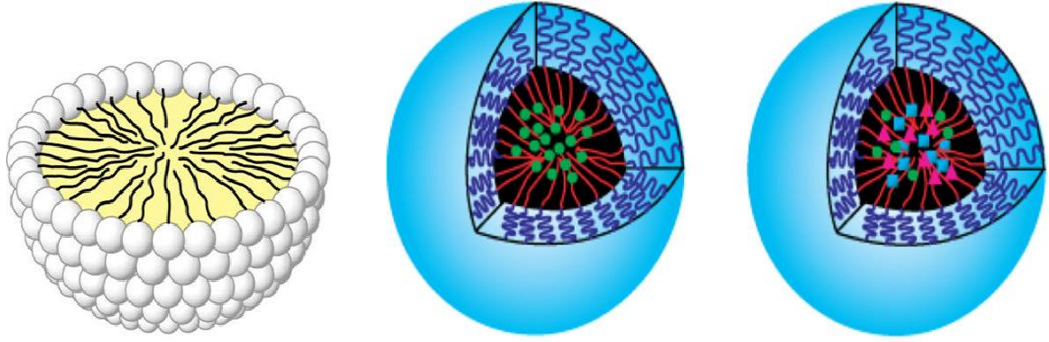
- Nanoboyuta sahip olmaları,
- Çok sayıda fonksiyonel yüzey gruplarının olması,
- Yüzey alanı fonksiyonel gruplar ile modifiye edilerek biyouyumluluğu artırılabilir,
- Dendrimerlerin iç kısmına yüklenen etken maddelerin toksisitesi azaltılabilir ve kontrollü salımı gerçekleştirilebilir,
- Pozitif yüklü dendrimerler değişik derecelerde toksisite gösterirken negatif yüklü ve nötr dendrimerler genellikle biyolojik olarak uyumlu olması gibi avantajları vardır (Bharali *et al.* 2009).

Dendrimerlerin dezavantajları aşağıda özetlenmiştir.

- Yapımında reaksiyon oluşturulması için çözücünün kullanılması,
- Üretim için metal katalizöre ihtiyaç olması,
- Üretim sırasında ortamda gaz fazında oluşan bileşikler istenmeyen bir desen oluşturabilir,
- Çok düşük molekül ağırlıklı etken maddelerin hedeflendirilmesinin oldukça zor olması (Wu *et al.* 2002; Gillies and Frechet 2005; Killops *et al.* 2008).

2.12.3. Miseller

Nanoboyutlarda ki bir başka ilaç taşıma sistemi olan miseller, termodinamik olarak kararlı bir yapıya sahiptirler. Miseller sulu bir faz içinde amfifilik polimerlerin çözüldürülmesi ile oluşturulan, 10-100 nm aralığında boyuta sahip ilaç taşıyıcılardır (Lukyanov and Torchilin 2004). Bir çekirdek ve amfifilik blok kopolimerlerden oluşurlar. Çekirdekleri genellikle hidrofobik yapıdayken dış kabuk hidrofilik yapıdadır. Sulu çözelti içinde dış kısmında hidrofilik katman, iç kısmında ise hidrofobik çekirdek olacak şekilde düzenlenmiştir. Dış kabuk, ilaç yüklü iç çekirdeği korumaktadır (Shin *et al.* 2009).



Şekil 2.16. Misel yapısı (Hong *et al.* 2009)

Misellerin avantajları aşağıda özetlenmiştir (Lukyanov and Torchilin 2004; Bae *et al.* 2007; Ye *et al.* 2008; You *et al.* 2008).

- Hidrofobik ilaçların çözünürlüğünü ve farmakokinetik özelliklerini artırabilirler,
- Yapısal ve kinetik stabilitesi yüksektir,
- Nano boyutta partikül büyüklüğüne sahiptir,
- Yavaş bir dağılım gösterir,
- Yüksek termodinamik özellikleri vardır,
- Yüklenen ilacın toksisitesini azaltabilirler,
- Misellerin yüzeylerine antikor, peptid, hormon gibi düşük molekül ağırlıklı moleküller ile işlevselleştirerek hedefleme yapılabilir.

Misellerin dezavantajları aşağıda özetlenmiştir (Shin *et al.* 2009).

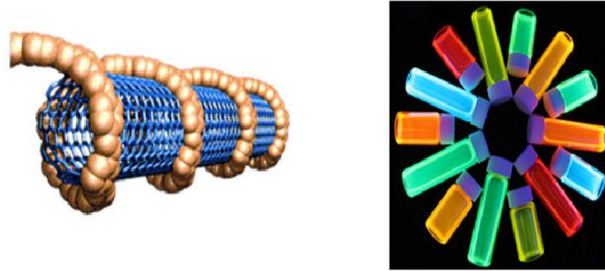
- Çözücüye gereksinim duyulması,
- Üretimde kullanılan yüzey etken maddelerinin toksisiteye sebebiyet vermesi,
- Üretimde kullanılan ve yüklenecek maddenin birleşme özelliğinin düşük olması nedeniyle hızlı salım yapması,
- Misellerde ilaç yüklemesi ve hedeflemesi her zaman aynı olmamasıdır.

2.12.4. Karbon nanotüpler

Hastalıkların tanı ve tedavisinde kullanılabilme potansiyeli olan ilaç taşıyıcı sistemlerden birisi de karbon nanotüplerdir. Diğer nanopartiküllere nazaran karbon nanotüpler biyolojik uygulamalarda daha dinamik bir yapıya sahiptir. Hücresel boyutlardan daha küçük bir büyüklüğe sahip olan karbon nanotüpler özellikle kanser mutasyonlarının belirlenmesinde kullanılmak üzere incelenmektedir. Modifiye edilmiş karbon nanotüpler vücut için toksik değildir ve kanser tedavisi için etken maddeleri hücrelere taşıyabilir (Madani *et al.* 2011).

2.12.5. Kuantum noktalar

2 ile 10 nm çapında olan, CdSe (kadmiyum selenid), CdTe (kadmiyum tellurid) ve InP (indiyum fosfit) gibi yarı iletkenlerden oluşan nanokristallerdir. Görüntüleme, teşhis ve tedavide floresan problemleri olarak kullanılır. Optik ve elektrik özellikleri organik floresan proteinlerine nazaran daha mükemmeldir (Pal and Nayak 2010).



Şekil 2.17. Karbon nanotüp (sol) ve kuantum noktalar (sağ) (Hong *et al.* 2009)

2.12.6. Katı lipit nanopartiküller

Geleneksel ilaç taşıyıcı sistemlerin (emülsiyon, lipozom ve polimerik nanopartiküller vb.) dezavantajlarını ortadan kaldırılabilmek için 1990'lı yıllarda mevcut koloidal sistemlere alternatif taşıyıcı bir sistem olarak KLN'ler geliştirilmiştir. KLN'ler 50-1000

nm arasında boyuta sahip, vücut ve oda sıcaklığında katı halde bulunan lipitten oluşan, yüzeyinde tek tabaka halinde fosfolipit molekülü bulunan bir katı hidrofobik çekirdekten ibaret, lipozom ve nanopartikül arasında bir yapıda olan, ilaç taşıyıcı olarak kullanılan katı partiküllerdir.

2.13. Katı Lipit Nanopartiküllerin Genel Özellikleri

KLN'ler genel olarak katı lipitler, yüzey etken maddeler (emülgatör) ve sudan oluşmaktadır. Lipit kelimesi geniş manada kullanılmakta olup, tristearin gibi trigliseridleri, Imwitor gibi kısmi gliseridleri, stearik asit gibi yağ asitlerini, kolesterol gibi steroidleri ve setil palmitat gibi mumları kapsar. Lipit dispersiyonunu stabilize etmek için, yüklerine ve molekül ağırlıklarına bağlı olarak bütün emülgatör tipleri kullanılabilir (Mehnert and Mäder 2001; Numanoglu ve Tarımcı 2006).

Çizelge 2.3. KLN hazırlanmasında kullanılan lipitler ve yüzey etken maddeler (Manjunath *et al.* 2005)

Lipit Matriks	Yüzey etken maddeler
Stearik asit	Polisorbat (Tween® 20, 60, 80)
Palmitik asit	Fosfatidil kolin (Epikuron® 170, 200)
Behenik asit	Poloksamerler (Poloxamer® 188, 182, 407)
Gliseril monostearat (Imwitor® 900)	Yumurta lesitini (Lipoid® E 80)
Gliseril behenat (Compritol® 888 ATO)	Soya lesitini (Lipoid® S75, S100)
Gliseril palmitostearat (Precirol® ATO 5)	Bütanol
Witepsol E85, H5, W35	Bütirik asit
Softisan	Sodyum dodesil sülfat
	Tyloxopol

KLN'lerin avantajları aşağıda özetlenmiştir (Müller *et al.* 2000; Kaş 2002; Manjunath *et al.* 2005; Blasi *et al.* 2007; Kaur *et al.* 2008; Kathe *et al.* 2014).

- Düşük sistemik toksisite ve düşük sitotoksisiteye sahip olması,
- Nano boyutta olması,
- Biyo uyumlu olması,
- Hapsedilmiş etken maddeleri kontrollü bir şekilde salabilmesi,
- Yüzey özelliklerinin işlevselleştirilmesi ile istenilen bölgelere etken madde taşıyabilmesi,
- Kimyasal bozunmalara karşı etken maddeyi koruyabilmesi,
- Fizyolojik bileşenlerden yapıldığı için, parçalanma ürünlerinin toksik olmaması,
- Endüstriyel ölçekte üretilebilme ve üretim maliyetinin düşük olması,
- Etken maddenin yan etkilerini azaltması veya tamamen ortadan kaldırması,
- Yapımında özel bir çözücüye gerek duyulmaması,
- Sterilize edilebilmesi,
- Püskürterek kurutulabilme ve toz formunda dondurulabilmesi,
- Liyofilik ve lipofilik etken maddeleri yükleyebilmesi,
- Oral, dermal, rektal, transdermal, vs. gibi yollardan uygulanabilmesidir.

KLN'lerin dezavantajları aşağıda özetlenmiştir (Müller *et al.* 2000; Kaş 2002; Kathe *et al.* 2014).

- Partikül boyutunun zamanla büyümesi,
- Jelleşme eğiliminin olması,
- Nispeten düşük etken madde yükleme kapasitesine sahip olması,
- Katı lipitin beklenmedik polimorfik geçişleri nedeniyle, etken maddenin taşıyıcıdan dışarı sızması,
- KLN dispersiyonlarının su içeriğinin (%70–99,9) yüksek olması,
- Ortamda farklı kolloidal yapıların da bulunması,
- Vücutta dolaşım zamanının kısa olması,
- Fiziksel olarak stabil olmamasıdır.

2.14. Katı Lipit Nanopartikül Hazırlama Yöntemleri

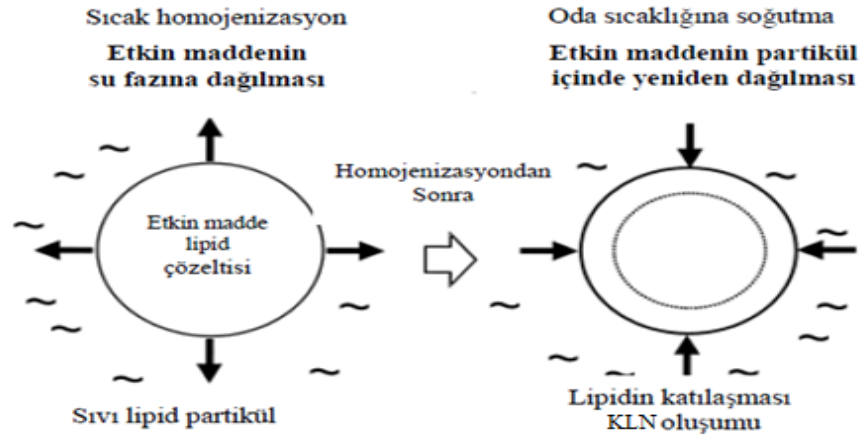
2.14.1. Yüksek basınçlı homojenizasyon yöntemi

1950 yıllarında geniş ölçekte KLN hazırlanması için etkili bir yöntem olarak ortaya çıkmıştır. Yüksek basınçlı homojenizatörler, sıvıyı birkaç mikron genişliğindeki dar bir delikten, yüksek bir basınçla (100-2000 bar) iterler. Sıvı, çok kısa bir mesafede çok yüksek bir hıza (1000 km/saat'in üzerinde) ulaşır. Çok yüksek kayma stresi (gerilimi) ve kavitasyon kuvvetleri, partikülleri nanoboyut büyüklüğünde parçalar. Yüksek basınçlı homojenizasyon yöntemi iki şekilde gerçekleştirilebilir; sıcak homojenizasyon ve soğuk homojenizasyon. Her iki metod için de etken madde, erime derecesinin 5-10°C üzerinde eritilmiş olan lipitte dağıtılır veya çözündürülür (Müller *et al.* 2000; Mehnert and Mâder 2001; Numanoglu ve Tarımcı 2006).

2.14.1.a. Sıcak homojenizasyon

Etken madde, erime noktasının 5-10°C üzerinde bir sıcaklığa getirilmiş olan lipit içerisinde çözündürülür veya dağıtılır. Etken madde içeren eriyik, aynı sıcaklıktaki sulu yüzey etken madde çözeltisi içinde yüksek hızda karıştırma ile dağıtılır. Elde edilen sıcak ön emülsiyon homojenizatörden geçirilir ve oluşan sıcak y/s (yağ/su) nano-emülsiyonu oda sıcaklığına soğutulur. Bu şekilde lipit katılarak (rekristalize olması) katı lipit nanopartiküller elde edilir. Bununla birlikte, kısa zincirli yağ asitlerinden oluşan veya erime sıcaklığı oda sıcaklığına çok yakın olan, düşük erime derecesine sahip gliseritlerin nanoemülsiyonları daha düşük sıcaklıklarda soğutmak gerekli olabilir. Rekristalizasyon, liyofilizasyon ile de sağlanabilmektedir. Partikül boyutlarının küçük olması ve yüzey etken maddelerin varlığı nedeniyle, katı lipit nanopartiküllerin sulu dispersiyonları püskürterek kurutma yöntemi veya liyofilizasyon ile kuru toz haline getirilip daha uzun süre saklanılabilir (Freitas and Müller 1998; Mehnert *et al.* 2001; Kaş 2002; Numanoglu ve Tarımcı 2006).

Sıcak homojenizasyon yöntemi, yüksek sıcaklığa maruz bırakılan sürenin çok kısa olması sebebiyle ısıya duyarlı maddelere de uygulanabilir. Yüksek sıcaklığa çok duyarlı olan maddeler ile hidrofilik maddeler soğuk homojenizasyon yöntemiyle hazırlanırlar (Müller *et al.* 2000; Kaş 2002; Suresh *et al.* 2007)



Şekil 2.18. Sıcak homojenizasyon yöntemi ile KLN üretimi (Numanoğlu ve Tarımcı 2006)

2.14.1.b. Soğuk homojenizasyon

Bu yöntemin ilk aşaması sıcak homojenizasyondaki aşamaya benzer, lipit eritilir ve etken maddenin erimiş lipit de çözünmesi sağlanır. Daha sonra erimiş lipit içinde çözülmüş olan etken madde kuru buz veya sıvı nitrojen kullanılarak hızla soğutulur. Soğutularak katı hale gelen karışım öğütülerek, 50–100 µm boyutundaki katı lipit mikropartiküller elde edilir. Toz ürün, sulu soğuk yüzey etken madde çözeltisinde dağıtılır. Elde edilen bu ön-süspansiyon oda sıcaklığında veya oda sıcaklığı altında homojenize edilir ve bu şekilde KLN elde edilmiş olur. Soğuk homojenizasyon tekniği sıcak homojenizasyon ile karşılaştırıldığında, daha büyük partikül boyutu ve daha dar boyut dağılımına sahiptir (Numanoğlu ve Tarımcı 2006).

Her iki homojenizasyon yöntemi de %40'a kadar olan lipit konsantrasyonlarında işlem yapmak için uygundur ve genel olarak, küçük partikül boyut dağılımları vermektedir (Wissing *et al.* 2004; Numanoğlu ve Tarımcı 2006).

2.14.2. Yüksek hızda karıştırma ve / veya ultrasonikasyon yöntemi

Bu yöntemde lipit ve etken madde birlikte lipit erime derecesinden 5-10°C daha yüksek bir sıcaklıkta eritilir ve yüksek devirde, aynı sıcaklığa getirilmiş sulu yüzey etken madde çözeltisi ile karıştırılır. Yüksek devirli homojenizatörlerde 20000 ile 24000 arasında değişen devir/dk hızında çalışılmaktadır. Oluşan ön-emülsiyonun soğutulması sırasında daha düşük devirlerde de karıştırma yapılabilmektedir. Daha sonra ultrasonikasyonla, partiküllerin soğutma esnasında birleşerek, daha büyük partiküller oluşturmasına engel olunmaktadır. Genellikle yüksek devirli karıştırma ve ultrasonikasyon kombine halde ve yüksek sıcaklıklarda uygulanmaktadır (Wang *et al.* 2002; Hou *et al.* 2003).

Bu yöntemin en büyük avantajı oldukça yaygın olarak kullanılabilir ve basit olmasıdır. Ancak dağılımın kalitesi bazen mikropartiküllerin varlığı ile bozulabilmektedir. Bu durum, saklama esnasında partikül büyümesi ile sonuçlanabilmekte ve fiziksel olarak dayanıklılık bozulabilmektedir. Daha yüksek yüzey etken madde miktarları ile bu durumun düzeltilebileceği ancak toksikolojik problemlerin dikkate alınması gerektiği bildirilmiştir. Ayrıca ultrasonikasyonda metal kontaminasyonu da gözlenebilmektedir. Bu sebeple birçok çalışmada dayanıklılığı arttırmak için KLN dağılımlarının daha homojen olması için çaba harcanmıştır. Partikül boyutu birbirine yakın ve fiziksel olarak dayanıklı dağılımlar elde edilebilmiştir (Wissing *et al.* 2004).

2.14.3. Mikroemülsiyon yöntemi

Mikroemülsiyonlar berrak ya da çok az bulanık, çoğu durumda yüzey etken maddenin yanında bir yardımcı yüzey etken madde içeren, lipofilik ve hidrofilik fazdan oluşan sistemler olarak tanımlanmaktadır. Bu metotda önce, lipit (yağ asitleri veya

gliseridler) eritilir. Su, yüzey etken madde ve yardımcı yüzey etken madde karışımı, lipitle aynı sıcaklıkta olacak şekilde ısıtılır ve erimiş lipite eklenerek karıştırılır. Bu maddeler, mikroemülsiyon oluşumu için gerekli oranlarda karıştırıldığında, transparan ve termodinamik olarak stabil bir sistem elde edilir. Oluşan sıcak veya ılık mikroemülsiyon, özel olarak geliştirilen termostatlı bir şırınga kullanılarak, aşırı miktardaki soğuk su (2–3°C) içinde mekanik bir karıştırma ile dağıtılır. Sıcak mikroemülsiyon: soğuk su hacim oranı, 1:25 ile 1:50 arasında değişebilmektedir. Fazla su, ultrafiltrasyon veya liyofilizasyon ile uzaklaştırılır (Müller *et al.* 2000; Mehnert and Mäder 2001; Wissing *et al.* 2004; Numanoglu ve Tarımcı 2006).

Partiküllerin suda çöktürülmesi, KLN dispersiyonunun katı kısmının azalmasına neden olan bir seyreltme olarak adlandırılmaktadır. Bazı teknik işlemler için (tablet ve pellet hazırlanması), sistemdeki fazla suyun giderilmesi gerekmektedir. Mikroemülsiyon yöntemiyle hazırlanan KLN'lerin büyük ölçekli üretimleri geliştirilme aşamasındadır (Cavalli *et al.* 1997; Mehnert and Mäder 2001).

2.14.4. Çözücü emülsifikasyon-evaporasyon veya çözücü difüzyon yöntemi

Çözücü emülsifikasyon-evaporasyon metodunda, yağ/su emülsiyonunun çöktürülmesine dayanan bir yöntemdir. Sjostrom ve Bergenstahl tarafından geliştirilmiştir. Lipit, su ile karışmayan organik bir çözücüde (toluen, kloroform vb) çözülür ve bu çözelti, bir sulu faz içinde emülsifiye edilir. Çözücünün vakum altında buharlaştırılmasıyla, lipit nanopartikülleri oluşarak çöker. Bu yöntemin önemli bir avantajı, hazırlama sırasında ısı uygulanmamasıdır. Bu nedenle, yüksek sıcaklıkta bozulan etken maddelerin yüklenmesi için uygun bir yöntemdir. Yöntemin dezavantajı ise, organik çözücü kullanımının gerekmesidir. Ayrıca, bu yöntem ile büyük ölçekde üretiminin gerçekleştirilmesinde de problemler ortaya çıkmaktadır. Bu yöntem ile elde edilen ürünün ortalama partikül büyüklüğü, organik fazdaki lipitin konsantrasyonuna bağlıdır (Sjostrom and Bergenstahl 1992; Müller *et al.* 2000; Mehnert and Mäder 2001).

Çözücü difüzyon yönteminde; su ile kısmen karışabilen çözücüler (benzil alkol, etil format vb.) kullanılır. Lipit, su ile doyurulmuş çözücüde çözülür ve yüksek sıcaklıktaki, çözücü ile doyurulmuş sulu yüzey etken madde çözeltisi ile emülsifiye edilir. Aşırı miktarda (1:5–1:10 oranlarında) suyun eklenmesinden sonra, organik çözücünün emülsiyon damlacıklarından sürekli faza difüzyonu nedeniyle KLN'ler çöker. Oldukça seyreltik olan dispersiyon, ultrafiltrasyon veya liyofilizasyon ile konsantrale hale getirilmektedir (Wissing *et al.* 2004; Numanoğlu ve Tarımcı 2006).

2.15. Katı Lipit Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

KLN'ler, lipitlerin ve yüzey etken maddelerin sulu dispersiyonlarının homojenize edilmesiyle hazırlanmaktadır. Elde edilen ürünün kalitesinin belirlenmesi için, KLN karakterizasyonunun çok önemli olduğu ve sistemin koloidal olması sebebiyle dinamik olayları da içerdiğinden, bu işlemin zorlu olduğu söylenmektedir. Lipitlerin sadece statik yapılarından dolayı değil, molekül yapılarının dışındaki özelliklerinin kinetikleri açısından da oldukça karmaşık sistemler olduğu belirtilmiştir (Freitas and Müller 1999; Heurtault *et al.* 2003).

2.15.1. Partikül büyüklüğü ve dağılımı tayini

Kolloidal taşıyıcı sistemlerin en önemli fizikokimyasal özelliklerinden birisi partikül büyüklüğü ve dağılımı tayinidir. Partikül büyüklüğünü ve dağılımını etkileyen önemli faktörlerin başında hazırlama yönteminin parametreleri gelmektedir. Örneğin, basıncın veya devir sayısının artırılması ile partiküllerin büyüklüğünde azalma olduğu tespit edilmiştir. Yine, üretimde kullanılan yüzey etken madde tipi ve miktarı da, partikül büyüklüğünü etkilediği belirtilmiştir. Genellikle, yüzey etken madde miktarını belirli bir orana kadar artırmak, ortalama partikül büyüklüğünü azaltmaktadır. Yüzey etken maddeler KLN'lerin hazırlanması sırasında, damlacıkların yüzeylerini kaplayarak damlacık kümeleşmesini ve uzun dönemdeki partikül birleşmesini önleyecek mekanik veya elektriksel engel oluşturmaktadırlar. Damlacıkların stabilitesi yeterince sağlanabilirse, katılaştırma işleminden sonra elde edilen partiküllerin büyüklüğü

nanometrik aralıkta olmaktadır (Demirel ve Yazan 2000; Numanoğlu ve Tarımcı 2006). Partikül büyüklüğünün rutin ölçümleri için en güçlü yöntemler; foton korelasyon spektroskopisi (PCS) ve lazer kırınımı yöntemi (LD)'dir. Coulter Counter metodu ise, koloidal dispersiyonları kararsız hale getiren elektrolitlere ihtiyaç göstermesi ve küçük partiküllerin saptanmasındaki zorluklar nedeniyle, KLN'lerin partikül büyüklüğü ölçümünde nadiren kullanılmaktadır.

PCS, partikülün hareketi sonucunda yansıyan ışığın yoğunluk değişimini ölçerek partikül boyutunu belirler; LD ise ışığın kırınım açısına bağlı olarak partikül boyutunu belirler. Yani her iki yöntemde de ışığın kırılma açısına bağlı olarak partikül boyutu hesaplanır (Mehnert and Mäder 2001).

2.15.2. Partikül şekli tayini

Atomik kuvvet mikroskopisi (AFM) ve elektron mikroskopları KLN'lerin şekillerinin belirlenmesinde kullanılabilir. Düz bir silikon yüzeye sabitlenen nanopartiküllerin şekilleri, AFM ile vakuma ihtiyaç duyulmadan belirlenebilmektedir (Numanoğlu ve Tarımcı 2006).

2.15.3. Etken madde yüklemesi ve yükleme kapasitesi

Lipit moleküllerinin, termodinamik olarak dayanıklı olmadıkları konfigürasyonlarda yüksek hareketliliğe sahip oldukları ve bu konfigürasyonların, daha düşük yoğunluklu ve misafir molekülleri daha rahat barındırabilecek yetenekte olduğu belirtilmektedir. Dayanıklı olmayan modifikasyonlarda ise zamanla, etken madde hareketlenmesi ve açığa çıkması gözlenmektedir. Bu sebeple, etkin maddenin yüklenme kapasitesi, salımı ve KLN sisteminin performansı, ağırlıklı olarak lipit modifikasyonu ile belirlenmektedir. İyi bir yükleme kapasitesi için etken maddenin, erimiş lipitte yüksek oranda çözünmesi gerekmektedir (Mehnert and Mäder 2001).

KLN'nin etken madde yükleme kapasiteleri eriyen yağda ilacın çözünübilirliği, yağ matriksinin yapısı ve yağ matriksinin polimerik durumu ile sınırlıdır. Etken maddeler; yağ asidi zincirleri arasında, lipit tabakaları arasında ve kristal kafesteki kristal noksanlık bölgelerine yerleşirler. Eğer lipit molekülleri mükemmel kristal kafes yapısına sahip olursa, kristal kafes de daha az sayıda kristal noksanlık bölgesi oluşur ve daha az etken madde yerleşir. Farklı zincir uzunluklarında yağ asidi içeren daha kompleks lipitler kullanılarak bu sorun ortadan kaldırılabilir (Numanoğlu ve Tarımcı 2006).

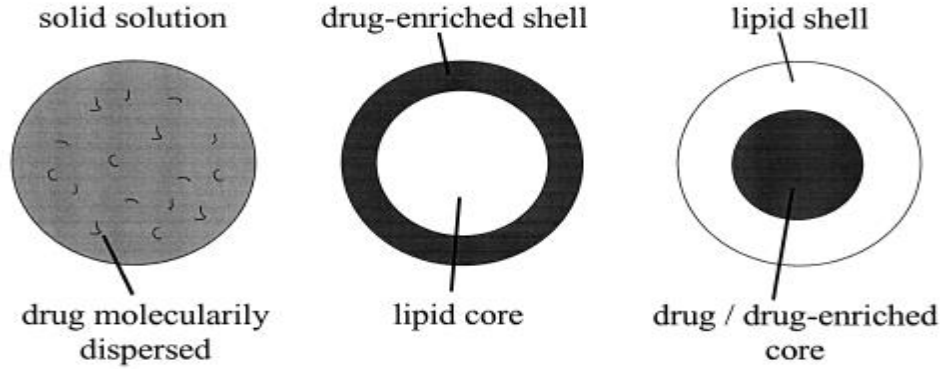
KLN'lere yüklenen etken madde miktarı %1-25 arasında değişmektedir. Yükleme, etken maddenin fizikokimyasal özelliklerine ve üretim tekniğine de bağlıdır. Lipofilik özellikteki maddelerin çekirdek lipit tabakadaki çözünürlüklerinin güçlü olması nedeniyle hiç bir zorluk yaşanmamaktadır. Fakat düşük lipofilik etken maddelerin yüklenmesinde lipofilik özelliklerini artırmak için iyon çiftleri oluşturulmaktadır. İyon çiftlerindeki zincir uzunluğuna bağlı olarak ilaç yükleme kapasitesi de değişmektedir. Hidrofilik etken maddeler ise çoklu mikroemülsiyonlar hazırlanarak yüklenebilmektedir (Kaş 2002; Wissing *et al.* 2004; Üner and Yener 2007).

Etken maddelerin KLN içine yükleme kapasitesini etkileyen faktörler aşağıda belirtilmiştir (Müller *et al.* 2000).

- Katı lipit matriksin kimyasal yapısı,
- Lipit matriksin polimorfik formu,
- Eritilmiş lipit içinde etken maddenin çözünürlüğü.

Etken madde yüklenmesi için üç farklı modelin olduğu söylenebilir (Numanoğlu ve Tarımcı 2006). Bunlar:

- Katı çözelti modeli,
- Etken madde bakımından zengin kabuk içeren çekirdek-kabuk modeli,
- Etken madde bakımından zengin çekirdek içeren çekirdek-kabuk modelidir.



Şekil 2.19. KLN'lerde oluşan etken madde yükleme modelleri (Müller *et al.* 2000)

2.15.4. KLN'lerin stabilitesi

Kolloidal bir ilaç taşıyıcı olarak KLN'nin kullanılması için KLN'lerin uzun süreli fiziksel ve kimyasal kararlılığa sahip olması gerekir. Hazırlanan sulu KLN dispersiyonlarının partikül büyüklüklerinin, 12-36 ay boyunca stabil kalabildiği yapılan çalışmalarda belirtilmiştir. Fakat, bu tüm KLN dispersiyonları için genel bir özellik değildir (Schwarz and Mehernet 1997; Mehnert and Mäder 2001).

Sıvı dispersiyonun, kuru toz şeklinde bir ürüne dönüştürülmesi faydalı ve genellikle de gerekli olmaktadır. Elde edilen katı haldeki ürün, sulu lipit dispersiyonlarından daha iyi bir kimyasal ve fiziksel kararlılığa sahiptir. Ayrıca, KLN granülatları veya tozları; kapsüller içine doldurulabilir, tablet halinde basılabilir veya pelletler içine hapsedilebilir (Mehnert and Mäder 2001; Numanoğlu ve Tarımcı 2006).

KLN dispersiyonları dondurarak kurutma (Liyofilizasyon) ve püskürterek kurutma (Spray drying) yöntemleriyle kuru toz şekline dönüştürülebilmektedir.

2.15.5. KLN'lerin liyofilizasyonu

Liyofilizasyon, KLN'nin uzun süreli kimyasal ve fiziksel kararlılığını artırmak için düşünülen alternatif bir yoldur. Katı şekle dönüşüm, partikül boyutlarındaki artışı ve hidroliz reaksiyonlarını önlemektedir. Liyofilizasyon işlemi sırasında meydana gelebilecek partikül büyüklüğü artışı önlemek için, KLN dispersiyonunun lipit içeriği %5'i aşmamalıdır. Çünkü seyreltilmiş dispersiyonlarda, lipit partiküllerin birbirleriyle direkt teması azalır. KLN'lerin liyofilizasyon sırasındaki agregasyonunu azaltmak, dolayısıyla partikül büyüklüğü artışı önlemek ve kuru ürünün daha iyi bir redispersiyonunu sağlamak için, kriyoprotektanların (dondurma işlemi koruyucuları) eklenmesi gerekmektedir. Farklı lipit nanopartiküller arasındaki etkileşimi önleyen kriyoprotektanlara örnek olarak; sorbitol, mannoz, trehaloz, glukoz, sukroz verilebilir (Mehnert and Mäder 2001; Numanoğlu ve Tarımcı 2006).

2.15.6. KLN'lerin toksisitesi

KLN'ler fizyolojik bileşenlerden yapıldıkları için canlı sistemlerde iyi tolere edilir. Kullanılan yüzey etken maddeler göz önüne alındığında, topik ve oral olarak uygulanan KLN'ler için toksisite herhangi bir sorun teşkil etmez. Çünkü bu uygulama yolları için, partikül büyüklüğü çok kritik bir konu değildir. Oysa, partikül büyüklüğü dağılımı, i.v enjeksiyon için çok önemli bir konudur. Bu yolla uygulamada partikül büyüklüğünün tamamen mikron altı aralıkta olması gerekmektedir ve toksisite çalışmaları yapılmalıdır (Mehnert and Mäder 2001).

2.15.7. KLN'lerin sterilizasyonu

KLN'lerin sterilizasyonu pulmoner, parenteral ve oküler uygulamada büyük bir önem teşkil etmektedir. Aseptik üretim, filtrasyon, gama radyasyon, buhar ve ısıtma yaygın olarak kullanılan sterilite yöntemlerdir. Fakat bunların bir takım dez avantajları mevcuttur (Kathe *et al.*2014).

Filtrasyonla sterilizasyon, dispers sistemlerde aşırı basınç gerektirir ve 0,2 µm'den büyük partiküllere uygulanamamaktadır.

Gama sterilizasyon, radyasyon serbest radikaller oluşturur. Bu radikaller, sterilize edilen molekülün degradasyonuna ve kimyasal modifikasyonlara sebep olur.

Isıyla sterilizasyon, rutinde sıkça kullanılan bir yöntem olup lipozomlara uygulanmıştır. Fakat bazen fiziksel stabilite de değişiklikler oluşabilir.

2.15.8. KLN'lerin uygulama yolları

KLN'ler oral, parenteral, topikal, rektal, pulmoner ve oküler yollarla uygulanabilir; aşı adjuvanı ve etken madde hedeflemede kullanılabilirler (Demirel ve Yazan 2000; Müller *et al.* 2000; Mehnert and Mäder 2001; Wissing *et al.* 2004; Manjunath *et al.* 2005; Numanoğlu ve Tarımcı 2006).

KLN'ler; doğrudan sulu dispersiyon halinde veya tablet, pellet, kapsül gibi geleneksel dozaj şekillerine dönüştürülerek oral yolla uygulanabilmektedir (Numanoğlu ve Tarımcı 2006).

KLN'lerin subkutan, intraperitoneal, intravenöz ve intraartiküler uygulamaları sonucu, kontrollü ve sürekli salım ile birlikte düşük iritan etki elde edilmektedir. Parenteral uygulamalar amacıyla hazırlanan KLN'lerde, yağ asitlerinden oluşan gliseridler ve parenteral uygulamalar için kabul edilen yüzey etken maddeler (lesitin, tween 80, poloksamer 188 vb.) kullanılmaktadır (Numanoğlu ve Tarımcı 2006).

KLN'ler lipozomlara benzer olarak, iyi tolere edilen yardımcı maddelerden oluşur ve küçük partikül boyutları nedeniyle, deri üzerinde film oluşumuna imkan veren benzer adhezif özelliklere sahiptirler. Deriye uygulanan KLN dispersiyonunun kurutulmasından sonra yoğun bir filmin olduğu elektron mikroskobu ile gösterilmiştir.

Oluşan film tabakası, deri üzerinde iyi bir örtücü (okluzif) etki sağlamaktadır. Topikal uygulamada KLN'nin sağladığı diğer avantajlar ise; kimyasal olarak dayanıksız bileşiklerin, katı KLN matrisi içine hapsedilerek korunması ve etken maddenin kontrollü salımının sağlanabilmesidir (Numanoğlu ve Tarımcı 2006).

Pulmoner yolla etken madde taşınması için KLN'lerin kullanımı ile ilgili çok az çalışma yayınlanmıştır. KLN'ler, küçük boyutta olmaları ve nefes verme ile hemen dışarı atılmaları nedeniyle, toz halde pulmoner yolla uygulanmazlar. Sulu dispersiyon şeklinde nebulizör ile verilirler. Bronşlarda ve alveollerde depolanır ve kontrollü olarak etken maddeyi salarlar. Ayrıca KLN'ler, akciğerlerdeki makrofajlara ilaç hedeflemeye kullanılabilirler (Numanoğlu ve Tarımcı 2006).

KLN'ler, adhezyon sonucunda gözde daha uzun süre kalarak, görüntüyü bozmadan, yüksek ilaç konsantrasyonunun elde edilmesini sağlamaktadırlar (Numanoğlu ve Tarımcı 2006).

Kullanım kolaylığından dolayı KLN'ler yatalak hastalar için rektal olarak kullanılabilir (Manjunath *et al.* 2005).

Aşılamada immün cevabı artırmak için adjuvanlar kullanılmaktadır. Genellikle alüminyum hidroksit partiküllerinden oluşan adjuvanlar kullanılmaktadır; fakat bunların yan etkileri vardır. Etken madde yüklenmemiş KLN'ler aşı adjuvanları olarak kullanılabilir. Ayrıca, KLN matrisinde hapsedilen veya yüzeyinde adsorblanan antijenler de, artırılmış bir immünolojik cevabı indüklemektedirler. Geleneksel adjuvanlara kıyaslanırsa; KLN'lerin, biyodegradasyona uğramaları ve vücut tarafından iyi tolere edilebilmeleri gibi avantajları vardır (Numanoğlu ve Tarımcı 2006).

KLN'ler, partikül büyüklüğü, yüzey yükü ve yüzey hidrofobisitesi gibi özellikleri nedeniyle makrofajlar tarafından tanınır. Bu nedenle, Pluronic F188 gibi polioksietilen, polipropilen blok kopolimerleri kullanılarak, retikuloendotelyal sistem tarafından yakalanmadan, kanda uzun süre dolaşımda kalan KLN'ler hazırlamak mümkündür.

Tersine, herhangi bir işlem görmemiş KLN'nin i.v enjeksiyonundan sonra taşıyıcı, karaciğerin kupffer hücrelerinde birikir. Bu sayede, hepatik neoplazmlar ve hepatit gibi hastalıklarda karaciğere hedefleme yapılabilir. KLN'ler ayrıca, beyne hedefleme için de kullanılabilir. Kan-beyin bariyerinin endotelial hücrelerine yapışmaya aracılık eden apolipoproteinler gibi kan proteinlerinin, partikül yüzeyine adsorbsiyonu ile KLN'nin beyin tarafından alınması sağlanmaktadır (Numanoğlu ve Tarımcı 2006).

2.16. Kurkumin ve Özellikleri

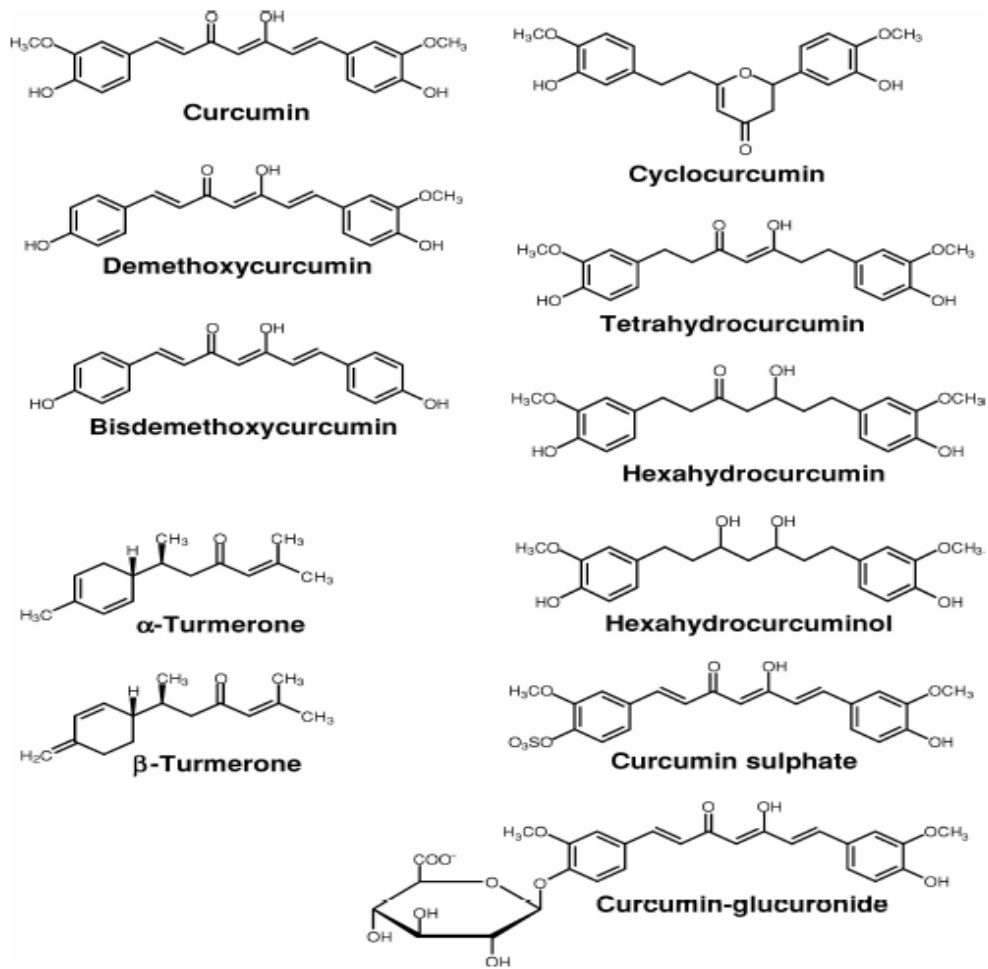
Curcuma Longa (zerdeçal, Hint safranı), Hindistan ve Çin'de yaygın olarak bulunan Zingiberaceae ailesine ait sarıçiçekli, yumrulu, çok yıllık otsu bir bitkidir. Çeşitli hastalıkları tedavi edici özelliği bulunduğu için beri zerdeçala olan ilgi artmaktadır. Bu bitkinin köklerinden elde edilen doğal polifenolik bileşik olan kurkumin, lipid peroksidasyonunu baskılayan, reaktif oksijen türlerini yok ederek antioksidan özellik ve ayrıca inflamatuvar (iltihaba neden olan) bileşiklerin oluşumunu azaltarak anti-inflamatuvar özellik gösterir (Tapal and Tikku 2012).



Şekil 2.20. Kurkuminin terapötik etkileri

Zencefil ailesine ait zerdeçalın biyoaktif ana bileşeni olan kurkumin bitkinin sarı renginin kaynağıdır ve bitkinin %2-5'ini oluşturur (Akpolat vd 2010).

Kurkumin suda çözünmez fakat başta metanol olmak üzere aseton, etanol, tetrahidrofuran, asetilaseton, kloroform, asetik asit, benzen toluen ve CCl₄ gibi solventlerde iyi çözünür (Li *et al.* 2013). Hücre membranının hidrofobik ceplerinde lokalize olur. Kurkumin moleküler özellikleri nedeniyle hücrelere hızlıca penetre olmakta, plazma membranından kolayca geçerek sitozole girmektedir. Sitoplazmada biriken kurkumin çekirdeğe girmez. Lipofilik özelliklerinden dolayı plazma membranı, endoplazmik retikulum ve çekirdek kılıfı gibi membranöz yapıların içinde yoğunlaşmaktadır (Jaruga *et al.* 1998).



Şekil 2.21. Kurkumin ve türevlerinin kimyasal yapısı

Biyoaktif özellik gösteren bir molekülün aktivitesi, kararlılığına, absorpsiyonuna çözünürlüğüne ve biyoyararlılığına bağlıdır. Farmakolojik olarak geniş kapsamlı biyo-aktiviteye sahip olan kurkumin, ayrıca antikanserojen, antiinflamatuvar, antibakteriyel, antiviral, hipoglisemik, antioksidan ve alzheimer'ı önleyici rol oynar. Ancak kurkuminin biyo aktivitelerinin çeşitliliğine ve hastalıkları önleme ve tedavi etme potansiyeline rağmen düşük çözünürlüğü ve sulu çözeltilerdeki kararsızlığı nedeniyle düşük biyoyararlılık gösterir ve bu nedenle terapötik bir ajan olarak kullanılmasını engelleyen en önemli problemi oluşturur. Kurkuminin biyoyararlılığını iyileştirmek için çok sayıda yaklaşım kullanılmıştır. Miseller, nanopartiküller, fosfolipit-kompleksleri, hidrojel bazlı kapsülleme, mikroemülsiyonlar ve amorf katı dispersiyona dayanan formülasyonlar geliştirilmiştir (Miquel *et al.* 2002; Tapal and Tiku 2012; Villanueva *et al.* 2013).

Yapılan bir çalışmada kurkuminin herhangi bir yan etkisinin olmadığı saptanmıştır (Chueh *et al.* 2003). Kurkumin, ksantin dehidrogenazın ksantin oksidaza dönüşümünü engelleyerek, lipid peroksidasyonu oluşumunu inhibe ederek ve iskemi ortamda bulunan serbest radikalleri azaltarak antioksidan etkinlik gösterir (Miquelet *et al.* 2002). Kurkumin KAT, SOD ve GPx gibi antioksidan savunma enzimlerinin aktivitelerini artırarak hücre zarında bulunan lipidlerin peroksidasyonunu azaltır. Kurkumin antioksidan özelliği ile böbrek, kalp, beyin dokusu ve karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında oksidatif stresi ayrıca doku hasarlanmasını azalttığı gösterilmiştir (Hatcher *et al.* 2008). Yine yapılan çalışmalarla kurkuminin ayrıca radyoprotektif etkisine sahip olduğu bildirilmiştir (Akpolat vd 2010).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Son yıllarda nanopartiküllerin radyoaktif maddelerle etiketlenerek tanı ve tedavi amacıyla nükleer tıbbın kullanımına kazandırılmasına yönelik çalışmaların yapıldığı ve gün geçtikçe de bu çalışmaların sayısında artış olduğu gözlenmektedir. Üzerinde çalışılan nanopartiküllerden birisi de katı lipit nanopartiküllerdir. Katı lipit nanopartiküllerin (KLN) diğer geleneksel taşıyıcı sistemlere alternatif taşıyıcı bir sistem olarak kullanılmalrı için araştırmalar hızla gerçekleştirilmektedir. Kolay üretim, ucuz maliyet imkânı sayesinde KLN'lere olan ilgi ise giderek artmaktadır.

Nanopartiküller sahip olduğu boyut özelliklerinden dolayı dolaşımda daha uzun süre kalır. Bundan dolayı nanopartiküllerin tıp alanında özellikle hastalıkların teşhis ve tedavisinde kullanımı büyük bir önem arzeder. Bir radyoizotop ile işaretli farmasotiklerin düşük dozlarda alınması temeline dayanan radyonüklid görüntüleme Planar, SPECT ve PET görüntülemeyi içerir. Genelde, nanopartiküllerin biyolojik dağılımını, farmakokinetik özelliklerini ve hedefleme etkinliğini belirlemek amacıyla nanopartiküller radyonüklid ile işaretlenir. Görüntülemedeki yüksek hasasiyetinden dolayı radyoaktif işaretli nanopartiküller, tıp alanında özellikle hastalıkların erken, güvenilir ve doğru teşhisi için ümit vaadeden ajanlar olarak bilim dünyasına sunulmuştur (Barros *et al.* 2012).

Her ne kadar radyoaktif işaretli nanopartiküller şuan prelinik safhada olsa bile, yakın gelecekte tanı alanında büyük bir etki yaratacak gibi görünüyor.

Yapılan literatür araştırmalarının ışığında, nükleer tıbbın görüntülemede kullanımına sunmak amacıyla başlatılan bu çalışmada, öncelikle KLN'lerin hazırlanması ve kurkuminin KLN'lere yüklenmesi, gerekli karakterizasyon çalışmalarının yapılması daha sonra ise radyoaktif olarak işaretlenip *in vivo* alışmalarının yapılması amaçlanmıştır.

3.1. Kullanılan Maddeler ve Araç Gereçler

Çizelge 3.1. Kullanılan maddeler

Compritol® 888 ATO	Gattefossé
Soya lesitini	Alfasol
Kurkumin	Sigma - Aldrich
Tween 80	Sigma - Aldrich
Teknesyum (^{99m} Tc)	ELUMATIC III® (CIS bio international)
Ksilazin	Bioveta
Ketamin	Pfizer
Kalay Klorür Dihidrat (SnCl ₂ .2H ₂ O)	Merck
Serum fizyolojik (%0.9 NaCl)	Bioflex
Sodyum bikarbonat (NaHCO ₃)	Merck

Çizelge 3.2. Kullanılan cihazlar

Mastersizer	Malvern Mastersizer 2000
Etüv	Binder ED 53
Buzdolabı	Arçelik
Hassas Terazi	Scaltaec SBC21
Digital Su Banyosu	Polyscience
Isıtmalı Manyetik karıştırıcı	Wisestir MSH20A
Liyofilizatör	Christ Alpha 1-2 LD plus
Ultrasonik Karıştırıcı	Sonics VCX 750
TEM	Leol JEM-100 SX
SEM	FEİ İnspect S50
Refraktometre	Zeiss JENA189282 Abbe Refractometer
Gama kamera	Siemens E.CAM (Siemens Medical Systems, Inc.Hoffman Estates, IL 60195,USA)
FT-IR spektrum	Perkin Elmer FT-IR Spektrometresi
Termogravimetrik Analiz (TGA)	Netzsch STA 409 PC Luxx
XRD	GNR Explorer XRD

3.2. Boş KLN'lerin ve Kurkumin yüklü KLN'lerin Hazırlanması

Yapılan bu çalışmada KLN hazırlamak için mikroemülsiyon ve sonikasyon yöntemi birlikte kullanıldı. Boş katı lipit nanopartiküller ve kurkumin yüklü katı lipit nanopartiküllerin hazırlanmasında etken madde olarak; kurkumin, katı lipit olarak; compritol (gliseril behenat), lipofilik yüzey etken madde olarak; soya lesitini, hidrofilik yüzey etken madde olarak; tween 80 ve saf su kullanılarak hazırlandı.

Çizelge 3.3. Formülasyonda kullanılan maddeler ve parametreler

Etken madde	Kurkumin (0,008 g)
Lipit	Compritol (0,25g)
Yüzey etken maddeler	Tween 80 (1,8 g) ve soya lesitini (0,6 g)
Saf su	90 ml
Çözünme sıcaklığı	80°C
Sonikasyon gücü	%28
Homojenizasyon süresi	25 dk
Saklama	4°C, 20°C, 40°C

Gerçekleştirilen çalışmada; ilk önce lipitin 80°C'de eritilmesi sağlandı. Daha sonra erimiş lipitin içerisine kurkumin eklendi. Lipit erime sıcaklığında olan hesaplı miktardaki sulu yüzey etken madde karışımı ise manyetik karıştırıcıda yağ fazına damlatılarak eklendi (Kakkar *et al.* 2013). Daha sonra oluşan emülsiyon ultrasonikasyon ile homojenize edildi. Sıcak mikro emülsiyon 1000 rpm hızda karıştırma yapan manyetik bir karıştırıcı sayesinde 3-4°C'deki soğuk suya damlatılarak kurkumin yüklü KLN'ler oluşturuldu. Kontrol amacıyla boş KLN'ler de aynı şekilde hazırlandı. Oluşturulan KLN solüsyonları cam malzemelere konularak önceden belirlenmiş sıcaklıklarda saklandı. Ayrıca, hazırlanan boş KLN'leri ve C-KLN'leri liyofilizasyonda toz haline getirmek için; önce -86°C'de flakonlarda bir gün boyunca donduruldu, daha sonra 24 saat dondurucuda bekletilen KLN'ler liyofilizatöre

yerleştirildi. Liyofilizasyon işlemi; 0,011 mbar'da -60°C 'de 24 saat boyunca gerçekleştirildi. Bu süre sonunda elde edilen liyofilize toz $+4^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edildi.

3.3. Karakterizasyon Çalışmaları

Hazırlanan kurkumin yüklü ve boş katı lipid nanopartiküllerin refraktif indisi, partikül boyutu ve dağılımı, partikül şekli, FT-IR analizi, TGA analizi, XRD analizi yapıldı.

3.3.1. Refraktif indisinin belirlenmesine yönelik çalışmalar

Hazırlanan kurkumin yüklü katı lipid nanopartiküllerin ve boş katı lipid nanopartiküllerin refraktif indis ölçümleri masaüstü abbe refraktometre kullanılarak gerçekleştirildi. Bu işlem için önce cihaz yapay bir ışık kaynağına bağlandı, daha sonra hazırlanan boş KLN, C-KLN ve saf su alt ve üst prizmanın arasına pipet yardımıyla birkaç damla damlatıldı ve netlik ayarı yapılarak kırılma indisleri cihazın okülerinden okundu. Analizler oda sıcaklığında gerçekleştirildi.

3.3.2. Partikül boyutu ve dağılımının belirlenmesine yönelik çalışmalar

Hazırlanan boş KLN ve kurkumin yüklü katı lipid nanopartikül formülasyonlarının partikül boyutu ve dağılımı ölçümleri lazer kırınımı esasına dayanan Malvern Mastersizer 2000 cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her ölçüm 3 kez tekrarlanarak değerlendirildi ve analizler oda sıcaklığında gerçekleştirildi.

3.3.3. Partikül şeklinin belirlenmesine yönelik çalışmalar

Hazırlanan boş ve kurkumin yüklü katı lipid nanopartiküllerin partikül şeklinin belirlenmesi için SEM ve TEM cihazları kullanıldı.

3.3.4. TGA çalışmaları

Hazırlanan kurkumin yüklü katı lipit nanopartiküllerin termal stabilitesinin belirlenmesi için Netzsch STA 409 PC Luxx Thermal analyzer cihazı kullanılmıştır. Liyofilizasyon ile toz haline getirilen C-KLN'lerin analizleri, boş referansa karşı alümina krozede, 10°C /dak ısıtma hızında, 25°C ile 130°C sıcaklık aralığında, 30 ml/dak akış hızıyla beslenen azot atmosferinde gerçekleştirildi.

3.3.5. FT-IR çalışmaları

Kurkuminin, KLN formülasyonuna yüklendiğini belirlemek amacıyla FT-IR analizi gerçekleştirildi. Kurkumin, liyofilize edilmiş C-KLN ve boş KLN'ler 400–4000 cm⁻¹ dalga boyu aralığında Fourier Transform Infrared Spektrometresi kullanılarak analizler yapıldı. Analizler 25°C'de alındı.

3.3.6. XRD çalışmaları

Hazırlanan boş KLN, C-KLN ve kurkuminin kristal yapı analizi için GNR Explorer marka X-Ray diffractometer kullanıldı. Ölçümler, 25°C'de, Co radyasyon kaynaklı tüp voltajı= 40 kV, tüp akımı= 35 mA, 0,02° step size ile 5° ≤ 2θ ≤ 70° aralığında yapıldı.

3.4. Kurkumin Yüklü KLN'lerin ^{99m}Tc ile işaretlenmesine yönelik çalışmalar

Kurkumin yüklü KLN'lerin ^{99m}Tc ile işaretlenmesi, Atatürk Üniversitesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı radyofarmasi laboratuvarında gerçekleştirildi.

Kurkumin yüklü KLN'lerin ^{99m}Tc ile işaretlenmesi için ilk olarak ^{99m}Tc, Kalay Klorür Dihidrat (SnCl₂.2H₂O) ile indirgendi. Bunun için; 2 mCi ^{99m}Tc-perteknatta, 20 µg Kalay Klorür Dihidrat (SnCl₂.2H₂O) eklendi ve solüsyonun pH'sı sodyum bikarbonat ile ≈6,5 -7'ye ayarlandı. Daha sonra bu solüsyona 1 ml C-KLN eklenerek 10 dakika oda

sıcaklığında inkübe edildi. Hazırlanan $^{99m}\text{Tc-C-KLN}$ 'nin organizmadaki hedef doku ve organlarda ki radyofarmasötik etkinliğinin araştırılması amacıyla tavşan deneylerine geçildi.

3.5. İn Vivo Çalışmalar

3.5.1. Deney hayvanlarının hazırlanması

Hayvan çalışmaları için Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 2015-83443830/891 sayılı etik kurul izni alındı. Etik kurul raporu **EK 1**'de verilmiştir.

Deney öncesinde hayvanlar, standart pelet yem ve musluk suyu ile beslenerek, kontrollü laboratuvar şartlarında muhafaza edildi.

Çalışmada 3,5-4 kg aralığında 3 adet erkek, beyaz Yeni Zelanda tavşanları kullanıldı. Hayvanlara deney öncesinde özel bir gıda rejimi uygulanmadı ve deney sırasında hayvanlar aç bırakıldı.

Hayvanlara 1 mL Ksilazin ve 1 mL Ketamin'den oluşan karışımdan intramusküler yolla anestezi yapıldı. Anestezinin etkisine giren tavşanlar, uygun boyuttaki plakanın üzerine sırt üstü pozisyonda yatırıldı. En iyi görüntü alınan tavşandan görüntü örnekleri değerlendirildi.

3.5.2. $^{99m}\text{Tc-C-KLN}$ 'nin hayvanlara uygulanması

Hayvanlara uygulanacak ^{99m}Tc ile işaretli C-KLN'lerin aktivitesi yaklaşık 2 mCi'ye ayarlandı. 1 ml ketamin ve 1 ml ksilazinin intra musküler enjeksiyonu ile anestezi uygulanan hayvanlara, hazırlanan bu radyoaktif solüsyon, dorsal kulak veninden i.v olarak uygulandı. Gama kamera ile belirli zaman aralıklarında planar görüntülemeler yapıldı. İdrar kontaminasyonu önlemek için gerekli önlemler alındı.

4. ARASTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Refraktif İndisinin İncelenmesi

Katı ve sıvı saydam ortamların kırılma indisleri refraktometre ile ölçülür. Sıvı malzeme içindeki katı madde miktarını ve kırılma indislerini ölçer. Çalışma prensibi, optik yoğunluğu birbirinden farklı ortamlardaki ışığın bir ortamdan diğerine geçerken kırılması esasına dayanır. Refraktometre cihazının yapısında bulunan prizmalar vasıtasıyla kırılma indisi belirlenir. Gönderilen ışın, örnekten geçerek prizmaya değişik açılarla gelir. Gelen açı kritik açıdan küçükse aydınlık bölge oluşur. Gelen açı kritik açıdan büyükse karanlık bölge oluşur. Karanlık ve aydınlık bölgenin sınırı kritik açıya karşılık gelir (Anonim 2015e).

Partikül boyutu ve boyut dağılımının Mastersizer analizi için gerekli olan refraktif indis değerleri masaüstü abbe refraktometre kullanılarak gerçekleştirildi. Sonuçlar Çizelge 4.1’de verildi.

Çizelge 4.1. Saf su, KLN ve C-KLN’nin refraktif değerleri

	Saf su	Boş KLN	C-KLN
Refraktif indisi	1,3330	1,3335	1,3340

4.2. Partikül Boyutu ve Dağılımının İncelenmesi

Mastersizer lazer kırınımı yöntemine dayalı olarak partiküllerin boyutunu ve boyut dağılımının analizini yapar. Lazer kırınım verileri hacim dağılımına göre belirtilir. Formülasyonun partikül boyutu ise $LD_{10,50,90}$ (laser diffraction) çap değerlerine bakılarak yorumlanır. Yani, LD_{50} değeri 1 μm olarak ölçülmüşse bunun anlamı, tüm

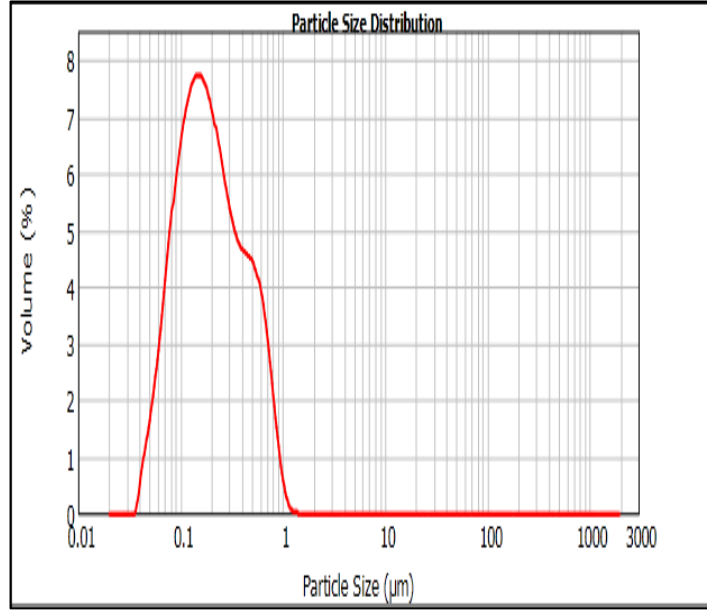
partiküllerin %50'si 1 µm ve 1 µm'den daha az bir boyuta sahiptir denilebilir (Nesseem 2011).

Partikül boyutu ve boyut dağılımı, koloidal taşıyıcı sistemlerin fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesinde kullanılan en önemli verilerden birisidir. Özellikle süspansiyon ve emülsiyon gibi taşıyıcı sistemlerin, fiziksel-kimyasal kararlılığı ve etkinlik açısından başarılı formülasyonu, ürünün partikül boyutuna bağlıdır (Takka vd 2009).

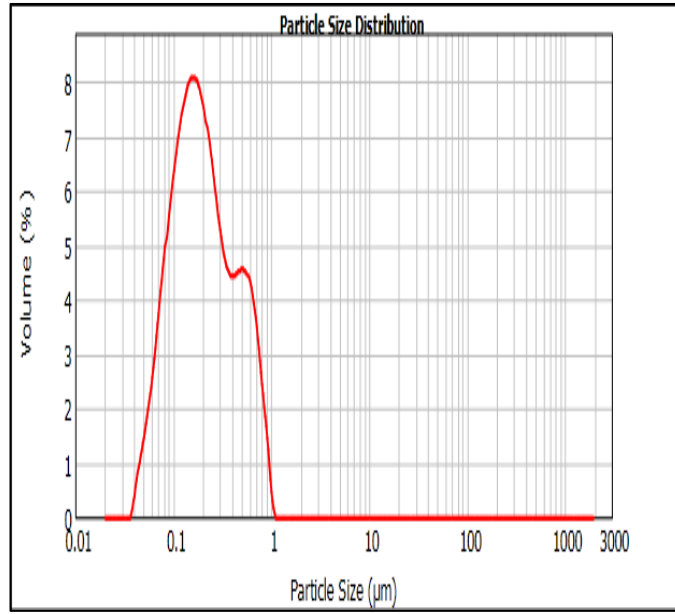
Hazırlanan boş KLN'lerin ve kurkumin yüklü KLN'lerin ayrı ayrı partikül boyutu ve boyut dağılımı, buna bağlı olarak da belirli sıcaklıklarda değişik zaman aralıklarındaki kimyasal stabilitesinin belirlenmesi, mastersizer ile gerçekleştirildi. Sonuçlar aşağıdaki çizelgelerde (Çizelge 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6 ve 4.7) ve şekillerde (Şekil 4.1-24) verildi. Formülasyonlar ayrıca renk açısından değerlendirildiğinde berraklığını koruduğu tespit edildi.

Çizelge 4.2. 4°C'de bekletilen KLN'nin partikül boyutu ve dağılımı sonuçları

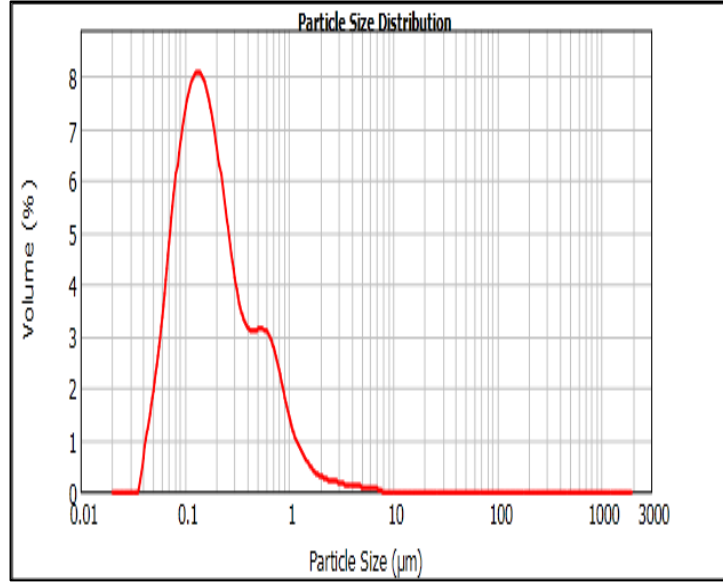
Formülasyon	Bekletilen sıcaklık	Ölçüm zamanı	Partikül boyutu (µm)
KLN	4°C	0. gün	LD ₁₀ = 0,076 LD ₅₀ = 0,184 LD ₉₀ = 0,560
		7.gün	LD ₁₀ = 0,079 LD ₅₀ = 0,189 LD ₉₀ = 0,580
		14.gün	LD ₁₀ = 0,072 LD ₅₀ = 0,168 LD ₉₀ = 0,677
		35.gün	LD ₁₀ = 0,071 LD ₅₀ = 0,165 LD ₉₀ = 0,946



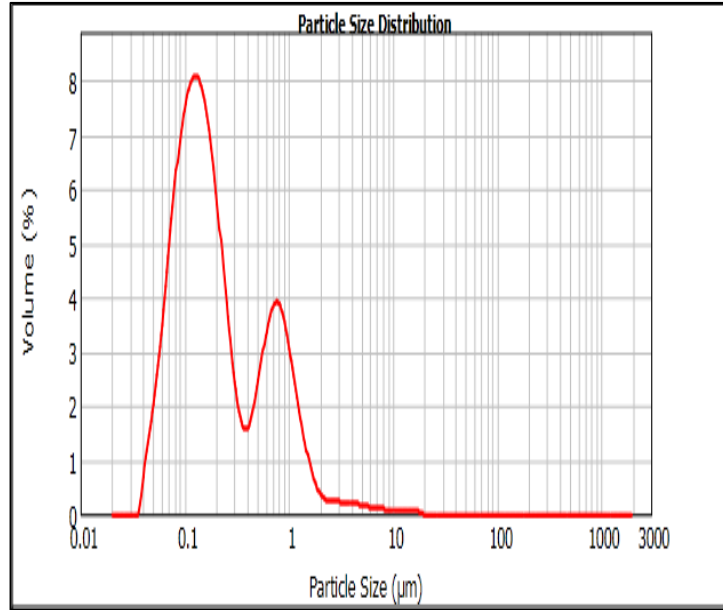
Şekil 4.1. 4°C'deki KLN'nin partikül boyut dağılımı (0.gün)



Şekil 4.2. 4°C'deki KLN'nin partikül boyut dağılımı (7.gün)



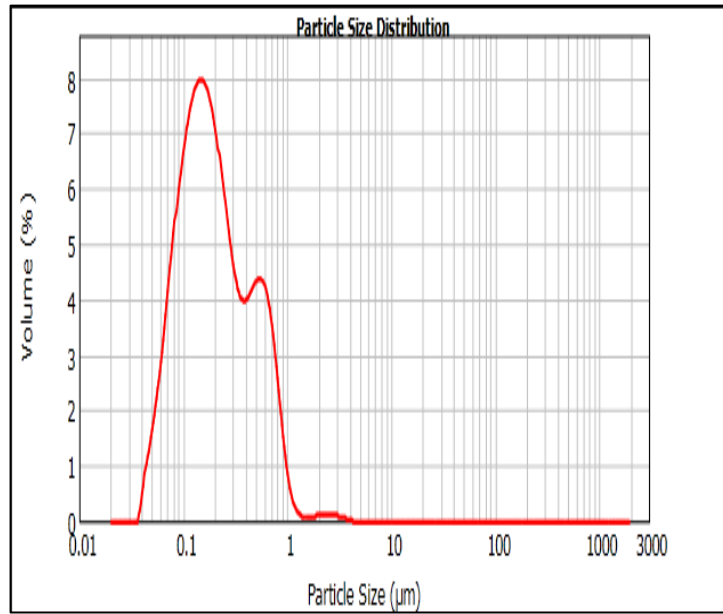
Şekil 4.3. 4°C'deki KLN'nin partikül boyut dağılımı (14.gün)



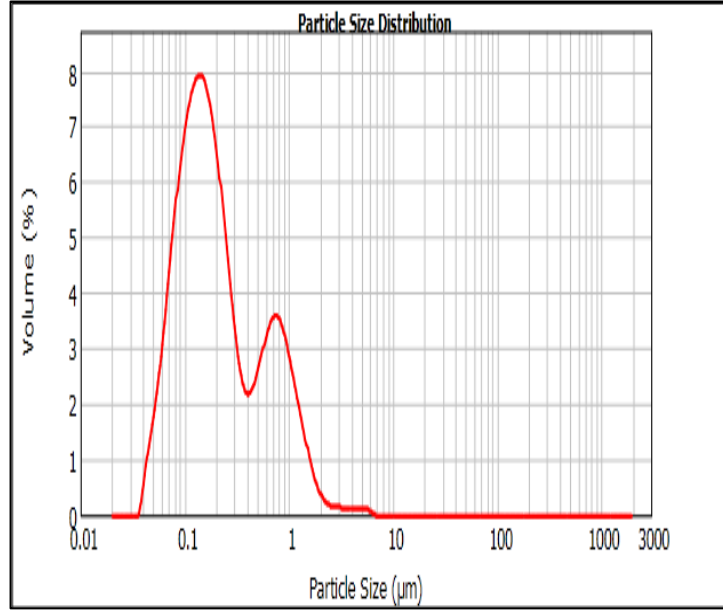
Şekil 4.4. 4°C'deki KLN'nin partikül boyut dağılımı (35.gün)

Çizelge 4.3. 25°C’de bekletilen KLN’nin partikül boyutu ve dağılımı sonuçları

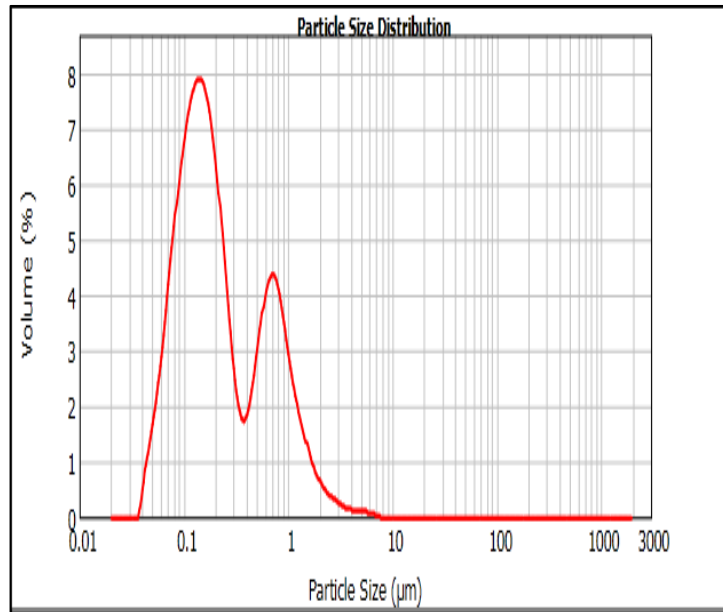
Formülasyon	Bekletilen sıcaklık	Ölçüm zamanı	Partikül boyutu (μm) (n=3)
KLN	25°C	0. gün	LD ₁₀ = 0,076 LD ₅₀ = 0,181 LD ₉₀ = 0,610
		7.gün	LD ₁₀ = 0,074 LD ₅₀ = 0,176 LD ₉₀ = 0,899
		14.gün	LD ₁₀ = 0,076 LD ₅₀ = 0,181 LD ₉₀ = 0,952
		35.gün	LD ₁₀ = 0,068 LD ₅₀ = 0,147 LD ₉₀ = 0,884



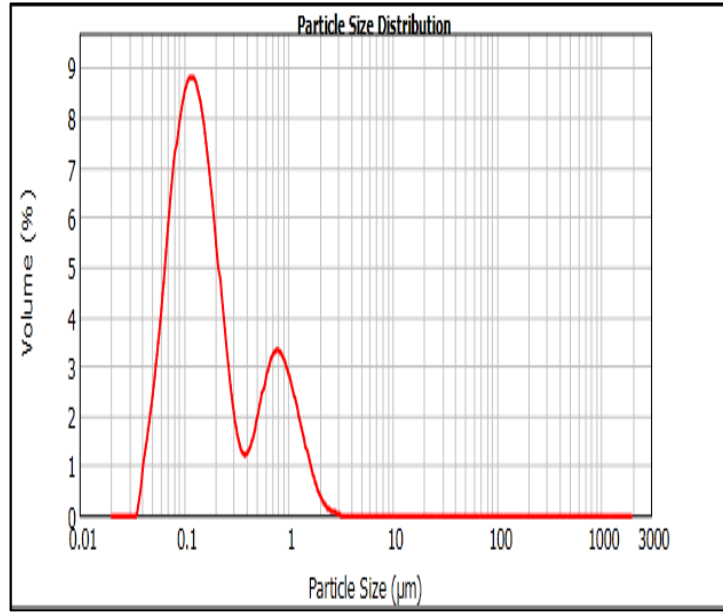
Şekil 4.5. 25°C’deki KLN’nin partikül boyut dağılımı (0.gün)



Şekil 4.6. 25°C'deki KLN'nin partikül boyut dağılımı (7.gün)



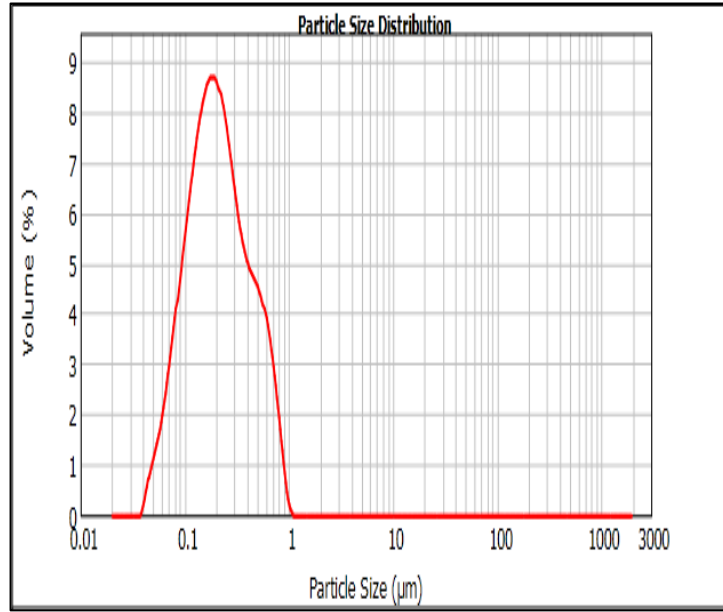
Şekil 4.7. 25°C'deki KLN partikül boyut dağılımı (14.gün)



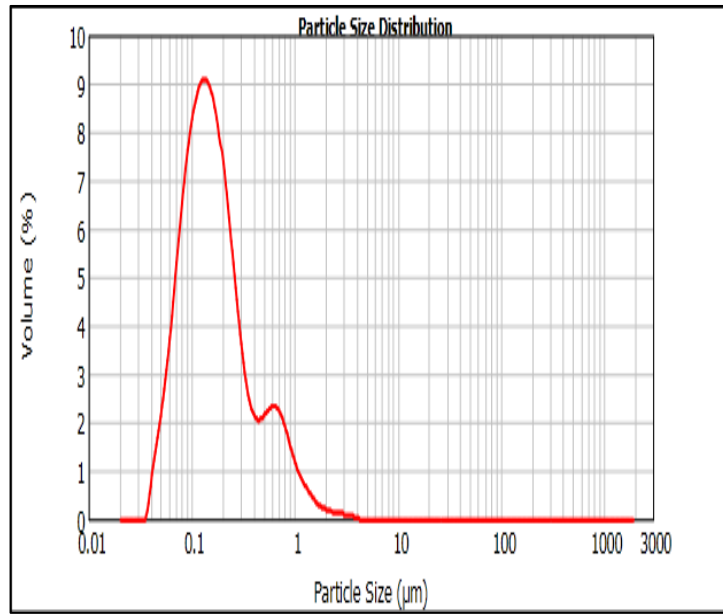
Şekil 4.8. 25°C'deki KLN partikül boyut dağılımı (35.gün)

Çizelge 4.4. 40°C'de bekletilen KLN'nin partikül boyutu ve dağılımı sonuçları

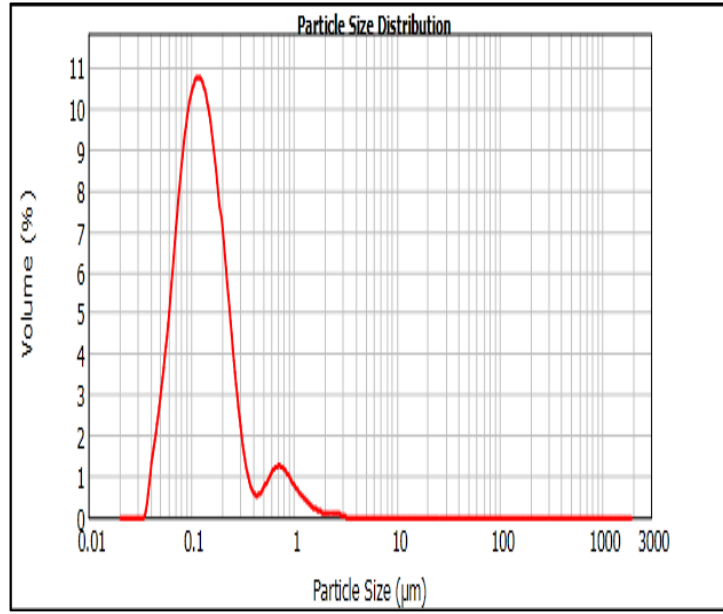
Formülasyon	Bekletilen sıcaklık	Ölçüm zamanı	Partikül boyutu (µm)
KLN	40°C	0. gün	LD ₁₀ = 0,086 LD ₅₀ = 0,201 LD ₉₀ = 0,542
		7.gün	LD ₁₀ = 0,070 LD ₅₀ = 0,151 LD ₉₀ = 0,583
		14.gün	LD ₁₀ = 0,064 LD ₅₀ = 0,125 LD ₉₀ = 0,292
		35.gün	LD ₁₀ = 0,065 LD ₅₀ = 0,127 LD ₉₀ = 0,346



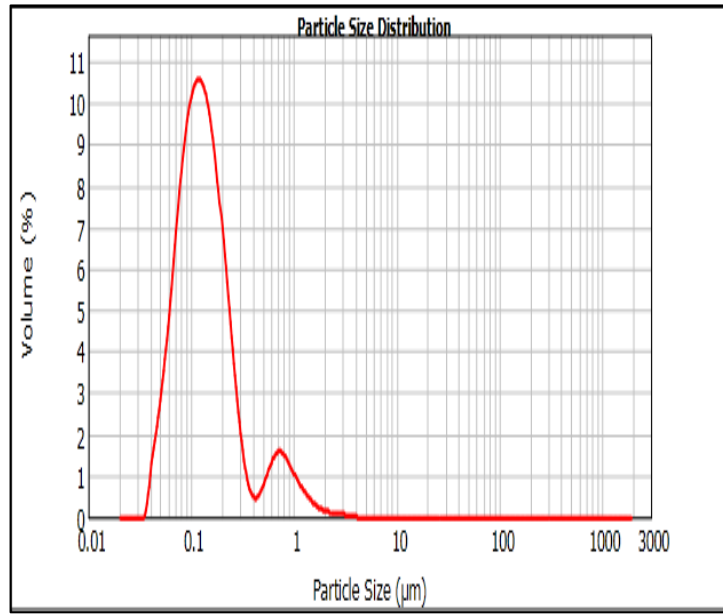
Şekil 4.9. 40°C'deki KLN'nin partikül boyut dağılımı (0.gün)



Şekil 4.10. 40°C'deki KLN'nin partikül boyut dağılımı (7.gün)



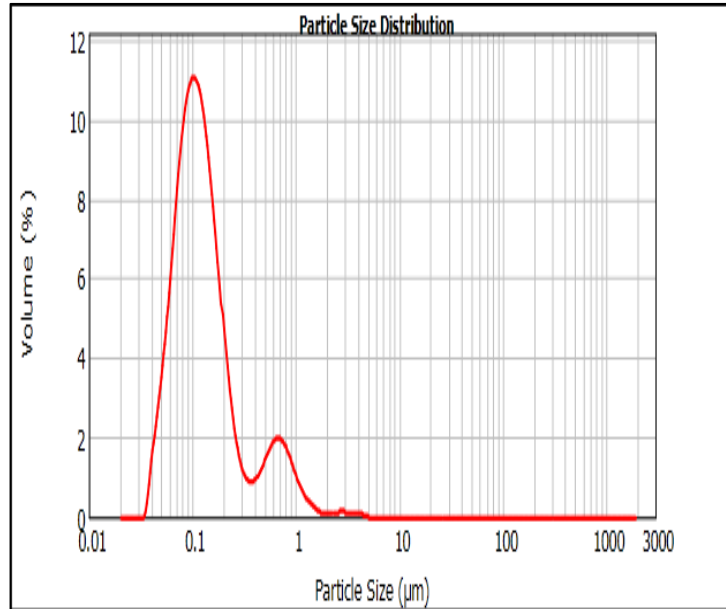
Şekil 4.11. 40°C'deki KLN'nin partikül boyut dağılımı (14.gün)



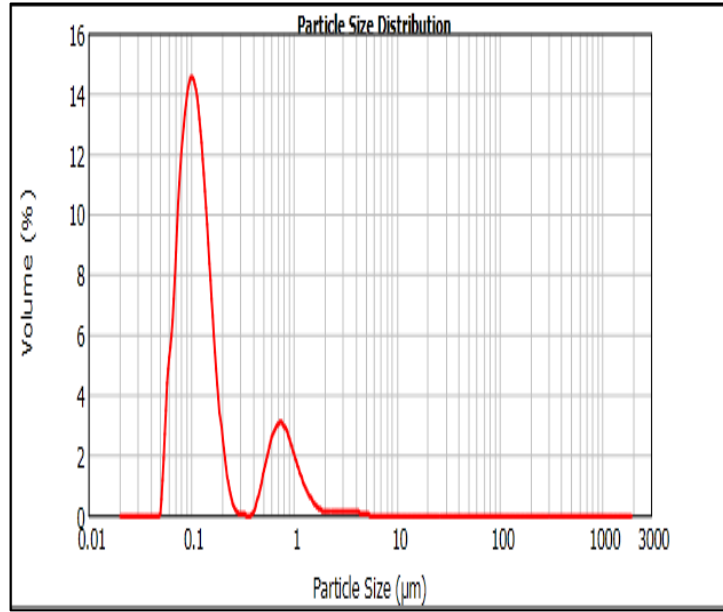
Şekil 4.12. 40°C'deki KLN'nin partikül boyut dağılımı (35.gün)

Çizelge 4.5. 4°C’de bekletilen C-KLN’nin partikül boyutu ve dağılımı sonuçları

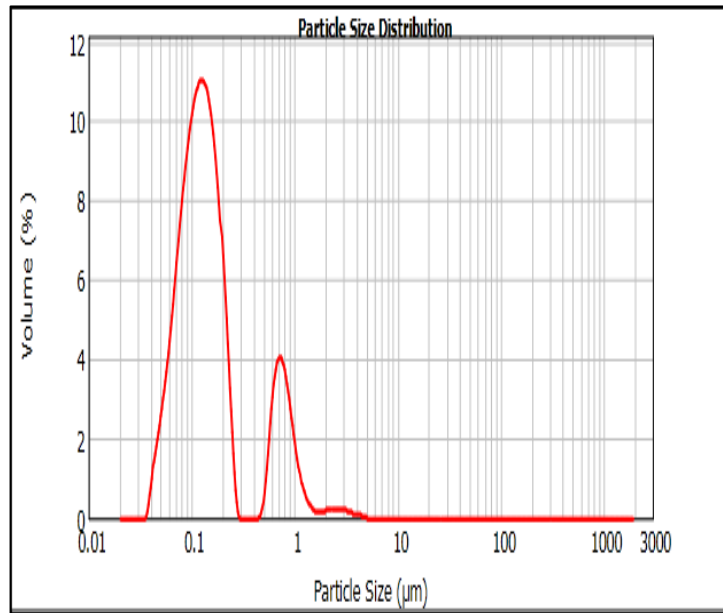
Formülasyon	Bekletilen sıcaklık	Ölçüm zamanı	Partikül boyutu (µm)
C-KLN	4°C	0. gün	LD ₁₀ = 0,061 LD ₅₀ = 0,115 LD ₉₀ = 0,504
		7.gün	LD ₁₀ = 0,071 LD ₅₀ = 0,114 LD ₉₀ = 0,725
		14.gün	LD ₁₀ = 0,067 LD ₅₀ = 0,130 LD ₉₀ = 0,731
		35.gün	LD ₁₀ = 0,069 LD ₅₀ = 0,136 LD ₉₀ = 0,771



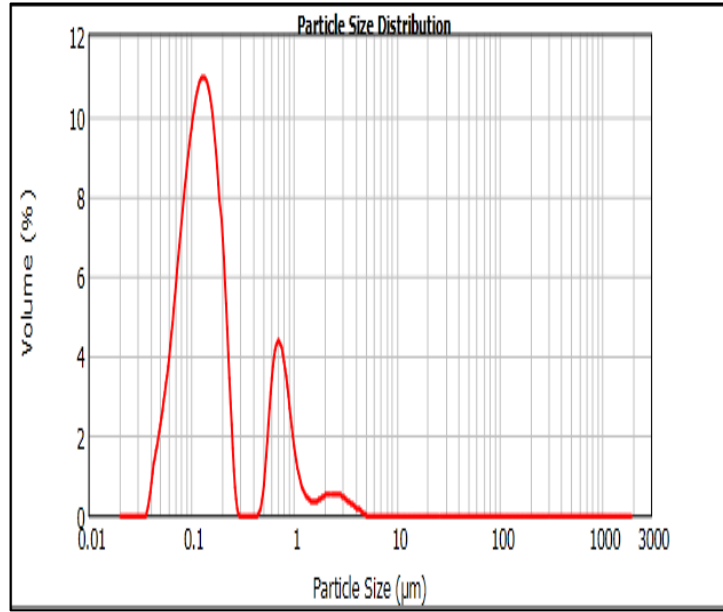
Şekil 4.13. 4°C’deki C-KLN’nin partikül boyut dağılımı (0.gün)



Şekil 4.14. 4°C'deki C-KLN'nin partikül boyut dağılımı (7.gün)



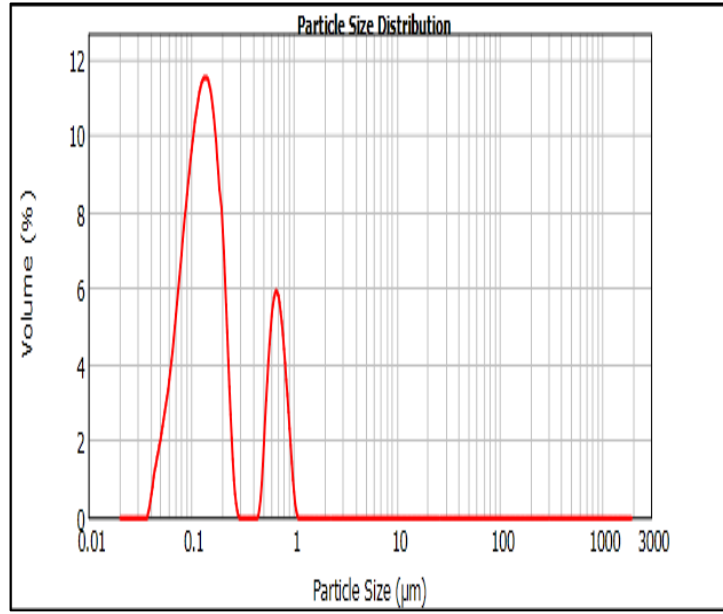
Şekil 4.15. 4°C'deki C-KLN'nin partikül boyut dağılımı (14.gün)



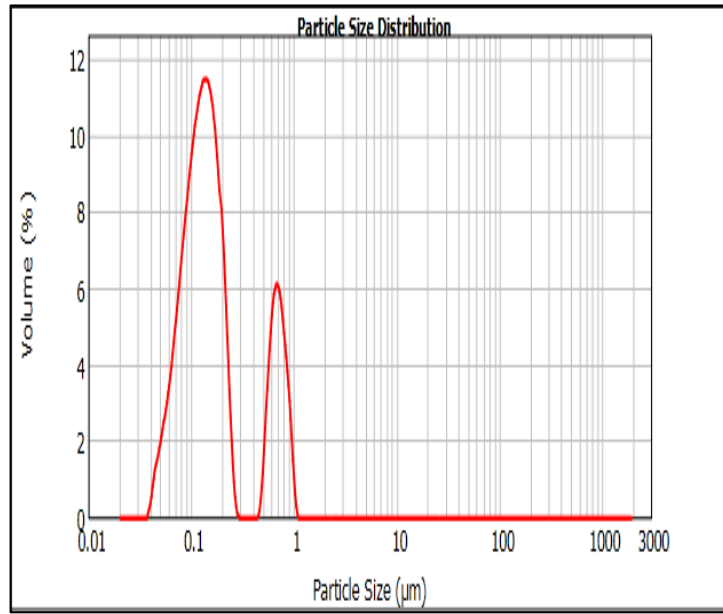
Şekil 4.16. 4°C'deki C-KLN'nin partikül boyut dağılımı (35.gün)

Çizelge 4.6. 25°C'de bekletilen C-KLN'nin partikül boyutu ve dağılımı sonuçları

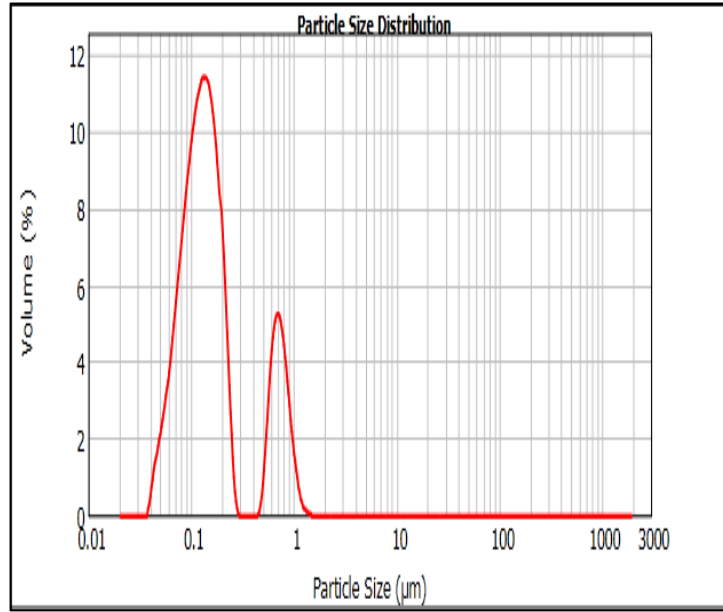
Formülasyon	Bekletilen sıcaklık	Ölçüm zamanı	Partikül boyutu (µm)
C-KLN	25°C	0. gün	LD ₁₀ = 0,071 LD ₅₀ = 0,140 LD ₉₀ = 0,674
		7.gün	LD ₁₀ = 0,072 LD ₅₀ = 0,141 LD ₉₀ = 0,696
		14.gün	LD ₁₀ = 0,070 LD ₅₀ = 0,137 LD ₉₀ = 0,701
		35.gün	LD ₁₀ = 0,071 LD ₅₀ = 0,139 LD ₉₀ = 0,722



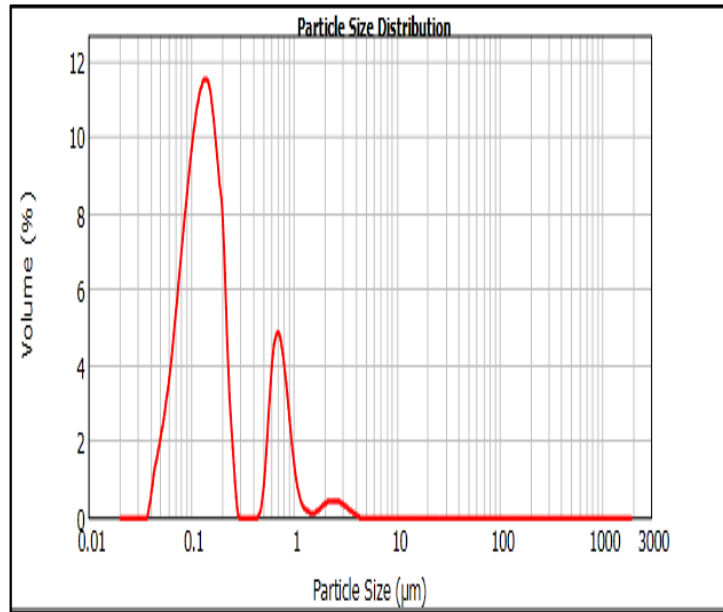
Şekil 4.17. 25°C'deki C-KLN'nin partikül boyut dağılımı (0.gün)



Şekil 4.18. 25°C'deki C-KLN'nin partikül boyut dağılımı (7.gün)



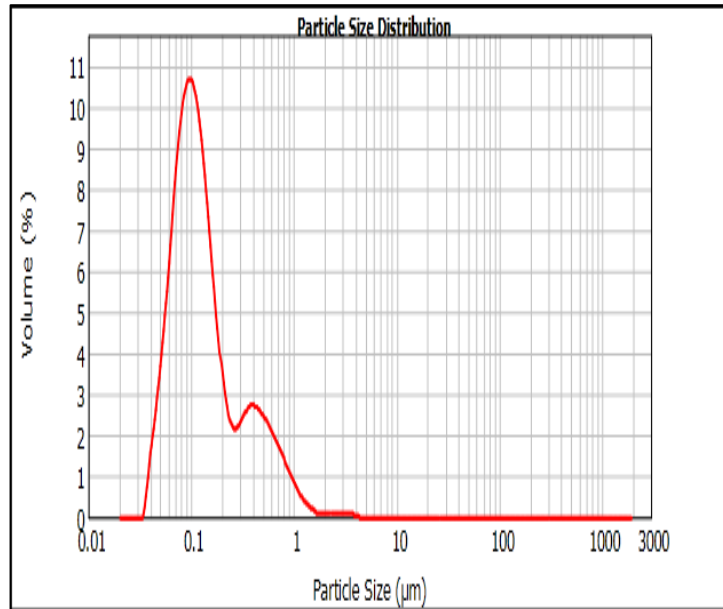
Şekil 4.19. 25°C'deki C-KLN'nin partikül boyut dağılımı (14.gün)



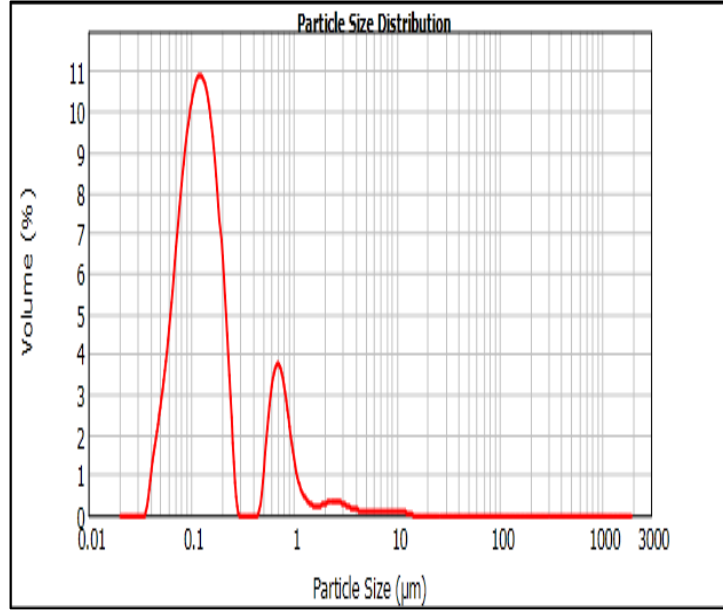
Şekil 4.20. 25°C'deki C-KLN'nin partikül boyut dağılımı (35.gün)

Çizelge 4.7. 40°C’de bekletilen C-KLN’nin partikül boyutu ve dağılımı sonuçları

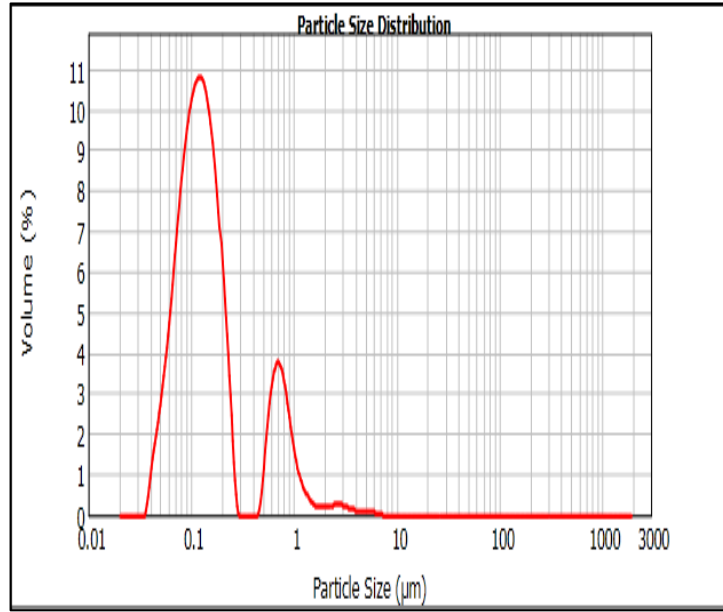
Formülasyon	Bekletilen sıcaklık	Ölçüm zamanı	Partikül boyutu (μm)
C-KLN	40°C	0. gün	LD ₁₀ = 0,060 LD ₅₀ = 0,115 LD ₉₀ = 0,486
		7.gün	LD ₁₀ = 0,066 LD ₅₀ = 0,129 LD ₉₀ = 0,711
		14.gün	LD ₁₀ = 0,065 LD ₅₀ = 0,128 LD ₉₀ = 0,717
		35.gün	LD ₁₀ = 0,067 LD ₅₀ = 0,134 LD ₉₀ = 0,773



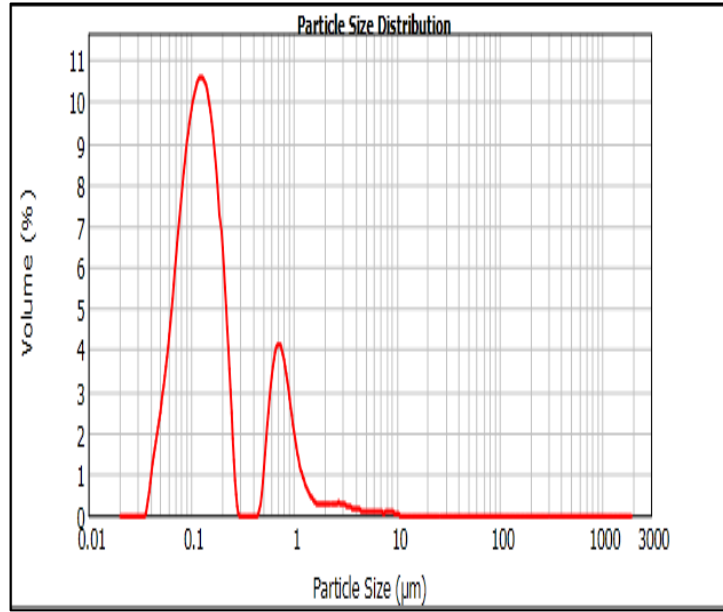
Şekil 4.21. 40°C’deki C-KLN’nin partikül boyut dağılımı (0.gün)



Şekil 4.22. 40°C'deki C-KLN'nin partikül boyut dağılımı (7.gün)



Şekil 4.23. 40°C'deki C-KLN'nin partikül boyut dağılımı (14.gün)



Şekil 4.24. 40°C’deki C-KLN’nin partikül boyut dağılımı (35.gün)

4°C’de bekletilen boş KLN formülasyonunda en küçük partikül büyüklüğünün 40 nm olduğu belirlendi. Mastersizer ile alınan ölçüm sonuçlarına göre; partikül boyutunun LD₁₀ değerleri; 0. gün alınan ölçümlerinde 76 nm, 7. gün alınan ölçümlerinde 79 nm, 14. gün alınan ölçümlerinde 72 nm, 35. gün alınan ölçümlerinde 71 nm olduğu görüldü. LD₅₀ değerleri; 0.gün alınan ölçümlerinde 184 nm, 7. gün alınan ölçümlerinde 189 nm, 14. gün alınan ölçümlerinde 168 nm, 35. gün alınan ölçümlerinde 165 nm olduğu görüldü. LD₉₀ değerleri; 0. gün alınan ölçümlerinde 560 nm, 7. gün alınan ölçümlerinde 580 nm; 14. gün alınan ölçümlerinde 677 nm, 35. gün alınan ölçümlerinde 946 nm olduğu görüldü. Bu sonuçlara göre; partikül boyutlarında değişiklikler olmakla birlikte bu değişikliklerin nm aralığında kalması, 4°C’de KLN formülasyonunun zamanla kimyasal kararlılığını koruduğu sonucuna varılabilir.

25°C’de bekletilen boş KLN formülasyonunda en küçük partikül büyüklüğünün 40 nm olduğu belirlendi. Mastersizer ile alınan ölçüm sonuçlarına göre; partikül boyutunun LD₁₀ değerleri; 0. gün alınan ölçümlerinde 76 nm, 7. gün alınan ölçümlerinde 74 nm, 14. gün alınan ölçümlerinde 76 nm, 35. gün alınan ölçümlerinde 68 nm olduğu görüldü. LD₅₀ değerleri; 0. gün alınan ölçümlerinde 181 nm, 7. gün alınan ölçümlerinde 176 nm,

14. gün alınan ölçümlerinde 181 nm, 35. gün alınan ölçümlerinde 147 nm olduğu görüldü. LD₉₀ değerleri; 0. gün alınan ölçümlerinde 610 nm, 7. gün alınan ölçümlerinde 889 nm, 14. gün alınan ölçümlerinde 952 nm, 35. gün alınan ölçümlerinde 884 nm olduğu görüldü. Sonuçlar incelendiğinde; partikül boyutlarında kayda değer bir değişikliğin olmaması, 25°C’de KLN formülasyonunun zamanla kimyasal kararlılığını koruduğu sonucuna varılabilir.

40°C’de bekletilen boş KLN formülasyonunda en küçük partikül büyüklüğünün 40 nm olduğu belirlendi. Mastersizer ile alınan ölçüm sonuçlarına göre; partikül boyutunun LD₁₀ değerleri; 0. gün alınan ölçümlerinde 86 nm, 7. gün alınan ölçümlerinde 70 nm, 14. gün alınan ölçümlerinde 64 nm, 35. gün alınan ölçümlerinde 65 nm olduğu görüldü. LD₅₀ değerleri; 0. gün alınan ölçümlerinde 201 nm, 7. gün alınan ölçümlerinde 151 nm, 14. gün alınan ölçümlerinde 125 nm, 35. gün alınan ölçümlerinde 127 nm olduğu görüldü. LD₉₀ değerleri; 0. gün alınan ölçümlerinde 542 nm, 7. gün alınan ölçümlerinde 583 nm, 14. gün alınan ölçümlerinde 292 nm, 35. gün alınan ölçümlerinde 346 nm olduğu görüldü. Bu sonuçlar incelendiğinde; partikül boyutlarında değişiklikler olmakla birlikte bu değişikliklerin nm aralığında kalması, 40°C’de KLN formülasyonunun zamanla kimyasal kararlılığını koruduğu sonucuna varılabilir.

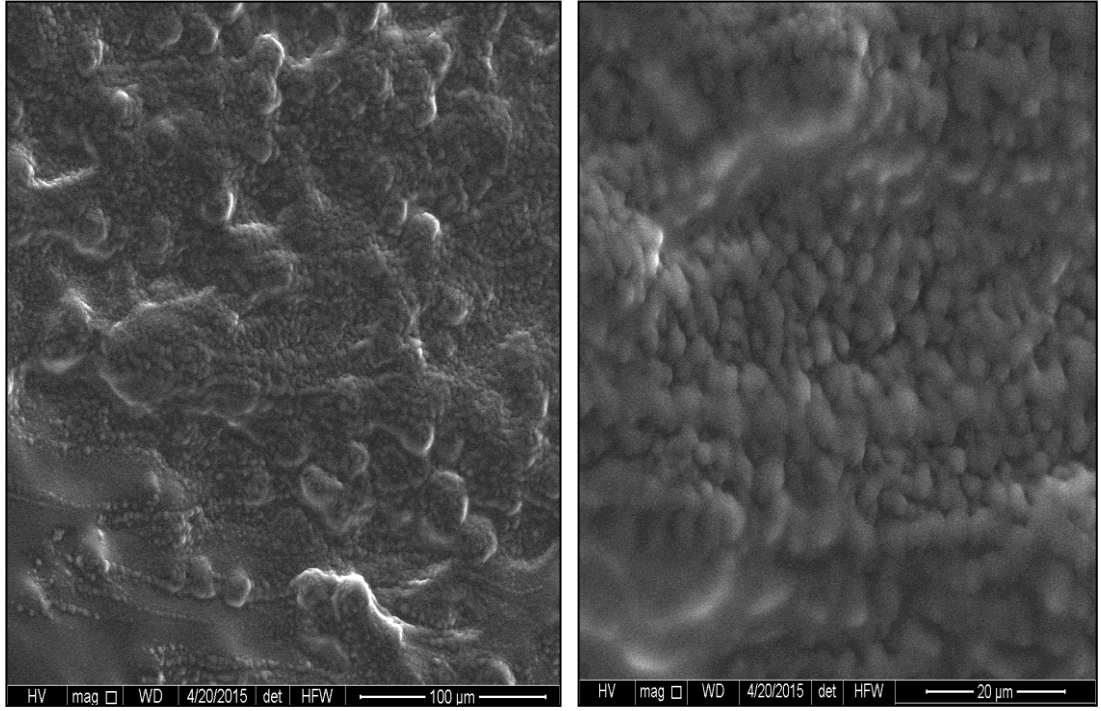
4°C’de bekletilen C-KLN formülasyonunda en küçük partikül büyüklüğünün 40 nm olduğu belirlendi. Mastersizer ile alınan ölçüm sonuçlarına göre; partikül boyutunun LD₁₀ değerleri; 0. gün alınan ölçümlerinde 61 nm, 7. gün alınan ölçümlerinde 71 nm, 14. gün alınan ölçümlerinde 67 nm, 35. gün alınan ölçümlerinde 69 nm olduğu görüldü. LD₅₀ değerleri; 0. gün alınan ölçümlerinde 115 nm, 7. gün alınan ölçümlerinde 114 nm, 14. gün alınan ölçümlerinde 130 nm, 35. gün alınan ölçümlerinde 136 nm olduğu görüldü. LD₉₀ değerleri; 0. gün alınan ölçümlerinde 504 nm, 7. gün alınan ölçümlerinde 725 nm, 14. gün alınan ölçümlerinde 731 nm, 35. gün alınan ölçümlerinde 771 nm olduğu görüldü. Bu sonuçlar incelendiğinde; partikül boyutlarında değişiklikler olmakla birlikte bu değişikliklerin nm aralığında kalması, 4°C’de C-KLN formülasyonunun zamanla kimyasal kararlılığını koruduğu sonucuna varılabilir.

25°C’de bekletilen C-KLN formülasyonunda en küçük partikül büyüklüğünün 46 nm olduğu belirlendi. Mastersizer ile alınan ölçüm sonuçlarına göre; partikül boyutunun LD₁₀ değerleri; 0. gün alınan ölçümlerinde 71 nm, 7. gün alınan ölçümlerinde 72 nm, 14. gün alınan ölçümlerinde 70 nm, 35. gün alınan ölçümlerinde 71 nm olduğu görüldü. LD₅₀ değerleri; 0. gün alınan ölçümlerinde 140 nm, 7. gün alınan ölçümlerinde 141 nm, 14. gün alınan ölçümlerinde 137 nm, 35. gün alınan ölçümlerinde 139 nm olduğu görüldü. LD₉₀ değerleri; 0. gün alınan ölçümlerinde 674 nm, 7. gün alınan ölçümlerinde 696 nm, 14. gün alınan ölçümlerinde 701 nm, 35. gün alınan ölçümlerinde 722 nm olduğu görüldü. Sonuçlar incelendiğinde; partikül boyutlarında kayda değer bir değişikliğin olmaması, 25°C’de C-KLN formülasyonunun zamanla kimyasal kararlılığını koruduğu sonucuna varılabilir.

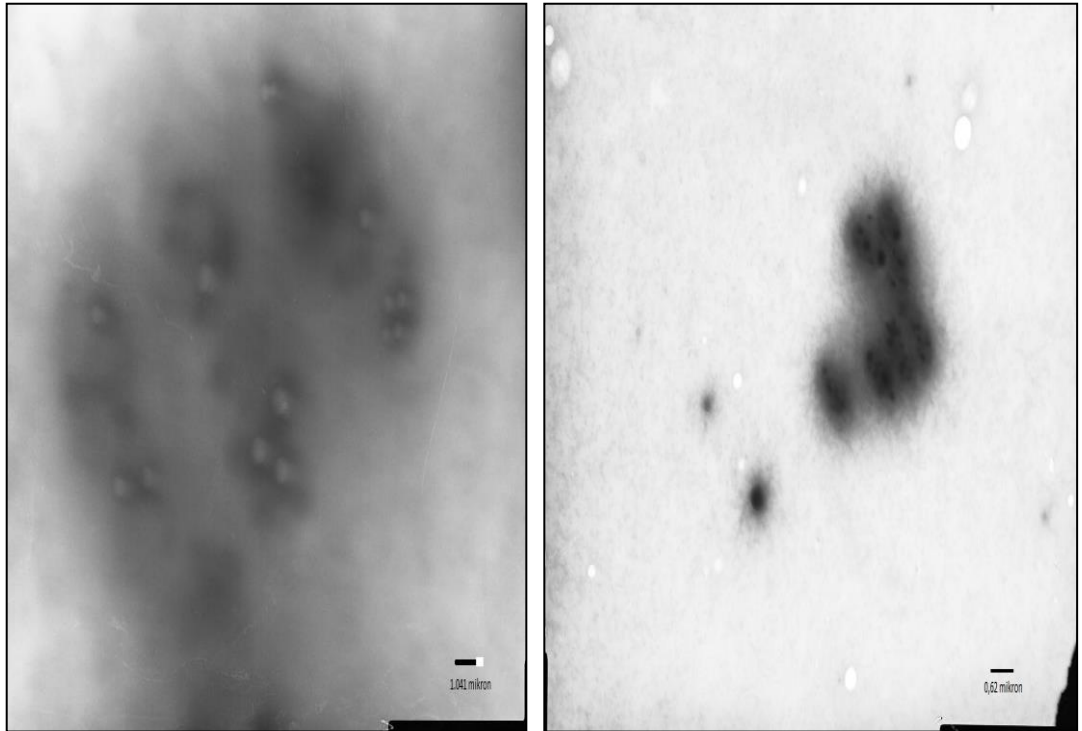
40°C’de bekletilen C-KLN formülasyonunda en küçük partikül büyüklüğünün 40 nm olduğu belirlendi. Mastersizer ile alınan ölçüm sonuçlarına göre; partikül boyutunun LD₁₀ değerleri; 0. gün alınan ölçümlerinde 60 nm, 7. gün alınan ölçümlerinde 66 nm, 14. gün alınan ölçümlerinde 65 nm, 35. gün alınan ölçümlerinde 67 nm olduğu görüldü. LD₅₀ değerleri; 0. gün alınan ölçümlerinde 115 nm, 7. gün alınan ölçümlerinde 129 nm, 14. gün alınan ölçümlerinde 128 nm, 35. gün alınan ölçümlerinde 134 nm olduğu görüldü. LD₉₀ değerleri; 0. gün alınan ölçümlerinde 486 nm, 7. gün alınan ölçümlerinde 711 nm, 14. gün alınan ölçümlerinde 717 nm, 35. gün alınan ölçümlerinde 773 nm olduğu görüldü. Sonuçlar incelendiğinde; partikül boyutlarında kayda değer bir değişikliğin olmaması, 40°C’de C-KLN formülasyonunun zamanla kimyasal kararlılığını koruduğu sonucuna varılabilir.

4.3. Partikül Şeklinin İncelenmesi

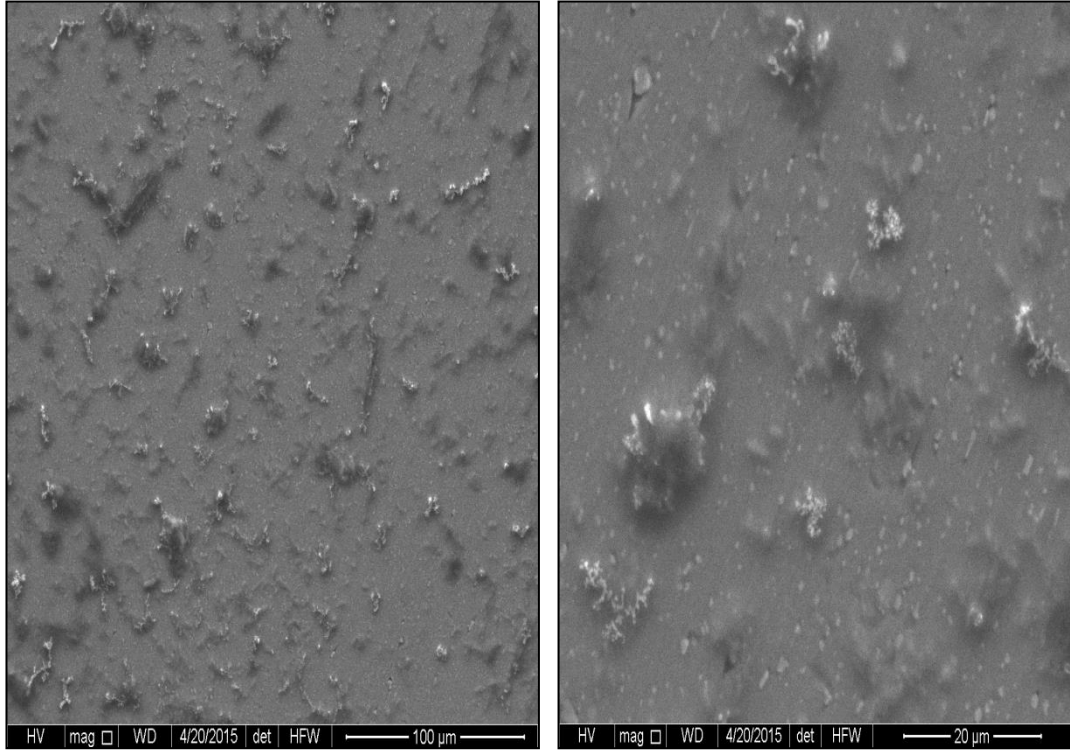
Hazırlanan KLN ve C-KLN formülasyonların yüzey morfolojisinin belirlenmesi amacıyla SEM ve TEM görüntüleri alındı. Alınan görüntülerde partiküllerin çoğunluğunun küresel bir şekle sahip olduğu belirlendi. Görüntüler Şekil 4.25, 26, 27 ve 28’de verildi.



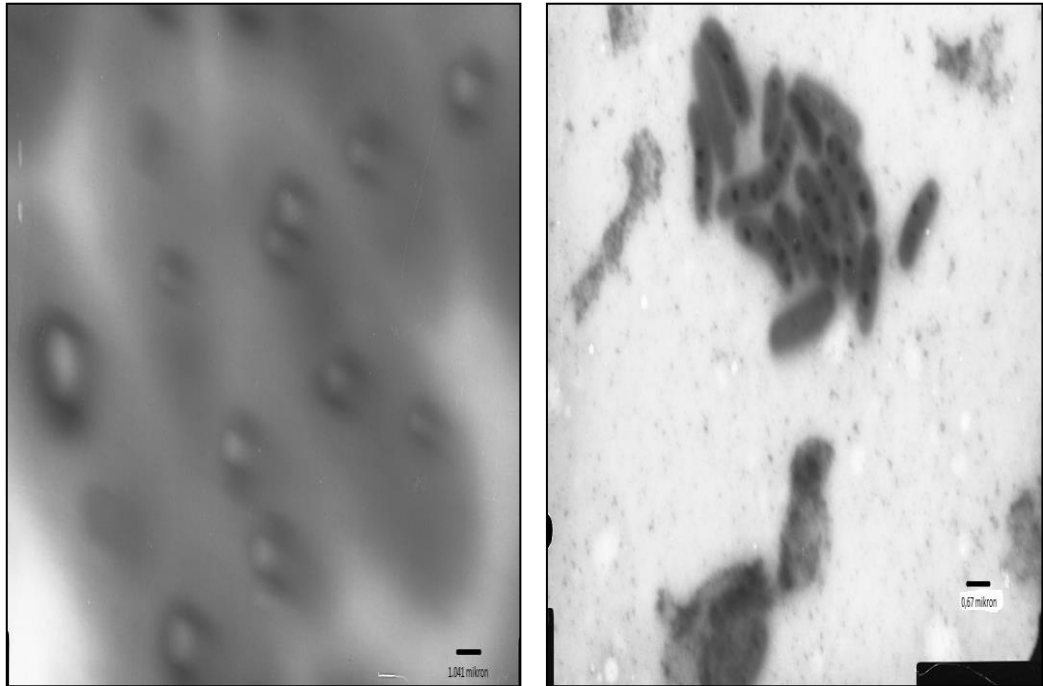
Şekil 4.25. Farklı ölçeklerde alınmış olan boş KLN'nin SEM görüntüleri



Şekil 4.26. Farklı ölçeklerde alınmış olan boş KLN'nin TEM görüntüleri



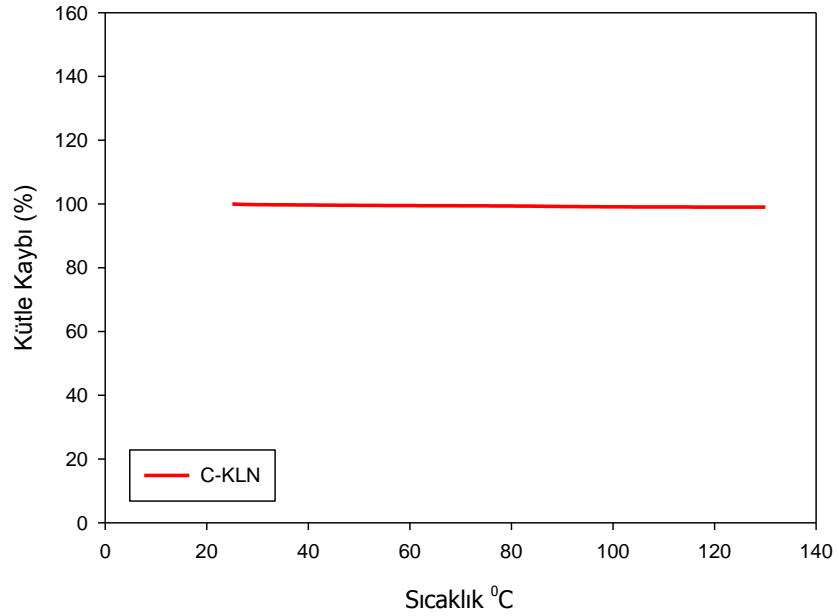
Şekil 4.27. Farklı ölçeklerde alınmış olan C-KLN'nin SEM görüntüleri



Şekil 4.28. Farklı ölçeklerde alınmış olan C-KLN'nin TEM görüntüleri

4.4. TGA Analizi

Hazırlanan katı lipid nanopartikül formülasyonundaki kurkuminin termal stabilitesinin belirlenmesi amacıyla liyofilizasyon ile toz haline getirilen C-KLN'lerin analizleri, boş referansa karşı alümina krozede, 10°C/dak ısıtma hızında, 25°C ile 130°C sıcaklık aralığında, 30 ml/dak akış hızıyla beslenen azot atmosferinde gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar Şekil 4.29'da verilmiştir.



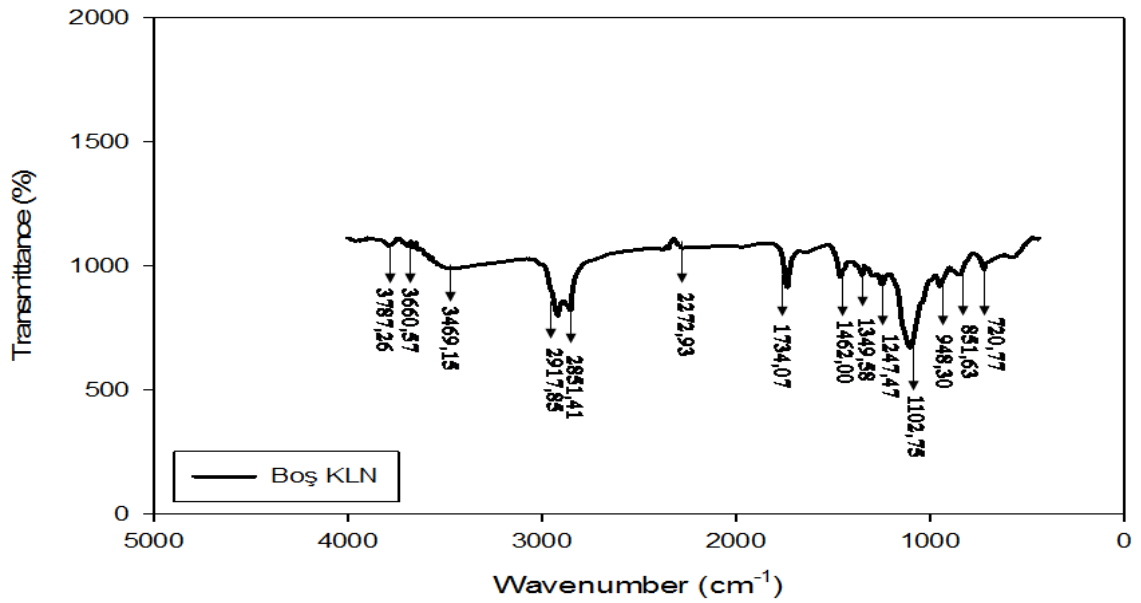
Şekil 4.29. C-KLN'ye ait termogravimetrik analiz sonucu

Katı lipid nanopartikül formülasyonu yüksek sıcaklıklar da hazırlandığı için bu partiküllere yüklenen kurkuminin termal stabilitesini belirlemek amacıyla TGA analizi yapıldı. TGA analiz sonucuna göre 25°C ile 130°C arasında herhangi bir kütle kaybının olmaması katı lipid nanopartikül formülasyonunda ki kurkuminin sıcaklığa karşı stabilitesini koruduğu yorumu yapılabilir.

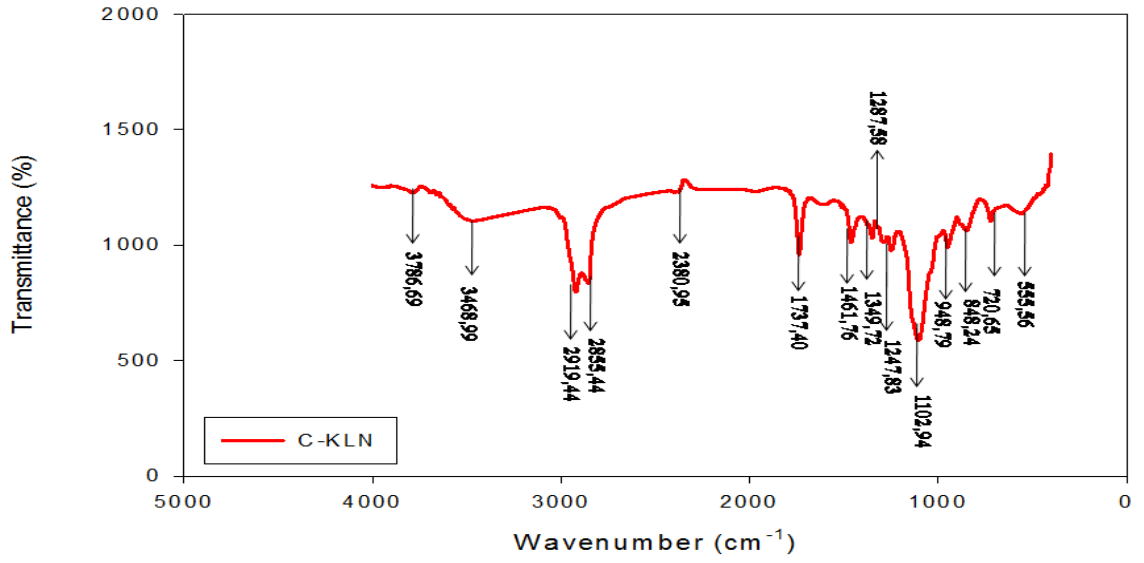
4.5. FT-IR Analizi

FT-IR bileşiklerin tanınması amacıyla kullanılan en güçlü spektroskopik araçlardan birisidir. Moleküllerdeki bağların titreşim veya dönme frekanslarını ölçer ve moleküldeki fonksiyonel gruplar hakkında bilgi veririr. Fonksiyonel grupların titreşim veya dönmeleri ve bu fonksiyonel grupların moleküldeki diğer atomlarla etkileşimi sonucunda her bir bileşiğe ait bir IR spektrumu oluşur. Bu yüzden FT-IR çoklu bileşime sahip formülasyon içindeki materyallerin tanınmasında oldukça kullanışlı ve hassas bir tekniktir (Pople and Singh 2010).

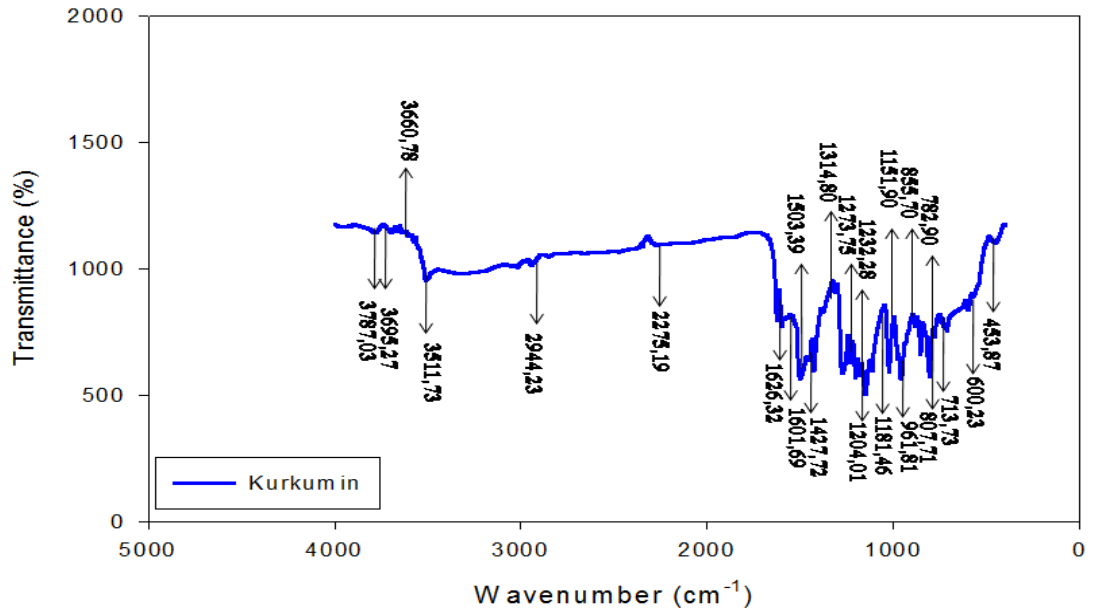
Kurkumin, boş KLN ve C-KLN'nin FT-IR spektrumu alınmıştır. Sonuçlar 4.30, 4.31 ve 4.32'de verilmiştir.



Şekil 4.30. KLN'nin FT-IR analiz sonucu



Şekil 4.31. C-KLN'nin FT-IR analiz sonucu



Şekil 4.32. Kurkuminin FT-IR analiz sonucu

Kurkuminin IR spektrumunda görülmeyen fakat C-KLN spektrumunda gözlenen 1737 cm⁻¹ bölgesindeki kuvvetli sinyalin ve yine kurkuminin IR spektrumunda 2944 cm⁻¹ bölgesinde bulunan çok zayıf sinyale karşılık C-KLN spektrumunda ki 2919'da oluşan kuvvetli sinyalin varlığı ortamda bir etkileşiminin gerçekleştiğini göstermektedir. Molekülün yapıları göz önüne alındığında kurkumin bileşiğinde enol yapısı keton formu

ile dengede olduğu için ve bu molekülde dengenin komşu karbonilden dolayı enol formunu daha çok tercih edeceğinden 2919 cm^{-1} bölgesinde çok zayıf bir sinyal olarak gözlenmektedir. Buna karşılık etkileşim neticesinde ilgili enol yapısında bir değişiklik olmakta ve olefinik enol karbonu alkil karbonuna dönüşmekte ve 2944 cm^{-1} bölgesinde keskin sinyal gözlenmektedir. Buna ilaveten 1737 cm^{-1} bölgesinde yeni oluşan kuvvetli sinyalde enol keto dengesinin bozulduğunu ve tamamen bir keton durumuna geçildiğini desteklemektedir. Ayrıca kurkuminin IR spektrumunda 1626 cm^{-1} bölgesindeki C=O grubu sinyallerin C-KLN spektrumunda gözlenmemesi kurkuminin KLN içerisine hapsedildiğinin bir göstergesi olabilir. Buna ilaveten C-KLN spektrumunda boş KLN spektrumunda olmayan 1287 cm^{-1} bölgesinde gözlenen aromatik C-O- gerilme sinyalleri yine kurkuminin KLN içerisine enkapsüle edildiğinin bir göstergesi olarak yorumlanabilir.

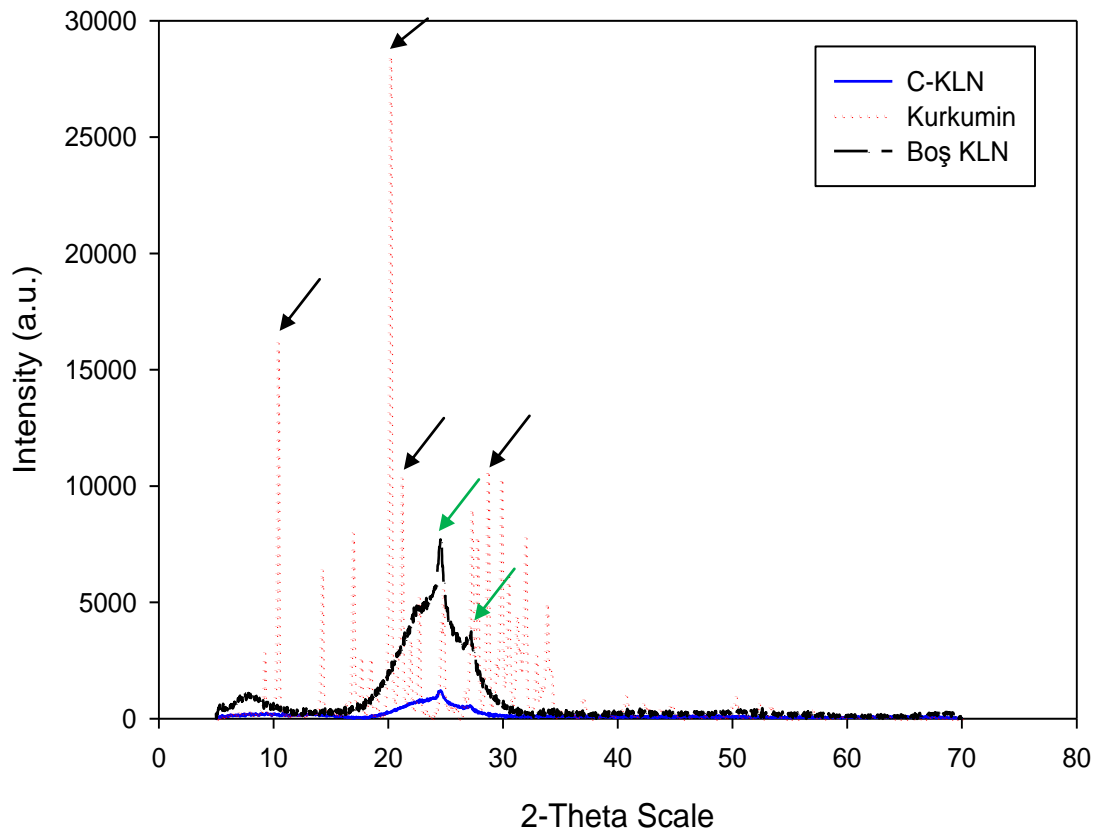
4.6. XRD Analizi

Malzemelerin iç yapısı atomların diziliş biçimine bağlıdır. Kristal yapıda atomlar düzenli olarak, amorf yapıda ise düzensiz olarak ve rastgele dizilir. Atomların kristal düzlemdeki diziliş biçimi kafes yapıyı oluşturur. Moleküllerin farklı kafes düzenlenmelerinden dolayı birçok değişik kristal yapıların mevcut olması polimorfizm olarak adlandırılır. Polimorflar kimyasal olarak aynı bileşime sahip olsalar bile; çözünürlük, stabilite, erime noktası gibi özellikleri birbirlerinden önemli derecede farklılık gösterir. Düşük erime noktasına sahip olan lipitler kullanılarak hazırlanan KLN'ler de farklı polimorfik formlar (α , β^- , β) oluşabilir. α polimorfların önce β^- polimorfuna sonra da β polimorfuna dönme eğilimi vardır. β polimorf yapısı en stabil polimorf olarak kabul edilirken, β^- polimorf yarı kararlı (metastable) formu olarak kabul edilir. Katı lipit nanopartiküllerin hazırlanması, işlenmesi ve saklanması çeşitli polimorfik geçişlere yol açar. Saklama sırasında KLN'ler metastabl formdan daha stabil bir polimorf durumuna geçebilir. Bu geçişler nanopartikül içerisine hapsedilen etken maddelerin fiziksel stabilitesini ve salım profilini ciddi bir şekilde etkiler. Yani, daha stabil polimorflar oluşursa lipit matrisde kristal noksanlık bölgelerin sayısı azalır

ve kristal kafes daha mükemmel hale gelir ki bu da etken maddenin lipit matriksten dışarı sızmasına sebep olur (Kathe *et al.* 2014).

Etken maddeler; yağ asidi zincirleri arasında, lipit tabakaları arasında ve kristal kafesteki kristal noksanlık bölgelerine yerleşirler. Eğer lipit molekülleri mükemmel kristal kafes yapısına sahip olursa, kristal kafes de daha az sayıda kristal noksanlık bölgesi oluşur ve daha az etken madde yerleşir (Numanoğlu ve Tarımcı 2006).

Kurkumin, boş KLN ve C-KLN'nin XRD analizine ait sonuçlar Şekil 4.33'de verilmiştir.



Şekil 4.33. Kurkumin, C-KLN ve boş KLN'nin XRD analiz sonucu

Şekil 4.33 incelendiğinde kurkuminin XRD analiz sonucunda 2Θ aralığında $8-34^\circ$ de kırınım yapısı görülmektedir. Kurkuminin kırınım yapısına ait $2\Theta = 10,37^\circ, 20,16^\circ, 21,16^\circ, 28,68^\circ$ deki keskin pikler kurkuminin düzenli kristal yapısının karakteristiğini temsil etmektedir. Kurkuminin kristal yapısını belirten bu keskin piklerin C-KLN formülasyonun XRD analiz sonucunda beklenildiği gibi gözükmemesi kurkuminin katı lipit nanopartiküller içerisine hapsedildikten sonra lipit zincirleri ile moleküllerarası etkileşimleriyle birlikte amorf yapıya sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca C-KLN formülasyonunun amorf yapıda olması kurkuminin katı lipit nanopartiküller içerisine hapsedildiğini desteklemektedir. Boş KLN'nin XRD analiz sonucunda kırınım yapısı incelendiğinde $2\Theta = 24,65^\circ$ ve $27,11^\circ$ deki iki küçük karakteristik pikin varlığı boş KLN'nin β polimorf yapıda yani yarı amorf bir yapıda olduğunu kanıtlamaktadır. Boş KLN formülasyonun kırınım yapısı ile C-KLN formülasyonunun kırınım yapısı incelendiğinde çok büyük farklılıkların olmadığı ve katı lipit nanopartikül içerisine eklenen kurkuminin katı lipit matrisi üzerinde herhangi bir değişiklik oluşturmadığı gözlemlenmiştir. Bu sonuçların literatürdeki benzer çalışmalar ile uyumlu olduğu saptanmıştır (Mulik *et al.* 2010; Mohanty and Sahoo 2010; Anitha *et al.* 2011)

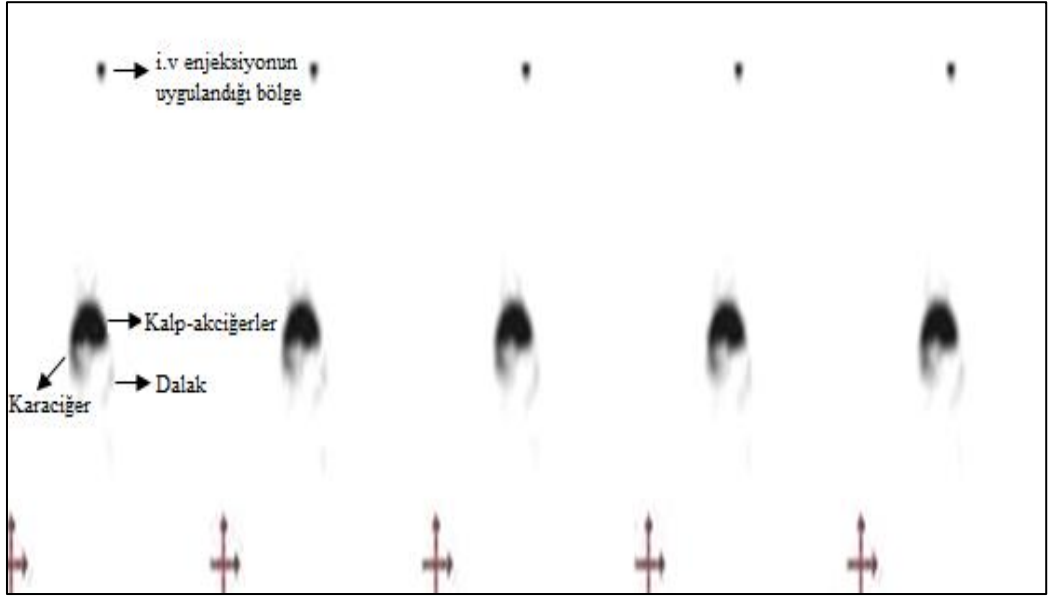
4.7. İn Vivo Çalışmalara Ait Bulguların İncelenmesi

^{99m}Tc -C-KLN'nin tavşanlara intra venöz uygulamasından hemen sonra gama kamera ile 30 dakikalık sürede 1'er dakikalık dinamik görüntüler ve i.v enjeksiyonundan 1 saat, 2 saat, 4 saat ve 24 saat sonra çekilen 5'er dakikalık statik görüntüler alındı. Ayrıca sintigrafik bulgular değerlendirilip, radyoaktivite tutulumu gösteren bölgeler belirlendi. Piksel başına düşen sayımlar hesaplandı ve hedef/background (BG) oranları bulundu.

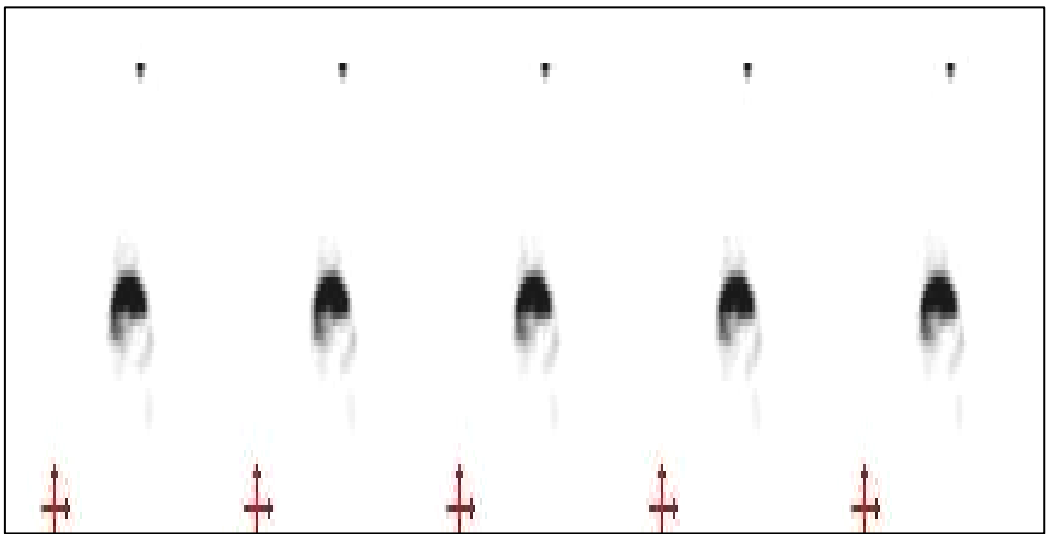
Hedef/Background (BG) oranları Çizelge 4.8'de ve Şekil 4.45'de verilmiştir.

^{99m}Tc -C-KLN'nin tavşanlara intra venöz uygulamasından hemen sonra gama kamera ile 30 dakikalık sürede 1'er dakikalık dinamik görüntüler Şekil 4.34, 35, 36, 37, 38 ve 39'da verilmiştir.

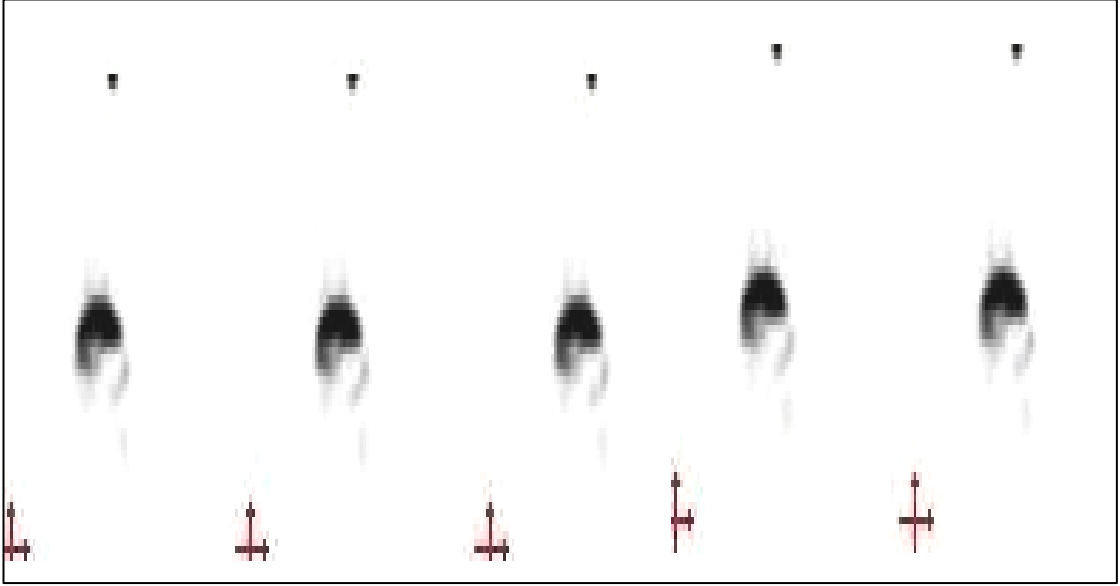
$^{99m}\text{Tc-C-KLN}$ 'nin tavşanlara intra venöz uygulamasından 1 saat, 2 saat, 3 saat, 4 saat ve 24 saat sonra gama kamera ile çekilen 5'er dakikalık statik görüntüler Şekil 4.40, 41, 42, 43 ve 44'de verilmiştir.



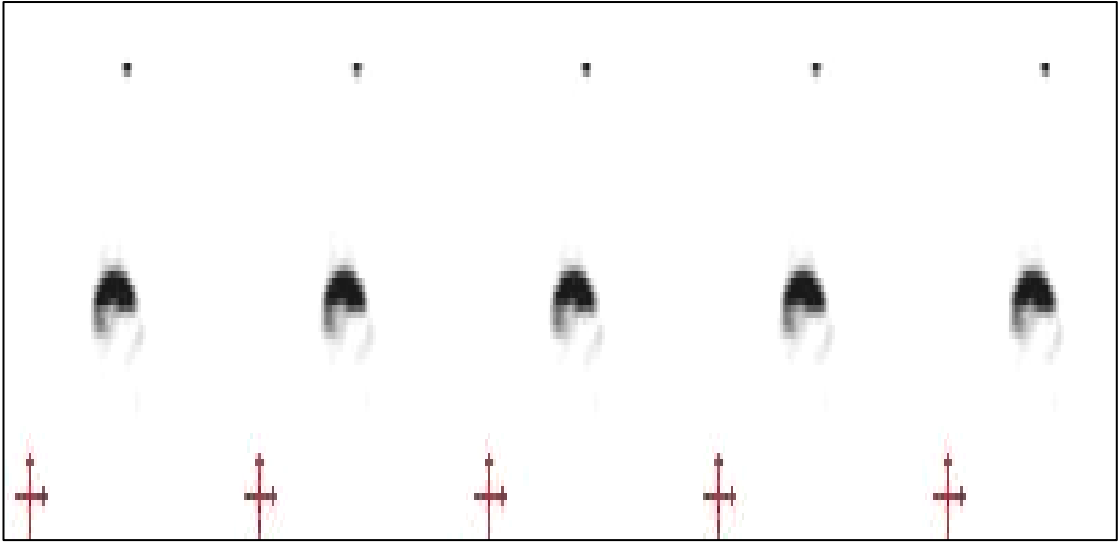
Şekil 4.34. $^{99m}\text{Tc-C-KLN}$ 'nin tavşanlara intra venöz uygulamasından hemen sonra gama kamera ile alınan dinamik görüntüler
*1.Dakika ile 5. Dakika-Anterior



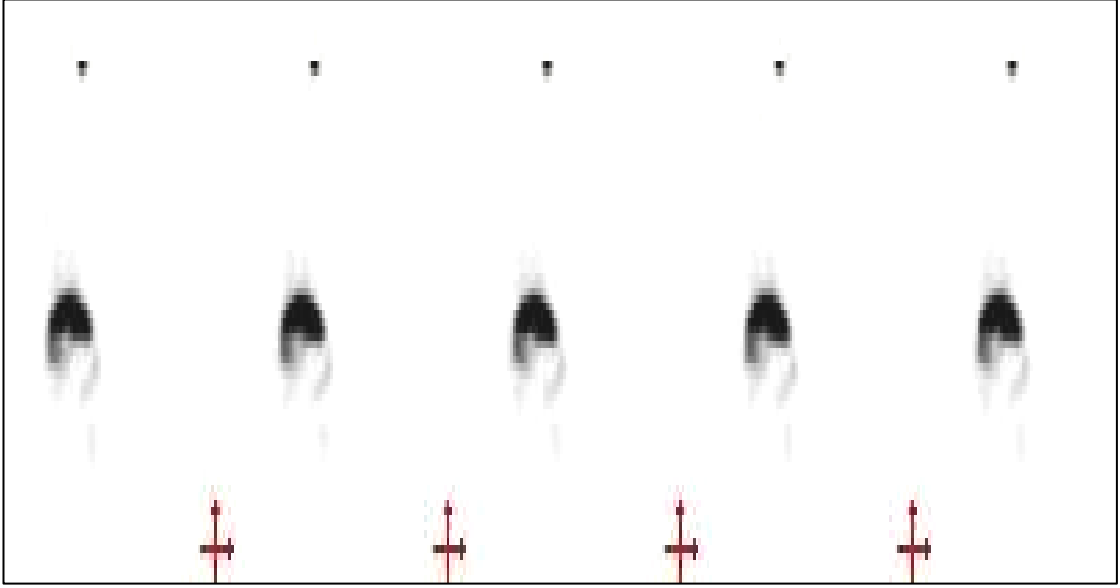
Şekil 4.35. $^{99m}\text{Tc-C-KLN}$ 'nin tavşanlara intra venöz uygulamasından hemen sonra gama kamera ile alınan dinamik görüntüler
*6.Dakika ile 10. Dakika-Anterior



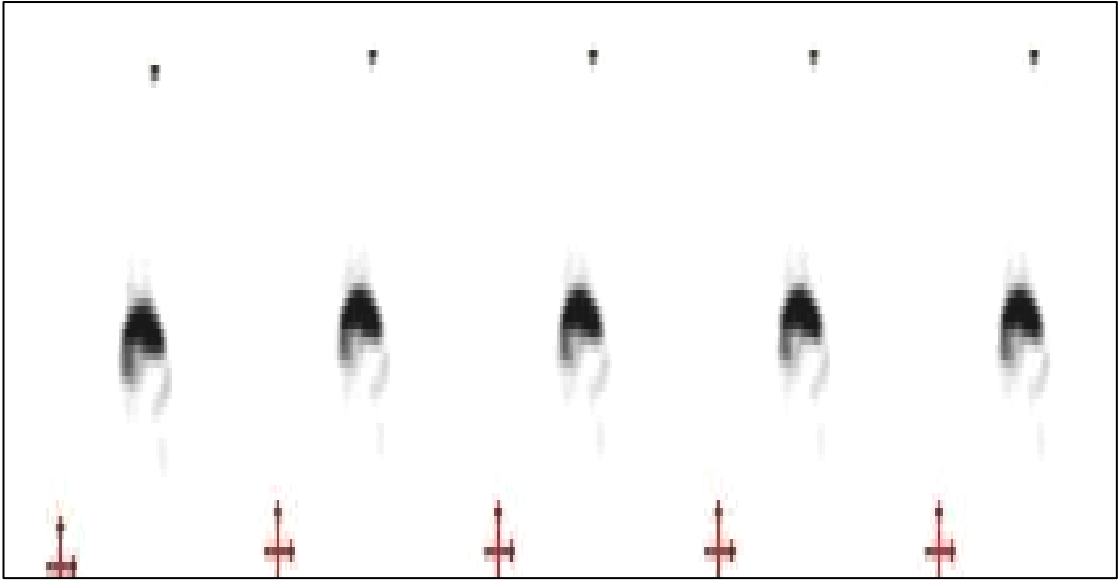
Şekil 4.36. $^{99m}\text{Tc-C-KLN}$ 'nin tavşanlara intra venöz uygulamasından hemen sonra gama kamera ile alınan dinamik görüntüler
*11.Dakika ile 15. Dakika-Anterior



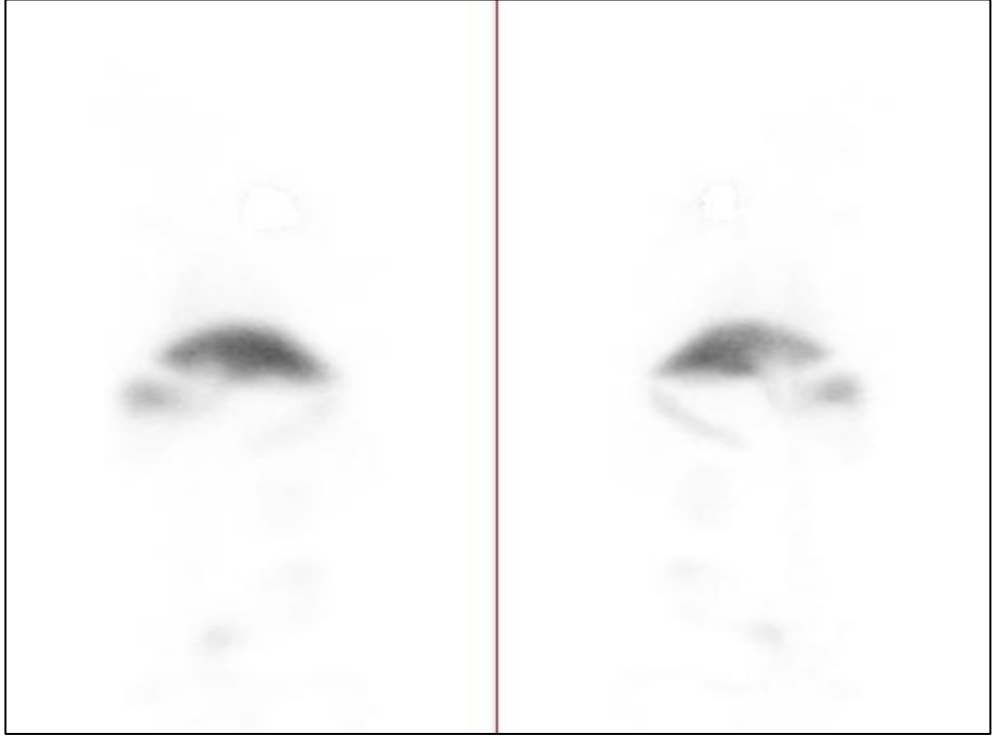
Şekil 4.37. $^{99m}\text{Tc-C-KLN}$ 'nin tavşanlara intra venöz uygulamasından hemen sonra gama kamera ile alınan dinamik görüntüler
*16.Dakika ile 20. Dakika-Anterior



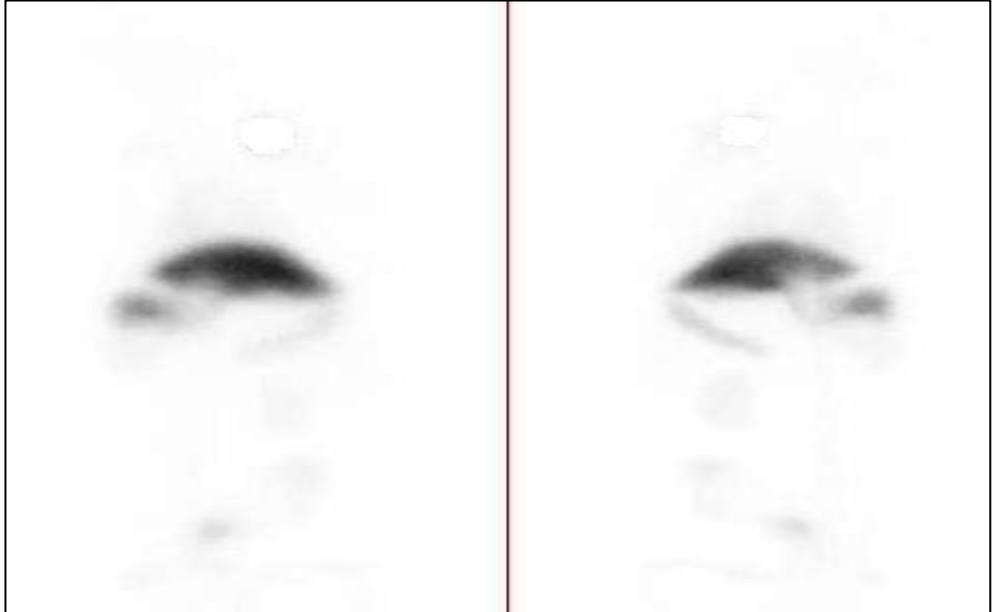
Şekil 4.38. $^{99m}\text{Tc-C-KLN}$ 'nin tavşanlara intra venöz uygulamasından hemen sonra gama kamera ile alınan dinamik görüntüler
*21.Dakika ile 25. Dakika-Anterior



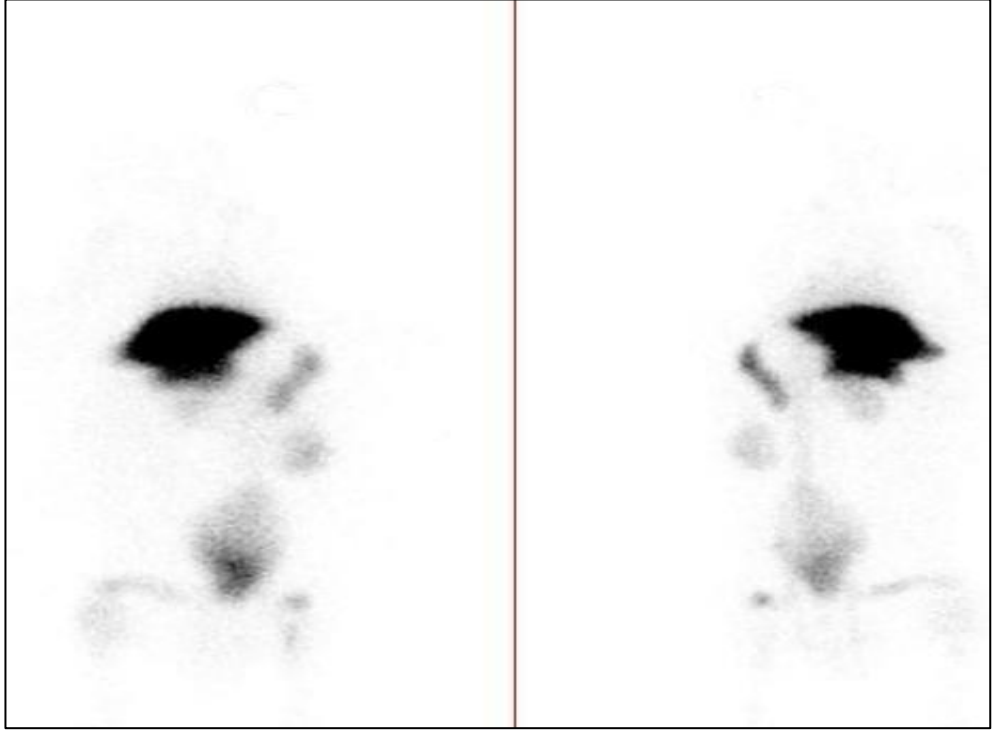
Şekil 4.39. $^{99m}\text{Tc-C-KLN}$ 'nin tavşanlara intra venöz uygulamasından hemen sonra gama kamera ile alınan dinamik görüntüler
*26.Dakika ile 30. Dakika-Anterior



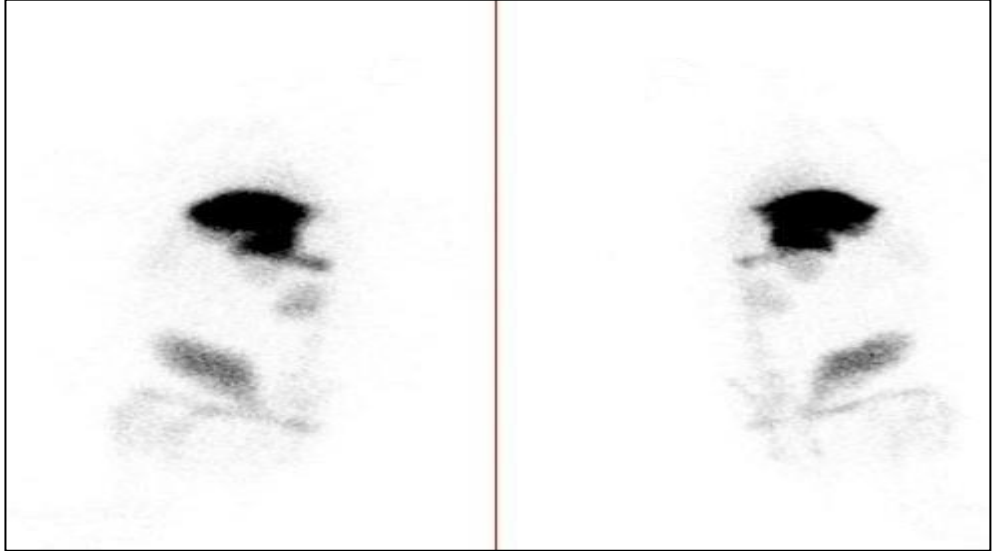
Şekil 4.40. $^{99m}\text{Tc-C-KLN}$ 'nin tavşanlara i.v enjeksiyonundan 1 saat sonra çekilen statik görüntüler (Anterior-Posterior)



Şekil 4.41. $^{99m}\text{Tc-C-KLN}$ 'nin tavşanlara i.v enjeksiyonundan 2 saat sonra çekilen statik görüntüler (Anterior-Posterior)



Şekil 4.42. $^{99m}\text{Tc-C-KLN}$ 'nin tavşanlara i.v enjeksiyonundan 3 saat sonra çekilen statik görüntüler (Anterior-Posterior)



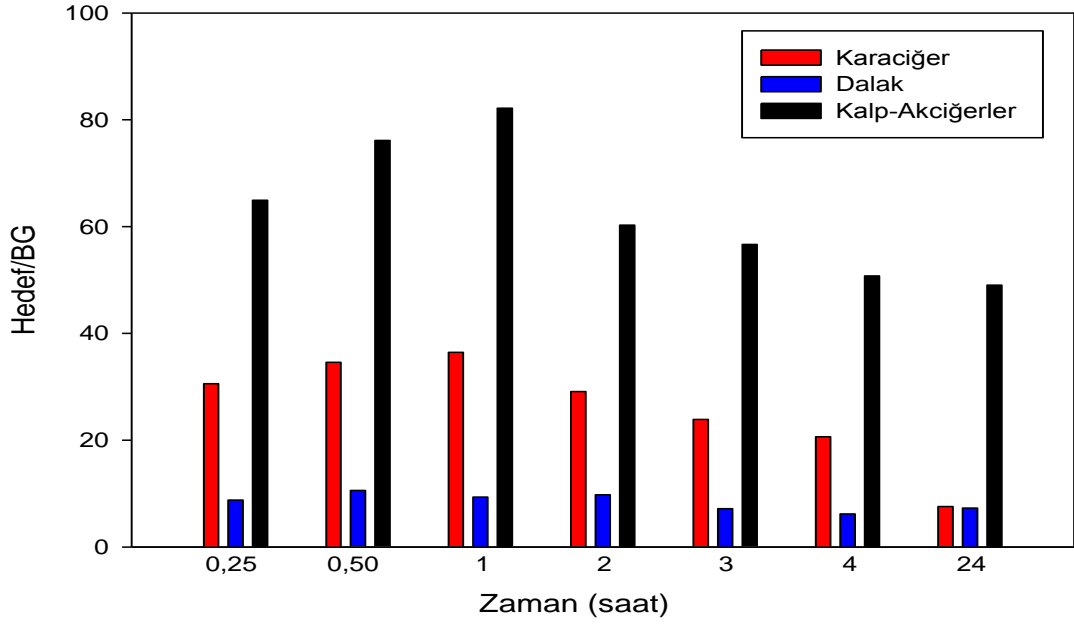
Şekil 4.43. $^{99m}\text{Tc-C-KLN}$ 'nin tavşanlara i.v enjeksiyonundan 4 saat sonra çekilen statik görüntüler (Anterior-Posterior)



Şekil 4.44. $^{99m}\text{Tc-C-KLN}$ 'nin tavşanlara i.v enjeksiyonundan 24 saat sonra çekilen statik görüntüler (Anterior-Posterior)

Çizelge 4.8. $^{99m}\text{Tc-C-KLN}$ 'nin tavşanlara i.v enjeksiyonundan sonra elde edilen Hedef/Background (BG) oranları

Radyoaktivite Tutulumu Gösteren Organlar (Hedef)	i.v Enjeksiyonundan Sonra Geçen Süre (saat)						
	0,25.	0,5.	1. saat	2. saat	3. saat	4. saat	24. saat
Karaciğer	30,57	34,60	36,45	29,11	23,89	20,64	7,58
Dalak	8,80	10,59	9,37	9,78	7,18	6,20	7,31
Kalp-Akciğerler	64,93	76,15	82,17	60,26	56,65	50,75	49,03



Şekil 4.45. $^{99m}\text{Tc-C-KLN}$ 'nin tavşanlara i.v enjeksiyonundan sonra elde edilen Hedef/Background (BG) oranlarının grafiksel gösterimi

Şekil 4.34-45'deki dinamik görüntüler, statik görüntüler ve Hedef/BG oranları ayrıca Çizelge 4.8 incelendiğinde kalp ve akciğerler ile karaciğer, dalak, böbrekler ve mesanede tutulumların olduğu görülmektedir.

Böbreklerde ve mesanede tutulumun olması, $^{99m}\text{Tc-C-KLN}$ 'lerin böbrekler ve mesane yoluyla atılması nedeniyle olduğu sonucuna varılabilir.

Kalp ile akciğerler ve karaciğerde maksimum tutulum bir saat içerisinde dalakta ise maksimum tutulum iki saat içerisinde gerçekleşmiş olup, 24 saat sonunda minimuma indiği görülmektedir. Çizelge 4.8 ve Şekil 4.45'deki biyodağılımlar incelendiğinde ilk 15 dakika içerisinde karaciğerde tutulumun başladığı, 1. Saatin sonunda maksimuma ulaştığı, dalakta ise yine 15. dakikada tutulum başlayıp 2. saatte maksimuma ulaştığı söylenebilir. Bununla birlikte akciğerde yoğun bir tutulumun gözlemlenmesi partikül boyutuyla alakalı olabilir. Çünkü kılcal damar boyutları katı lipit partiküllerin geçişini engelleyebilir. Ancak deney hayvanlarının, deneylerin üzerinden aylar geçmesine

rağmen herhangi bir sorun yaşamamaları, C-KLN'lerin kılcal damarlara takılsa bile emboliye neden olmadığını gösterir. Sonuçlar incelendiğinde; uygun koşul ve partikül boyutlarındaki C-KLN'nin özellikle karaciğer ve dalak görüntülenmesinde kullanılabileceği söylenebilir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Katı lipit nanopartiküller emülsiyon, lipozom ve polimerik nanopartiküllerin sağladığı avantajların kombinasyonunu içerdiği için son yıllarda giderek artan bir ilgi görmektedir. Etken maddelerin kontrollü olarak salımına imkan sağlaması, kimyasal ve fiziksel bozunmaya karşı etken maddeyi koruması, kolay üretim, ucuz maliyet imkanı sayesinde KLN'lere olan ilgi giderek artmaktadır.

Bir radyonüklid ile işaretli farmasotiklerin düşük dozlarda alınması temeline dayanan radyonüklid görüntüleme Planar, SPECT ve PET görüntülemeyi içerir. Genelde, nanopartiküllerin biyolojik dağılımını, farmakokinetik özelliklerini, hedefleme etkinliğini ve radyofarmasötik özelliğini belirlemek amacıyla nanopartiküller radyonüklid ile işaretlenir. Nanopartiküller sahip olduğu boyut özelliklerinden dolayı dolaşımında daha uzun süre kalır. Bundan dolayı nanopartiküllerin tıp alanında özellikle hastalıkların teşhis ve tedavisinde kullanımı büyük bir önem arzeder.

Bazı hastalıklara karşı koruyucu olarak bilinen ve bu amaçla kullanılan kurkuminin, katı lipit nanopartiküllere yüklenmiş şeklinin, nükleer tıpta teşhis amaçlı radyofarmasötik olarak kullanılabilirliğini konu alan bu çalışmada;

- Mikroemülsiyon ve ultrasonikasyon yöntemi ile boş KLN ve C-KLN'ler hazırlanmış ve hazırlanan bu formülasyonun partikül boyutunun nm boyutlarında olduğu gözlemlenmiştir.
- Farklı sıcaklıklarda bekletilen KLN ve C-KLN'lerin partikül boyutlarında zamana göre değişikliğin olup olmadığını anlamak için bu ölçümler belirli aralıklarda tekrarlanmıştır. Yaklaşık bir ay devam eden ölçüm sonuçlarında bu partiküllerin boyutlarında önemli bir değişimin olmadığı ve nanometre boyutlarında kaldığı belirlenmiştir.
- Fiziksel özellikleri değerlendirildiğinde formülasyonun berraklığını koruduğu gözlemlenmiştir.

- TEM ve SEM görüntüleri incelendiğinde bu partiküllerin hemen hemen küresel bir şekle sahip olduğu görülmüştür.
- Kurkuminin termal stabilitesini belirlemek amacıyla yapılan TGA analiz sonucuna göre; 25°C ile 130°C arasında herhangi bir kütle kaybının olmaması katı lipit nanopartikül formülasyonunda ki kurkuminin sıcaklığa karşı stabilitesini koruduğunun bir göstergesi olduğu kanısına varılmıştır.
- Kurkuminin, boş KLN'nin ve C-KLN'nin FT-IR analiz sonuçları değerlendirildiğinde kurkuminin KLN içerisine hapsedildiği kanısına varılmıştır.
- Kurkuminin, boş KLN'nin ve C-KLN'nin XRD analiz sonuçları değerlendirildiğinde kurkuminin yine katı lipit içerisine hapsedildiğinin ve enkapsülasyondan sonra amorf yapıda olduğu kanısına varılmıştır.
- Dinamik ve statik görüntüler, ayrıca biyolojik dağılım incelendiğinde dalaktaki tutulumun, dalak sintigrafisinde alternatif radyofarmasötik ajan olarak, ^{99m}Tc-C-KLN'nin kullanılabilirliğini düşündürmektedir.
- Dinamik ve statik görüntüler, ayrıca biyolojik dağılım incelendiğinde görüntü netliği ve Hedef/BG oranı dikkate alınarak, ^{99m}Tc ile işaretli C-KLN'nin karaciğer görüntülenmesinde yeni bir görüntüleme ajanı olarak kullanılabilirliği sonucuna varılmıştır.

Yapılan çalışma sonucunda aşağıdaki önermeler yapılabilir;

- Geliştirilen kurkumin yüklü katı lipit nanopartiküllerin stabil olmaları, ^{99m}Tc ile işaretlenebilmesi ve belli organlarda özellikle karaciğer ve dalakta tutulumun sağlanmasından dolayı planar görüntüleme için görüntüleme ajanı olarak kullanılması önerilebilir.
- İleride yapılacak yeni çalışmalarla, partikül boyutunun dahada küçüktülerek özellikle kalp ve akciğerler bölgesinde ki görüntülerin bertaraf edilmesi sağlanabilir.
- Akciğerlerdeki tutulumun, akciğer perfüzyon sintigrafi açısından kullanılabilirliği araştırılabilir.
- Partikül boyutu küçüldüğünde, özellikle beyin görüntüleme açısından kullanışlı olup olmadığı belirlenebilir.

KAYNAKLAR

- Abram, U. and Alberto, R., 2006. Technetium and Rhenium – Coordination Chemistry and Nuclear Medical Applications. *Journal of Brazilian Chemical Society*, 17 (8), 1486-1500.
- Akpolat, M., Topçu Tarladaçalışır, Y., Uz, Y.H., Sapmaz Metin, M., Kızılay, G., 2010. Kanser Tedavisinde Curcuminin Yeri. *Yeni Tıp Derg.* 27, 142-147.
- Allard, E., Huynh, N.T., Vessieres, A., Pigeon, P., Jaouen, G., Benoit, J.P., Passirani, C., 2009. Dose effect activity of ferrocifen-loaded lipid nanocapsules on a 9L-glioma model. *Int J Pharm.*, 379 (2), 317-323.
- Andreozzi, E., Seo, J.W., Ferrara, K., Louie, A., 2011. Novel method to label solid lipid nanoparticles with ^{64}Cu for positron emission tomography imaging. *Bioconjugate Chem.*, 22, 808–818.
- Anitha, A., Deepagan, V.G., Divya Rani, V.V., Menon, D., Nair, S.V., Jayakumar, R., 2011. Preparation, characterization, in vitro drug release and biological studies of curcumin loaded dextran sulphate-chitosan nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 84, 1158-1164.
- Anonim, 2015a. <http://www.trabzonnumune.gov.tr/detay.php?id=93&cid=94> (30.02.2015).
- Anonim, 2015b. <http://www.teknomani.com/2013/11/tbbi-goruntuleme-nedir.html> (30.02.2015).
- Anonim, 2015c. <http://www3.gehealthcureturkiye.com> (05.03.2015).
- Anonim, 2015d. <http://www.sanayi.gov.tr/-/İlaç-sektörü-Raporu-2014/1> (05.03.2015).
- Anonim, 2015e. http://www.megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Refraktometre.pdf (05.10.2015).
- Anonymous, 2015a. <http://www.imaginis.com/nuclear-medicine/history-of-nuclear-medicine> (05.03.2015).
- Anonymous, 2015b. <http://cerncourier.com/cws/article/cern/49056> (30.02.2015).
- Bae, Y., Diezi, T.A., Zhao, A., Kwon, G.S., 2007. Mixed polymeric micelles for combination cancer chemotherapy through the concurrent delivery of multiple chemotherapeutic agents. *Journal of Controlled Release*, 122, 324–330.
- Banerjee, I., De, K., Chattopadhyay, S., Bandyopadhyay, A.K., Misra, M., 2014. An easy and effective method for radiolabelling of solid lipid nanoparticles. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 302 (2), 837-843.
- Barros, A.L.B., Tsourkas, A., Saboury, B., Cardoso, V.N., Alavi, A., 2012. Emerging role of radiolabeled nanoparticles as an effective diagnostic technique. *EJNMMI Research*, 2 (39), 1-15.
- Bharali, D. J., Khalil, M., Gurbuz, M., Simone, T.M., Mousa, S. A., 2009. Nanoparticles and cancer therapy: A concise review with emphasis on dendrimers. *International Journal of Nanomedicine*, 4, 1–7.
- Blasi, P., Giovagnoli, S., Schoubben, A., Ricci, M., Rossi, C., 2007. Solid lipid nanoparticles for targeted brain drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* 59, 454–477.
- Büyükkaya, F., 2011. Nükleer Tıpta kullanılan Radyofarmasötiklerden EDTMP ile Fenil Türevinin ve Bazı İmin bileşiklerinin Hazırlanması, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ve ^{153}Sm

- Radyoizotopları ile Etiketlenmesi. Doktora Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Cavalli, R., Caputo, O., Carlotti, M. E., Trotta, M., Scarnecchia, C., Gasco, M.R., 1997. Sterilization and freeze-drying of drug-free and drug-loaded solid lipid nanoparticles. *International Journal Pharmaceutics* 148, 47-54.
- Cavalli, R., Gasco, M.R., Chetoni, P., Burgalassi, S., Saettone, M.F., 2002. Solid lipid nanoparticles (SLN) as ocular delivery system for tobramycin. *International Journal of Pharmaceutics* 238, 241-245.
- Chang, Y., Chang, C., Chang, T., Yu, C., Chen, L., Jan, M., Luo, T., Lee, T., Ting, G., 2007. Biodistribution, pharmacokinetics and microSPECT/CT imaging of ¹⁸⁸Re-BMEDA liposome in a C26 Murine Colon Carcinoma Solid Tumor Animal Model. *Anticancer Res.*, 27, 2217–2226.
- Cherry, S.R., Sorenson, J.A., Phelps, M.E., 2012. *Physics in Nuclear Medicine*, Saunders, 431 p, Pennsylvania.
- Chueh, S.C.J, Lai, M.K., Liu, I.S., Teng, F.C., Chen, J., 2003. Curcumin Enhances the Immunosuppressive Activity of Cyclosporine in Rat Cardiac Allografts and in Mixed Lymphocyte Reactions. *Transplantation Proceedings*, 35, 1603-1605.
- Çalışkan, Ç., 2012. ^{99m}Tc-Zoledronik Asidin İşaretleme Verimine Deneysel Koşulların Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Demir, M., 2008. *Nükleer Tıp Fiziği ve Klinik Uygulamaları*. İstanbul Üniversitesi Yayınları, 306 s, İstanbul.
- Demirel, M. ve Yazan, Y., 2000. Katı lipit nanopartiküller (SLN). *FABAD J Pharm Sci*, 25, 167-179.
- Farokhzad, O. C. and Langer, R., 2006. Nanomedicine: developing smarter therapeutic and diagnostic modalities. *Adv Drug Deliv Rev* 58 (14), 1456-1459.
- Freitas, C. and Müller, R.H., 1998. Spray-drying of solid lipid nanoparticles (SLNTM). *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 46, 145-151.
- Gao, Y., Li, Z., Sun, M., Guo, C., Yu, A., Xi, Y., Cui, J., Lou, H., Zhai, G., 2011. Preparation and characterization of intravenously injectable curcumin nanosuspension. *Drug Delivery*, 18 (2), 131–142.
- Gillies, E. R. and Fréchet, J.M.J., 2005. Dendrimers and dendritic polymers in Drug Delivery. *Drug Discovery Today*, 1, 35-43.
- Gindy, M.E. and Prud'homme, R.K., 2009. Multifunctional nanoparticles for imaging, delivery and targeting in cancer therapy. *Expert Opin Drug Deliv* 6 (8), 865-878.
- Görpe, A. ve Cantez, S., 1992. *Pratik Nükleer Tıp*. İstanbul Tıp Fakültesi Vakfı, 312 s, İstanbul.
- Harrington, K.J., Mohammadtaghi, S., Uster, P.S., Glass, D., Peters, A.M., Vile, R.G. Stewart, S.W., 2001. Effective targeting of solid tumors in patients with locally advanced cancers by radiolabeled pegylated liposomes. *Clin Cancer Res.*, 7, 243–254.
- Hatcher, H., Planalp, R., Cho, J., Torti, F.M., Torti, S.V., 2008. Curcumin: From ancient medicine to current clinical trials. *Cell. Mol. Life Sci.*, 65, 1631 – 1652.
- Heurtault, B., Saulnier, P., Pech, B., Proust, J. E., Benoit, J.P., 2003. Physico-chemical stability of colloidal lipid particles. *Biomaterials*, 24, 4283- 4300.
- Hong, H., Zhang, Y., Sun, J., Cai, W., 2009. Molecular imaging and therapy of cancer with radiolabeled nanoparticles. *Nano Today*, 4, 399-413.

- Hou, D., Xie, C., Huang, K., Zhu, C., 2003. The production and characteristics of solid lipid nanoparticles (SLNs). *Biomaterials*, 24, 1781-1785.
- Hu, L., Tang, X., Cui, F., 2004. Solid lipid nanoparticles (SLNs) to improve oral bioavailability of poorly soluble drugs. *J.Pharm.Pharmacol.*,56 (12), 1527-1535.
- Ishida, T., Ichihara, M., Wang, X. Y., Yamamoto, K., Kimura, J., Majima, E., Kiwada, H., 2006. Injection of PEGylated liposomes in rats elicits PEG-specific IgM, which is responsible for rapid elimination of a second dose of PEGylated liposomes. *Journal of Controlled Release*, 112, 15–25.
- Jaruga, E., Salvioli, S., Dobrucki, J., Chrul, S., Pikula, J.B., Franceschi, C., Cossarriza, A., Bartosz, G., 1998. Apoptosis-like, reversible changes in plasma membrane asymmetry and permeability, and transient modifications in mitochondrial membrane potential induced by curcumin in rat thymocytes. *FEBS Letters* 433, 287-293.
- Kaffashi, A., 2013. Malign Gliomların Tedavisi İçin Lipit ile İşlevselleştirilmiş PLGA Nanopartiküllerin Tasarımı, İn vitro ve İn vivo Değerlendirilmesi. Y. Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Kakkar, V., Muppu, S.K., Chopra, K., Kaur, I.P., 2013a. Curcumin loaded solid lipid nanoparticles: an efficient formulation approach for cerebral ischemic reperfusion injury in rats. *Eur J Pharm Biopharm.*, 85 (3), 339-345.
- Kakkar, V. Mishra, A.K., Chuttani, K., Kaur, I.P., 2013b. Proof of concept studies to confirm the delivery of curcumin loaded solid lipid nanoparticles (C-SLNs) to brain. *International Journal of Pharmaceutics*, 448, 354-359.
- Kaş, H.S., 2002. İlaç taşıyıcı partiküler sistemler. *Kontrollü Salım Sistemleri*, Gürsoy, A.Z. *Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını No:1*, İstanbul, 65-102.
- Kathe, N., Henriksen, B., Chauhan, H., 2014. Physicochemical characterization techniques for solid lipid nanoparticles: principles and limitations. *Drug Dev Ind Pharm*, 40 (12), 1565–1575.
- Kaur, I.P., Bhandari, R., Bhandari, S., Kakkar, V., 2008. Potential of solid lipid nanoparticles in brain targeting. *Journal of Controlled Release* 127, 97–109.
- Killops, K. L., Campos, L. M., Hawker, C.J., 2008. Robust, Efficient, and Orthogonal Synthesis of Dendrimers via Thiol-ene “Click” Chemistry. *Journal of the American Chemical Society*, 130, 5062–5064.
- Kim, K., Kim, J.H. Park, H., Kim, Y.S., Park, K., Nam, H., Lee, S., Park, J.H., Park, R.W., Kim, I.S., Choi, K., Kim, S.Y., Park, K., Kwon, I.C., 2010. Tumor-homing multifunctional nanoparticles for cancer theragnosis: Simultaneous diagnosis, drug delivery, and therapeutic monitoring. *J Control Release* 146 (2), 219-227.
- Kowalsky, R.J. and Perry, J.R., 1987. *Radiopharmaceuticals in Nuclear Medicine Practice*. Appleton & Lange, 500 p, California.
- Kumar, S.S.D., Mahesh, A., Mahadevan, S., Mandal, A.B., 2014. Synthesis and characterization of curcumin loaded polymer/lipid based nanoparticles and evaluation of their antitumor effects on MCF-7 cells. *Biochimica et Biophysica Acta* 1840, 913–1922.
- Li, L., Chen, D., Zhang, Y., Deng, Z., Ren, X., Meng, X., Tang, F., Ren, J. ve Zhang, L., 2007. Magnetic and fluorescent multifunctional chitosan nanoparticles as a smart drug delivery system. *Nanotechnology*, 18, 1-6.

- Li, B., Konecke, S., Wegiel, L.A., Taylor, L.S., Edgar, K.J., 2013. Both solubility and chemical stability of curcumin are enhanced by solid dispersion in cellulose derivative matrices. *Carbohydrate Polymers* 98, 1108–1116.
- Lukyanov, A.N. and Torchilin, V.P., 2004. Micelles from lipid derivatives of water-soluble polymers as delivery systems for poorly soluble drugs. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56, 1273–1289.
- Madani, S.Z., Naderi, N., Dissanayake, O., Tan, A., Seifalian, A.M., 2011. A new era of cancer treatment: carbon nanotubes as drug delivery tools. *International Journal of Nanomedicine*, 6, 2963–2979.
- Manjunath, K., Suresh Reddy, J., Venkateswarlu, V., 2005. Solid Lipid Nanoparticles as Drug Delivery Systems. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 27 (2), 1-20.
- Mehnert, W. and Mäder, K., 2001. Solid lipid nanoparticles Production, characterization and applications. *Advanced Drug Delivery Reviews* 47, 165-196.
- Mei, Z., Chen, H., Weng, T., Yang, Y., Yang, X., 2003. Solid lipid nanoparticle and microemulsion for topical delivery of triptolide. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 56 (2), 189-196.
- Miquel, J., Bernd, A., Sempere, J.M., Diaz-Alperi, J., Ramirez, A., 2002. The curcuma antioxidants: pharmacological effects and prospects for future clinical use. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 34, 37–46.
- Mohanty, C. and Sahoo, S.K., 2010. The in vitro stability and in vivo pharmacokinetics of curcumin prepared as an aqueous nanoparticulate formulation. *Biomaterials*, 31, 6597-6611.
- Mulik, R.S., Mönkkönen, J., Juvonend, R. O., Mahadika, K. R., Paradkar, A.R., 2010. Transferrin mediated solid lipid nanoparticles containing curcumin: Enhanced in vitro anticancer activity by induction of apoptosis. *International Journal of Pharmaceutics* 398, 190–203.
- Müller, R.H., Maassen, S., Schwarz, C., Mehnert, V., 1997. Solid lipid nanoparticles (SLN) as potential carrier for human use: interaction with human granulocytes. *Journal of Controlled Release*, 47 (3), 261-269.
- Müller, R.H., Mäder, K., Gohla, S., 2000. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery – a review of the state of the art. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50, 161-177.
- Nayak, A.P., Tiyaboonchai, W., Patankar, S., Madhusudhan, B., Souto, E.B., 2010. Curcuminoids-loaded lipid nanoparticles: novel approach towards malaria treatment. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 81 (1), 263-273.
- Nessem, D., 2011. Formulation of sunscreens with enhancement sun protection factor response based on solid lipid nanoparticles. *International Journal of Cosmetic Science*, 33, 70–79.
- Numanoğlu, U. ve Tarımcı, N., 2006. Katı Lipit Nanopartiküllerin (SLNTM) Özellikleri, Farmasötik ve Kozmetik Alandaki Uygulamaları, *Ankara Ecz. Fak. Der.*, 35 (3), 211-235.
- Özer, Y., 2004. Radyofarmasi, Radyofarmasötikler Dünü, Bugünü ve Geleceği. *Meslek İçi Sürekli Eğitim Der.*, 1 (11), 4-10.
- Pal, D.K. and Nayak, A.K., 2010. Nanotechnology for targeted delivery in cancer therapeutics. *Int. J. Pharmaceutic. Sci. Rev. And Research*, 1(1), 1-7.
- Park, K., 2007. Nanotechnology: What it can do for drug delivery. *J. Control Release*, 120 (1-2), 1-3.

- Petersen, A.L., Binderup, T., Rasmussen, P., Henriksen, J.R., Elema, D.R., Kjaer, A., Andresen, T.J., 2011. ^{64}Cu loaded liposomes as positron emission tomography imaging agents. *Biomaterials* 32, 2334–2341.
- Pillai, O. and Panchagnula R., 2001. Polymers in drug delivery. *Current Opinion in Chemical Biology*, 5, 447-451.
- Poole, P.C. and Owens, F.J., 2003. *Introduction to Nanotechnology*. John Wiley&Sons, 400 p, New Jersey.
- Pople, P.V. and Singh, K.K., 2011. Development and evaluation of colloidal modified nanolipid carrier: Application to topical delivery of tacrolimus. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 79, 82–94
- Powsner, R.A. and Powsner, E.R., 2006. *Essential Nuclear Medicine Physics*. Blackwell Publishing, 217 p, Massachusetts.
- Qaim, S. M., 2001. Nuclear Data Relevant to the Production and Application of Diagnostic Radionuclide, *Radiochim Acta*, 89, 223-232.
- Reddy, L.H., Adhikari, J.S., Dwarakanath, B.S., Sharma, R.K. ve Murthy, R.R., 2006. Tumoricidal effects of etoposide incorporated into solid lipid nanoparticles after intraperitoneal administration in dalton's lymphoma bearing mice. *The AAPS Journal*, 8 (2), 254-262.
- Saha, G.B., 1992. *Fundamentals of Nuclear Pharmacy*. Springer- Verlag, 331 p, New York.
- Sahoo S. K., Parveen S., Panda J.J., 2007. The present and future of nanotechnology in human health care. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 3, 20– 31.
- Sampson C.B., 1999. *Textbook of Radiopharmacy Theory and Practice*. Third Edition. Gordon and Breach Science Publishers, 215 p, Amsterdam.
- Sarikaya, M. ve Enginar H. 2012. L-Tirozin'in ^{131}I ile Radyoişaretlenmesi ve Radyofarmasötik Potansiyelinin İncelenmesi. *AKÜ FEBİD* 12 (011201), 1-9.
- Schwarz, C. and Mehnert, W., 1997. Freeze drying of drug-free and drug-loaded solid lipid nanoparticles (SLN). *Int. J. Pharm.*, 157, 171-179
- Shao, K., Hou, Q., Duan, W., Go, M. L., Wong, K. P., Li, Q. T., 2006. Intracellular drug delivery by sulfatide-mediated liposomes to gliomas. *Journal of Controlled Release*, 115, 150–157.
- Sharp, P.F., Gemmell H.G., Murray, A.D., 2005. *Practical Nuclear Medicine*. Third Edition Springer-Verlag, 347 p, London.
- Shin, H. C., Alani, A. W. G., Rao, D. A., Rockich, N. C., Kwon, G. S., 2009. Multi-drug loaded polymeric micelles for simultaneous delivery of poorly soluble anticancer drugs. *Journal of Controlled Release*, 140, 294–300.
- Singh, K.K., 2005. Nanotechnology in cancer detection and treatment. *Technology in Cancer Research & Treatment*, ISSN 1533-0346, 583-588.
- Sjostrom, B. and Bergenstahl, B., 1992. Preparation of submicron drug particles in lecithin-stabilized o/w emulsions. *Int J Pharm*, 88, 53-62.
- Souto, E.B., Wissing, S.A., Barbosa, C.M., Müller, R.H., 2004. Development of a controlled release formulation based on SLN and NLC for topical clotrimazole delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 278, 71-77.
- Sun, X., Zhang, G., Keynton, R.S., O'Toole, M.G., Patel, D., Gobin, A.M., 2013. Enhanced drug delivery via hyperthermal membrane disruption using targeted

- gold nanoparticles with PEGylated Protein-G as a cofactor. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 9, 1214-1222.
- Suresh, G., Manjunath, K., Venkateswarlu, V., Satyanarayana, V., 2007. Preparation, Characterization, and In Vitro and In Vivo Evaluation of Lovastatin Solid Lipid Nanoparticles. *AAPS Pharm Sci Tech*, 8 (1), 1-9.
- Şenel, F., 2009. Nanotıp. *Bilim ve Teknik Der.*,42 (497), 78-83.
- Takka, S., Acartürk, F., Ağabeyoğlu, İ., Çelebi, N., Değim, T., Değim, Z., 2009. Önformülasyon. *TEB Eczacılık Akademisi Modern Farmaötik Teknoloji*, 9, 120-140.
- Tapal, A. and Tikku, P.K., 2012. Complexation of curcumin with soy protein isolate and its implications on solubility and stability of curcumin. *Food Chemistry*, 130, 960-965.
- Taşcı, C., Taner, M.S., Soylu, A., Ünak, P., 2003. Radyofarmasötikler için kalite kontrol yöntemleri klavuzu. *Turk J Nucl Med*, 12, 137-148.
- Tiyaboonchai, W., Tungpradit, W., Plianbangchang, W., 2007. Formulation and characterization of curcuminoids loaded solid lipid nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 337, 299-306.
- Tomalia, D. A., 2005. Birth of a new macromolecular architecture: dendrimers as quantized building blocks for nanoscale synthetic polymer chemistry. *Progress in Polymer Science*, 30, 294-324.
- Trotta, M., Debernardi, F., Caputo, O., 2003. Preparation of solid lipid nanoparticles by a solvent emulsification-diffusion technique. *International Journal of Pharmaceutics*, 257, 153-160.
- Üner, M. and Yener, G., 2007. Importance of solid lipid nanoparticles (SLN) in various administration routes and future perspectives. *International Journal of Nanomedicine*,2, 289-300.
- Vêrtes, A., Nagy, S., Klencsâr, Z., Lovas, R.G., Rôsch, F., 2011. *Hand book of Nuclear Chemistry*. Springer, 2893 p, London.
- Videira, M.A., Botelho, M.F. Santos, A.C., Gouveia, L.F., Lima, P. J.J., Almedia, A.J., 2002. Lymphatic Uptake of Pulmonary Delivered Radiolabelled Solid Lipid Nanoparticles. *Journal of Drug Targeting*, 10 (8), 607-613
- Villanueva, D.G., El-Sherbiny, İ.M., Herrera-Ruiz, D., Smyth, H.D.C., 2013. Design and In Vitro Evaluation of a New Nano-Microparticulate System for Enhanced Aqueous-Phase Solubility of Curcumin. *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International*, 1-9.
- Volkert, W.A., Goekeler, W.F., Ehrhardt, G.J., Ketring, A.R., 1991. Therapeutic Radionuclides: Production and Decay Property Considerations. *J Nucl Med* 32, 174-185.
- Wang, A. Z., Langer, R., Farokhzad, O. C., 2012. Nanoparticle delivery of cancer drugs. *Annu Rev Med* 63, 185-198.
- Wang, J. X., Sun, X., Zhang, Z. R., 2002. Enhanced brain targeting by synthesis of 3' 5' dioctanoyl-5-fluoro-2'-deoxyuridine and incorporation into solid lipid nanoparticles. *Eur J Pharm Biopharm*, 54, 285-290.
- Waranyoupalin, R., Wongnawa, S., Wongnawa, M., Pakawatchai, C., Panichayupakaranant, P., Sherdshoopongse, P., 2009. Studies on complex formation between curcumin and Hg(II) ion by spectrophotometric method: A

- new approach to overcome peak overlap. *Central European Journal of Chemistry*, 7 (3), 388-394.
- Wissing, S.A., Kayser, O., Müller, R.H., 2004 Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56, 1257-1272.
- Wissing, S.A. and Müller, R.H., 2003. Cosmetic applications for solid lipid nanoparticles (SLN). *Int. J.Pharm.*, 254, 65-68.
- Wu, L., Zhang, J., Watanabe, W., 2011. Physical and chemical stability of drug nanoparticles, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63, 456–469.
- Wu, X. C., Bittner, A. M., Kern, K., 2002. Spatially Selective Electroless Deposition of Cobalt on Oxide Surfaces Directed by Microcontact Printing of Dendrimers. *Langmuir*, 18, 4984-4988.
- Ye, Y.Q., Yang, F.L., Hu, F.Q., Du, Y.Z., Yuan, H., Yu, H.Y., 2008. Core-modified chitosan-based polymeric micelles for controlled release of doxorubicin. *International Journal of Pharmaceutics*, 352, 294–301.
- Yeong, C. H., Cheng, M.H., Ng, K.H., 2014. Therapeutic radionuclides in nuclear medicine: current and future prospects. *J Zhejiang Univ Sci B* 15 (10), 845-863.
- You, J., Li, X., Cui, F.D., Du, Y.Z., Yuan, H., Hu, F.Q., 2008. Folate-conjugated polymer micelles for active targeting to cancer cells: preparation, in vitro evaluation of targeting ability and cytotoxicity. *Nanotechnology*, 19, 1-9.
- Youan, B.B., 2008. Impact of nanoscience and nanotechnology on controlled drug delivery *Future Medicine*, 3(4), 401-406.

ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Bingöl’de doğdu. İlköğretim, ortaokul ve lise eğitimini Erzurum’da tamamladı. 2007 yılında Atatürk Üniversitesi Kâzım Karabekir Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği bölümünü kazandı ve 2012 yılında dereceyle lisans eğitimini tamamladı. Aynı yıl Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Nanobilim ve Nanomühendislik Anabilim Dalı Nanobiyoteknoloji Bilim Dalı’nda bir yıl İngilizce hazırlık eğitimi alarak yüksek lisans öğrenimine başladı.