

CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MANYETİK POLİ (HEMA-APH) NANOPARTİKÜLLERİN
SENTEZLENMESİ, RADYOAKTİF İYOD-131 İLE
İŞARETLENMESİ VE RADYOFARMASÖTİK
POTANSİYELİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimyager Hilmi Arkut AKALIN

Anabilim Dalı : Kimya

Programı : Fizikokimya

MANİSA 2013

CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MANYETİK POLİ (HEMA-APH) NANOPARTİKÜLLERİN
SENTEZLENMESİ, RADYOAKTİF İYOD-131 İLE
İŞARETLENMESİ VE RADYOFARMASÖTİK
POTANSİYELİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimyager Hilmi Arkut AKALIN

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 30-01-2013

Tezin Savunulduğu Tarih : 07-02-2013

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Uğur AVCIBAŞI

Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Yüksel ABALI

: Doç. Dr. Sinan AKGÖL

MANİSA 2013

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SEMBOL LİSTESİ.....	IX
ŞEKİL LİSTESİ.....	XII
ÇİZELGE LİSTESİ.....	XVIII
KISALTMALAR LİSTESİ.....	XIX
TEŞEKKÜR.....	XXI
TÜRKÇE ÖZET.....	XXII
İNGİLİZCE ÖZET.....	XXIII

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
1.0. GİRİŞ.....	1
2.0. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Nanoteknolojinin kanser tedavisinde kullanılması.....	4
2.1.1. Nanoteknolojinin geçmişi ve ortaya çıkışı.....	4
2.1.2. Nanoteknolojinin kanser tedavisindeki rolü ve önemi.....	5
2.1.3. Nanoteknolojinin konvansiyonel tedavilere göre üstünlükleri.....	5
2.1.4. Nanoteknolojide ve nanotıpta kullanılan nanopartiküler sistemler.....	6
2.1.4.1. Lipozomlar.....	7
2.1.4.2. Polimerik miseller.....	7
2.1.4.3. Nanosistemler.....	9

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
2.1.4.4. Nanokabuklar.....	9
2.1.4.5. Fullerenler.....	10
2.1.4.6. Karbon nanotüpler.....	11
2.1.4.7. Dendrimerler.....	12
2.1.4.8. Kuantum dotlar.....	14
2.1.4.9. Altın nanopartiküller.....	15
2.1.4.10. Katı yağ nanopartiküller.....	16
2.1.4.11. Nanokablolar.....	17
2.1.4.12. Manyetik nanopartiküller.....	17
2.2. Nanopolimerlerin karakterizasyonunda kullanılan metodlar.....	18
2.2.1. Taramalı elektron mikroskopisi (Scanning electron microscopy-SEM).....	18
2.2.2. Enerji ayırmalı x-ışınları spektroskopisi (EDX).....	19
2.2.3. Atomik güç mikroskopisi (AFM).....	20
2.3. Anilinfalein (APH).....	21
2.4. Poli(2-hidroksietil metakrilat)-[Poli(HEMA)].....	22
2.5 Kalite-kontrol çalışmalarıda kullanılan metodlar.....	23
2.5.1 İnce tabaka radyokromatografisi hakkında genel bilgiler.....	23
2.5.2. İnce tabaka kromatografisinin temel prensipleri.....	23
2.5.3. Fosfor görüntüleme teknolojisi.....	24

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
2.5.4. Cyclone plus fosfor görüntüleme sistemi hakkında genel bilgiler.....	25
2.5.5. Cyclone plus fosfor görüntüleme sisteminin çalışma prensipleri.....	26
2.6. Lipofilite kavramı.....	27
2.7. Radyofarmasötik kavramı.....	28
2.8. Radyoaktif iyod izotopları.....	29
2.8.1. İyod-131.....	30
2.8.2. İyod-125.....	30
2.9. Makromoleküllerin radyoiyodinasyonunda kullanılan metodlar.....	31
2.9.1. Kloramin-T metodu.....	31
2.9.2. İdojen metodu.....	32
2.9.3. Iodobead metodu.....	33
2.9.4. Laktoperoksidaz enzimi metodu.....	34
2.9.5. Heterobifonksiyonel reaktif metodu.....	34
3.0. MATERYAL VE METOD.....	36
3.1. Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasallar ve cihazlar.....	36
3.1.1. Kullanılan kimyasallar.....	36
3.1.2. Kullanılan cihazlar.....	37
3.2. Anilinfalein'in (APH) sentezi ve karakterizasyonu.....	37
3.3. Manyetik poli(HEMA-APH) nanopolimerinin sentezi ve karakterizasyonu.....	38

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
3.3.1. FT-IR analizi.....	39
3.3.2. SEM görüntüleme ve EDX analizi.....	40
3.3.3. AFM analizi.....	40
3.3.4. Zeta boyut analizi.....	40
3.3.5. ESR analizi.....	41
3.4. Manyetik poli(HEMA-APH) nanopolimerine ilişkin yapılan radyoaktivite çalışmaları.....	41
3.4.1. Manyetik poli(HEMA-APH) nanopolimerinin ¹³¹ I ile işaretlenmesi.....	41
3.4.1.1. İodojen film kaplı tüplerin hazırlanması.....	41
3.4.1.2. İnce tabaka radyokromatografi (TLRC) çalışmaları.....	41
3.4.1.3. Na ¹³¹ I için gerçekleştirilen TLRC çalışmaları.....	42
3.4.2. Optimizasyon çalışmaları.....	43
3.4.2.1. En uygun iodojen miktarının belirlenmesi.....	43
3.4.2.2. En uygun nanopolimer miktarının belirlenmesi.....	43
3.4.3. Lipofilite ve stabilite çalışmaları.....	44
3.4.3.1. Lipofilite tayini (n-oktanol / su oranının bulunması).....	44
3.4.3.2. Albino wistar sıçan kan serumunda stabilite tayini.....	45
3.5. Sintigrafi çalışmaları.....	45
3.6. Biyodağılım çalışmaları.....	47
3.7. İstatistiksel analiz.....	48

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
4.0. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	49
4.1. APH molekülünün yapı karakterizasyonuna ilişkin sonuçlar.....	49
4.1.1. FT-IR analizi sonuçları.....	49
4.1.2. ¹ H-NMR analizi sonuçları.....	50
4.1.3. ¹³ C-NMR analizi sonuçları.....	50
4.2. Manyetik poli(HEMA-APH) nanopolimerinin yapı karakterizasyonuna ilişkin sonuçlar....	51
4.2.1. FT-IR analizi sonuçları.....	51
4.2.2. SEM ve EDX analizi sonuçları.....	52
4.2.3. AFM analizi sonuçları.....	53
4.2.4. Zeta boyut analizi sonuçları.....	54
4.2.5. ESR analizi sonuçları.....	54
4.3. Na ¹³¹ I için gerçekleştirilen TLRC çalışmalarına ilişkin sonuçlar.....	55
4.4 Optimizasyon çalışmalarının sonuçları.....	56
4.4.1. En uygun iodojen miktarının belirlenmesi.....	56
4.4.2. En uygun nanopolimer miktarı ve inkübasyon süresinin belirlenmesi.....	58
4.5. Lipofilite ve stabilite çalışmalarının sonuçları.....	64
4.5.1. Lipofilite çalışmalarının sonuçları.....	64
4.5.2. Stabilite çalışmalarının sonuçları.....	64

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
4.6. Sintigrafi çalışmalarının sonuçları.....	65
4.7. Biyodağılım çalışmalarının sonuçları.....	72
4.7.1. Dişi Albino Wistar sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalar.....	72
4.7.2. Erkek Albino Wistar sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalar.....	77
4.7.3. Sonuçların literatür ile ilişkilendirilmesi.....	82
4.8. İstatistiksel analiz sonuçları.....	88

SEMBOL LİSTESİ

^{131}I	: İyod-131
^{125}I	: İyod-125
^{124}I	: İyod-124
^{123}I	: İyod-123
^{121}I	: İyod-121
$^{120\text{m}1}\text{I}$	: İyod-120 (metastabil-1 çekirdeği)
$^{120\text{m}2}\text{I}$	: İyod-120 (metastabil-2 çekirdeği)
^{14}C	: Karbon-14
^3H	: Tritiyum
^{35}S	: Kükürt-35
^{137}Cs	: Sezyum-137
^{123}Cs	: Sezyum-123
^{124}Te	: Tellür-124
^{32}P	: Fosfor-32
^{33}P	: Fosfor-33
^{18}F	: Flor-18
$^{99\text{m}}\text{Tc}$	: Teknesyum-99 (metastabil çekirdeği)
^{90}Y	: İtriyum-90
^{111}In	: İndiyum-111

SEMBOL LİSTESİ

¹⁷⁷**Lu** : Lutenyum-177

¹³³**Xe** : Ksenon-133

²³⁵**U** : Uranyum-235

⁹⁹**Mo** : Molibden-99

β⁺ : Pozitif beta

β⁻ : Negatif beta

keV : Kilo elektron volt

GBq : Giga becquerel

kD : Kilodalton

g : Gram

mg : Miligram

mL : Mililitre

μL : Mikrolitre

°C : Santigrat derece

N : Normal

μCi : Mikroküri

μmol : Mikromol

s : Saniye

dk : Dakika

SEMBOL LİSTESİ

kcount : Kilocount

cm : Santimetre

nm : Nanometre

µm : Mikrometre

rpm : Rotations per minute (dakikadaki dönüş hızı)

dpm : Disintegrations per minute (dakikadaki bozunum)

iv : İntravenöz (damar yolu ile)

HEM : Hemoglobinin prostetik grubu

Gy : Gray (joule/kg)

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Fosfolipid moleküllerinden meydana gelen lipozom molekülü.....	7
Şekil 2.2. Hidrofobik çekirdeğe sahip polimerik miseller.....	8
Şekil 2.3. Nanosistemler.....	9
Şekil 2.4. Altından oluşmuş bir üst katmandan meydana gelen nanokabuk molekülü.....	10
Şekil 2.5. Fulleren C540 ve fulleren C60'ın moleküler yapısı.....	11
Şekil 2.6. Karbon nanotüpün moleküler yapısı.....	12
Şekil 2.7. Dendrimer molekülü.....	13
Şekil 2.8. Kuantum dot molekülü.....	14
Şekil 2.9. Altın nanopartikülün moleküler yapısı.....	15
Şekil 2.10. Katı yağ nanopartikülün moleküler yapısı.....	16
Şekil 2.11. Metal yüzeyindeki nanokabloların sem görüntüsü.....	17
Şekil 2.12. Manyetik ZnO nanopartiküllerin SEM görüntüsü.....	18
Şekil 2.13. Taramalı elektron mikroskopu (SEM) sistemi ve sistemin iç yapısı.....	18
Şekil 2.14. Enerji ayırmalı x-ışınları spektroskopisi (EDX) sistemi.....	20
Şekil 2.15. Atomik güç mikroskopisi (AFM).....	21
Şekil 2.16. Anilinfalein'in kimyasal yapısı.....	22
Şekil 2.17. Poli(HEMA)'nın kimyasal yapısı.....	22
Şekil 2.18. İnce tabaka kromatografisinin uygulanışı.....	24
Şekil 2.19. Cyclone plus fosfor görüntüleme sistemi.....	26

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.20. Cyclone plus fosfor görüntüleme sisteminin çalışma prensibinin şematik gösterimi..	27
Şekil 2.21. Radyofarmasötiklerin hazırlanışı.....	28
Şekil 2.22. ¹³¹ I bozunma şeması.....	30
Şekil 2.23. ¹²⁵ I bozunma şeması.....	31
Şekil 2.24. Kloramin-T molekülünün kimyasal yapısı.....	32
Şekil 2.25. Kloramin-T kullanılarak yapılan işaretleme reaksiyonu.....	32
Şekil 2.26. İodojenin kimyasal yapısı.....	33
Şekil 2.27. İodobead'in kimyasal yapısı.....	34
Şekil 2.28. Bolton-Hunter reaktifinin kimyasal yapısı.....	36
Şekil 3.1. Anilinfalein'in sentez basamakları.....	37
Şekil 3.2. APH:HEMA oranı 1:10 alınarak gerçekleşen tepkime sonunda reaktör içindeki nanopolimerin görüntüsü.....	39
Şekil 3.3. Manyetik poli(HEMA-APH) nanopolimerinin muhtemel kimyasal yapısı.....	39
Şekil 3.4. İnce tabaka kromatografisi (örnek damlatma ve yürütme işlemleri).....	42
Şekil 3.5. Sintigrafi çalışmalarında kullanılan Albino Wistar sıçanlar.....	46
Şekil 3.6. GE Infinia çift başlı gama kamera sistemi.....	46
Şekil 3.7. Dişi ve erkek Albino Wistar sıçanlar üzerinde yapılan biyodağılım çalışmaları.....	47
Şekil 4.1. APH'in FT-IR spektrumu.....	49
Şekil 4.2. APH'in ¹ H-NMR spektrumu.....	50

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 4.3. APH'ın ^{13}C -NMR spektrumu.....	50
Şekil 4.4. Manyetik poli(HEMA-APH) nanopolimerinin FT-IR spektrumu.....	51
Şekil 4.5. EDX analizi spektrum sonuçları.....	52
Şekil 4.6. Manyetik poli(HEMA-APH) nanopolimerinin SEM görüntüsü.....	53
Şekil 4.7. Manyetik poli(HEMA-APH) nanopolimerinin AFM görüntüsü.....	53
Şekil 4.8. Manyetik poli(HEMA-APH) nanopolimerinin zeta boyut analizi sonucu.....	54
Şekil 4.9. Manyetik Poli(HEMA-APH) nanopolimerinin ESR spektrumu.....	55
Şekil 4.10. Na ^{131}I için n-bütanol-su-asetik asit (4:2:1) banyo sistemi kullanılarak elde edilen TLRC tabakaları, Na ^{131}I 'e ait n-bütanol-su-asetik asit (4:2:1) banyo sistemi kullanılarak elde edilen radyokromatogram.....	55
Şekil 4.11. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) nanopolimeri için n-bütanol-su-asetik asit (4:2:1) banyo sistemi kullanılarak 25°C ve 15 dk inkübasyon sonunda elde edilen TLRC tabakaları.....	56
Şekil 4.12. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) nanopolimeri için n-bütanol-su-asetik asit (4:2:1) banyo sistemi kullanılarak 25°C ve 30 dk inkübasyon sonunda elde edilen TLRC tabakaları.....	57
Şekil 4.13. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) nanopolimeri için n-bütanol-su-asetik asit (4:2:1) banyo sistemi kullanılarak 25°C ve 60 dk inkübasyon sonunda elde edilen TLRC tabakaları.....	57
Şekil 4.14. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) nanopolimeri için n-bütanol-su-asetik asit (4:2:1) banyo sistemi kullanılarak 25°C ve 90 dk inkübasyon sonunda elde edilen TLRC tabakaları.....	58

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 4.15. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) nanopolimeri için n-bütanol-su-asetik asit (4:2:1) banyo sistemi kullanılarak 25°C ve 30 dk inkübasyon sonunda elde edilen TLRC tabakaları.....	59
Şekil 4.16. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) nanopolimeri için n-bütanol-su-asetik asit (4:2:1) banyo sistemi kullanılarak 25°C ve 60 dk inkübasyon sonunda elde edilen TLRC tabakaları.....	59
Şekil 4.17. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) nanopolimeri için n-bütanol-su-asetik asit (4:2:1) banyo sistemi kullanılarak 25°C ve 90 dk inkübasyon sonunda elde edilen TLRC tabakaları.....	60
Şekil 4.18. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) nanopolimeri için 50µg/50µL iodojen miktarı, 0,9µg/25µL madde miktarı, 25 µL/25µCi Na ^{131}I aktivitesi ve sirasi ile 30 dk inkübasyon sonunda elde edilen radyokromatogram.....	60
Şekil 4.19. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) nanopolimeri için 50µg/50µL iodojen miktarı, 0,9µg/25µL madde miktarı, 25 µL/25µCi Na ^{131}I aktivitesi ve sirasi ile 60 dk inkübasyon sonunda elde edilen radyokromatogram.....	61
Şekil 4.20. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) nanopolimeri için 50µg/50µL iodojen miktarı, 0,9µg/25µL madde miktarı, 25 µL/25µCi Na ^{131}I aktivitesi ve sirasi ile 90 dk inkübasyon sonunda elde edilen radyokromatogram.....	61
Şekil 4.21. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin zamana karşı %bağlanma verimi grafiği.....	62
Şekil 4.22. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiği için 30 dk inkübasyon süresi baz alınarak elde edilen polimer miktarı (µg)'na karşı % bağlanma verimi grafiği.....	63
Şekil 4.23. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiği için 60 dk inkübasyon süresi baz alınarak elde edilen polimer miktarı (µg)'na karşı % bağlanma verimi grafiği.....	63

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 4.24. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiği için 90 dk inkübasyon süresi baz alınarak elde edilen polimer miktarı (μg)'na karşı % bağlanma verimi grafiği.....	64
Şekil 4.25. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin Albino Wistar sıçan kan serumundaki stabilitesi.....	65
Şekil 4.26. Albino Wistar sıçan kan serumunda yapılan stabilize çalışması sonunda elde edilen kromatogram.....	65
Şekil 4.27. Dişi albino wistar sıçana kuyruk damarı yoluyla enjekte edilen ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğine ait dinamik görüntüler.....	69
Şekil 4.28. Erkek albino wistar sıçana kuyruk damarı yoluyla enjekte edilen ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğine ait dinamik görüntüler.....	69
Şekil 4.29. Dişi albino wistar sıçana kuyruk damarı yoluyla enjekte edilen ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğine ait statik görüntüler.....	70
Şekil 4.30. Erkek albino wistar sıçana kuyruk damarı yoluyla enjekte edilen ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğine ait statik görüntüler.....	71
Şekil 4.31. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin dişi Albino Wistar sıçanlardaki biyodağılımı.....	74
Şekil 4.32. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin rahim dokusundaki % ID/g değerinin hedef olmayan (kan) organlara oranı.....	74
Şekil 4.33. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin rahim dokusundaki % ID/g değerinin hedef olmayan (kas) organlara oranı.....	74
Şekil 4.34. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin yumurtalık dokusundaki % ID/g değerinin hedef olmayan (kan) organlara oranı.....	75
Şekil 4.35. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin yumurtalık dokusundaki % ID/g değerinin hedef olmayan (kas) organlara oranı.....	75

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 4.36. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin erkek Albino Wistar sıçanlardaki biyodağılımı....	79
Şekil 4.37. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin akciğer dokusundaki % ID/g değerinin hedef olmayan (kan) organlara oranı.....	79
Şekil 4.38. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin akciğer dokusundaki % ID/g değerinin hedef olmayan (kas) organlara oranı.....	79
Şekil 4.39. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin prostat dokusundaki % ID/g değerinin hedef olmayan (kan) organlara oranı.....	80
Şekil 4.40. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin prostat dokusundaki % ID/g değerinin hedef olmayan (kas) organlara oranı.....	80

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Nükleer tipta en çok kullanılan radyoaktif iyod izotopları hakkında bilgiler.....	29
Çizelge 3.1. En uygun iodojen miktarının belirlenmesi için gerçekleştirilen kalite-kontrol çalışmalarında kullanılan işaretleme koşulları.....	44
Çizelge 3.2. En uygun nanopolimer miktarını belirlemek için gerçekleştirilen kalite-kontrol çalışmalarında kullanılan işaretleme koşulları.....	44
Çizelge 4.1. EDX analizi sonuçları.....	52
Çizelge 4.2. Manyetik poli(HEMA-APH) nanopolimerinin zeta boyut analiz değerleri.....	54
Çizelge 4.3. Manyetik Poli(HEMA-APH) nanopolimeri için en yüksek bağlanma veriminin elde edilmesine ilişkin verilen optimum işaretleme koşulları.....	62
Çizelge 4.4. Dişi albino wistar sıçana enjekte edilen ¹³¹ I-mag-poli(HEMA-APH) bileşiğine ait ROI değerleri.....	72
Çizelge 4.5. Erkek albino wistar sıçana enjekte edilen ¹³¹ I-mag-poli(HEMA-APH) bileşiğine ait ROI değerleri.....	72
Çizelge 4.6. ¹³¹ I-mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin dişi Albino Wistar sıçanlara enjeksiyonundan sonra geçen 30, 180 ve 1440 dk sonunda sıçanlardan çıkarılan farklı organlara ait % ID/g (organ) değerleri.....	73
Çizelge 4.7. ¹³¹ I-mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin erkek Albino Wistar sıçanlara enjeksiyonundan sonra geçen 30, 180 ve 1440 dk sonunda sıçanlardan çıkarılan farklı organlara ait % ID/g (organ) değerleri.....	78
Çizelge 4.8. Pearson korelasyonuna göre dişi Albino Wistar sıçanlar ile yapılan biyodağılım çalışmalarında bazı organlara ait P ve r değerleri.....	89

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 4.9. Pearson korelasyonuna göre erkek Albino Wistar sıçanlar ile yapılan biyodağılım çalışmalarında bazı organlara ait P ve r değerleri.....	89
Çizelge 4.10. Dişi Albino Wistar sıçanlar üzerinde yapılan deney sonuçlarının korelasyon analizi ile değerlendirilmesi; (organların birbiri ile korelasyon analizine ait P değerleri.....	90
Çizelge 4.11. Erkeki Albino Wistar sıçanlar üzerinde yapılan deney sonuçlarının korelasyon analizi ile değerlendirilmesi; (organların birbiri ile korelasyon analizine ait P değerleri.....	91
Çizelge 4.12. Pearson korelasyonuna göre dişi ve erkek Albino Wistar sıçanlar ile yapılan biyodağılım çalışmalarında cinsiyete göre anlamlılık gösteren bazı organlara ait P ve r değerleri.....	92

KISALTMALAR LİSTESİ

APH	:	Anilinfalein
HEMA	:	2-(hidroksietil metakrilat)
HPMA	:	2-(hidroksipropil metakrilamid)
Poli(HEMA)	:	Poli(2-hidroksietil metakrilat)
¹³¹I-mag-poli(HEMA-APH)	:	İyod-131 ile işaretli manyetik poli(HEMA-APH) nanopolimeri
PEG	:	Poli(etilen glikol)
DNA	:	Deoksirübönükleik asit
SEM	:	Scanning electron microscopy (taramalı elektron mikroskopisi)
EDX	:	Energy dispersive x-ray spectroscopy (enerji ayırmalı x-ışınları spektroskopisi)
AFM	:	Atomic force microscopy (atomik güç mikroskopisi)
TLC	:	Thin layer chromatography (ince tabaka kromatografisi)
TLRC	:	Thin layer radiochromatography (ince tabaka radyokromatografisi)
HPTLC	:	Yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi (high performance thin layer radiochromatography)
ATP	:	Adenozin tri-fosfat
GTP	:	Guanozin tri-fosfat
UDPGA	:	Üridin-5'-difosfo-glukuronik asit
PET	:	Positron emission tomography (pozitron emisyon tomografisi)
R_f	:	Alıkonma faktörü

KISALTMALAR LİSTESİ

SFEP	:	Surfactant free emulsion polymerization (sümfaktant içermeyen serbest emülsiyon polimerizasyonu)
EGDMA	:	Etilen glikol dimetakrilat
PVA	:	Poli (vinil alkol)
DLU	:	Digital light unit (dijital ışık birimi)
SiRNA	:	Small interfering RNA (küçük engelleyici rna)
PSMA	:	Prostate specific membrane antigen (prostata spesifik membran antijeni)
IgM	:	İmmünoglobulin M

TEŞEKKÜR

Kariyerimin yüksek lisans kademesinde gerçekleştirdiğim teorik ve bilimsel çalışmalarında bana her türlü desteği, yardımı gösteren ve akademik gelişimimde çok önemli rol oynayan Tez Danışmanım değerli hocam Sayın Doç. Dr. Uğur AVCIBAŞI'na, Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi Nükleer Tıp Anabilimdalı'nda bilimsel çalışmalarım için gerekli olan her türlü imkanı ve laboratuvar olanaklarını sağlayan Sayın Prof. Dr. Elvan SAYIT BİLGİN ve Doç. Dr. Fikriye Gül GÜMÜŞER'e, sintigrafi çalışmalarında ekibimize destek olan Dr. Yasemin PARLAK ve doktora öğrencisi Gökçen TOPAL'a, nanopolimer sentezi kademesinde önemli katkıları bulunan Ege Üniversitesi Biyokimya Bölümü'nden Sayın Doç. Dr. Sinan AKGÖL ve ekibine, organik sentez kademesinde yardımlarını esirgemeyen Ege Üniversitesi Ege Meslek Yüksek Okulu Kimya Teknolojisi Bölümü'nden Sayın Doç. Dr. Nesibe AVCIBAŞI'na, 111T113 no'lu proje için maddi destek sağlayan TÜBİTAK kurumuna, bana sağladığı daimi manevi destek, moral ve beni akademik kariyere teşvik ettiği için Sayın Prof. Dr. Yüksel ABALI'ya, çalışmalarımın her aşamasında beni yalnız bırakmayan, her daim yanımda olan ve bana destek olan ekibimizin üyeleri, değerli arkadaşlarım Araş. Gör. Hasan DEMİROĞLU ve doktora öğrencisi Melis EDİZ'e, bugünlere gelmemde en büyük katkısı ve payı olan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Kimyager Hilmi Arkut AKALIN

ÖZET

MANYETİK POLİ(HEMA-APH) NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZLENMESİ, RADYOAKTİF İYOD-131 İLE İŞARETLENMESİ VE RADYOFARMASÖTİK POTANSİYELİNİN İNCELENMESİ

AKALIN, Hilmi Arkut

Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Uğur AVCIBAŞI

30-01-2013, 104 Sayfa

Nanoteknoloji, bölgeye spesifik olması, çoklu-ilaç resistansını kısıtlaması ve anti-kanser ajanlarının etkili bir biçimde taşınımını sağlamasından dolayı birçok kanser türünün tedavisinde tedavi etkinliğinin ve güvenlik profillerinin geliştirilmesinde son derece umut vaat eden bir uygulama alanıdır. Kanser teşhisi ve tedavisi için çok çeşitli nanopartiküler sistemler mevcuttur. Bunlar; lipozomlar, polimerik miseller, nanosistemler, nanoküreler, fulleren-tabanlı türevler, karbon nanotüpler, dendrimerler, kuantum noktalar, altın nanopartiküller, katı yağ nanopartiküller, nanokablolar, paramanyetik nanopartiküllerdir. Nanopartiküllerin kanser tedavisinde tercih edilmelerinde iki önemli husus rol oynamaktadır. Bunlardan ilki, nanopartiküllerin ilaç taşıyıcı sistemler olarak görev almaları ikincisi ise, bu moleküllerin uygun dalga boylarındaki ışığa maruz bırakıldıklarında vücut sıcaklığında herhangi bir artışa sebep olmadan ısınma gösterebilmeleridir. Nanopartiküller bu yolla kanser hücrelerini seçici bir biçimde yok edebilirler.

Tüm bu bilgilerin ışığında yapılan bu çalışmanın amacı, fonksiyonel monomer APH (Anilinfalein) ve yardımcı monomer HEMA arasında (2-hidroksietil metakrilat) sürfaktant içermeyen emülsiyon polimerizasyonu ile manyetik poli(HEMA-APH)'ı sentezlemek ve daha sonra bu polimeri radyoaktif ¹³¹I ile işaretleyerek radyofarmasötik potansiyelini deney hayvanları üzerinde incelemektir. Bunun için ilk olarak APH molekülü sentezlenmiş, daha sonra APH ile HEMA arasında polimerizasyon gerçekleştirilerek manyetik özellikte poli(HEMA-APH) nanopolimeri elde edilmiştir. Bir sonraki aşamada, sentezlenen mag-poli(HEMA-APH) polimeri iodojen yöntemi kullanılarak radyoaktif ¹³¹I ile işaretlenmiş ve işaretli bileşiğe ait kalite-kontrol çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar sonucunda, ¹³¹I ile işaretli mag-poli(HEMA-APH)'ın [¹³¹I-mag-poli(HEMA-APH)] bağlanma verimi yaklaşık %90 olarak bulunmuştur. Son aşamada ise deney hayvanları üzerinde sintigrafi ve biyodağılım çalışmaları yapılmıştır. Dişi ve erkek Albino Wistar sıçanlar üzerinde yapılan sintigrafi çalışmaları sonucunda işaretli bileşiğin kalp, akciğer, karaciğer, böbrek ve mide'de tutulum gösterdiği gözlenmiştir. Yapılan biyodağılım çalışmaları sonucunda ise dişi ve erkek Albino Wistar sıçanlar için hedef organlar sırası ile rahim, yumurtalık ve akciğer, prostat olarak belirlenmiştir.

Sonuç olarak, manyetik özellikteki poli(HEMA-APH) molekülü iodojen yöntemi kullanılarak başarılı bir biçimde ¹³¹I ile işaretlenmiştir. ¹³¹I-mag-poli(HEMA-APH) molekülünün sıçanlarda rahim, yumurtalık, akciğer ve prostat'ta tutulum göstermesi, ¹³¹I ile işaretlenen bu molekülün bu organlarla ilgili hastalıkların teşhisi ve tedavisinde kullanılabilme potansiyelini ortaya çıkarmaktadır. Mag-poli(HEMA-APH) polimerinin bu amaç için kullanılabilmesi ise daha ileriki aşamalarda yapılacak olan hücre ve xenograft çalışmalarının olumlu sonuçlar vermesiyle mümkün olabilecektir.

Anahtar Kelimeler: Mag-poli(HEMA-APH), Anilinfalein, Nanopartikül, Kanser, İyod-131

ABSTRACT

SYNTHESIZING, RADIOLABELING AND INVESTIGATION OF RADIOPHARMACEUTICAL POTENTIAL OF MAGNETIC POLY(HEMA-APH) NANOPARTICLES WITH IODINE-131

AKALIN, Hilmi Arkut

Master Thesis, Institute Of Science and Technology

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Uğur AVCIBAŞI

30-01-2013, 104 Pages

Nanotechnology is a highly promising application platform to improve therapeutic effectiveness and safety profiles in the treatment of multiple types of cancer, as it is specific to site, limits multi-drug resistance and efficiently delivers anticancer agents. A wide variety of nanoparticle-based systems are available for cancer detection, diagnosis and treatment including liposomes, polymeric micelles, nanosystems, nanoshells, fullerene-based derivatives, carbon nanotubes, dendrimers, quantum dots, gold nanoparticles, solid lipid nanoparticles, nanowires, paramagnetic nanoparticles, etc. The ability of nanoparticles in cancer treatment has dual significance. Firstly, nanoparticles play as drug carrier systems. Secondly, when they are exposed to appropriate wavelengths, nanoparticles heat up without heating the body. Thus, nanoparticles selectively kill cancerous cells.

In light of all of the data given, the aim of current study is to synthesize magnetic poly(HEMA-APH) using non-surfactant emulsion polymerization between functional monomer anilinephthalein (APH) and side monomer poly(2-hydroxyethyl methacrylate) poly(HEMA) and to radiolabel the related polymer with ^{131}I to investigate radiopharmaceutical potential of ^{131}I -mag-poly(HEMA-APH) on experimental animals. To achieve this, in the first stage APH molecule was synthesized and then polymerization reaction was done and magnetic poly(HEMA-APH) nanopolymer was obtained. In the next stage, mag-poly(HEMA-APH) polymer obtained was radiolabeled with ^{131}I and quality-control studies of radiolabeled compound was done. In consequence of these studies, radiolabeling yield of ^{131}I -mag-poly(HEMA-APH) was found to be about %90. In the final stage, scintigraphy and biodistribution studies on experimental animals were done. In the result of scintigraphy studies carried out on female and male albino wistar rats, it was observed that radiolabeled compound showed high uptake in the heart, the liver, the kidney and the stomach. In consequence of these studies, target organs for female and male Albino Wistar rats were determined to be uterus, ovarian and lungs, prostate respectively.

In conclusion, mag-poly(HEMA-APH) molecule was successfully radiolabeled with ^{131}I using iodogen method. Showing high uptake in the uterus, the ovarian, the lung and the prostate by ^{131}I -mag-poly(HEMA-APH) reveals the potential of this radioiodinated compound to be used in the diagnostics and therapy in diseases related with these organs. Using mag-poly(HEMA-APH) for this purpose will only be possible if the cell and the xenograft studies planned to be carry out in subsequent stages yields positive results.

Keywords: Mag-poly(HEMA-APH), Anilinephthalein, Nanoparticle, Cancer, Iodine-131

1.0. GİRİŞ

Kanser önemi giderek artan bir sağlık ve yaşam sorunu haline gelmiştir. Ölüm nedeni olarak, kalp ve damar hastalıklarının hemen ardından gelmektedir. Batı toplumlarında her yıl 250-350 kişiden biri kansere yakalanmaktadır. 60 yaşın üzerindeki grupta ise kanser sıklığı çok artmakta, 300 kişide 4-5 kişi civarına yükselmektedir. Ülkemizde kesin istatistikler bulunmamakla birlikte insidansın bunun yarısı kadar olduğu tahmin edilmektedir (<http://www.kanser.org>).

Kanser, Latince'de yengeç anlamına gelen "crab" sözcüğünden türetilmiştir. Yunanlı hekim Hipokrat, hastalığın başladığı bölgeden diğer organlara yayılmasını gözlemleyerek bu tanımlamayı yapmıştır. Kanser vücuttaki bir hücre grubunun farklılaşarak, aşırı ve kontrolsüz şekilde çoğalması sonucu meydana gelmektedir. Normalde hücrelerin büyümesi ve çoğalması bir düzen içerisinde olmaktadır. Buna paralel olarak doku ve organlar da görevlerini normal olarak yapabilmektedirler. Ancak bu hücreler anormal şekil ve hızda büyümeye ve çoğalmaya başarlarsa, tümör adı verilen kitle oluşumuna yol açarlar. Bu anormal hücrelerin köken aldığı organa göre hastalık adlandırılır (Akciğer kanseri, meme kanseri, prostat kanseri vs.). Genelde tümör tespit edilmeden önce milyonlarca anormal hücre sayısına ulaşması gerekir. 1 cm büyüklüğündeki bir tümör kitlesi, yaklaşık 10^{12} (1 trilyon) hücreden meydana gelmektedir (<http://novartisonkoloji.com.tr>).

Kanser, gelişen endüstri dünyasında olduğu gibi aynı zamanda gelişen dünyada da bir artış içerisinde. En güncel dünya kanser istatistikleri, 2020 yılında yeni kanser vakaları sayısının 15 milyondan daha fazla miktarda bir artış göstereceğini ifade etmektedir (Kanavis, 2006). Bu nedenle, kanser araştırmalarında ve kanser hastalarının tedavi edilmesinde görev alan bir çok kişiyi çok zorlu bir mücadele süreci beklemektedir. Tümör biyolojisi ve moleküler genetik alanlarında, medikal araştırmaların büyük bir gelişim gösterdiği vurgulanmalıdır. Bu olay, gelecekte kanser tedavisinde kullanılmak üzere daha yeni ve etkili ilaç tedavilerinin kullanılmasına imkan tanımaktadır. Bu prosese paralel olarak moleküler skalada, diğer gelişmeler ile birlikte medikal görüntüleme konusunda dikkate değer gelişmeler meydana gelmiştir. Kanser görüntülenmesi, tedavi veriminin ölçüsüne büyük anlamda katkı sağlamaktadır. Gerek ilaç dizaynı gerekse kanserin görüntülenmesinin, tıpta temel bir buluş olarak kabul edilen nanoteknolojinin tanımlanması ile bir gelişim göstereceği şüphesizdir.

Nanoteknolojinin biyoteknoloji ve tıp ile birleştirilmesi, biyosistemlerin yapı ve fonksiyonlarının ortaya çıkarılması anlamını taşımaktadır, bu da aslen nanoskalada örgütsel bir seviyeye sahiptir. Diğer bir deyişle, nanoteknoloji biyo-sistemlerin ölçülmesi ve anlaşılması için gerekli araçların teminini sağlamaktadır (Roco, 2003).

Daha belirli bir biçimde, nanoteknoloji nanotıp'a dönüştürülmüştür ve dolayısıyla bu olay moleküler skalada tedavi ve hastalığın iyileştirilmesi ile ilgilidir. Gerçekten de, nanopartiküllerin iyileştirici ve teşhis edici ajanların taşınması ve hedeflenmesinde kullanımı, kanser tedavisinde ön planda yer almaktadır. İlaçların, ajanların salındığı spesifik bölgelere hedeflenmeleri ve o bölgelerde birikimi, daha düşük sistemik yan etkiler gösterecek biçimde daha yüksek ilaç derişimlerine ulaşılacağı anlamını taşımaktadır. Aynı şekilde nanopartiküllerin manyetik rezonans görüntüleme için süpermanyetik özelliklerinin kullanımı oldukça önemli bir yaklaşımdır. Bu gelişmeler onkolojideki teşhis edici ve iyileştirici uygulamalar için umut verici olaylardır.

Özellikle son beş yılda ilaç taşıma sistemi olarak ve görüntüleme için nanoteknolojinin kullanımı alanındaki araştırmalar artan bir ivme ile yapıla gelmektedir. Bu anlamda geliştirilen nanopartiküllerin bazı özellikleri ve kullanıldıkları bazı medikal alanlar aşağıda sıralanmıştır;

- Nanoteknoloji, atom gruplarının kümelenmelerini sağlayarak en küçük fonksiyonel ünitelerin üretiminde rol alır.
- Nanopartiküller, 100 nm'den daha küçüktürler ve virüsler, DNA ve proteinler ile benzer boyuttadırlar.
- Biyoteknoloji, nanoteknoloji ve bilgi teknolojisi konularında gelişim gösteren nanopartiküller, moleküler, biyokimyasal ve biyolojik proseslerde görev alabilmektedirler.
- Nanopartiküllerin yüzeyi bağışıklık sistemi tarafından tanınmasının önlenmesi amacıyla çeşitli moleküller ile donatılabilir. Ve bu olay nanopartiküllerin hedeflerine daha etkili bir biçimde ulaşmalarını sağlamaktadır.
- Nanopartiküller, kan beyin bariyeri ve derinin dar birleşme noktaları gibi psikolojik engellerin üstesinden gelmek amacıyla tasarlanmıştır.
- Nanopartiküller ilaçların taşınımını sağlarlar ve ilaç içeriğinin hastalıklı bölgeye aktarılması için tasarlanmışlardır.
- Nanopartiküller, dekstran gibi polimerik bir madde ile kaplanmış süperparamanyetik materyallerden oluşan inorganik bir merkez içerirler.
- Daha özgün doku hedeflemesi, nanopartikülün bir ligand (monoklonal antikor) ile konjugasyonundan elde edilebilir.

Bütün bu nedenlerden dolayı son yıllarda bir çok kanser türünün teşhisi ve tedavisinde nanopartiküllerin kullanımı oldukça önem kazanmıştır. Özellikle farklı türlerdeki taşıyıcı özellik gösteren nanopartiküllere uygun yapıdaki monomer fonksiyonu gören ilaçların bağlanması ile çok değişik etkilere sahip birçok polimer-ilac konjugatı elde edilmiştir.

Özellikle yakın zamanda yapılan çalışmalarda önemli bir ilaç taşıyıcı polimer olan poli(2-hidroksietil metakrilat), poli(HEMA) dikkat çekmektedir. Literatürde poli(HEMA)'nın kanserin tedavi ve teşhisinde, gerek taşıyıcı molekül olarak gerekse radyoaktif izleyici olarak kullanıldığı bazı çalışmalar mevcuttur ancak bu çalışmalar çok sınırlıdır (Reichl et al, 2002; Durner et al, 2009; Hsiue et al, 2011). Bu çalışmaların bazılarında, poli(HEMA)'nın taşıyıcı molekül olarak kullanıldığı polimer-ilâç konjugatları farklı radyonüklidlerle işaretlenmiştir, bazılarında ise bu polimer bir radyoaktif izleyici olarak kullanılmış veya direkt olarak bir radyonüklid ile işaretlenmiştir. Bunun yanında bir başka taşıyıcı polimer olan poli(2-hidroksipropil metakrilamid), poli(HPMA)'ya ilişkin de bir çok çalışma mevcuttur (Line et al, 2004; Lammers et al, 2005; Huang et al, 2012). Bu polimer de kemoterapik ilâçların hedef dokulara taşınmasında taşıyıcı olarak kullanılan önemli polimerlerden biridir.

Tüm bu bilgilerin ışığı altında yapılan bu çalışmanın amacı, fonksiyonel monomer APH (Anilinftalein) ve yardımcı monomer HEMA arasında (2-hidroksietil metakrilat) sürfaktant içermeyen emülsiyon polimerizasyonu ile manyetik poli(HEMA-APH)'ı sentezlemek ve daha sonra bu polimeri radyoaktif ¹³¹I ile işaretleyerek radyofarmasötik potansiyelini deney hayvanları üzerinde incelemektir.

2.0. GENEL BİLGİLER

2.1. Nanoteknolojinin Kanser Tedavisinde Kullanılması

2.1.1. Nanoteknolojinin Geçmişi ve Ortaya Çıkışı

Nanoteknoloji bilimi ilk defa 1959 yılında, Richard P. Feynman (1965 yılında Fizik alanında Nobel ödülü kazanmıştır) tarafından ortaya atılmıştır (Baker et al, 2001). Nano kelimesi Yunanca'da "cüce" anlamına gelmektedir. Nanopartiküller 1 nm ile 100 nm aralığındaki boyutlara sahiptir. Bir nanometre (nm), ölçü olarak bir metrenin milyonda biridir ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$).

Nanoteknolojinin en uygun tanımlamalarından biri Bawa tarafından yapılmıştır (Bawa, 2007). Bu tanımlama şu şekildedir; nanometrik skalada yapısal olarak kontrollü bir işleme yöntemi ile elde edilen, en azından bir tür yeni nesil karakteristik özelliklere sahip yapılar ve aygıtların üretimini sağlayan sistemlerdir.

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

Nanopartiküller, çok küçük boyutlara sahip olmalarından dolayı en dar ve en küçük kılcal damar kanallarına giriş yapabilirler. Bu yolla, nanopartiküller fagozitler tarafından oluşturulan hızlı atılımı önlerler ve nanopartiküllerin kan akışı içerisinde kalma süreleri yüksek ölçüde arttırılmış olur. Bu moleküller hedef organlara ulaşabilmek için hücre ve doku boşlukları içerisinde geçebilirler ve biyo-uyumluluklarına, pH'a, materyallerin iyon ve sıcaklık hassasiyetlerine bağlı olarak kontrollü salınım özellikleri gösterebilirler (Farokhzad, 2006).

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

2.1.2. Nanoteknolojinin Kanser Tedavisindeki Rolü ve Önemi

Nanoteknoloji, çeşitli hastalıkların moleküler düzeyde anlaşılması konusundaki güncel buluşlar ve nanometrik skalada kullanılan materyallerin kontrollü biçimde işlenmeleri yoluyla, kanseri de içeren farklı çeşitlilikteki kompleks hastalıkların tedavi edilmesi, önlenmesi ve teşhis edilmesinde son derece umut vaad eden bir araçtır (Convreur et al, 2006). Bu sebepten dolayı son yıllarda nanoteknolojiye duyulan ilgi kanser tedavisi üzerine odaklanmış ve bu ilgi kanserin tedavi edilmesi konusunda bir çok yeni gelişmenin oluşmasını sağlamıştır. İki temel disiplinin birleşimi sonucunda meydana gelen ve yeni bir alan olan “nano-onkoloji” bir çok kanser türünün teşhis ve tedavisinde kanser araştırmacılarına yeni ve yaratıcı olanaklar sunmaktadır (Kumar et al, 2009). Bundan dolayı nanoteknoloji; bölgeye spesifik olması, çoklu-ilaç resistansını kısıtlaması ve anti-kanser ajanlarının etkili bir biçimde taşınımını sağlamasından dolayı, bir çok kanser türünün tedavisinde terapötik etkinliğin ve güvenlik profillerinin geliştirilmesinde son derece önemli bir uygulama alanı haline gelmiştir (Haley et al, 2008).

Kanserin teşhisi ve tedavisi için çok çeşitli nanopartiküler sistemler mevcuttur. Bunlar; lipozomlar, polimerik miseller, nanosistemler, nanoküreler, fulleren-tabanlı türevler, karbon nanotüpler, dendrimerler, kuantum dotlar, altın nanopartiküller, katı-yağ nanopartiküller, nanokablolar, paramanyetik nanopartiküllerdir (Haley et al, 2008; Sing, 2008). Nanopartiküllerin kanser tedavisinde tercih edilmelerinde iki önemli husus rol oynamaktadır. Bunlardan ilki, nanopartiküllerin ilaç taşıyıcılar olarak görev almaları (Torchilin, 2007), ikincisi ise bu moleküllerin farklı dalga boylarındaki ışığı absorbe edebilmelerinden dolayı, uygun dalga boylarındaki ışığa maruz bırakıldıklarında vücut sıcaklığında bir artışa sebep olmadan ısınma gösterebilmeleridir. Nanopartiküller bu yolla kanserli hücreleri seçici bir biçimde yok edebilirler (Loo et al, 2004).

2.1.3. Nanoteknolojinin Konvansiyonel Tedavilere Göre Üstünlükleri

Kanser tedavilerinde yakın zamanda çok önemli gelişmeler yaşanmış olmasına karşın, bu alanda çalışan araştırmacıları hala çok zorlu mücadeleler beklemektedir. Maalesef, yaygın olarak kullanılan kanser kemoterapisi, hastayı diğer hastalıklara daha hassas hale getirerek hastanın bağışıklık sistemini zayıflattığı ve çoğu zaman hastanın ölümüne neden olduğu için artık günümüzde istenmeyen bir tedavi haline gelmiştir. Kanser kemoterapisindeki en temel mücadele, anti-kanser ajanlarına karşın oluşan çoklu ilaç resistansı ve sağlıklı olarak çoğalan hücreler üzerindeki toksisite etkileri ile bağlantılıdır. Anti-kanser ajanlarının spesifik olmayan organlara dağılımının neden olduğu ölümcül yan etkiler sistemik yüksek doz stratejilerini sınırlandırmıştır (Carelle et al, 2002).

Başlangıçta, büyük ölçüde direnç gösteren hücreler haricindeki kanser hücreleri kemoterapi tedavisine karşı hassastır, ancak daha sonra bu hücreler birbirini tekrar eden kemoterapi döngüleri sonucunda yaygın olarak geliştirilmiş direnç gösterirler (O'Connor, 2007). Bir anti-kanser ajanı tarafından başlatılan direnç, farklı kimyasal yapılar içeren ve farklı hücreleri hedefleyen geniş skaladaki ilaçlara karşı çakışan bir direnç oluşturur (O'Connor, 2007; Higgins, 2007).

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

Yıllardan beri ihtiyaç duyulan bu tedavileri bünyesinde barındıran alan, kanserin nanoteknoloji ile tedavi edilmesi prensibinden meydana gelen nanotıptır. Tüm bu nedenlerden dolayı kanserin teşhis ve tedavisinde nanoteknolojinin kullanılması çok büyük avantajlar teşkil etmektedir ve nanoteknoloji ile gerçekleştirilen tedavilerin kemoterapi gibi konvansiyonel tedavilere göre çok büyük üstünlükleri vardır.

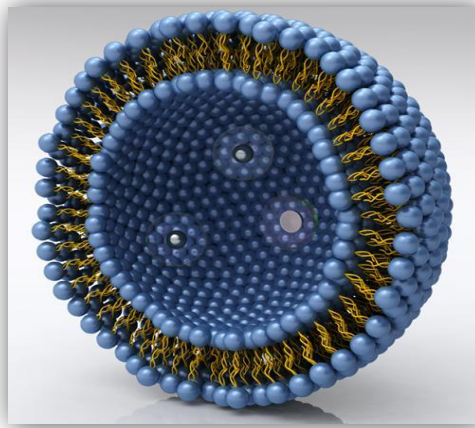
2.1.4. Nanoteknolojide ve Nanotıpta Kullanılan Nanopartiküler Sistemler

Nano boyutlara sahip olmaları, nanopartiküllerin kanser tedavisinde geniş bir skalada kullanılmalarına imkan tanımaktadır. Temel olarak nanopartiküler sistemler, kanserin tedavisi ve teşhisinde kanserli hücrelerin öldürülmesi amacı ile anti-kanser ajanları ve görüntüleme ajanlarının taşınımını sağlamaktadır.

Nanotıpta kullanılan en önemli nanopartiküler sistemler, lipozomlar, polimerik miseller, nano-sistemler, nano-kabuklar, fullerener, karbon nanotüpler, dendrimerler, kuantum dotlar, altın nanopartiküller, katı-yağ nanopartiküller, nanokablolar ve manyetik özellikteki nanopartiküllerdir. Bu moleküllerin dışında kullanılan nanopartiküler sistemler de mevcuttur, ancak en yaygın olarak kullanılanlar verilen bu moleküllerdir.

2.1.4.1. Lipozomlar

Lipozomlar, toksik olmayan fosfolipidler ve kolesteroldan oluşan küçük, yapay küresel vesiküllerdir. Bu maddeler ilaçları, genleri ve sulu ortamlardaki diğer biyomolekülleri sarmalamak için iki katmanlı moleküler yapılar ile etkileşime girerler (Şekil 2.1). Lipozomlar, 25 nm ile 10 μ m aralığında değişen boyutlara sahiptirler. Hazırlanma metodlarına bağlı olarak (Wang et al, 2009), çok farklı çeşitlilikteki terapötik ajanlar ile yüklenmiş lipozomlar, kanser türlerine karşı mücadele amacı ile yaygın olarak kullanılmaktadır (Ferrari, 2005).



Şekil 2.1. Fosfolipid moleküllerinden meydana gelen lipozom molekülü
(<http://lyposphericnutrients.co.uk>)

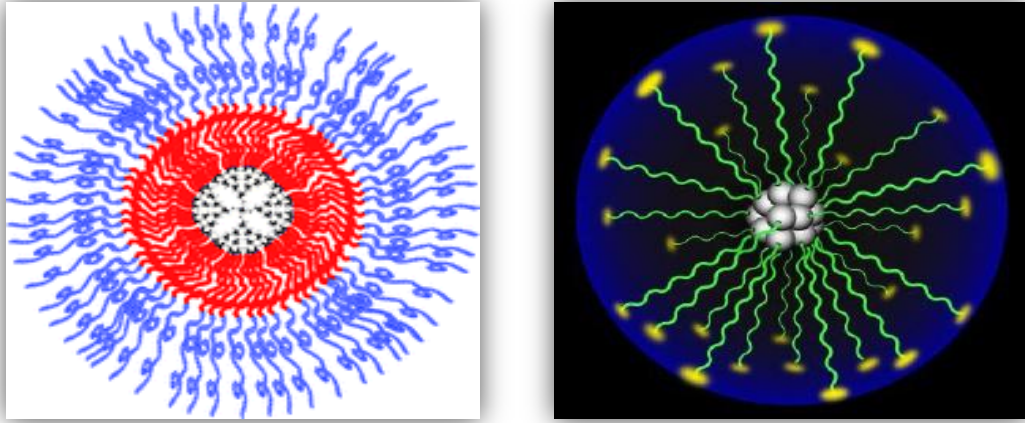
Belirli boyutlardaki lipozomlar, özellikle de 400 nm'den daha küçük boyutlarda olanlar vücutta kan dolaşımı yolu ile hızlı bir şekilde tümörlü bölgelere nüfuz edebilir, fakat sağlıklı dokularda bulunan kan damarları sistemindeki endotelial duvar tarafından kan dolaşımı içerisinde tutulurlar (Arayne et al, 2007). Lipozomlar tümör bölgesinde etkili konsantrasyonlarda anti-kanser ajanlarının üretimini sağlamak için kanserli hücreyi çevreleyen kan damarları sistemindeki boşlukları kullanırlar (Park, 2002). Bu küçük moleküller mide bulantısı, baş ağrısı, kusma ve saç kaybı gibi bazı yaygın yan etkileri azaltma kabiliyetine sahiptirler.

2.1.4.2. Polimerik Miseller

Polimerik miseller, esasen çok moleküllü, blok kopolimerlerin bir araya gelerek oluşturdukları, küresel, benzersiz çekirdek-kabuk yapısına sahip koloidal nano-parçacıklardır (Kataoka et al, 2001).

Polimerik misellerin iç çekirdeği, polimerlerin elastik hidrofilik iplikçiklerinin dış kabuğu tarafından çevrelenen hidrofobik moleküller için nanopartiküler parçacıkları barındıran bir yapı olarak görev yapar (Şekil 2.2).

Bu moleküllerin oluşumu için, ilaçlar hidrofobik çekirdek içerisinde dağılım yapabilir ve misel çekirdeği bir ilaç rezervuarı olarak davranır. Dış hidrofobik tabaka sulu ortam içerisinde kararlı bir dağılım fazı oluşturur ve bu faz damardan vücuda verilebilir. Polimerik miseller, kan dolaşımı içerisinde yüksek oranda kararlılık gösterirler ve ilacın vücuda sistemik olarak verilmesinden sonra tümörlü bölgede yüksek oranda birikim yaparlar (Kataoka et al, 2001; Nishiyama et al, 2006).



Şekil 2.2. Hidrofobik çekirdeğe sahip polimerik miseller

(<http://pubs.rsc.org>, <http://vkc.library.uu.nl>)

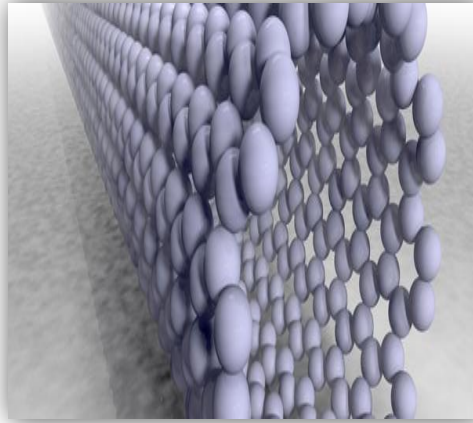
Polimerik miseller fizyolojik çözeltiler içerisinde biyo-uyumlu ve termodinamik olarak kararlı bir biçimde tasarlanmışlardır (Gaucher et al, 2005). Daha yüksek termodinamik kararlılığa sahip olan polimerik miseller düşük kritik misel konsantrasyonuna sahiptir ve bu olay hızlı *in vitro* çözünme olayını engeller (Kataoka et al, 2001; Nishiyama et al, 2006). Polimerik miseller, kanser tedavisinde ilaçların ve genlerin vücuda etkili bir biçimde taşınımalarında en çok umut vaad eden nano-taşıyıcı sistemlerden biri olarak kabul edilmektedir.

Polimerik misellere dayanan anti-kanser ilaç taşıyım sistemleri, ilaçların çözünme güçleri, süresi uzatılmış yarı-ömürler, ana ilaç üzerinde herhangi bir kimyasal değişikliğe gerek kalmadan ilacın etkili bir biçimde vücuda verilmesi, tümör bölgesinde seçici birikim sağlanması ve düşük toksisite gibi birçok yönden diğer anti-kanser ilaç taşıyım sistemlerine göre daha avantajlı bir konumdadır.

Bu moleküller, ilaçların kontrollü bir biçimde salınımları gibi tümöre nüfuz etme özelliklerine sahiptirler ve bu olay tümörlü bölgenin tamamen yok edilmesi için önem arz etmektedir. Lipozomlarda olduğu gibi polimerik miseller, spesifik kanser hücelerine ilaçların hedeflenmiş bir biçimde taşınımını sağlamak için pilot ligand molekülleri kullanılarak modifiye edilebilirler ve pH'a hassasiyet gösteren ilaç-bağlayıcı moleküller ilacın kontrollü bir biçimde taşınımını sağlamak için ana yapıya kimyasal olarak ilave edilebilir (Bay et al, 2005; Bawa, 2007). Kanser tedavisinde, eş-zamanlı ilaç taşınımı ve görüntülemenin sağlanması için çok fonksiyonlu polimerik miseller dizayn edilebilmektedir (Bay et al, 2005).

2.1.4.3. Nanosistemler

İlacın vücut içerisinde taşınması sürecinde, yapısal özelliklerini değiştirmek amacı ile yeni nesil nanosistemler oluşturulabilir. Bu oluşum, çevrelenmiş anti-kanser ajanlarının hücre içi ve dışına daha etkili bir biçimde taşınmalarını sağlar (Şekil 2.3). Bu taşınım, pH'daki değişimleri, enzimleri ve sıcaklığı da içeren fiziksel ve biyolojik uyarılmalara yanıt veren moleküler sensörler tarafından gerçekleştirilir. Biyolojik ilaçlar; DNA (Deoksiribonükleik asit), SiRNA (Küçük engelleyici RNA, Small Interfering RNA) ve diğer nükleik asitleri içeren programlanmış nanosistemler ile vücut içerisine alınabilmektedir (Wagner, 2007).



Şekil 2.3. Nanosistemler

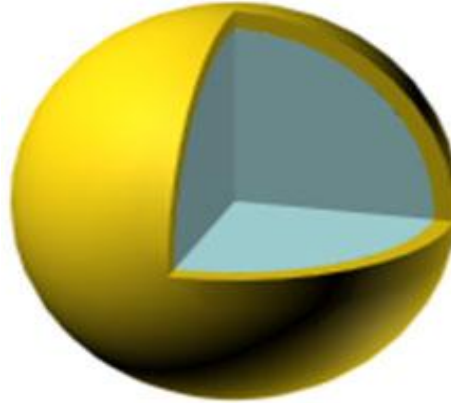
(<http://ovcr.ucla.edu/nanosystems.html>)

2.1.4.4. Nanokabuklar

Nanokabuklar, kanser teşhisi ve tedavisi için ilgi çekici diğer bir platformdur. Bu moleküller genel olarak metal bazlı nanopartiküllerdir (Şekil 2.4).

Nanokabuklar, altın elementinden oluşan bir üst katman ve silis elementinden oluşan bir çekirdekten meydana gelmiştir (Shi et al, 2005). Altın tabakanın kalınlığının değiştirilmesi ile beraber, nanokabuk moleküllerinin optik absorpsiyon özelliklerinde meydana gelen değişim, molekül yakın bir mesafeden IR lazerine maruz bırakıldığında açık bir şekilde kendini gösterir. Yakın IR lazeri, dokuyu aydınlatır ve oluşan ışık yoğun ısı oluşumunun sağlanması için nanokabuk molekülleri tarafından absorbe edilir (West et al, 2003). Böylece, nanokabuk molekülleri çevredeki sağlıklı dokulara zarar vermeden, termal olarak yalnızca kanserli hücreleri ve tümörleri yok etmeye başlarlar.

Antikorlar ve tedavi edici anti-kanser ajanları nanokabuk moleküllerinin yüzeylerine bağlanabilirler ve böylece nanokabuk moleküllerinin kanserli hücrelere ve tümörlere hedeflenmelerini sağlarlar (Sing, 2008). Altın nanokabuk antikor kompleksleri meme kanseri hücrelerinin cerrahi yöntemlerle kesilerek vücuttan alınabilmeleri için kullanılırlar. Altın nanokabuk molekülleri hızlı immunoserolojik yöntemlerde kullanılırlar ve bu moleküller, numune hazırlamaya gerek duyulmadan biyolojik kompleks ortamı içerisinde analiti tespit etme yeteneğine sahiptir (Kewal et al, 2005). Analit varlığında, yakın IR bölgesinde sönümleme spektrumu veren antikor ve nanokabuk konjugatlarının agregasyonu spektroskopik olarak izlenebilmektedir.



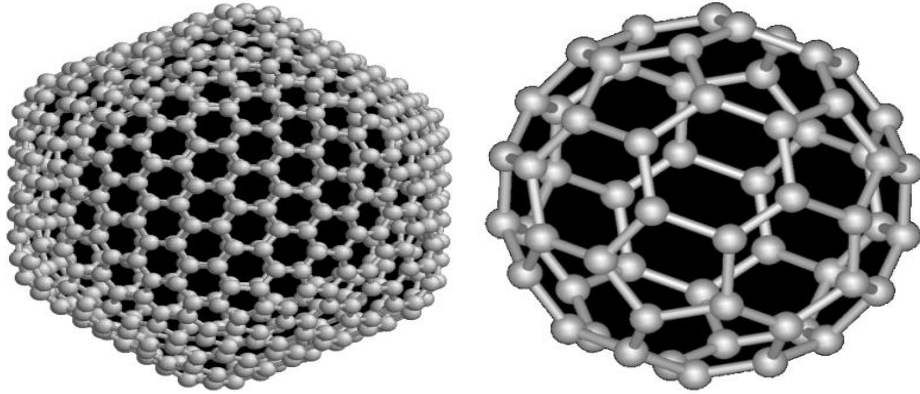
Şekil 2.4. Altından oluşmuş bir üst katmandan meydana gelen nanokabuk molekülü
(<http://nanocomposix.com>)

2.1.4.5. Fullerenler

Fullerenler son zamanlarda nano-farmasötik yapılarda uygulama alanları bulan moleküllerdir ve kanser tedavisinde çok farklı türlerde uygulama alanları bulunmaktadır (Moghimi et al, 2001; Mansoori et al, 2007). Bu moleküller karbon atomlarından oluşan kristal partiküllerdir.

Fullerenlerin en yaygın türü, 60 karbon atomundan oluşan, tepesi kesilmiş yirmi yüzlü küresel bir yapıya sahip olan Buckminster fullereni (C60)'dır. Bu moleküler yapı 20 hegzagon ve 12 pentagondan meydana gelen bir futbol topunu andırmaktadır (Şekil 2.5). Diğer fullerenler C70, C76, C78, C84, C86 ve C540 gibi türlerdir (Meheta et al, 2006). Fulleren kafesleri 0.7 ile 1.5 nm aralığında değişen çaplardadır ve fullerenin kafes örgüsü, anti-kanser ajanlarının yapıya bağlanması için idealdir. Bu örgü kanserli hücrelerin teşhis edilmesinin yanı sıra bu hücrelerin öldürülmesini sağlamak için tedavi etkinliğini artırma hedefi altında radyolojik ajanların ana yapıya bağlanmalarını sağlar. Bu moleküllerin kararlılıklarının yüksek olması, yüksek oranda toksik maddeleri tümörlere güvenli bir biçimde taşımalarını sağlar (Moghimi et al, 2001).

Gerek boş olanlar gerekse metalik yapıdaki fullerenler düşük *in vitro* ve *in vivo* sitotoksisiteye sahiptir. Kapalı küresel bir yapıya sahip olan metalik yapıdaki fullerenler kanserin teşhisinde potansiyel uygulama alanlarına sahiptir. $M[C_{82}(OH)_{30}]$ gibi metalik yapıdaki fullerenlerin suda çözünebilir türleri manyetik rezonans ajanları, x-ışınları kontrast ajanları ve radyofarmasötikler olarak kullanılmaktadır. Bir başka metalofulleren türevi $^{166}Ho[C_{82}(OH)_{30}]^{3+}$, kanserli hücrelerin görüntülenmeleri ve yok edilmelerinde yaygın olarak üzerinde çalışılmış radyoaktif bir izleyicidir (Meheta et al, 2006). Fulleren moleküllerini temel alan tedavilerin diğer hedeflenmiş tedavilere karşı olan üstünlüğü muhtemelen taxol ve diğer kemoterapik ajanlar gibi çok sayıdaki ilaç kümelerini taşıma özelliğinden ileri gelmektedir (Sing, 2008).



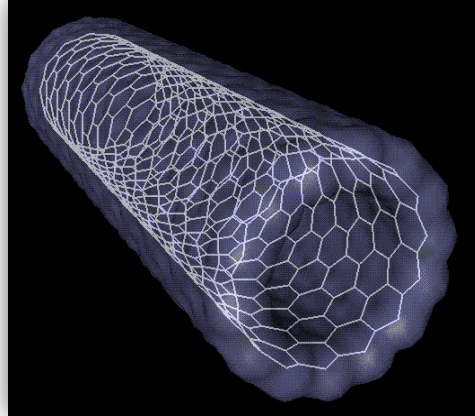
Şekil 2.5. Fulleren C540 ve fulleren C60'ın moleküler yapısı

(<http://en.wikipedia.org>, <http://extremelongevity.net>)

2.1.4.6. Karbon Nanotüpler

Karbon nanotüpler tübüler bir yapı içerisinde sarmalanmış kondense olmuş bir seri karbon atomundan meydana gelirler (Şekil 2.6). Karbon nanotüpler fulleren ailesinin bir üyesidir.

Grafit ve elmas ile beraber karbonun üçüncü allotropik yapısını teşkil ederler. Bu moleküller yakın zamanda kanser tedavisinde kullanılmak üzere geliştirilmişlerdir (Lacerda et al, 2006). Tümörü hedefleyen karbon nanotüpler, tümöre spesifik monoklonal antikolar, radyasyon iyon şelatları ve floresans özelliği gösteren çeşitli sondalara kovalent olarak bağlanmaları yolu ile sentez edilmişlerdir (McDevitt et al, 2007). Karbon nanotüplerin yüzeyi, hücresel tutulum olayının gerçekleşmesi için proteinler ile modifiye edilebilir ve bu moleküller daha sonra yakın-IR ışık dalgaları absorbe edecek biçimde ısıtılır. Karbon nanotüpler yakın-IR ısısına maruz bırakıldıklarında, aşırı enerjiyi hızlı bir biçimde ısı enerjisi olarak yayarlar ve bu ısı enerjisi kanserli hücrelerin ölümüne neden olur (Mansoori et al, 2007). Küçük nanotüplerin yüzeylerini monoklonal antikolar ile kaplama yaklaşımı meme kanserinin teşhis edilmesinde kullanılmaktadır. Bu yaklaşımdaki amaç karbon nanotüpleri, meme kanseri hücrelerinin yüzey reseptörlerine spesifik olan antikolar ile etkileştirerek bir biyosensör geliştirilmesini sağlamaktır. Sonuç olarak karbon nanotüpler, biyolojik hücre sinyali yolu kademesi gibi geniş bir alanda kanserli hücreleri yok etme potansiyeline sahiptirler ve bu yolla kanserin olumsuz etkilerini hafifletme özelliği gösterirler.



Şekil 2.6. Karbon nanotüpün moleküler yapısı

(<http://nano--tech.blogspot.com>)

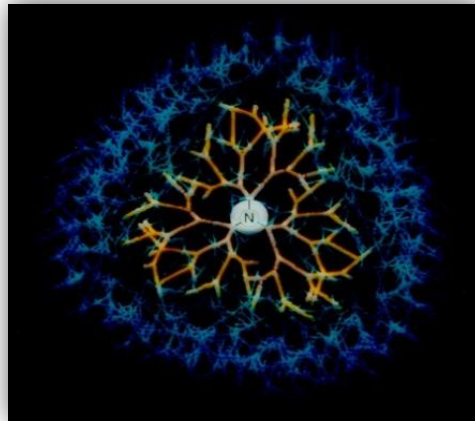
2.1.4.7. Dendrimerler

Dendrimerler ilk olarak Vogtle ve arkadaşları tarafından bulunmuştur (Vogtle et al, 1978). Bu moleküller, düzenli ve yüksek ölçüde üç boyutlu bir kimyasal yapıya sahip, tek-fazlı mükemmel makromoleküllerdir. Dendrimerler belirli sayıda kimyasal kabuk içerirler, yani bu moleküller iç yapılarında küçük bir çekirdek barındırırlar. İç tabakalar birbirini tekrarlayan birimlerden meydana gelir ve bu birimler kökten iç çekirdeğe bağlıdır (Şekil 2.7).

Bununla beraber dış kısım, en dıştaki tabakalara bağlıdır. Dendrimerlerin anti-kanser tedavilerinde ve kanser teşhisi amacıyla yapılan görüntülemelerde kendini göstermesi bu moleküllerin makromoleküler nano-boyutlardaki taşıyım sistemlerinin en yeni sınıfı olarak tanımlanmalarını sağlamıştır (Wolinsky et al, 2008). İlaçların vücuda alınmasında ve görüntülemelerde kullanılan dendrimerler genellikle 10 ile 100 nm çapındadırlar. Bu dendrimerler yüzeylerinde çoklu fonksiyonel grupları barındırırlar ve bu özellikleri onların hedeflenmiş ilaç taşıyımını için ideal sistemler olmalarını sağlarlar. Bilim adamları ve araştırmacılar dendrimerleri 5 önemli kimyasal araç içeren etkili ve gelişmiş anti-kanser tedavi sistemleri haline getirmişlerdir.

1. Kanserli hücelere ve tümörlere bağlanan bir molekül
2. Genetik mutasyonların yerini belirleyen bir floresans
3. X-ışınları kullanarak tümör şeklini belirlemede yardımcı olmak
4. İhtiyaca bağlı olarak terapötik ajanları taşımak
5. Son olarak kanserli hücelere yok edildiğinde sinyal vermek (Higgins, 2007).

Antikor-dendrimer konjugatları, minimum kayıpta immunreaktivitesi sağlayarak işaretleme için kullanılmıştır (Kobayashi et al, 2000). Dendrimeri temel alan taşıyım uygulamaları konusundaki araştırmalar, anti-PSMA antikorunun (J-591) florokrom içeren bir dendrimer ile konjuge edildiğinde prostat kanseri tedavisinde hedefleme ve görüntülemelerde kullanılabileceğini göstermiştir (Patri et al, 2002). Yine, dendrimerin yüzeyinde folik asit ve floresin moleküllerinin konjugasyonunu takiben gerçekleşen kontrollü yüzey modifikasyonu folik asit reseptörleri yoluyla tümörleri hedefleyen moleküllerin oluşumunu sağlar (Quintana et al, 2001; Mansoori et al 2007).



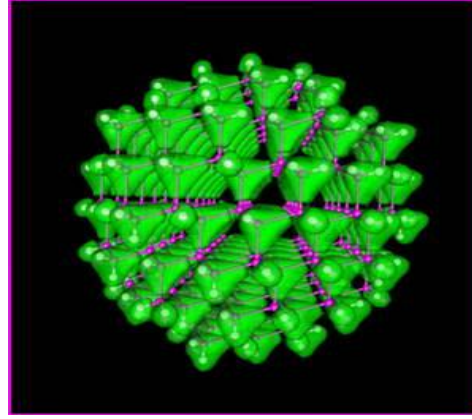
Şekil 2.7. Dendrimer molekülü

(<http://www.mmi.org/spdendrimers.html>)

2.1.4.8. Kuantum Dotlar

Kuantum dotlar, yarı-iletken nanokristaller bir çok kanser türünün erken teşhisi ve bir çok tümör türünün tedavi etkinliğinin belirlenmesinde son derece umud vaad eden uygulamalarda kullanılmaktadır (Kaji et al, 2007). Kuantum dotlar 2 ile 10 nm aralığında değişen çaptadırlar ve bu moleküller ayarlanabilir özgün hedefleme özellikleri taşırlar (Şekil 2.8).

Elektrokimyasal yöntemler ve kolloidal sentez yöntemleri kullanılarak yarı-iletken malzemelerden üretilebilirler. 1998 yılında, Smith ve ekibi merkaptasetik asit ile kaplanmış ZnS-CdSe kuantum dotların kanda bulunan transferin glikoproteinlerine *in vivo* koşullarda bağlanabildiklerini ortaya çıkarmıştır (Smith et al, 2004). Bu çalışmada, floresans kompleks tümörlü hücreler tarafından absorbe edilmiştir.



Şekil 2.8. Kuantum dot molekülü
(<http://nanoall.blogspot.com>)

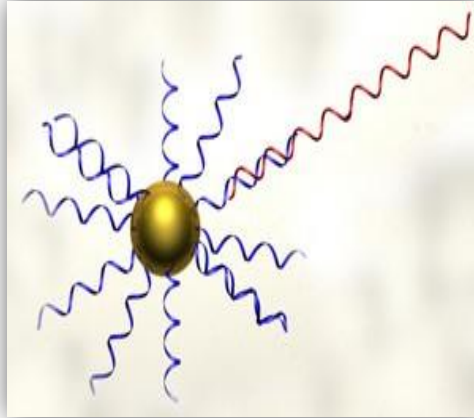
Gao ve ekibi prostat kanser hücrelerine bağlanmış olan kuantom dot moleküllerini kullanarak, canlı hayvanlar üzerinde *in vivo* koşullarda tümöre hedefli bir çalışma gerçekleştirerek bu yöntem ile görüntü almışlardır (Gao et al, 2004).

Bu çalışmada, kanserli hücrelerin hassas ve çok renkli floresans görüntülerinin alınabilmesi amacı ile çok fonksiyonlu kuantum dotlar vücuda enjekte edilmiştir. Maalesef, bazı koşullarda, kuantum dotlar sitotoksik hale gelmiştir (Derfus et al, 2004). Kuantum dotların PEG reaksiyonu ve misel kapsülasyonu ile modifiye edilmesi sitotoksiteyi sınırlandırmaktadır (Gao et al, 2005). Biyo-uyumlu ve daha etkili kuantum dotların ortaya çıkarılması için yapılan araştırmalar günümüze hala devam etmektedir.

En yaygın kuantum dotlar CdSe, CdTe, InP ve InAs'dir (Bawarsky et al, 2008). Boyutlarına bağlı olarak uygun dalgaboylarında uyarılabilirler. Bu nanopartiküller beyaz ışığı absorbe edebilir ve bu ışığı farklı kombinasyonlardaki parçacıklar olarak birkaç nano-saniye içerisinde geri yayımlayabilirler. Bu nedenle kuantum dotlar farklı dalga boylarındaki (400 ile 1350 nm aralığında) floresans ışığı yayımlayabilirler (Kaji et al, 2007). Kuantum dotlar, kanser tedavisinde teşhis amacı ile yapılan görüntülemelerde, kanser tedavisinde floresans sondalar olarak kullanılırlar ve farklı özellikteki ligandlara kimyasal olarak bağlanabilirler.

2.1.4.9. Altın Nanopartiküller

Altın nanopartiküller, kanser tedavisinde hedefe spesifik ilaç taşıyım sistemleri olarak son zamanlarda ilgi çekici bir üye olarak karşımıza çıkmaktadır. Altın nanopartiküller aynı zamanda görünür ışığı saçma özelliklerinden dolayı *in vitro* koşullarda kontrast ajanları olarak kullanılmaktadır (Şekil 2.9).



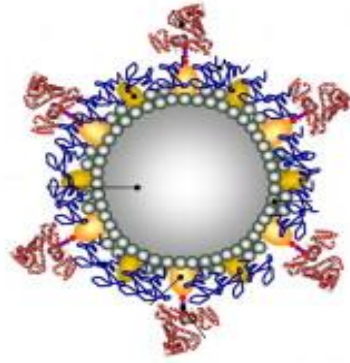
Şekil 2.9. Altın nanopartikülün moleküler yapısı
(http://www.nsf.gov/news/newsletter/jun_06/index.jsp)

Bu nanopartiküler sistemler, farmasötiklerin vücut içerisinde bir bölgeden başka bir bölgeye taşınmaları ve vücuttan atılmaları için eşsiz fiziksel ve kimyasal özelliklere sahiptir. Altın nanopartiküller inerttir ve toksik değildir. En önemli özellikleri, kanserli hücrelerde normal insan hücrelerine göre 600 kat daha fazla absorpsiyon özelliği göstermeleridir (Ghosh et al, 2008). Bu moleküllerin farklı biyolojik moleküllere kuvvetli bir biçimde bağlanma özellikleri, tümörlere bağlanarak tümörleri hedeflenmelerini sağlamaktadır.

Araştırmacılar, bu nanopartikülleri kullanarak farklı türlerdeki kanserler ile ilişkili olan DNA ve proteinlerin tespit edilmeleri için altın nanopartiküllere dayanan ultra-hassas algılama sistemleri geliştirmişlerdir. (Sing, 2008). Son zamanlarda yapılan çalışmalardan birinde bir kolon kanseri modelinde, vücuda verilen altın nanopartiküller-tümör nekrosis faktörünün tümörlerde büyük ölçüde birikim yaptığı görülmüştür (Kumar et al, 2009).

2.1.4.10. Katı Yağ Nanopartiküller

Katı yağ nanopartiküller, kanser tedavisinde son derece önemli bir materyaldir. Bu partiküller hem oda sıcaklığında hem de vücut sıcaklığında katı fazda kalabilen yağ molekülleri tarafından meydana gelirler ve 50 ile 1000 nm aralığında değişen boyutlara sahiptirler. 1990'lı yılların başlarından beri, anti-kanser ajanlarının vücuda alınımını sağlamak amacı ile belirli sayıdaki katı yağ nanopartiküller formüle edilerek test edilmiştir (Şekil 2.10).



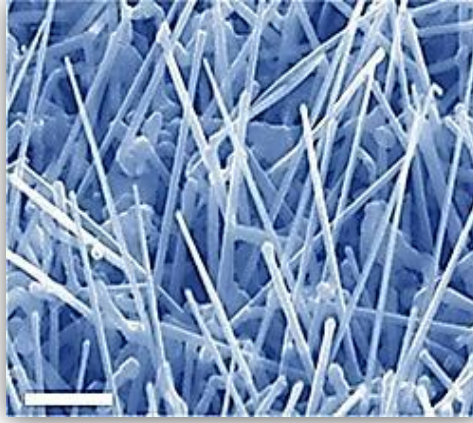
Şekil 2.10. Katı yağ nanopartikülün moleküler yapısı
(<http://www.sciencedirect.com>)

Doxurubicin, daunobicin, idarubicin, paclitaxel, camptothecin, etoposide gibi kanser tedavisinde kullanılan farklı ilaçlar bu nanoteknolojik yaklaşım kullanılarak hücre içerisinde iyi derecede tutulum göstermişlerdir.

Anti-kanser ajanlarının kullanımında, ilaçlara karşı direnç gösteren tümörlü hücre türleri gibi sık olarak görülen problemler, bu tümörlü hücrelerin katı yağ nanopartiküller kullanılarak vücuttan uzaklaştırılmaları yolu ile ortadan kaldırılabilir (Wong et al, 2007).

2.1.4.11. Nanokablolar

Nanokablolar nanoboyutlardaki silika tellerdir ve bu partiküller insan saçının tek bir telini sarmalayan moleküllerdir (Şekil 2.11). Bunlar, bir virüsten 5 kat daha küçüktür ve örümcek ağından çok daha güçlüdür (Sing, 2008). Nanokablolarla dayanan yapılar, kanserin erken teşhis edilmesi ve tedavisinde çok önemli bir role sahiptir. Bu partiküller yardımı ile ilaçların vücut içerisinde spesifik organlara taşınmaları, tek bir çip içerisinde kanser biyo-göstergeleri gibi çoklu analitlerin tespit edilmelerini sağlar ve biyomoleküler reaksiyonlar üzerinde kinetik çalışmalar yapılmasına imkan tanır (Zheng et al, 2006). Proteinler ile kaplanmış nanokablolar prostat kanseri, meme kanseri ve yumurtalık kanseri gibi kanserlerin görüntülenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

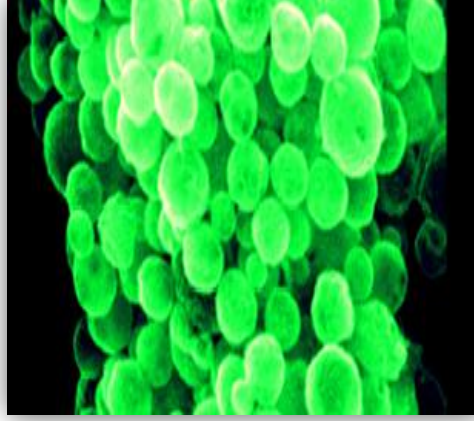


Şekil 2.11. Metal yüzeyindeki nanokabloların SEM görüntüsü
(<http://ucsdnews.ucsd.edu>)

2.1.4.12. Manyetik Nanopartiküller

Manyetik nanopartiküller, kanserli hücreleri hedefleme özelliğine sahiptir ve kanser tedavilerinden en çok kullanılan sistemlerden biridir (Şekil 2.12). Manyetik nanopartiküllerin manyetik etkisi Fe_2O_3 ve Fe_3O_4 gibi süper paramanyetik demir oksitlerden kaynaklanmaktadır. Bu bileşikler manyetik alandan uzaklaştırıldıkları zaman manyetik özelliklerini koruyamazlar. Manyetik nanopartiküllerin paramanyetik özellikleri *in vivo* koşullarda, tümörleri hipotermi yolu ile yok etmelerine olanak tanır.

Manyetik nanopartiküllerin yüzeylerindeki polimer kaplı tabaka bu moleküllerin sitotoksisiteye sahip olmalarını önler ve herhangi bir adezyon reaksiyonu gerçekleşmeden organizma içerisinde rahat bir şekilde hareket etmelerini sağlar (Moffat et al, 2001).



Şekil 2.12. Manyetik ZnO nanopartiküllerin SEM görüntüsü
(<http://labs.cas.usf.edu/>)

2.2. Nanopolimerlerin Karakterizasyonunda Kullanılan Metodlar

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

Taramalı elektron mikroskopu (SEM), numune yüzeyini yüksek enerjili elektronlar ile tarayarak numunenin görüntülenmesini sağlayan bir elektron mikroskobudur (Şekil 2.13). SEM, ışık dalgaları yerine elektronları kullanarak büyütülmüş görüntüler meydana getirirken, konvansiyonel ışık mikroskopları büyütülmüş görüntüleri oluşturmak için cam lensler kullanır (<http://www.purdue.edu/rem/rs/sem.htm>).

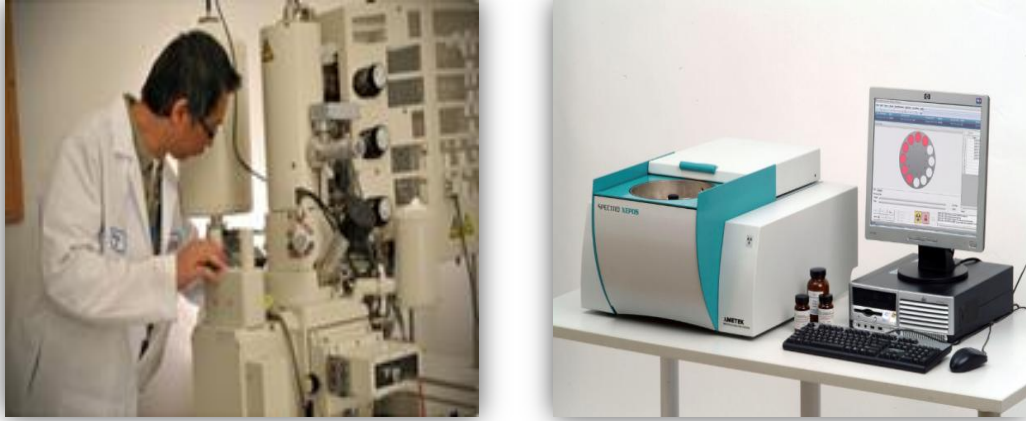


Şekil 2.13. Taramalı elektron mikroskopu (SEM) sistemi ve sistemin iç yapısı
(<http://caf.ua.edu>, <http://wsm.wsu.edu>)

SEM'in çalışma prensibi özetlenecek olursa; sistem içerisinde elektron akımı numune yüzeyine çarptığında ve numune atomları ile etkileşime girdiğinde, numunenin yüzey topografyası ve içeriğine ilişkin bilgileri yapılarında barındıran, ikincil elektronlardan gelen sinyaller, geri saçılan elektronlar ve karakteristik x-ışınları meydana gelir. SEM, numune yüzeyinin çok yüksek çözünürlükteki görüntülerinin elde edilebilmesine imkan tanır ve primer algılama modunda, başka bir ifade ile ikincil elektron görüntüleme modunda, numunenin 1-5 nm aralığında değişen görüntüleri bu metod kullanılarak kolaylıkla elde edilebilir (Joshi et al, 2008). Karakteristik x-ışınları, SEM için en yaygın olarak kullanılan ikinci görüntüleme modudur. Bu karakteristik x-ışınları, enerji ayırmalı x-ışınları (EDX) olarak bilinen bir metod kullanılarak numunenin elementel bileşiminin ortaya çıkarılmasını sağlar. Numuneden gelen geri saçılmış elektronlar da numunenin görüntüsünün oluşturulmasında kullanılabilir. Geri saçılmış elektronlar tarafından sağlanan görüntüler genellikle numunenin elementel bileşimi hakkında ipuçları veren, karakteristik x-ışınları kullanılarak oluşturulan spektrum ile birlikte analitik SEM uygulamalarında kullanılır. Tipik bir SEM sisteminde akım elektron kolonu içerisinde tarayıcı bobinlerden veya yansıtıcı tabakalardan geçerek, akımı dikey veya yatay olarak yansıtan ve böylelikle sistemin numune yüzeyini dikdörtgensel bir alan içerisinde taramasını sağlayan final lensine doğru hareket eder. Elektronik cihazlar sinyalleri algılamak, çoğaltmak ve bu sinyalleri katod ışın tübü üzerinde bir görüntüye dönüştürmek için kullanılırlar. Bu nedenle yayınlanan görüntü numunenin taranan bölgesinden yayımlanan sinyal şiddetlerinin bir dağılım haritası biçiminde algılanır.

2.2.2. Enerji Ayırmalı X-ışınları Spektroskopisi (EDX)

EDX analizi, yüzeye yakın elementleri analiz etmek ve bu elementlerin farklı pozisyonlardaki bileşimlerini belirlemek ve dolayısıyla numunenin bileşimini ortaya çıkarmak için yapılan bir analiz metodudur. Bu metod genellikle SEM analizi ile beraber uygulanır. EDX'de bir elektron huzmesi iletken özellikteki numunenin yüzeyine çarpar (Joshi et al, 2008). Bu huzmenin enerjisi çoğu zaman 10-20 keV aralığındadır. Bu olay x-ışınlarının materyalden yayılımını sağlar. Yayımlanan x-ışınlarının enerjisi, çalışılan materyalin özelliğine bağlı olarak değişir. X-ışınları genellikle yaklaşık 2 mikron derinliğindeki bir bölgede meydana gelirler ve bu nedenle EDX yüzey analizleri için pek kullanılmayan bir metoddur. Bu analiz tekniğinde, elektron huzmesinin analiz edilecek numune üzerine hareket ettirilmesi ile birlikte, numune içerisindeki her elementin görüntüsü kolaylıkla elde edilebilmektedir. Düşük x-ışınlarının şiddetine bağlı olarak, görüntülerin alınması genellikle birkaç saati bulabilmektedir. Şekil 2.14'de Enerji Ayırmalı X-ışınları Spektroskopi sistemi görülmektedir.



Şekil 2.14. Enerji ayırmalı x-ışınları spektroskopisi (EDX) sistemi
(<http://www.eaglabs.com>, <http://www.directindustry.com>)

2.2.3. Atomik Güç Mikroskopisi (AFM)

Atomik Güç Mikroskobu, nanoboyutlardaki yüzeylerin pürüzlülüğünün kantitatif olarak ölçülmesi ve polimer nanokompozitler ile nano-özellikteki tekstil ürünlerini de içeren maddelerin yüzeylerinin analiz edilmesi için kullanılan metodlardan biridir. AFM'nin bu tür uygulamalarda sağladığı avantaj, esasen maddenin analizi gerçekleşirken AFM'nin maddenin yapısına zarar vermemesinden kaynaklanır. AFM'nin en önemli özelliklerinden biri de çok yüksek 3-boyutlu uzaysal çözünürlüğe sahip olmasıdır.

AFM'nin temel prensibi ve uygulamaları, bu konu üzerinde yapılan çok önemli çalışmalara konu olmuştur (Meyer, 1992; Hoh et al, 1993; Rynders et al, 1995). AFM'de bir konsol krişinin sonunda bulunan, sivri bir uç kısımdan oluşan sonda, pizoelektrik tarayıcılar yardımı ile hücresel olarak taranır. Sivri kısımda numunenin etkileşimi ile meydana gelen değişiklikler genellikle bir lazerin hassas bir fotodiyot üzerine yansıtıldığı optik bir kaldıraç algılama sistemi ile izlenir. Tarama esnasında, sabit bir seviyede belirli bir işlem parametresi elde edilir ve optik algılama sistemi ve pizoelektrik tarayıcılar arasında bulunan geri-bildirim döngüsü görüntülerin oluşturulmasını sağlar. AFM için kullanılan üç adet tarama modu vardır. Bunlar; temas modu, temassızlık modu ve tıklatma modudur. Şekil 2.15'de atomik güç mikroskobu görülmektedir.

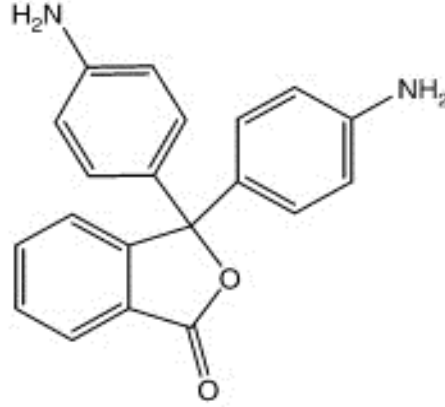


Şekil 2.15. Atomik güç mikroskobu (AFM)
(<http://www.wifinotes.com>, <http://www.cnst.nist.gov>)

2.3. Anilinfalein (APH)

Anilinfalein [3,3-bis(4-aminofenil)-1(3H)-izobenzofuranon] literatürde daha çok poliimid sentezinde kullanılan bir monomer olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu şekilde sentezlenen APH temelli poliimidlerin termal kararlılığı ve oluşum kinetiğine ilişkin yayınlar literatürde mevcuttur. Bir ftaletin türevi olan radyoaktif iyod-131 ile işaretli APH'nin bu molekülün analoğu olan iyod-131 ile işaretli fenolftalein ile metabolik olarak karşılaştırılmasına yönelik Avcıbaşı ve arkadaşları tarafından yapılan çalışma APH'nin radyofarmasötik olarak kullanılabilme potansiyelini ilk defa ortaya çıkarması açısından oldukça önemlidir (Avcıbaşı et al, 2008).

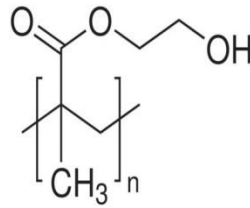
İn vivo olarak yapılan bu çalışmalar neticesinde ilgili molekülün özellikle mesanede ve barsaklarda çok iyi birikim yaptığı tespit edilmiş ve bu moleküle ait hücre çalışmalarının yapılmasıyla APH'nin kanser tedavisinde uygun bir prodrug olarak tasarlanmasının mümkün olabileceği sonucuna varılmıştır. Buradan hareketle APH'nin tedavide çok daha etkili bir prodrug olarak dizaynına yönelik yepyeni bir planlama yapılmış ve bu bağlamda komonomer olarak APH, biyoyumlu bir monomer olduğu bilinen 2-hidroksietilmetakrilat (HEMA) ile Fe_3O_4 varlığında polimerleştirilerek manyetik özellikte yeni nesil mag-poli(HEMA-APH) nanopartiküllerinin sentezlenmesi ve bu yapının *in vivo* etkinliğinin incelenmesine yönelik bir çalışma planlanmıştır. APH'nin kimyasal yapısı Şekil 2.16'de verilmiştir.



Şekil 2.16. Anilinfalein'in kimyasal yapısı (Avcıbaşı, 2008)

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

Poli(HEMA) bir hidrojel polimeridir (Şekil 2.17). Hidrojel polimerleri, perfüzyon sistemlerinin kullanımından kaynaklanan masraflar ve komplikasyonlar olmaksızın bu sistemler ile benzer sonuçları elde edebilen, umut vaad eden alternatifler sunmaktadır. Hidrojeller, suda şişen çapraz bağlı polimerik yapılardır. Perfüzyonun aksine hidrojeller suda çözünebilen ajanları absorbe ederek, hedef dokuda pasif difüzyon olayının gerçekleşebilmesi için bir iç ilaç rezervi olarak hareket ederler. Poli(HEMA), suyun %40 oranında olduğu bir ortamda tamamen şişirildiğinde, canlı dokuya benzer su içeriğine ve yoğunluğa sahip olma özelliğinden ötürü ilacın taşınımı için son derece umut verici bir moleküldür (Ratner et al, 1996).



Şekil 2.17. Poli(HEMA)'nın kimyasal yapısı
(www.sigmaaldrich.com)

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

2.5. Kalite-Kontrol Çalışmalarında Kullanılan Metotlar

2.5.1. İnce Tabaka Radyokromatografisi Hakkında Genel Bilgiler

İnce tabaka radyokromatografisi, kimyasal, biyokimyasal, farmasötik ve tıbbi numunelerde işaretli bileşiklerin ayırımı, kalitatif ve kantitatif analizinin yapılabilmesi için ince tabaka kromatografisi (TLC) ve yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi (HPTLC)'nin kullanılması prensibine dayanır. TLRC için klasik algılama yöntemleri otoradyografi ve sıvı sintilasyon sayım metodudur (aynı zamanda bölgesel analiz olarak da nitelendirilir). Oto-radyografide, ayrılmış radyoaktif bölgeleri (nokta veya bandları) içeren tabaka direkt olarak kromatogram görüntülerini gösteren bir fotografik film (x-ışınları filmi) içerisine konulur. Kromatogramların kalitatif olarak değerlendirilmeleri farklı optik yoğunluklara sahip, kararmış bölgeler biçiminde görülen radyoaktivite bölgelerini tespit etmek amacıyla, filmin görsel olarak incelenmesiyle gerçekleştirilir. Optik yoğunluk, bölgedeki radyoaktivitenin miktarı ile ilişkilidir, bu yüzden sayım, radyoaktif standartlara maruz bırakılarak oluşturulmuş bir kalibrasyon eğrisi kullanılarak, dansitometre kullanılarak yapılır (Sherma et al, 2009).

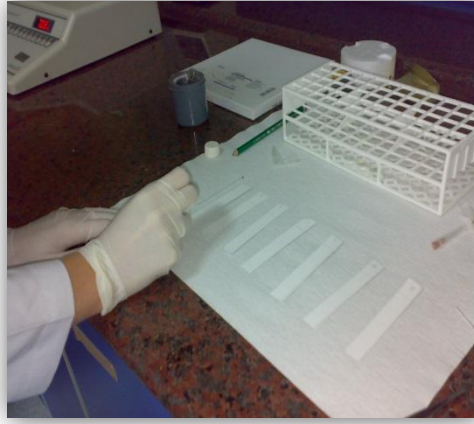
2.5.2. İnce Tabaka Kromatografisinin Temel Prensipleri

İnce tabaka kromatografisinin temel amacı karışımları oluşturan bileşenleri ayırmaktır. Ayırımın yapıldığı ortamın analizinde uygulandığından, numune kimyasal bileşiklerin bir karışımı durumundadır. Ayrılma bölgelerinin yeri ve sayısından yola çıkılarak, numunenin kromatogramı karakterize edilebilir. Numune kromatogramlarının bilinen referans materyallerin kromatogramları ile karşılaştırılması ile numunenin karakterize edilmesi sağlanır. Kromatogramdaki bileşenlerin ilerleme mesafeleri R_f değeri (alınma faktörü) denilen basit bir parametre ile belirlenir. Bu değer bileşenin ilerlediği yolun hareketli fazın ilerlediği yola oranı ile bulunur (Sherma, 1991). R_f değerinin matematiksel olarak ifadesi aşağıdaki eşitlikte verilmiştir.

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

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

Sürüklenme kuvveti, bileşenleri hareketli faz yönünde ilerletme eğilimi gösterir ve direnç kuvvetleri, bu bileşenleri hareketli faz akımı dışarısına iterek durdurma eğilimi gösterir. Bunun yanında direnç kuvvetleri, adsorbsiyon yolu ile bileşenleri sabit faz üzerinde tutmaya çalışır. Bu nedenle her bir molekül sorbent yüzeyi üzerinde “dur ve hareket et” gibi farklı yollar izler. Yürüme olayının sonunda her bileşenin oluşturduğu spot noktası belirli bir mesafeye kadar ilerlemiştir. Sorbent tabakasına daha güçlü bir biçimde bağlanmış olan bileşenler daha kısa bir mesafede ilerleme kaydederler, bunun yanında hareketli faz içerisinde çözünebilen bileşenler uygulama noktasından çok daha uzak bölgelere kadar ilerleyebilirler. Spot noktaları belirli moleküllerin hareketlerindeki dalgalanmalara bağlı olarak daha büyük bir hale gelebilirler (Fried et al, 1986). İnce tabaka kromatografisinin uygulanışı Şeki 2.18’de gösterilmiştir.



Şekil 2.18. İnce tabaka kromatografisinin uygulanışı

2.5.3. Fosfor Görüntüleme Teknolojisi

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

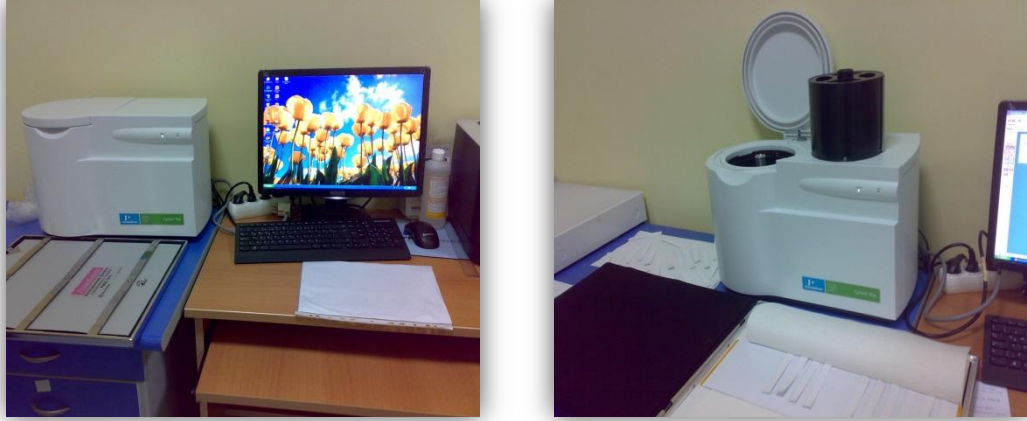
Lüminesans, okuyucu cihaz içerisinde bir lazer yardımı ile ölçülür ve sayım, fosfor tabaka türü ile uygulama süresinin meydana getirdiği etkileri saf dışı edebilmek için bir kalibrasyon eğrisi yardımı ile alınır. Tabakalar UV ışığına maruz bırakıldıktan sonra yeniden kullanılabilirler. Fosfor tabakanın formülasyonu, algılama işleminin kimyası, tarama mekanizması ve görüntülerin değerlendirilmeleri için kullanılan yazılım her marka için farklılık gösterebilir (Sherma et al, 2009).

2.5.4.Cyclone Plus Fosfor Görüntüleme Sistemi Hakkında Genel Bilgiler

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

Fosfor ekranları 12.5x19.2, 12.5x25.2 veya 12.5x43.0 cm boyutlarında olabilir. Bu ekranlar özelliklerine göre çoklu-hassas (multisensitive-genel amaçlı kullanımlarda), süper çözünürlüklü (en kaliteli fosfor partiküllerden oluşan), trityum-hassas (^3H izotopuna hassas) gibi türlere ayrılır. Cyclone plus ile gerçekleştirilen spesifik TLRC uygulamaları genellikle ^3H , ^{125}I , ^{14}C , ^{32}P , ^{33}P , ^{18}F , ^{90}Y , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{111}In ve ^{177}Lu elementleri kullanılarak yapılır.

Bu çalışmalar genel hatları ile; ^{32}P ve ^{32}P ile işaretli adenosin trifosfat (ATP) veya guanosin trifosfat (GTP) ile gerçekleştirilen nükleotid metabolizma çalışmaları, ^{14}C -üridin-5'-difosfo-glukuronik asit (UDPGA)'nin glukuronidasyon ölçümleri, ^{177}Lu ve ^{90}Y -DOTA-D-fenilalanin(1)- tirozin(3)-oktreotidin kalite kontrolü, pozitron emisyon tomografisi (PET) için ^{18}F silika jel ince tabaka çalışmaları, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ elementinin kalite kontrolü ve ^{90}Y ile işaretli Zevalinin radyokimyasal saflık çalışmalarıdır (Sherma et al, 2009). Cyclone plus fosfor görüntüleme sistemi Şekil 2.19'da verilmiştir.

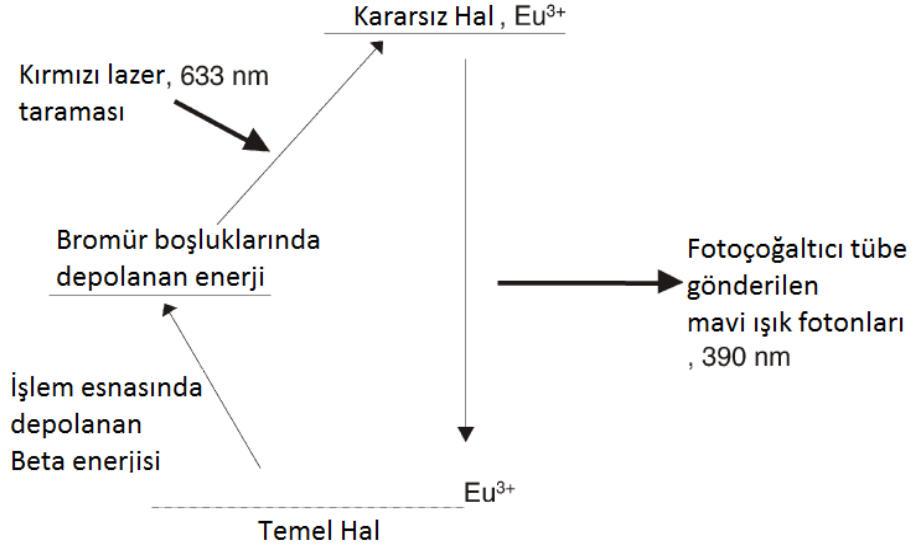


Şekil 2.19. Cyclone plus fosfor görüntüleme sistemi

2.5.5. Cyclone Plus Fosfor Görüntüleme Sisteminin Çalışma Prensipleri

Cyclone plus cihazı, spesifik radyonüklidlerle işaretlenen substratların kalite-kontrolünün gerçekleştirilebilmesi için ince tabaka radyokromatografi yöntemini kullanır. Bu sistem, foto-uyarılmış lüminesans olayı vasıtası ile 2 boyutlu radyoaktif TLRC bölgelerinin analiz edilebilmesi için bir tarayıcı ile birlikte özel bir fosfor görüntüleme ekranından faydalanır. Cihaz içerisinde boyut sırasına göre 5 kata kadar çıkabilen eş-odaklı bir lazer ve ışık toplayıcı optik tabakalar bulunur ve sistemde bulunan bu kısımlar 25 μm boyutlarında pikseller oluşturur. 20x20 cm^2 'lik TLRC tabakalar kullanılarak alınan kromatogramlardan alınan görüntüler ile 20x25 cm^2 'lik bir fosfor ekran 5 dk'lık süre içerisinde 50 μm 'lik mesafeden okunabilir. Ölçüm limiti ^{32}P için 0.11 dpm/ mm^2 /saat'tir. X-ışınları filmleri ile kıyaslandığında, hassasiyet 100 kat daha yüksektir, yapılan işlem 10-100 kat daha hızlıdır ve kantitatif doğruluk çok daha yüksek değerlerdedir.

Sistemde kullanılan fosfor görüntüleme ekranı, eser miktarlarda iki değerlikli Europium (Eu) içeren, 5 μm boyutundaki baryum florobromür kristallarından meydana gelmiştir. İki değerlikli Europium (BaFBr:Eu^{+2}), poliesterden yapılmış destek filmi üzerine kaplanmış bir biyolüminesans merkezi olarak görev yapar. Kristal, radyoışaretle bölgeye maruz bırakıldığında radyoizotopun enerjisi Eu^{+2} 'yi Eu^{+3} 'e yükseltir ve bu yolla elektronlar fosfor kristallerinin iletim bandına doğru sürüklenir (Sherma et al, 2009). Elektronlar sayım işlemi sırasında bromür boşlukları arasında hapsedilir. Radyoaktiviteye maruz bırakılan fosfor görüntüleme ekranı okuyucu cihaz içerisinde hareket halinde iken 633 nm dalga boyundaki kırmızı lazer ışını ile taranır. 390 nm dalga boyundaki mavi lazer ışınından fotonlar biçiminde salınan foto-uyarılmış lüminesans, ışın tutucu bir cihaz yardımı ile foto-çoğaltıcı bir tüp üzerinde toplanır ve elektrik sinyallerine dönüştürülür. Bu prosesin şematik olarak gösterimi Şekil 2.20'de verilmiştir.



Şekil 2.20. Cyclone plus fosfor görüntüleme sisteminin çalışma prensibinin şematik gösterimi

2.6. Lipofilite Kavramı

Lipofilite diğer bir adı ile ayrılma katsayısı P , iyonize olmayan bir bileşiğin su veya su ile karışmayan türdeki bir yağ çözgünde içerisindeki (genellikle oktanol) bağlı geçirgenliğini ifade eden bir parametredir. Yağ fazı modeli için oktanol seçilmiştir çünkü bu molekül biyolojik membranların özelliklerine en yakın olan kimyasal çözgendir. P (veya $\log P$) değerinin yani lipofilitenin tayini, ayırma hunisi kullanılarak her hangi bir ilacın birbiri ile karışmayan iki çözgenin içerisinde karıştırılması esasına dayanır (<http://myweb.brooklyn.liu.edu/msavva>).

Çözünen madde molekülleri, kimyasal denge sağlanana dek her iki faz içerisinde yayılır. İki konsantrasyonun oranı dağılma sabiti veya ayrılma sabiti olan P 'dir. P değerleri ilaçların biyolojik ortamlarda kullanılmaları ve farmakolojik etkinliklerinin geliştirilmesi için çok önemlidir.

Oktanol ve suyun ayrılmasına ilişkin kapsamlı veriler yıllardan beri kullanılmaktadır. P değeri sayısal olarak 1'den küçük ise, bu ilacın yağ membranlarından geçebileceğini gösterir. İyonlaşabilen çözünen maddelerin lipofilitelerinin ölçülebilmesi için ölçüm alınmak istenen bileşik iyonize olmayacak bir türe dönüştürecek şekilde, sulu fazın pH'ı ayarlanır.

Çözelti içerisinde bulunan, iyonize olmayan çözünen madde konsantrasyonlarının logaritması logP olarak ifade edilir. LogP, lipofilitenin ölçüsüdür. Lipofilitte, aşağıdaki eşitlikte verildiği gibi ifade edilir (http://en.wikipedia.org/wiki/Partition_coefficient).

$$\log P_{\text{oktanol/su}} = \log \left(\frac{C_{\text{oktanol}}}{C_{\text{deiyonize su}}} \right)$$

2.7. Radyofarmasötik Kavramı

Radyofarmasötikler insanlarda teşhis ve tedavi amacıyla kullanılan ve yapısında radyonüklid içeren ilaçlardır (Attix, 1987; Heller et al, 1987). Bir radyofarmasötik, radyoaktif element (^{133}Xe), radyoizotop tuzu (Barber et al, 1986; Alazakri et al, 1991; Aşıkoğlu ve diğerleri, 2004) veya işaretlenmiş bileşik şeklinde olabilir (Barret et al, 1995). İşaretlenmiş bileşik şeklindeki bir radyofarmasötik, radyonüklid ve biyoaktif bileşen olmak üzere 2 birimden oluşur. Hazırlanması için, bir organda lokalize olan veya organın fizyolojik fonksiyonuna katılan güvenilir ve toksik olmayan biyoaktif bileşen seçilir (Bayhan ve diğerleri, 1997). Yayınladığı radyasyondan yararlanılarak vücut dışında izlenebilen (tanı) veya vücut içinde bulunduğu dokuyu tahrip eden (tedavi) uygun bir radyonüklid, bu seçilen biyoaktif bileşene bağlanır. Bu işleme işaretleme denir (Barber et al, 1986; Berkem, 1992). Radyofarmasötikler vücuda genellikle parenteral (ilacın damar yolu veya adele içinden vücuda verilmesi), oral (ilacın ağızdan vücuda verilmesi) veya inhalasyon (ilacın solunum sistemi yoluyla vücuda verilmesi) yolu ile verilir. Şekil 2.21’de radyofarmasötiklerin hazırlanışı görülmektedir.



Şekil 2.21. Radyofarmasötiklerin hazırlanışı

Oral yoldan kullanılan bir radyofarmasötik, çözelti (sulu, sulu-alkollü, yağlı), kapsül veya süspansiyon şeklinde olabilir. Parenteral yollar içinde en yaygın kullanılan intravenöz (iv) enjeksiyondur (Boyd et al, 1974; Aşıkoğlu ve diğerleri, 2004). Radyofarmasötiklerin büyük çoğunluğu liyofilize kitler halinde bulunurlar (Barber et al, 1986). Radyofarmasötik ilacın hastaya verilmesinden sonra, radyonüklidden yayılan radyasyon dedektörlerle belirlenir ve bilgisayar yardımı ile görüntüye dönüştürülür. Bu işlem gama kameralar ile yapılır (Aşıkoğlu ve diğerleri, 2004). Radyonüklidin organizmadaki dağılımının görüntülenmesi ile anatomik, zamana göre değişimlerinin saptanması ile de fizyolojik bilgiler elde edilir (Boyd et al, 1974). Tanı amacıyla kullanılacak olan radyofarmasötik ilaçların incelenmesi, istenilen hastalık hakkında en iyi niteliklerde bilgiyi sağlayacak ve insan sağlığına en az zarar verecek şekilde geliştirilmesi ve hazırlanması gerekir (Bayhan ve diğerleri, 1997). Radyofarmasötikler eser miktarda kullanıldıkları için farmakolojik etkiye sahip değildirler. Herhangi bir doz-cevap ilişkisi göstermez ve bu şekilde konvansiyel ilaçlardan ayrılırlar (Aşıkoğlu ve diğerleri, 2004).

2.8. Radyoaktif İyod İzotopları

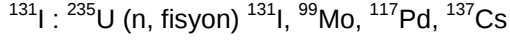
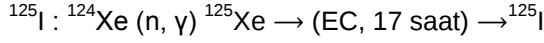
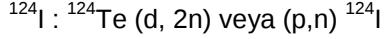
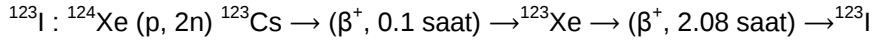
Çekirdek kartları iyodun 33 radyoaktif türünün olduğunu göstermektedir (Pfenning et al, 2006). Bu izotopların dört tanesi; ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I ve ^{131}I bilimsel alanda görüntüleme ve tedavi çalışmaları ile *in vitro* çalışmalarda kullanılmaktadır. Buna ilaveten, $^{120\text{m}1}\text{I}$, $^{120\text{m}2}\text{I}$ ve ^{121}I izotopları pozitron emisyonu yapan önemli izotoplar olarak kabul edilmektedir. Dört adet iyod izotopu siklotronda veya nükleer reaktörlerde üretilir. Nükleer tıpta en çok kullanılan radyoiod izotopları hakkında bilgiler Çizelge 2.1'de ve bu izotopların ticari olarak üretiminde kullanılan nükleer reaksiyonlar da aşağıda verilmiştir.

Çizelge 2.1. Nükleer tıpta en çok kullanılan radyoaktif iyod izotopları hakkında bilgiler

İZOTOP	ÜRETİM YÖNTEMİ	BOZUNMA TÜRLERİ	YARI ÖMÜR	(E_γ/E_β) ^a	SPESİFİK AKTİVİTE ^b	UYGULAMA ALANI
^{123}I	Siklotron	Elektron Yakalama	13.2 saat	159/-	>600	Görüntüleme
^{124}I	Siklotron	Elektron Yakalama/ β^+	4.18 gün	603/1.530	>30	Görüntüleme
^{125}I	Nükleer Reaktör	Elektron Yakalama	59.4 gün	35/-	>90	<i>In vitro</i> çalışmalar ve tedavi
^{131}I	Nükleer Reaktör	β^-	8.04 gün	364/606	110	<i>In vitro</i> çalışmalar ve tedavi

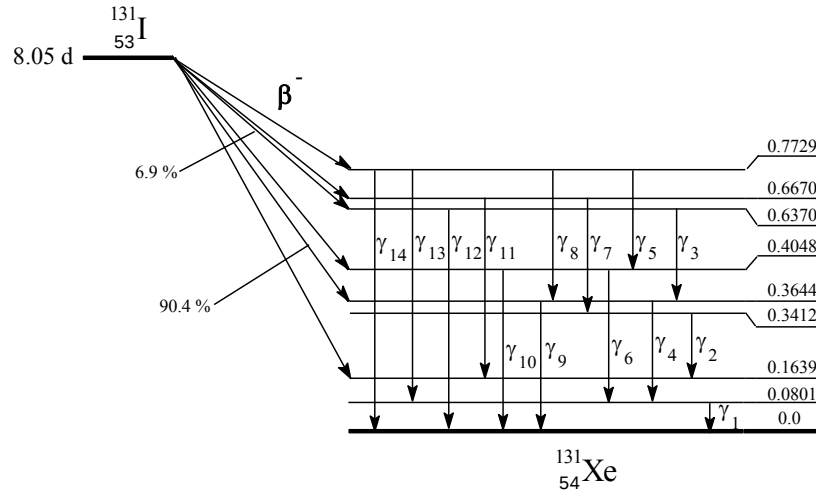
^akeV/keV (Eisenhut et al, 2011)

^bGBq μmol^{-1} teslim süresinde, teorik spesifik aktiviteler GBq μmol^{-1} biçiminde



2.8.1. İyod-131 (^{131}I)

Fosfor-32'ye göre daha karmaşık bozunum şeması vardır. ^{131}I beta bozunmasıyla stabil ^{131}Xe 'ye dönüşür (Şekil 2.22). Bozunma sırasında multienerjitik gama ve beta ışınları salınımı olur. Bozunum şeması incelendiğine 6 farklı enerjide beta ışını, 14 farklı enerjide gama ışınları yayını olduğu görülür. Beta partiküllerinin en yüksek verimli olanı %89 verimle 606 keV enerjili olanlardır. Diğer farklı enerjilerdeki beta ışınlarının salınım verimleri küçüktür. Gama emisyonları arasında en yüksek verimli olanlar %90.4 verimle 364 keV enerjili olanlardır (Hayrat, 2007).



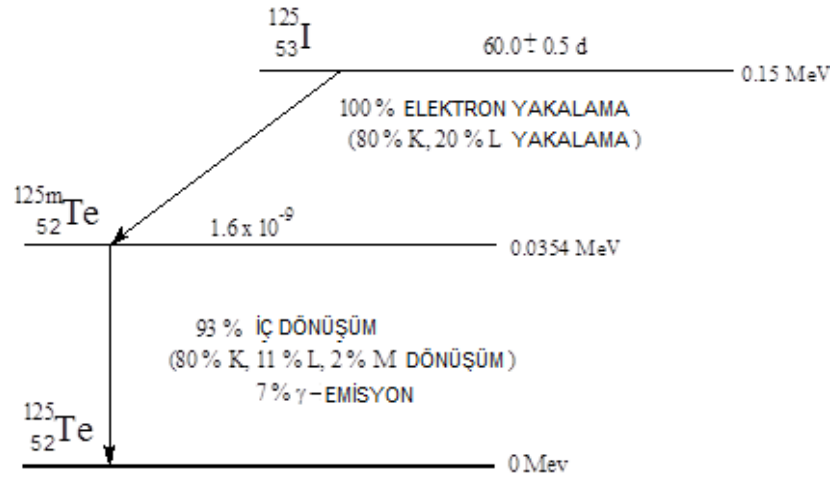
Şekil 2.22. ^{131}I bozunma şeması (Avcıbaşı, 2004)

2.8.2. İyod-125 (^{125}I)

Elektron yakalama (EC) ile bozunur. Bozunum şeması nispeten basittir. ^{125}I 'un bozunması ile eksite haldeki ^{125}Te 'ye dönüşür (Şekil 2.23). Bu da eksitasyon enerjisini gama fotonu salınımı yaparak atar ve stabil ^{125}Te 'ye dönüşür. Bozunum şeması incelendiğinde ana nüklitten kız nüklide doğru bozunum çizgisinin sola yöneldiği görülür. Ayrıca EC olayının özelliğinden dolayı kız nüklidin atom numarasının, ana nüklidin atom numarası 33'den az olduğu görülür. ^{125}I 'in fiziksel yarılanma süresi 60.2 gündür. ^{125}I 'in bozunmasıyla salınan gama ışınlarının enerjisi 35 keV'tur.

Elektron yakalama olayında çekirdek kendine yakın olan K veya L tabakalarından birinden bir elektron yakaladığında daha üst yörüngelerden elektronlar koparak alt yörüngelerdeki boşlukları doldurur. Bu sırada üst yörüngelerden gelen elektronların kinetik enerjilerinin fazla olması nedeniyle dışarıya x-ışınları salınımı olur.

Yörüngeler arasındaki farklı enerjilerde oluşan x-ışınları ile ilgili bilgiler bozunum şemasının çıkış bilgilerinde verilmiştir. ^{125}I için ilginç bir durum daha vardır. O da iç dönüşüm olayıdır. EC olayının tipik özelliğinden dolayı çıkış bilgileri incelendiğinde, enerjileri 35 keV'a yakın birkaç x-ışını görülmektedir. Bu ışınlardan dolayı rutin nükleer tıp çalışmalarında, 50-60 keV civarında ikinci bir enerji piki görünebilir. Fakat bu piki oluşturan x-ışınlarının verimi çok düşük olduğundan rutin çalışmaları anlamlı derecede etkilemediği kabul edilir.



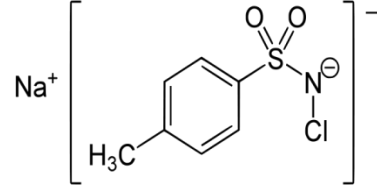
Şekil 2.23. ^{125}I bozunma şeması (Avcıbaşı, 2004)

2.9. Makromoleküllerin Radyoiyodinasyonunda Kullanılan Metodlar

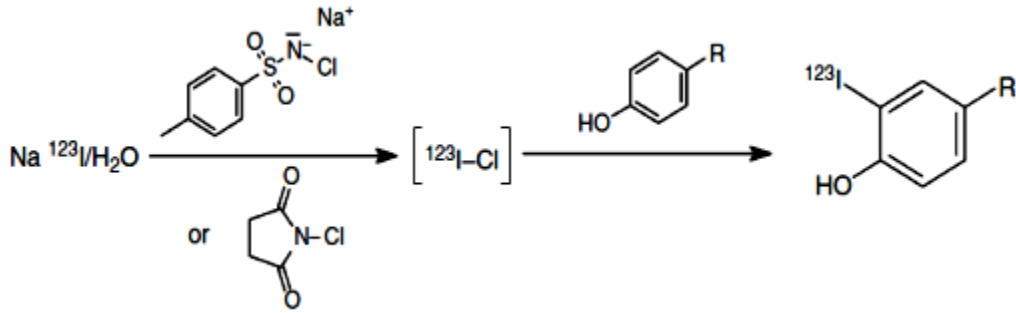
2.9.1. Kloramin-T Metodu

N-kloro-*p*-toluensülfonamid'in sodyum tuzu olan Kloramin-T güçlü yükseltgeyici özelliklere sahip, suda çözünen bir ajandır. pH 7 ile 8 arasında, Kloramin-T hidrolize olur ve radyoiyodür ile reaksiyona girdiğinde ICl grubunu oluşturan, etkili bir yükseltgeyici ajan olan hipokloritin (ClO^-) salınımını sağlar. ICl hızlı bir biçimde hedef molekülün tirozin grupları ile elektrofilik sübstitüsyon reaksiyonu verir. Bu reaksiyon çok hızlıdır ve birkaç saniye içerisinde sona erer. Radyoiyodun proteinlere ılımlı koşullarda bağlanabilmesi için optimum koşullar 4°C, 6 ile 8 aralığında değişen pH ve 1 dk'dan daha kısa bir zaman aralığında seyreden reaksiyon süresidir. Kloramin-T peptidlerin ve proteinlerin işaretlenmesinde en yaygın olarak kullanılan ajandır (Eisenhut et al, 2011).

İodojen ve iodobeadler kullanılarak proteinlerin yüzeylerinde bulunan tirozin gruplarının işaretlenmesi mümkün değildir. Bu nedenle, antikor gibi moleküllere bağlanan iyod'un miktarı Kloramin-T'den daha yüksektir. %90'lara kadar varan verimler, yüksek spesifik aktivite ile elde edilebilir. Kloramin-T, karanlık ortamda muhafaza edilmelidir. Çünkü, bu molekül ışığa maruz bırakıldığında bozunur. Şekil 2.24'de Kloramin-T'nin kimyasal yapısı, Şekil 2.25.'de Kloramin-T molekülü kullanılarak gerçekleştirilen işaretleme reaksiyonu görülmektedir.



Şekil 2.24. Kloramin-T molekülünün kimyasal yapısı
(http://en.wikipedia.org/wiki/Chloramine_T)

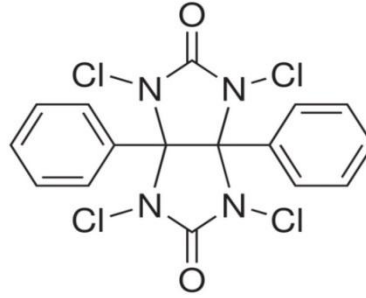


Şekil 2.25. Kloramin-T kullanılarak yapılan işaretleme reaksiyonu
(Eisenhut et al, 2011)

2.9.2. İodojen Metodu

İodojen (1,3,4,6-tetrakloro-3 α ,6 α -digenilglikouril) ilk olarak Fraker ve ekibi tarafından ılımlı yükseltgeyici bir ajan olarak ifade edilmiş ve ortaya çıkarılmıştır. Yapıdaki *N*-kloro bileşiği sulu ortamlarda çözünmemeye özelliğine sahiptir, bu nedenle “katı faz” yükseltgeyici ajan olarak kullanılır. İodojen metodunda, reaksiyon karışımı basit olarak yükseltgeyici maddeden dekantasyonu yolu ile ayrılır. Bu amaçla, bileşik kloroform içerisinde çözülür ve reaksiyon tüpüne alınır.

Daha sonra çözgen madde dikkatli bir biçimde uçurulur ve iodojen yüzeyde kristal biçiminde toplanır. İodojen kaplı tüpler daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere desikatörde saklanabilir. Protein ve radyoiyodür karışımı birkaç dakikalığına reaksiyon tübünde inkübe edilir. Bu kademedan sonra, karışım iyon değıştirici kolona alınır ve bağlanmamış iyod ayrılır. Reaksiyon çok küçük protein bozunması ile beraber gerçekleşir ve bu olay katı fazdaki iodojenin reaksiyonu ile açıklanabilir. İodojenin kimyasal yapısı aşağıda Şekil 2.26'da verilmiştir (Eisenhut et al, 2011).



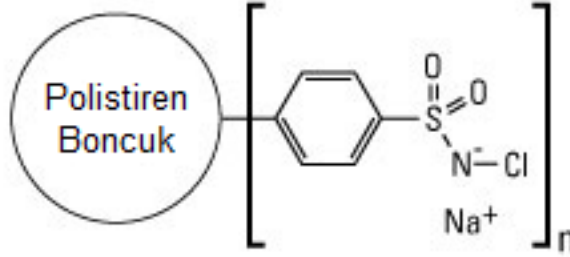
Şekil 2.26. İodojen'in kimyasal yapısı
(www.sigmaaldrich.com)

2.9.3. Iodobead Metodu

Iodobead molekülü, Kloramin-T'nin immobilize bir türüdür (Markwell, 1982). Ticari olarak yaygın olan bu ajan yapısında *N*-klorobenzensülfonamid ile işaretli, hidrofil özelliği kazandırılmış polistiren boncukları içerir (Eisenhut et al, 2011). Boncuklar, radyoiyodür ve proteinlerin bulunduğu karışımı içerisine alındığı zaman işaretleme reaksiyonu başlar. Boncukların cımbız ile veya pastör pipeti ile reaksiyon ortamından uzaklaştırılmaları ile reaksiyon durur. Bu nedenle, reaksiyonu sonlandırmak için reaksiyon ortamına indirgeyici ajan ilave edilmesine gerek yoktur.

Bu metod pH 5.5 ile 8.5 aralığında uygulanır, ancak bu metod için en uygun pH 6.5'dir. Bu koşullar altında, proteinlerin %90'dan daha yüksek bir verimle işaretlendiği durumlarda %99'lara kadar varan çıkabilen radyoiyod bağlanma verimleri elde edilir. Reaksiyon çözünabilir yapıdaki Kloramin-T'ye göre daha ılımlı koşullarda gerçekleşir, çünkü protein ile immobilize durumda olmayan yükseltgeyici ajan arasında daha az etkileşim vardır. Eğer reaksiyon pH 8'in üzerindeki değerlerde gerçekleşirse bu olay histidin gruplarının da ¹³¹I ile işaretleneceği anlamına gelir.

Bu reaksiyonun polimer boncuklarının yüzeyine en yakın mesafede gerçekleştiği düşünülmektedir. Aşağıda Şekil 2.27'de iodobead'in kimyasal yapısı görülmektedir.



Şekil 2.27. Iodobead'in kimyasal yapısı
(<http://www.piercenet.com>)

2.9.4. Laktoperoksidaz Enzimi Metodu

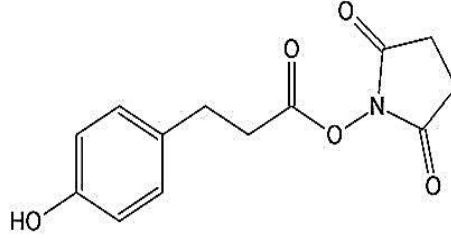
Kloramin-T'nin alternatiflerinin arayışı içerisinde iken Morrison 1980 yılında, büyükbaş hayvanlardan elde edilen sütte bulunan laktoperoksidaz enziminin proteinlerin ^{131}I ile işaretlenmeleri ve iyodürün yükseltgenmesi için çok etkili bir enzim olduğunu ilk defa ortaya çıkardı (Morrison, 1980). Tek sarmalları bir polipeptid olan laktoperoksidaz yaklaşık 78 kD'lik bir moleküler ağırlığa sahiptir. Laktoperoksidaz'ın yapısında, enzimin aktif olan bölgesinde bulunan proteine kovalent olarak bağlı olan prostetik bir HEM grubu bulunur. Ortamda çok düşük miktarlarda hidrojen peroksit bulunduğunda, laktoperoksidaz yükseltgenir ve reaksiyon ortamı içerisinde radyoiyodürü proteinlere bağlar. İyodürün laktoperoksidaz kullanılarak yükseltgenmesi olayında optimum pH aralığı 4 ile 8.5'dir. Ancak, bu aralıkta en iyi sonuç veren pH 5 olarak belirlenmiştir. Bu olay çok ılımlı koşulların oluşumunu sağlar ve proteinlerin bozunma oranları düşüktür. Bu yolla %85'lere kadar çıkan bağlanma verimleri elde edilebilir ve metod proteinlerin ve hormonların işaretlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Eğer söz konusu protein küçük moleküler boyutlara sahip ise, işaretli peroksidazın uzaklaştırılması çok zor bir hal alır. Bu nedenle, laktoperoksidaz metodu yalnızca işaretli laktoperoksidazdan gelen kontaminasyonun işaretli proteini etkilemediği durumlarda kullanılır (Eisenhut et al, 2011).

2.9.5. Heterobifonksiyonel Reaktif Metodu

Heterobifonksiyonel reaktifler, biyolojik fonksiyonları tirozinlerin ^{131}I ile işaretlenmesi sonucunda bozulmamış olan tirozin gruplarını veya peptidleri içermeyen, peptid veya proteinlerin işaretlenmesinde kullanılırlar. Bu reaktifler, genellikle hedef molekülün amin veya tiyol grupları ile reaktivite gösteren, 4-hidroksifenil grupları içeren yapılardan oluşurlar.

Reaktif gruplar tiyollere, diazonyum tuzlarına, tirozine, histidin gruplarına veya yükseltgenmiş glikoproteinlere bağlanabilen süksinimidil veya sülfosüksinimidil esterleri içerirler. Bu heterobifonksiyonel bileşiklerin bir çoğunda radyoyodine en çok hassasiyet gösteren grup fenol türevleridir. Fenolik gruplar *orto*- ve *para*- pozisyonlarından işaretlenirler ve oluşan ürünler genellikle tiroid hormonu tiroksin gibi doğal olarak oluşan iodo tirozinlere benzer yapılardır. Elektrofilik aromatik süstitüsyona ve deiyodinazlara bağlı olarak bu bileşikler *in vivo* koşullarda kararsız yapıdadırlar. Aşağıdaki şekilde heterobifonksiyonel gruplardan biri olan Bolton-Hunter reaktifinin kimyasal yapıları görülmektedir (Eisenhut et al, 2011).

İşaretli Bolton-Hunter reaktifi (3-(4-hidroksi-3-¹²³I]iodo-fenil)-N-süksinimidil-propiyonat), peptidlerin ve proteinlerin işaretlenmeleri için kullanılan heterobifonksiyonel reaktiflerin prototipidir. Yükseltgen ajanların bozucu etkisine karşı hassas olan tirozinlerden yoksun olan proteinler lizin gruplarındaki amid bağları aracılığı ile işaretlenirler. Bolton-Hunter reaktifinin N-terminal amino grupları ile konjugasyonu için gerekli olan optimum koşul, pH 8.5'dur.



Şekil 2.28. Bolton-Hunter reaktifinin kimyasal yapısı
(<http://test.gbiosciences.com>)

3.0. MATERYAL VE METOD

3.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar

3.1.1. Kullanılan Kimyasallar

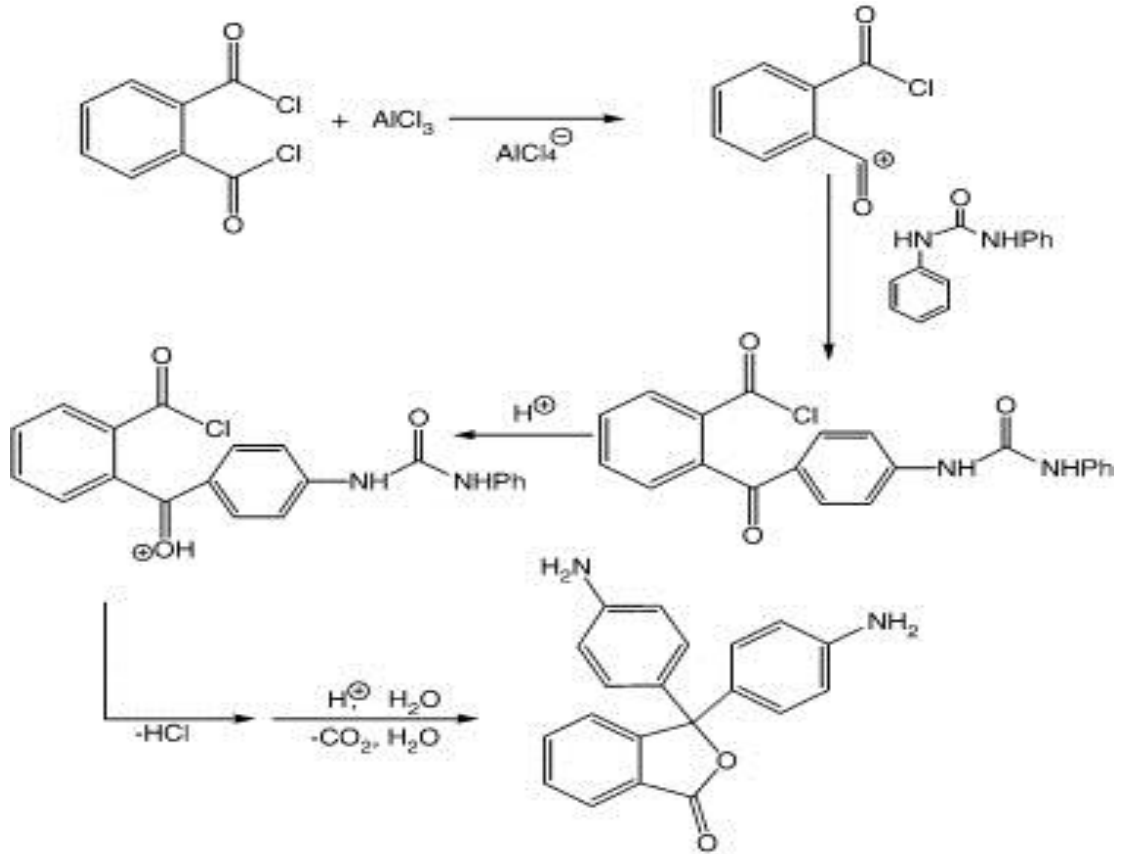
- İyod-131 (Na^{131}I) (Monrol A.Ş, Türkiye)
- Alimünyum Klorür (AlCl_3) (Merck)
- Hidroklorik Asit (HCl) (Merck)
- 2-Hidroksietil Metakrilat (HEMA)
- Nitrobenzen ($\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$)
- Ftalil Klorür (Merck)
- Sülfirik Asit (H_2SO_4) (Merck)
- S-difenilüre (Merck)
- Etilen Glikol dimetakrilat (Merck)
- Amonyum Hidroksit (NH_4OH) (Merck)
- Demir III oksit (Fe_3O_4) (Merck)
- Poli Vinil Alkol (Merck)
- Amonyum Karbonat (Na_2CO_3) (Merck)
- Nitrobenzen (Merck)
- Etil Asetat (Merck)
- Etil Alkol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) (Merck)
- Potasyum per sülfat (Merck)
- Asetik Asit (CH_3COOH) (Merck)
- Etil Eter (Merck)
- N-bütanol ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{OH}$) (Merck)
- Diklorometan (CH_2Cl_2) (Ridde-de-haen)
- İodojen (Fluka)
- pH= 7 Tamponu (Merck)
- n-oktanol (Merck)
- Serum Fizyolojik (SF) (% 0,9 NaCl çözeltisi)
- TLC-SG (Merk-5552)

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

- RAD-501 Cd(Te) Tek Kanallı Gama Sayım Sistemi
- Bench-Top Centrifuge (Nüve) Type= NF 800R
- Hassas Terazi (Denver Instrument TB-224A)
- Nüve Sanayi Malzemeleri İmalat Ve Ticaret A.Ş Water Bath NB5
- TLRC Küvetleri (Sigma)
- GE Infinia Çift başlı Gama Kamera(Hacarmal, Tirat, Israel)
- Cyclone Plus Fosfor Görüntüleme Sistemi (Perkin Elmer)

3.2. Anilinfalein'in (APH) Sentezi ve Karakterizasyonu

APH'nin organik sentez basamakları aşağıda Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Anilinfalein'in sentez basamakları (Avcıbaşı, 2008)

APH, Hubacher tarafından verilen prosedüre göre sentezlenmiştir (Hubacher, 1951). Buna göre; 50 mL nitrobenzen ve 10 g (0.075 mol) $AlCl_3$ cam bir balona konulur. Karışım oda sıcaklığına ($25^{\circ}C$) getirildikten sonra, 4.06 g (0.02 mol) ftalil klorür ve 4.24 g (0.02 mol) s-difenilüre bu çözeltiye ilave edilir. Karışım 2 saat boyunca $80^{\circ}C$ 'ye kadar ısıtılır ve karışımın sıcaklığı 30 dk süreyle $80^{\circ}C$ 'de tutulur. Daha sonra, oluşan kırmızı-kahverengi çözelti buz-HCl karışımının üzerine dökülür ve ortamdaki nitrobenzen su buharı distilasyonu ile uzaklaştırılır.

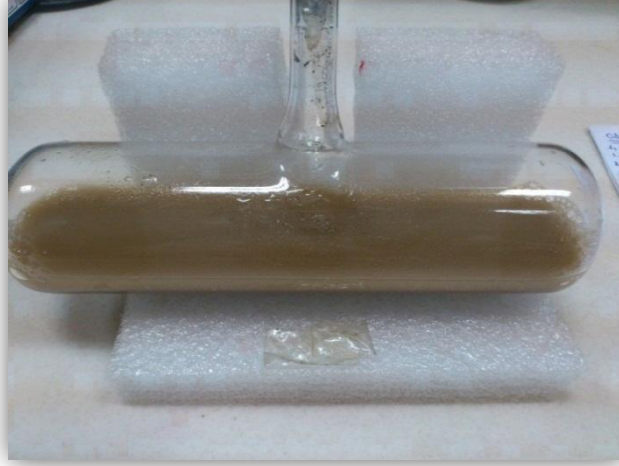
Bu şekilde ham kondensasyon ürünü elde edilmiş olur (yaklaşık 6 g kadar). Bu madde birçok çözgünde çözünmez ve kristal yapısında elde edilemez. Daha sonra, 6 g kondensasyon ürünü, 40 mL asetik asit, 0.5 mL saf su ve 4 mL konsantre H_2SO_4 karışımı dikkatli bir biçimde 4 saat reflux edilir. Karışım oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra, bu çözeltiye 7 g Na_2CO_3 ilave edilir ve asetik asidin fazlası uzaklaştırılır. Yapışkan kalıntı kaynamakta olan 60 mL, 1 N HCl'de çözülür. Daha sonra, 60 mL saf su ilave edilir, $5^{\circ}C$ 'ye soğutulur ve siyah katran biçimindeki madde filtrasyon yöntemi ile uzaklaştırılır. Filtrat'ın NH_4OH çözeltisi ile yıkanmasını takiben, büyük miktarda topak haline gelen ve git gide katılaştıran kirli bir çökelti oluşur. Metanol kullanılarak kristallenen saf APH (3.3 g) %52'lik verim ile elde edilmiştir ve erime noktası yaklaşık $202^{\circ}C$ 'dir. Anilinfalein'in yapı karakterizasyonu FT-IR, 1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik yöntemleri ile gerçekleştirilmiştir. APH molekülünün yapı karakterizasyonu için gerçekleştirilen analizlerin sonuçları Bölüm 4.1'de verilmiştir.

3.3. Manyetik Poli(HEMA-APH) Nanopolimerinin Sentezi ve Karakterizasyonu

Manyetik Poli(HEMA-APH) nanopolimerinin sentezi için literatür verilerinde kullanılan fonksiyonel monomer (APH-Anilinfalein) ve yardımcı monomer (HEMA-2-Hidroksietil Metakrilat) için 1:10 (mol:mol) oranı kullanılarak denemeler gerçekleştirildi. Sürfaktant içermeyen emülsiyon polimerizasyonu (SFEP-Surfactant Free Emulsion Polymerization) ile yapılan sentezde 4.95×10^{-3} mol HEMA, 1.59×10^{-3} mol EGDMA (Etilen Glikol Dimetakrilat), 2.5×10^{-4} mol APH, 100 mg Fe_3O_4 , stabilizör olarak poli vinil alkol (PVA), başlatıcı olarak potasyum persülfat kullanıldı. Çalkalayıcı ve ısıtıcı karıştırıcıda $70^{\circ}C$, 65 rpm karıştırma hızında 24 saat bekletildi. Polimerizasyon sonucu oluşması beklenen süspansiyon gözlemlendi (Şekil 3.2).

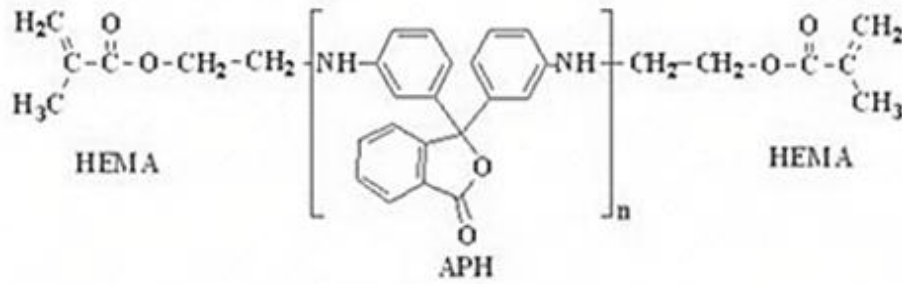
Polimerizasyon tepkimesinden sonra, 5000 rpm'de 10 dk kaba çöktürme ile polimer yapısına girmeyen Fe_3O_4 uzaklaştırıldı. Üst faz alınarak 14500 rpm de 30 dk süre ile çöktürüldü. Alt fazda kalan polimerik yapı sırasıyla distile su ve etanol ile yıkanarak ortamda reaksiyona girmemiş olan maddeler uzaklaştırıldı. Karakterizasyon denemeleri için süspanse haldeki polimerik yapılar bir gece $-20^{\circ}C$ 'de bekletilerek liyofilize edildi. Katı halde elde edilen partiküller, karakterizasyon denemelerinde kullanıldı.

Polimerin yoğunluğunun belirlenmesi amacıyla 1'er mL süspansiyon halindeki polimerden alınan örnekler, daraları alınmış 10 adet eppendorf tüpünün içerisine konularak, kurutuldu. Kurutulan örneklerin kütleleri ölçülerek polimerin yoğunluğu 0.18 mg/mL olarak belirlendi.



Şekil 3.2. APH:HEMA oranı 1:10 alınarak gerçekleşen tepkime sonunda reaktör içindeki nanopolimerin görüntüsü

Polimerin boyutlarının ve boyut dağılımının belirlenmesi için SEM (Scanning Electron Microscope), AFM (Atomic Force Microscope) ve Zeta boyut analizleri yapılırken; yapısının belirlenmesi için EDX ve FT-IR (Fourier Transformation Infrared Spectroscopy) analizleri yapıldı. Manyetik poli(HEMA-APH) nanopolimerinin muhtemel kimyasal yapısı Şekil 3.3'de verilmiştir.



Şekil 3.3. Manyetik Poli(HEMA-APH) nanopolimerinin muhtemel kimyasal yapısı

3.3.1. FT-IR Analizi

Mag-poli(HEMA-APH) nanopolimerinin yapı karakterizasyonunun gerçekleştirilmesi için FT-IR analizi yapılmıştır. İlgili nanopolimerin FT-IR spektrumu, bu spektruma ilişkin sonuçlar ve değerlendirmeler Bölüm 4.2.1'de verilmiştir.

3.3.2. SEM Görüntüleme ve EDX Analizi

SEM görüntüleme için, liyofilize polimer 90 saniye süre ile vakumlu ortamda altın ile kaplandı. Farklı akım ve büyütme oranlarında görüntüleme yapıldı (Şekil 4.6). SEM görüntüleme çalışmaları İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Malzeme Araştırma Merkezinde Philips XL 30 S FEG cihazı ile gerçekleştirildi. Mag-poli(HEMA-APH) nanopolimeri için alınan EDX spektrumu ve SEM görüntüsü Bölüm 4.2.2'de sırası ile Şekil 4.5 ve 4.6'da, EDX spektrumuna ait sonuçlar ise Çizelge 4.1'de verilmiştir.

3.3.3. AFM Analizi

AFM analizi yüzeyi belirli bir enerji ile tarayıp yüzeyin topografisini belirlemeye yöneliktir. SEM analizine göre daha küçük boyutta partikülleri belirlemekle beraber, saçılmadan kaynaklı yarılmaların görünmesi gibi bir durum söz konusu değildir.

AFM analizi için örnekler, nanopolimerin 100 kat seyreltilmesi sonrasında mika zemin üzerine yayılıp 37°C de 1 gece kurutulması ile hazırlandı. Ölçüm, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Malzeme Araştırma Merkezinde bulunan Nanoscope IV cihazında yüzeyin taranmasına dayalı olan Contact Mode ile gerçekleştirildi. Manyetik poli(HEMA-APH) nanopolimerinin AFM görüntüsü Bölüm 4.2.3'de Şekil 4.7'de verilmiştir.

3.3.4. Zeta Boyut Analizi

Zeta boyut analizleri Malvern Zeta Sizer cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Süspanse örnek içerisinde 100 kat seyreltme ile yapılan ölçümler sonucunda partikül boyutlarının dağılımı belirlenmiştir. Zeta boyut analizi, ışık saçılması tekniği ile ölçüm yapan nanopartiküllerin hidrodinamik boyutu (0.6 nm-6µm aralığında) tayinine olanak sağlayan bir sistemdir. Zeta boyut için deneysel yöntem şu şekildedir: 3 mL nanopartikül çözeltisi nanoboyut analizörünün örnek yuvasına yerleştirilmiştir. Işık saçılması 90°'lik geliş açısında 25°C'de tayin edilmiştir.

Veri analizi için deiyonize suyun viskozitesi 0.88 mPa.s ve kırılma indeksi 1.33 olarak alınmıştır. Işık saçılma sinyali birim saniyedeki partikül sayısı (partikül sayısı/s) olarak hesaplanmıştır. Manyetik poli(HEMA-APH) nanopolimerinin zeta boyut analizi sonucu, zeta boyut analiz değerleri ve bunlara ilişkin yorumlar Bölüm 4.2.4'de sırasıyla Şekil 4.8 ve Çizelge 4.2'de verilmiştir.

3.3.5. ESR Analizi

ESR analizi nanopolimerin manyetik özelliğini belirleme amaçlı Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Fizik Mühendisliği Bölümünde, EL 9 Variant cihazı ile yapılmıştır. Elektron Spin Rezonans spektrometresinde ölçülen nicelik; değişen manyetik alana göre elde edilen spin yoğunluğu ya da çiftlenmemiş elektronların sayısının, elde edilen ESR dozimetrik sinyalin tepe-tepe(T-T) değeridir. Değişen manyetik alana göre elde edilen spin yoğunluğu (çiftlenmemiş elektronlar) şiddeti, numuneye verilen doz ile artar.

ESR için uygulanan yöntem şu şekildedir: 1 mg mag-poli(HEMA-APH) örnek haznesine koyularak oda sıcaklığında -10000 ile +10000 G arasında manyetik alan uygulanmıştır. Manyetik poli(HEMA-APH) nanopolimerinin ESR spektrumu ve bu spektruma ilişkin yorumlar Bölüm 4.2.5'de Şekil 4.9'da verilmiştir.

3.4. Manyetik Poli(HEMA-APH) Nanopolimerine İlişkin Yapılan Radyoaktivite Çalışmaları

3.4.1. Manyetik Poli(HEMA-APH) Nanopolimerinin ¹³¹I ile İşaretlenmesi

3.4.1.1. İodojen Film Kaplı Tüplerin Hazırlanması

Bir miktar iodojen 1.5x7 cm boyutlarındaki cam tüpün içerisine konulur. Üzerine iodojen'in çözünmesi için bir miktar CH₂Cl₂ ilave edilir ve bu karışım buzdolabında +4°C'de 1 gün boyunca bekletilir. Bu sürenin sonunda CH₂Cl₂'nin buharlaşmasıyla iodojen tüpün çeperlerine bir film tabakası şeklinde kaplanır. Tüp bu şekilde işaretleme çalışmalarında kullanılır.

3.4.1.2. İnce Tabaka Radyokromatografi (TLRC) Çalışmaları

TLRC (Thin Layer Radiochromatography) çalışmalarında 1.5x10 cm'lik parçalara ayrılmış silika kaplı TLRC tabakalar (Merck 5552) kullanılır. Tabakaların tabanından 0.5 cm yukarısına iodojen tüpünden alınan çözeltiler kapiler yardımıyla damlatılıp ve damlatılan örnekler tabaka üzerinde kuruduktan sonra ağız kapalı olan TLRC tanklarına uygulama noktası değmeyecek şekilde konulur.



Şekil 3.4. İnce tabaka kromatografisi (örnek damlatma ve yürütme işlemleri)

Çözgen tabaka üzerinde tepe noktasının yaklaşık 1-2 cm aşağısına kadar yürüdükten sonra TLRC tabaka tank içinden çıkarılıp oda sıcaklığında kurutulur. Daha sonra cyclone plus fosfor görüntüleme sistemi kullanılarak işaretli bileşik ve Na^{131}I ait radyokromatogramlar elde edilir.

Radyoaktif maddenin taşındığı mesafe çözücünün ilerlediği mesafeye bölünerek R_f değerleri, *Aktivite (DLU)-kat edilen mesafe* değerleri grafiğe geçirilerek de TLRC kromatogramları elde edilir. Ayrıca, işaretli örneklerin bağlanma verimleri pik alanının sayımı toplam sayıma bölünerek hesaplanır.

Mag-poli(HEMA-APH) kullanılarak yapılan kalite kontrol çalışmalarında hareketli faz olarak n-bütanol-su-asetik asit (4:2:1) banyo sistemi kullanılmıştır. Şekil 3.5'de ince tabaka radyokromatografisi çalışmalarında gerçekleştirilen yürütme işlemleri görülmektedir.

3.4.1.3. Na^{131}I için Gerçekleştirilen TLRC Çalışmaları

Na^{131}I 'in R_f değerinin belirlenmesi için yapılan TLRC çalışmalarında 250 μCi Na^{131}I iodojen tüpüne konulmuş ve 25°C de 15 dk inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda iodojen tüpünden alınan Na^{131}I için n-bütanol-su-asetik asit (4:2:1) banyo sistemi kullanılarak TLRC çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmaların sonucunda elde edilen TLRC tabakalar ve bu tabakalara ilişkin radyokromatogram Bölüm 4.3'de sırasıyla Şekil 4.10 (a) ve (b)'de verilmiştir.

3.4.2. Optimizasyon Çalışmaları

^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiği için en yüksek bağlanma veriminin elde edilebilmesi amacı ile optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bunun için ilk kademede Na^{131}I aktivitesi ve sıcaklık sabit tutulup, iodojen miktarı, nanopolimer miktarı ve inkübasyon süreleri değiştirilmiştir. İkinci kademede ise nanopolimer miktarı hariç verilen tüm parametreler sabit tutulup, inkübasyon süreleri değiştirilmiştir.

3.4.2.1. En Uygun İodojen Miktarının Belirlenmesi

Çizelge 3.1’de verilen koşullar kullanılarak işaretleme çalışmaları yapılmıştır. Bunun için, hazırlanan iodojen tüplerinin içerisine değişik miktarlarda mag-poli(HEMA-APH) ve Na^{131}I (spesifik aktivite: $1\mu\text{Ci}/1\mu\text{L}$) konulmuş, karışımlar 10 dk vortekste karıştırılmış ve oda sıcaklığında 15, 30, 60 ve 90 dk inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürelerin sonunda karışımlardan alınan örneklerin her biri için TLRC çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar sonucunda işaretli nanopolimere [^{131}I -mag-poli(HEMA-APH)] ait R_f değeri 0.9 olarak tespit edilmiştir. En uygun iodojen miktarının belirlenmesine yönelik yapılan işaretleme çalışmalarının sonucunda elde edilen TLRC tabakaları ve yapılan çalışmanın sonuçları Bölüm 4.4.1’de verilmiştir.

3.4.2.2. En Uygun Nanopolimer Miktarının Belirlenmesi

En uygun nanopolimer miktarının belirlenmesine yönelik gerçekleştirilen TLRC çalışmalarında, iodojen miktarı (50 μg), Na^{131}I spesifik aktivitesi 1 $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ ve inkübasyon sıcaklığı 25°C değerleri sabit tutulmuş, nanopolimer miktarları ve inkübasyon süreleri değiştirilerek işaretlemeler gerçekleştirilmiştir. İşaretleme koşulları, Çizelge 3.2’de verilmiştir. Elde edilen TLRC tabakaları ve yapılan çalışmanın sonuçları Bölüm 4.4.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. En uygun iodojen miktarının belirlenmesi için gerçekleştirilen kalite-kontrol çalışmalarında kullanılan işaretleme koşulları

İşaretleme Koşulları	1	2	3	4	5	6	7	8
İodojen/ CH ₂ Cl ₂ (µg)	50	100	150	200	250	300	500	1000
mag-poli(HEMA-APH) (µg)	4,5	9	13,5	18	22,5	27	45	90
Na ¹³¹ I (µCi/µL)	1	1	1	1	1	1	1	1
Sıcaklık (°C)	25	25	25	25	25	25	25	25
İnkübasyon süresi (dk)	*	*	*	*	*	*	*	*

* Çizelge’de her bir sütunda yer alan değişkenler kullanılarak yapılan inkübasyonlar sırası ile 15 dk, 30 dk, 60 dk ve 90 dk olarak gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.2. En uygun nanopolimer miktarının belirlenmesi için gerçekleştirilen kalite-kontrol çalışmalarında kullanılan işaretleme koşulları

İşaretleme Koşulları	1	2	3	4
İodojen/ CH ₂ Cl ₂ (µg)	50	50	50	50
mag-poli-(HEMA-APH) (µg)	0,9	2,7	4,5	9
Na ¹³¹ I (µCi/µL)	1	1	1	1
Sıcaklık (°C)	25	25	25	25
İnkübasyon süresi (dk)	*	*	*	*

* Çizelge’de her bir sütunda yer alan değişkenler kullanılarak yapılan inkübasyonlar sırası ile 30 dk, 60 dk ve 90 dk olarak gerçekleştirilmiştir.

3.4.3. Lipofilite ve Stabilitate Çalışmaları

3.4.3.1. Lipofilite Tayini (n-Oktanol / Su Oranının Bulunması)

Bu çalışmada ¹³¹I-mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin lipofilite değerleri tayin edilmiştir. Bunun için, 100 µL işaretli bileşik, içerisinde 200 µL n-oktanol ve 200 µL pH 7 tampon çözeltileri bulunan bir deney tüpüne ilave edilmiş, karışım 15 dk oda sıcaklığında vortekslelendikten sonra 2500 rpm de 30 dk santrifüj edilmiştir.

Santrifüj sonunda alt faz (su) ve üst faz (oktanol) ayrılarak RAD 501 tek kanallı gama sayım cihazı ile aktiviteleri ölçülmüş ve $\frac{n_{oktanol}}{n_{su}}$ oranı ile logP değerleri hesaplanmıştır. Denemeler her bir örnek için 2 kez tekrar edilmiştir.

3.4.3.2. Albino Wistar Sıçan Kan Serumunda Stabilite Tayini

Bu çalışma işaretli bileşiklerin fizyolojik ortamdaki stabilitelerini tespit etmek amacıyla yapılmış ve çalışmada Albino Wistar sıçan kan serumu kullanılmıştır. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH)'ın serumdaki stabilitesini tespit etmek için 100 μL (18 μg) 2.77 MBq (75 μCi) işaretli örnek 300 μL sıçan kan serumuna ilave edilmiş ve karışım 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. 0., 30., 60., 180. ve 1440. dk'larda 50 μL 'lik örnekler alınmış ve örneklerin bağlanma verimleri cyclone plus fosfor görüntüleme sistemi yardımı ile bulunarak işaretli bileşiklerin her biri için *Bağlanma verimi-zaman* grafikleri çizilmiştir.

3.5. Sintigrafi Çalışmaları

^{131}I ile işaretli mag-poli(HEMA-APH) nanopolimerinin sıçan metabolizmasındaki dağılımını incelemek ve ilgili işaretli nanopolimerin hangi organlarda tutulum gösterdiğini belirlemek için sintigrafi çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalarda, 360 μL (64,8 μg), 11.1 MBq (300 μCi) ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiği dişi ve erkek Albino Wistar sıçanlara kuyruk damarı yolu ile enjekte edilmiş ve belirli süreler sonunda işaretli polimere ilişkin sintigramlar alınmıştır.

Dişi ve erkek Albino Wistar sıçanlar için dinamik sintigramlar, işaretli polimerin enjeksiyonunu takiben 30 dk içerisinde 60 s'lik 30 frame şeklinde alınmış, statik sintigramlar ise 30., 60., 120., 180., ve 1440. dk'larda 1'er frame şeklinde alınmıştır.

Bu çalışmalar Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi Nükleer Tıp Anabilimdalı'nda gerçekleştirilmiştir. Sintigrafi görüntülerinin alınması için GE Infinia Çift başlı Gama Kamera (Hacarmal, Tirat, Israel) sistemi kullanılmıştır.

^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiği Bölüm 3.4.1'deki işaretleme koşulları kullanılarak işareetlenmiştir. Daha sonra, ağırlıkları yaklaşık 250-300 g olan dişi ve erkek Albino Wistar sıçanlara kuyruk damarı yolu ile ksilazin ve ketamin karışımı enjekte edilerek sıçanlara genel anestezi yapılmıştır. Bu aşamadan sonra sıçanlar, bir tabaka üzerine sırt üstü olacak biçimde ön ve arka ayaklarından düzgün bir şekilde bantlanarak sabitlenmiş ve gama kamera sistemi kullanılarak, belirli süreler sonunda ^{131}I ile işaretli mag-poli(HEMA-APH) nanopolimerine ait sintigrafik görüntüler alınmıştır.

Alınan ilk sintigramlar enjeksiyonu takiben 30 dk sonunda hem statik hem dinamik, diğerleri ise sırası ile 60, 120, 180 ve 1440 dk sonra yalnızca statik olarak alınmıştır. Dinamik sintigramlar 60 s'lik 30 frame şeklinde, statik sintigramlar ise 650 kcount'luk sayımlar sonunda elde edilmiştir. Sintigrafi çalışmaları sonucunda elde edilen görüntüler ve bu görüntülere ilişkin yorumlar Bölüm 4.6'da verilmiştir. Şekil 3.6 ve 3.7'de sırasıyla sintigrafi çalışmalarında kullanılan Albino Wistar sıçanlar ve sintigrafik görüntülerin alınmasında kullanılan GE Infinia Çift başlı Gama Kamera sistemi görülmektedir.



Şekil 3.5. Sintigrafi çalışmalarında kullanılan Albino Wistar sıçanlar
(<http://en.wikipedia.org>)



Şekil 3.6 GE Infinia çift başlı gama kamera sistemi
(<http://www.dotmed.com>)

3.6. Biyodağılım Çalışmaları

^{131}I ile işaretli mag-poli(HEMA-APH) nanopolimerinin dişi ve erkek Albino Wistar sıçanlarda kantitatif olarak hangi organlarda tutulum gösterdiğinin tespit edilmesi ve hedef organların belirlenmesi amacı ile biyodağılım çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Biyodağılım çalışmalarından bir gün önce tiroid'deki iyod tutulumunu bloklamak için KI, konsantrasyonu 10 mg/L olacak şekilde sıçanların içme sularına ilave edilmiş ve bu suyun 1 gece boyunca sıçanlar tarafından içilmesi sağlanmıştır. Bu çalışmaların gerçekleştirilebilmesi için ortalama 250-300 g ağırlığında 9'ar adet dişi ve erkek Albino Wistar sıçan kullanılmıştır. Çalışmanın ilk kademesinde 250 μL (45 μg) mag-poli(HEMA-APH), 1 mg/mL'lik iodojen tüpleri kullanılarak 27.7 MBq (750 μCi) Na^{131}I ile işaretlenmiş, daha sonra işaretli nanopolimer dişi ve erkek sıçanlara 140 μL (25.2 μg) kuyruk damarı yolu ile enjekte edilmiştir. Enjektörlere çekilen aktivite her biri için yaklaşık 4.6 MBq (125 $\mu\text{Ci}/140\mu\text{L}$) olarak alınmıştır. Çalışmanın ikinci kademesinde, dişi ve erkek sıçanlar bir desikatörün içersine 5'erli gruplar şeklinde alınarak yoğun eter ortamında hayatlarına son verilmiştir. Bu aşamadan sonra, herbir sıçanın ilgili organları çıkarılmıştır (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Dişi ve erkek Albino Wistar sıçanlar üzerinde yapılan biyodağılım çalışmaları

Son aşamada, çıkarılan organlar daha önceden tartılarak daraları alınan kaplara konulmuş ve her organa ait aktivite Cd(Te) dedektörü kullanılarak ölçülmüştür. Daha sonra, her organ için gram başına düşen doz (%ID/g) değerleri belirlenmiştir. Bu işlemlerin sonucunda elde edilen veriler kullanılarak ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiği için ilgili organlara ait %ID/g-zaman grafikleri çizilmiştir. Gerçekleştirilen biyodağılım çalışmalarına ilişkin sonuçlar, %ID/g grafikleri ve yorumlar Bölüm 4.7'de verilmiştir.

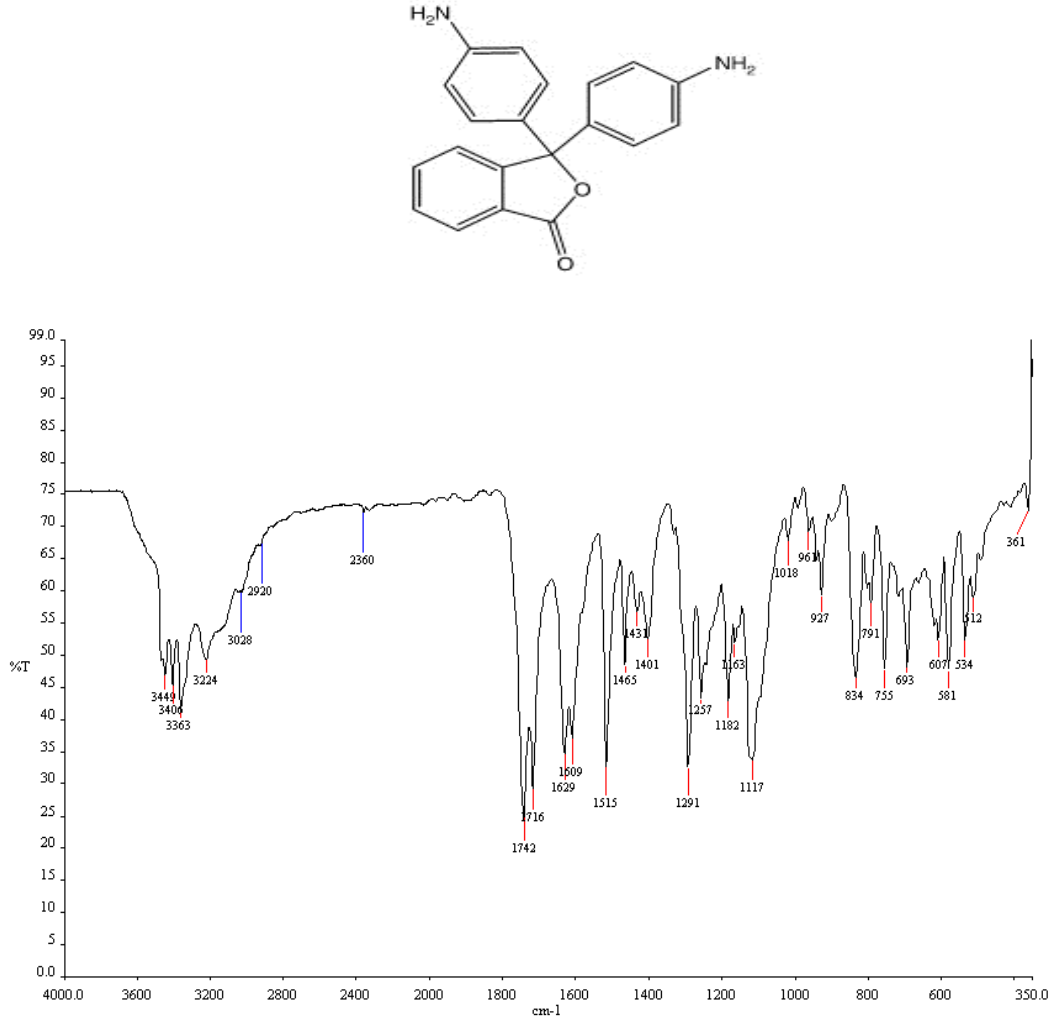
3.7. İstatistiksel Analiz

Dişi ve erkek Albino Wistar sıçanlar üzerinde yapılan biyodağılım çalışmaları sonucunda elde edilen veriler SPSS 16.0 programı kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirilmeye çalışılmıştır. Bu amaçla tüm verilerin varyans analizleri (Univariate Variance Analyses) yapılmış ve uygulanan işaretli bileşik ile organlar arasındaki ilişki Pearson Korelasyonu uygulanarak değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme sonuçlarına ilişkin bilgiler Bölüm 4.8'de bulunmaktadır.

4.0. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. APH Molek n n Yapı Karakterizasyonuna İlişkin Sonuçlar

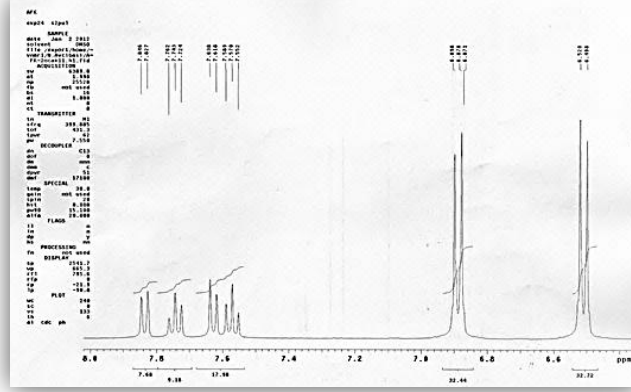
4.1.1. FT-IR Analiz Sonuçları



Şekil 4.1. APH'in FT-IR spektrumu

FT-IR (KBr disk, cm⁻¹): 3400 ve 3363 (-NH₂ grupları), 3224 (Ar-H), 1743 ve 1716 (-C=O grubu), 1629 (-NH₂ eğilme), 1610, 1609, 1515, 1291, 1257, 1182, 1163, 1117 (-C-O), 834.

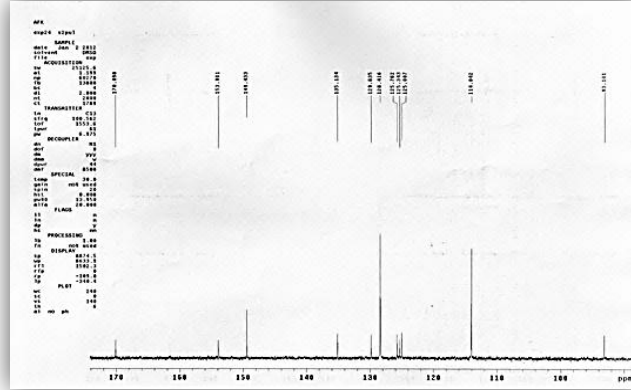
4.1.2. ^1H -NMR Analizi Sonuçları



Şekil 4.2. APH'in ^1H -NMR spektrumu

^1H -NMR (400 MHz, DMSO): δ =7.83 (1H, d); 7.74 (1H, t); 7.59 (2H, p); 6.88 (4H, d); 6.50 (4H, d) ppm.

4.1.3. ^{13}C -NMR Analizi Sonuçları



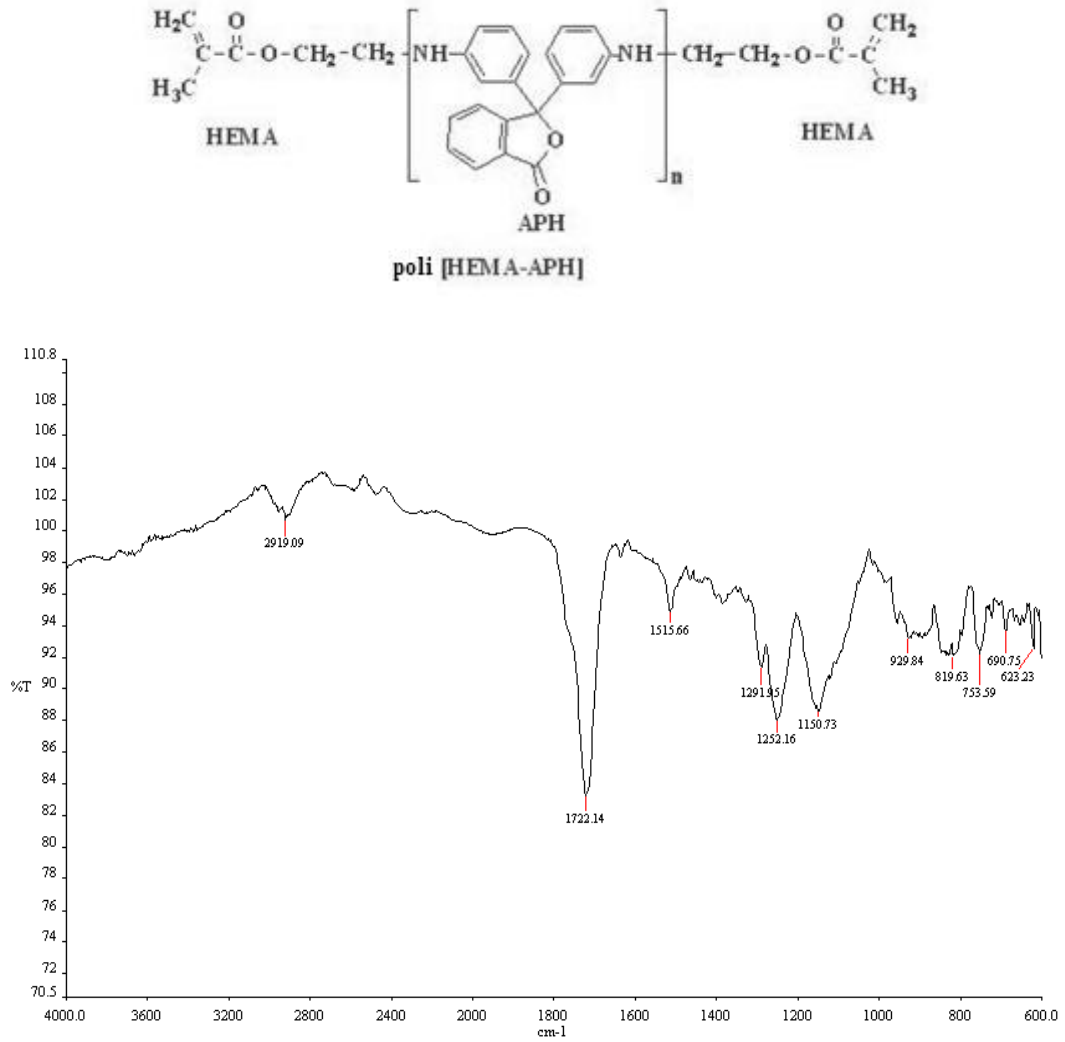
Şekil 4.3. APH'in ^{13}C -NMR spektrumu

^{13}C -NMR (400 MHz, DMSO): δ =170.1 (C=O), 153.9, 149.4, 135.1, 129.8, 128.4, 125.8, 125.3, 125.0, 114.0 ppm.

Spektrumlar incelendiğinde sonuçların yapıyı tam olarak desteklediği görülmektedir.

4.2. Manyetik Poli(HEMA-APH) Nanopolimerinin Yapı Karakterizasyonuna İlişkin Sonuçlar

4.2.1. FT-IR Analizi Sonuçları



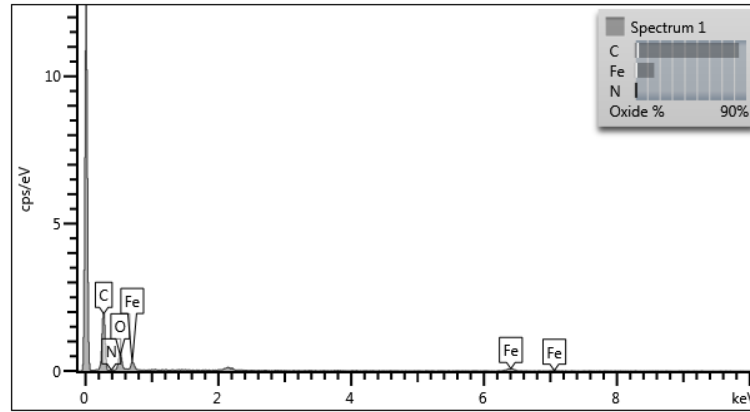
Şekil 4.4. Manyetik Poli(HEMA-APH) nanopolimerinin FT-IR spektrumu

FT-IR (KBr disk, cm⁻¹): 2919 (serbest -CH₃ gerilmesi), 1722 (ester gerilmesi), 1515 (-NH eğilmesi), 1252, 1150 (-CH₂-O gerilmesi).

4.2.2. SEM ve EDX Analizi Sonuçları

Yapılan SEM analizi polimerik yapının oluşumu, morfolojisi ve bileşimi hakkında bilgi vermektedir ve aynı zamanda, daha hassas bir yöntem olan AFM için bir ön çalışma teşkil etmektedir. Bu bağlamda Şekil 4.6 incelendiğinde, manyetik poli(HEMA-APH) nanopolimerinin ortalama boyutunun yaklaşık olarak 75 nm ve eş-boyutlu olduğu görülmektedir.

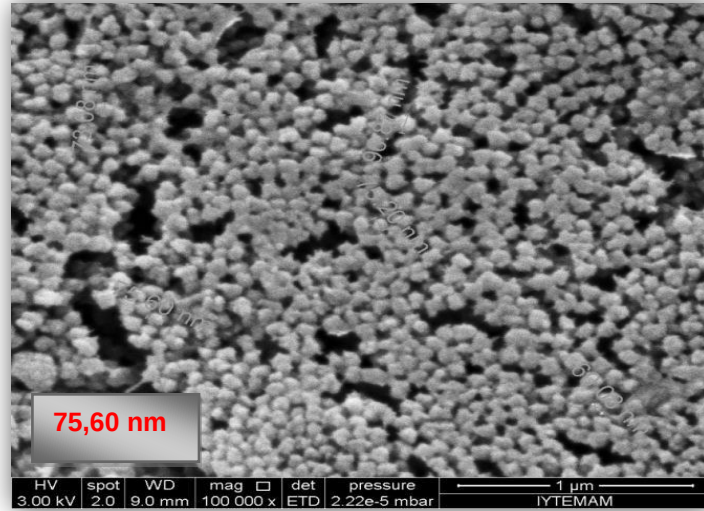
SEM görüntüleme sırasında yapılan EDX analizi polimerik yapılardaki elementlerin yüzdelерinin yarı-kantitatif olarak belirlenmesi için kullanılır. Şekil 4.5 nanopolimer için alınan EDX spektrumunu, Çizelge 4.1 ise EDX sonuçlarını göstermektedir. EDX analizine ilişkin spektrum incelediğinde, nanopolimerin yapısında sırası ile azot, demir, oksijen ve karbonun olduğu görülmüştür. Polimerizasyonda kullanılan APH'nin dışında hiçbir maddenin yapısında azot'un bulunmaması, APH monomerinin yapıya girdiğini göstermektedir. Aynı şekilde polimerin yapısında demirin bulunması, manyetik yapının varlığını desteklemektedir. Yapılan hesaplamalarda polimerin içerdiği N miktarının 0,04 $\mu\text{mol/g}$ polimer; Fe miktarının 2,2 $\mu\text{mol/g}$ polimer olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.5. EDX analizi spektrum sonuçları

Çizelge 4.1. EDX analizi sonuçları

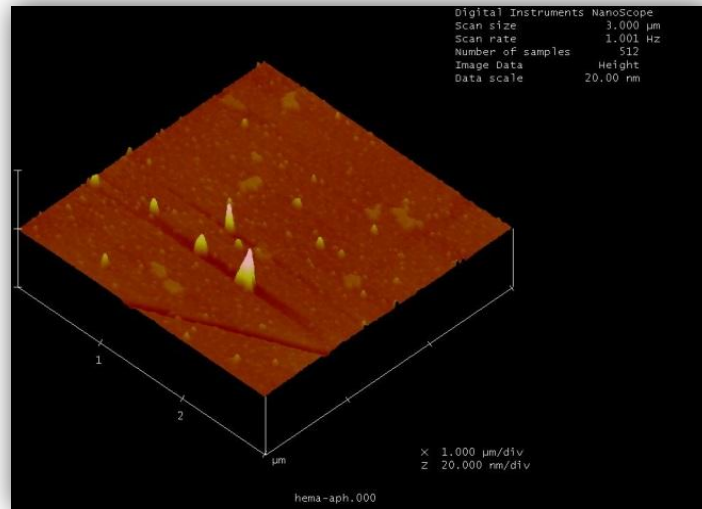
Element	% Kütlece	% Atomik
C	22,94	30,89
N	0,06	0,07
O	64,79	65,50
Fe	12,21	3,54
Toplam	100,00	100,00



Şekil 4.6. Manyetik Poli(HEMA-APH) nanopolimerinin SEM görüntüsü

4.2.3. AFM Analizi Sonuçları

Manyetik poli(HEMA-APH) nanopolimerine ilişkin alınan AFM görüntüsü Şekil 4.7'de verilmiştir. Şekil incelediğinde, yapıda boyutları 45-100 nm arasında değişen polimerik yapıların ve belirli bölgelerde agregat oluşumlarının olduğu görülmektedir.



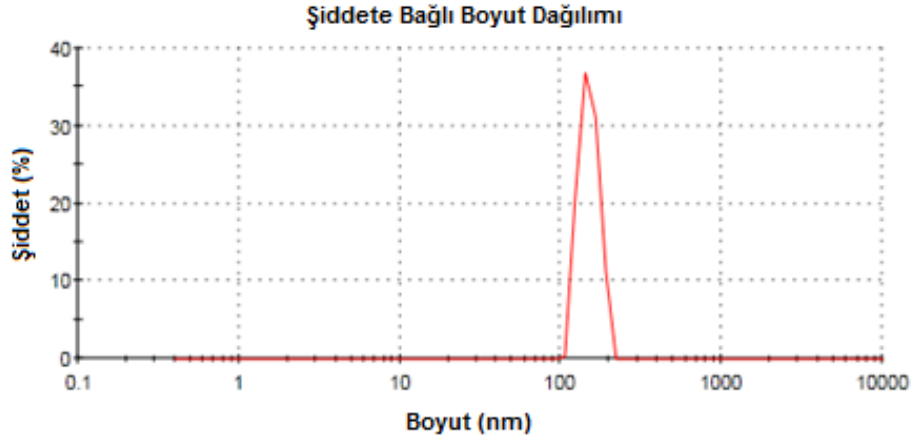
Şekil 4.7. Manyetik Poli(HEMA-APH) nanopolimerinin AFM görüntüsü

4.2.4. Zeta Boyut Analizi Sonuçları

Zeta Boyut Analizine ilişkin alınan spektrum Şekil 4.8'de, sonuçlar ise Çizelge 4.2'de verilmiştir. Analiz sonucunda ortalama boyutu 150 nm olan polimerlerin oluştuğu görülmüştür. SEM analiz sonuçlarında polimere ilişkin olarak tespit edilen boyuttan bu değerin yaklaşık 2 kat fazla olduğu görülmektedir. Bunun nedeni; küresel olmayan, dinamik yapıdaki nanopolimerin etrafının su molekülleri ile sarılması sonucunda oluşan hidrodinamik çapın artması ve buna bağlı olarak süspansiyon halde bulunan nanopolimerin şişmesidir.

Çizelge 4.2. Manyetik Poli(HEMA-APH) Nanopolimerinin Zeta Boyut Analiz Değerleri

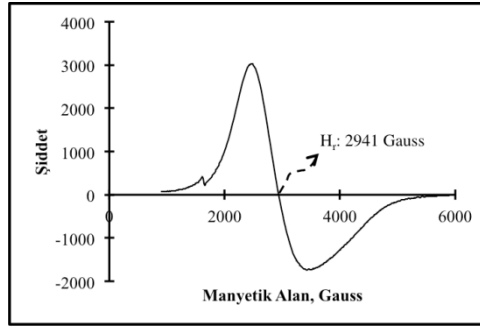
Z.Ortalama (nm)	Polidispersite	Kesişim (Intercept)	Pik	Boyut (nm)	% Şiddet	Genişlik (nm)
319,4	0,351	0,877	Pik 1	150,1	100	20,74
			Pik 2	0,000	0,0	0,000
			Pik 3	0,000	0,0	0,000



Şekil 4.8. Manyetik poli(HEMA-APH) nanopolimerinin zeta boyut analizi sonucu

4.2.5. ESR Analizi Sonuçları

Oda sıcaklığında yapılan ESR analizi sonucunda manyetik alan rezonansı $H_r=2914$ Gauss olarak bulundu. Manyetik alan rezonans değeri, çiftleşmemiş elektronların lokalize olduğu moleküllerin karakteristik niceliği olarak belirtilen g değerine dönüştürülmüştür.

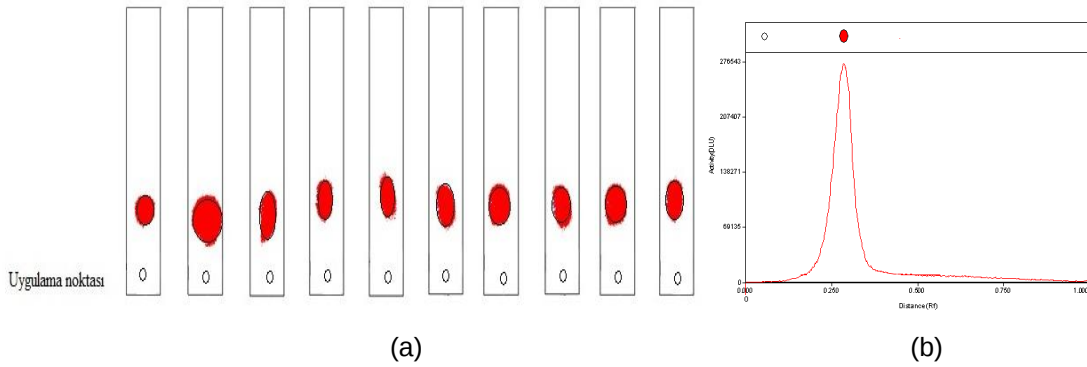


Şekil 4.9. Manyetik Poli(HEMA-APH) nanopolimerinin ESR spektrumu

g değeri; $g = h \cdot \gamma / \beta$. H_r formülü ile hesaplandı. h : Planck sabiti ($6.626 \times 10^{-27} \text{ erg.s}^{-1}$), γ : frekans ($9,707 \times 10^9 \text{ Hz}$), β : evrensel sabit ($9,274 \times 10^{-21} \text{ erg.G}^{-1}$) sabitler olarak alındı ve mag-poli(HEMA-APH) için g değeri 2,359 olarak hesaplandı. Fe^{3+} için (alçak spin ve yüksek spin) için g değeri 1,4-3,1 ve 2,0 ile 9,7 arasında hesaplanmıştır.

4.3. Na^{131}I için Gerçekleştirilen TLRC Çalışmalarına İlişkin Sonuçlar

Na^{131}I 'ün R_f değerinin belirlenmesi amacı ile gerçekleştirilen TLRC çalışmalarının sonucunda Na^{131}I 'e ait R_f değeri 0,3 ($n=10$) olarak bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında n-bütanol-su-asetik asit (4-2-1) banyo sistemi kullanılarak elde edilen TLRC tabakaları aşağıda Şekil 4.10 (a)'da, aynı banyo sistemi kullanılarak elde edilen radyokromatogram Şekil 4.10 (b)'de verilmiştir.



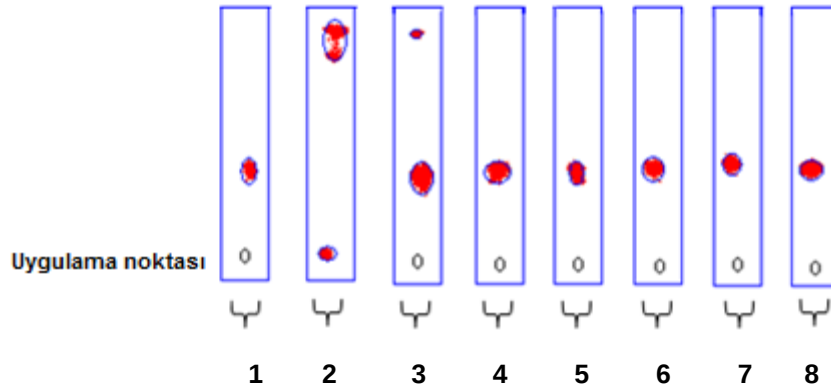
Şekil 4.10. Na^{131}I için n-bütanol-su-asetik asit (4:2:1) banyo sistemi kullanılarak elde edilen TLRC tabakaları, b) Na^{131}I 'e ait n-bütanol-su-asetik asit (4:2:1) banyo sistemi kullanılarak elde edilen radyokromatogram

4.4. Optimizasyon Çalışmalarının Sonuçları

4.4.1. En Uygun İodojen Miktarının Belirlenmesi

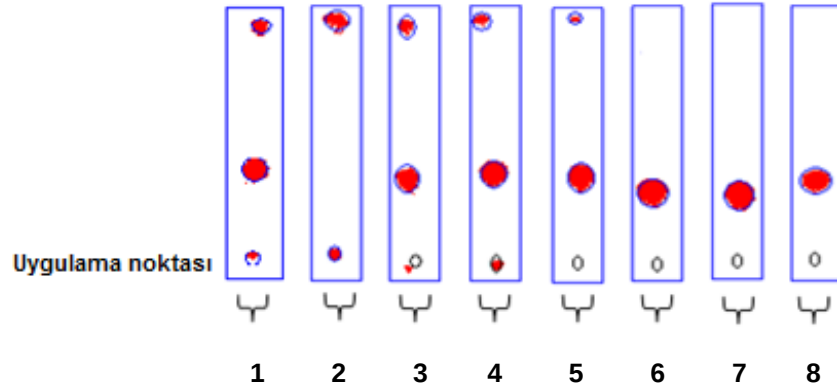
Bölüm 3.4.2.1.'de verilen prosedüre göre işaretlenen ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH)'ın bağlanma verimi pik alanları toplamından faydalanılarak hesaplanmış ve bu değer ortalama $\%71\pm3$ olarak bulunmuştur. Bu bağlanma verimi 50 $\mu\text{g}/50\ \mu\text{L}$ iodojen, 4,5 $\mu\text{g}/25\ \mu\text{L}$ nanopolimer, 25 $\mu\text{Ci}/25\ \mu\text{L}$ Na^{131}I kullanılarak 25°C sıcaklıkta yapılan 90 dk inkübasyon sonunda elde edilmiştir. Bu çalışmaların sonucunda elde edilen TLRC tabakalar Şekil 4.11 ve Şekil 4.14 arasında verilmiştir.

Şekil 4.11'de verilen TLRC tabakaları incelediğinde; 1, 4, 5, 6, 7 ve 8 no'lu tabakalarda Na^{131}I 'in R_f değeri 0,3 olarak görülmektedir. Bu tabakalarda radyoişaretli nanopolimere ait herhangi bir spot görülmemektedir. 2 no'lu tabaka incelenecek olursa, $R_f=0,9$ 'da radyoişaretli nanopolimere ait bir spot görülmektedir ve buradaki aktivite oldukça düşük olarak bulunmuştur. Aynı tabakada $R_f=0,3$ 'de ise beklenen Na^{131}I aktivitesi görülememektedir. 3 no'lu tabaka dikkatli bir biçimde incelendiğinde, $R_f=0,3$ 'de yine Na^{131}I 'in varlığı kendini göstermektedir. $R_f=0,9$ 'da ise oldukça düşük olarak işaretli nanopolimer aktivitesi görülmektedir.



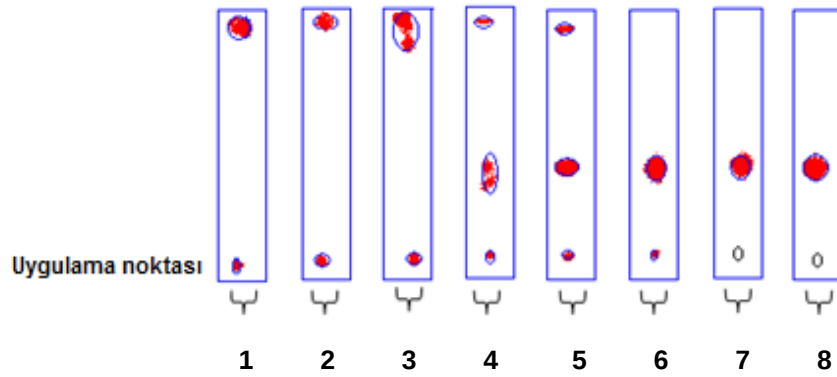
Şekil 4.11. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) için n-bütanol-su-asetik asit (4:2:1) banyo sistemi kullanılarak 25°C ve 15 dk inkübasyon sonunda elde edilen TLRC tabakaları

Şekil 4.12'de 6, 7 ve 8 no'lu tabakalarda Na^{131}I 'e ait spotlar görülmektedir ($R_f=0,3$). Bu tabakalarda radyoişaretli nanopolimere ait herhangi bir spot yoktur. 1, 3, 4, ve 5 no'lu tabakalara bakıldığında, $R_f=0,3$ 'de Na^{131}I 'e ait aktivite, $R_f=0,9$ 'da ise radyoişaretli nanopolimere ait aktivitelerin varlığı görülmektedir. Bu tabakalarda ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiği için elde edilen ortalama bağlanma verimi düşüktür. 2 no'lu tabakada ise Na^{131}I 'e ait herhangi bir spot görülmemektedir ve radyoişaretli nanopolimere ait aktivite $R_f=0,9$ 'da kendini göstermektedir.



Şekil 4.12. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) için n-bütanol-su-asetik asit (4:2:1) banyo sistemi kullanılarak 25°C ve 30 dk inkübasyon sonunda elde edilen TLRC tabakaları

Şekil 4.13'deki TLRC tabakalarında 6, 7 ve 8 no'lu tabakalarda radyoişaretili nanopolimere ait bir spot görülmemektedir. 4 ve 5 no'lu TLRC tabakalarında radyoiyoda ve radyoişaretili nanopolimere ait belirgin spotlar görülmektedir ve iyi oranda ayrılma gerçekleşmiştir. Burada bu iki TLRC için radyoişaretili nanopolimere ait bağlanma verimi düşüktür. 1, 2 ve 3 no'lu tabakalarda ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğine ait aktiviteler ayrı ayrı bölgelerde görülmektedir. Bu tabakalardaki radyoişaretili nanopolimere ait aktivitelerin 15 ve 30 dk inkübasyondaki aktivitelerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

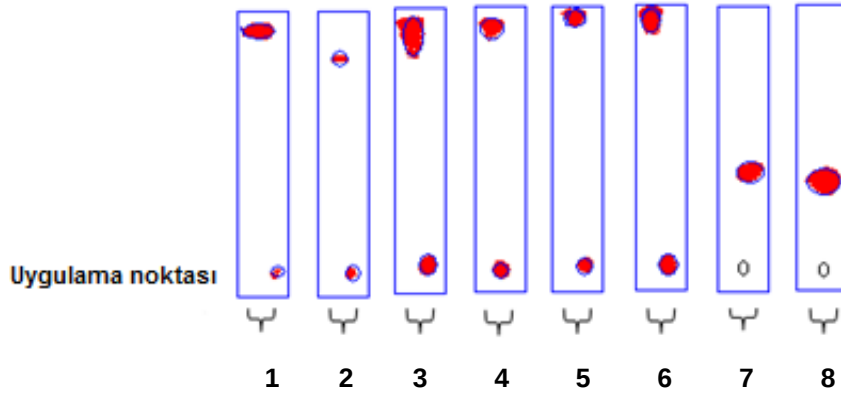


Şekil 4.13. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) için n-bütanol-su-asetik asit (4:2:1) banyo sistemi kullanılarak 25°C ve 60 dk inkübasyon sonunda elde edilen TLRC tabakaları

Şekil 4.14 incelendiğinde, 7 ve 8 no'lu tabakalarda radyoiyoda ait aktiviteden kaynaklanan belirgin spotlar görülmektedir ve radyoişaretili nanopolimere ait herhangi bir aktivitenin varlığı söz konusu değildir.

1, 2, 3, 4, 5 ve 6 no'lu TLRC tabakalarda ise radyoişaretili nanopolimerlere ait $R_f=0,9$ bölgesinde aktiviteler görülmektedir. Verilen bu TLRC'ler sırası ile 50-300 μg iodojen kullanılarak gerçekleştirilen işaretlemelelere aittir.

En uygun iodojen miktarının bulunmasına yönelik gerçekleştirilen bu çalışmalar sonucunda, ilk 6 TLRC'de bağlanma verimi yaklaşık olarak %71 olarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak en uygun iodojen miktarı 50 μg , inkübasyon süresi de 90 dk olarak belirlenmiştir.



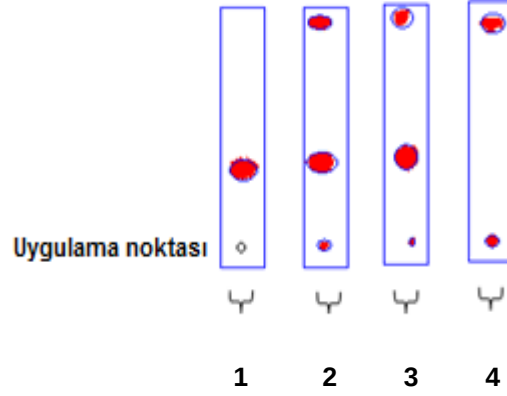
Şekil 4.14. ^{125}I -mag-poli(HEMA-APH) için n-bütanol-su-asetik asit (4:2:1) banyo sistemi kullanılarak 25°C ve 90 dk inkübasyon sonunda elde edilen TLRC tabakaları

Burada verilen tüm TLRC tabakalarında uygulama noktasında belirgin spotlar görülmektedir. Poli(HEMA-APH) manyetik özellikte bir nanopolimerdir. Bu nanopolimer emülsiyon biçiminde elde edilmiştir ve yapısında Fe_3O_4 parçacıkları bulunmaktadır. Radyoişaretlemeden sonra kalite-kontrol çalışmalarında damlatma işlemleri esnasında emülsiyon biçimindeki nanopolimer uygulama noktasında belirli oranda kalarak TLRC tabaka üzerinde asılı kalmaktadır. Bundan dolayı uygulama noktasında görülen aktivitenin nedeni yapıdaki Fe_3O_4 parçacıkları olarak yorumlanabilir.

4.4.2. En Uygun Nanopolimer Miktarı Ve İnkübasyon Süresinin Belirlenmesi

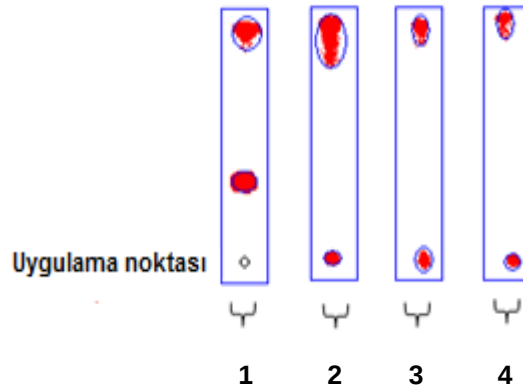
Bir önceki çalışmada bulunan %71'lik bağlanma veriminin yükseltilebilmesi için iodojen miktarı, sıcaklık ve spesifik aktivite sabit tutularak, nanopolimer miktarları ve inkübasyon süreleri değiştirilerek bir seri TLRC çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar neticesinde bulunan TLRC tabakalarına ait görüntüler ve bunlara ait radyokromatogramlar sırasıyla Şekil 4.15 ve Şekil 4.18 arasında görülmektedir. Şekil 4.15 incelenecek olursa, 1 no'lu tabakada yalnızca Na^{131}I 'e ait aktivite görülmektedir.

Radyoişaretli nanopolimere ait herhangi bir aktivite gözlenmemiştir. 2 ve 3 no'lu tabakalarda hem Na^{131}I 'e, hem de ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğine ait aktivitelerin varlığı açık olarak görülmektedir. Bu iki tabaka için radyoişaretli nanopolimere ait bağlanma verimleri yaklaşık olarak %20'dir. 4 no'lu tabakada ise Na^{131}I 'e ait herhangi bir aktivite görülmemektedir.



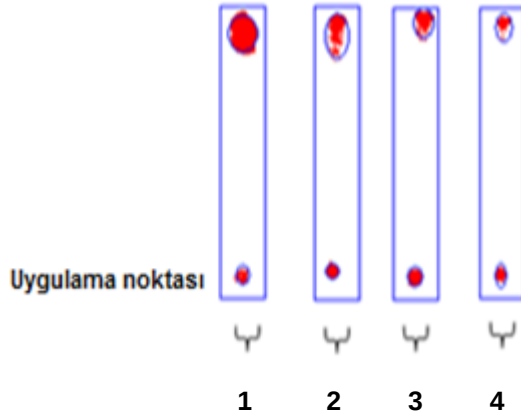
Şekil 4.15. ^{125}I -mag-poli(HEMA-APH) için n-bütanol-su-asetik asit (4:2:1) banyo sistemi kullanılarak 25°C ve 30 dk inkübasyon sonunda elde edilen TLRC tabakaları

Şekil 4.16 incelediğinde, 2, 3 ve 4 no'lu TLRC tabakalarda Na^{131}I 'e ait aktiviteler görülmemektedir. Radyoişaretli nanopolimere ait bağlanma verimi bu üç tabaka için yaklaşık olarak %55 olarak tespit edilmiştir. 1 no'lu tabakada $R_f=0,3$ 'de sadece ^{131}I aktivitesi görülmektedir.



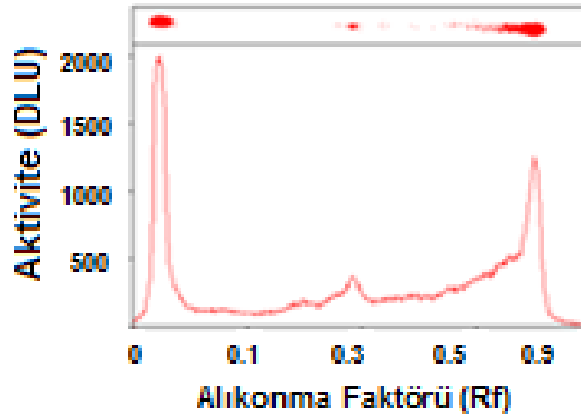
Şekil 4.16. ^{125}I -mag-poli(HEMA-APH) için n-bütanol-su-asetik asit (4:2:1) banyo sistemi kullanılarak 25°C ve 60 dk inkübasyon sonunda elde edilen TLRC tabakaları

Şekil 4.17'deki TLRC'lerdeki radyoişaretli nanopolimere ait bağlanma verimlerinin yaklaşık olarak %90 olduğu görülmektedir.

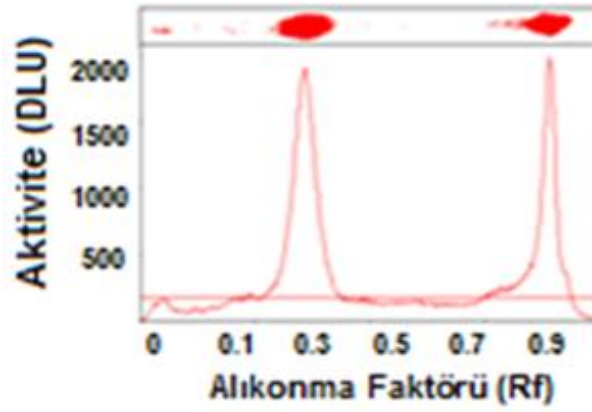


Şekil 4.17. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) için n-bütanol-su-asetik asit (4:2:1) banyo sistemi kullanılarak 25°C ve 90 dk inkübasyon sonunda elde edilen TLRC tabakaları

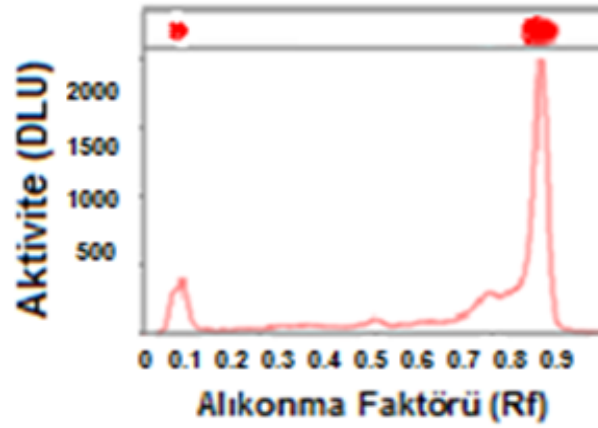
Şekil 4.18 ve Şekil 4.20 arasında en uygun nanopolimer miktarı ve inkübasyon süresinin belirlenmesine yönelik farklı inkübasyon sürelerinde gerçekleştirilen çalışmalara ait radyokromatogramlar, Şekil 4.21’de işaretli bileşiğin zamana karşı %bağlanma verimi grafiği, Şekil 4.22 ile 4.24 arasında ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiği için 30, 60 ve 90 dk inkübasyon süreleri baz alınarak elde edilen polimer miktarı (μg)’na karşı %bağlanma verimi grafikleri görülmektedir. Çizelge 4.3’de ise tüm işaretleme çalışmaları neticesinde bulunan optimum koşullar yer almaktadır.



Şekil 4.18. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH)’ya ait $50\mu\text{g}/50\mu\text{L}$ iodojen miktarı, $0,9\mu\text{g}/5\mu\text{L}$ madde miktarı, $25\mu\text{L}/25\mu\text{Ci}$ Na^{131}I aktivitesi ile 30 dk inkübasyon sonunda elde edilen radyokromatogram



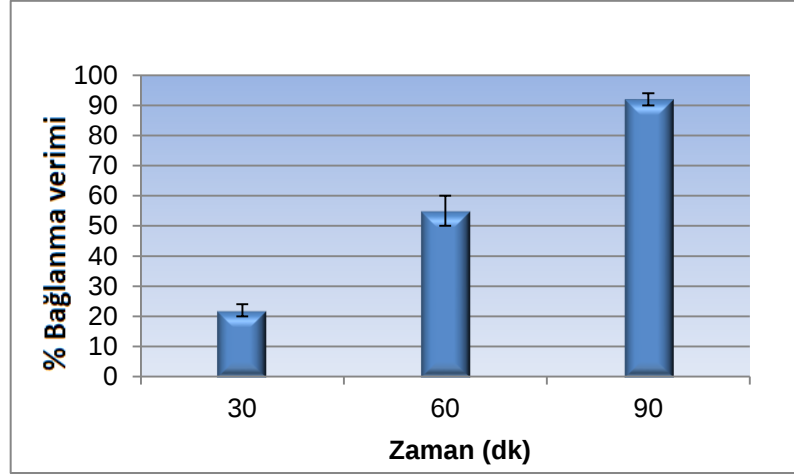
Şekil 4.19. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH)'ya ait 50 μg /50 μL iodojen miktarı, 0,9 μg /5 μL madde miktarı, 25 μL /25 μCi Na^{131}I aktivitesi ile 60 dk inkübasyon sonunda elde edilen radyokromatogram



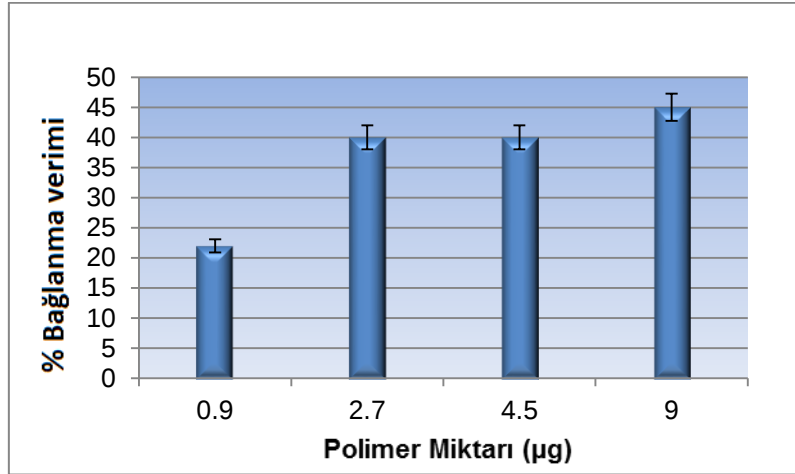
Şekil 4.20. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH)'ya ait 50 μg /50 μL iodojen miktarı, 0,9 μg /5 μL madde miktarı, 25 μL /25 μCi Na^{131}I aktivitesi ile 90 dk inkübasyon sonunda elde edilen radyokromatogram

Çizelge 4.3. Manyetik Poli(HEMA-APH) nanopolimeri için en yüksek bağlanma veriminin elde edilmesine ilişkin verilen optimum işaretleme koşulları

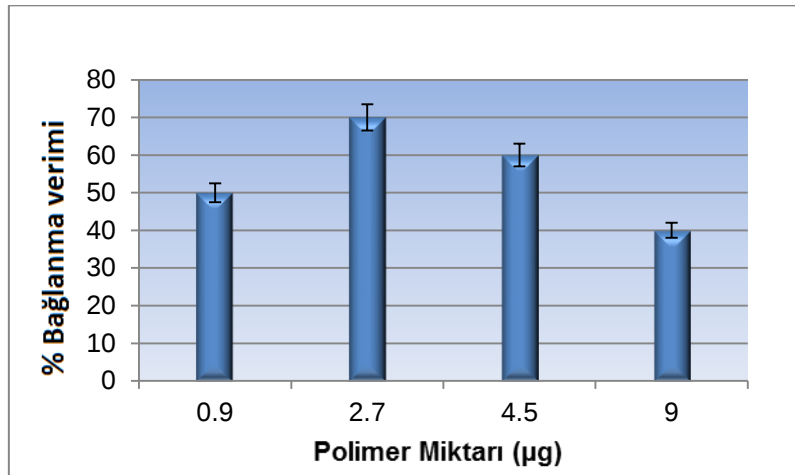
Optimum İşaretleme Koşulları	
İodojen/ CH ₂ Cl ₂ (µg)	50
mag-poli-(HEMA-APH) (µg)	0,9
mag-poli-(HEMA-APH) (µL)	5
Na ¹³¹ I (µCi/µL)	1
Sıcaklık (°C)	25
İnkübasyon süresi (dk)	90
Bağlanma Verimi (%)	92±1



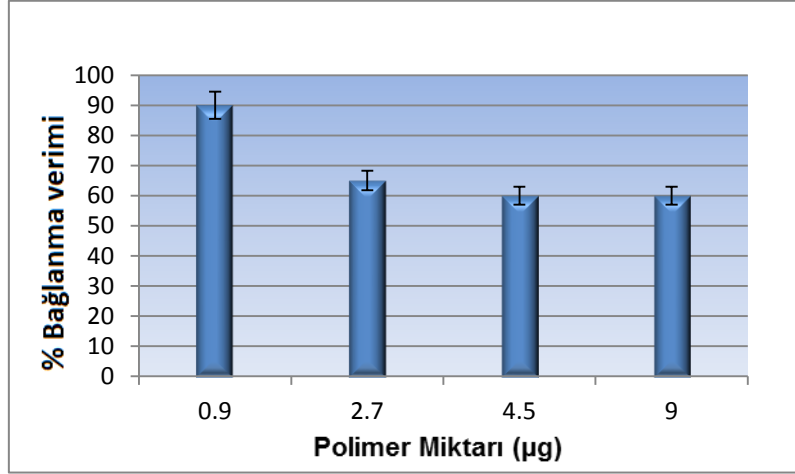
Şekil 4.21. ¹³¹I-mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin zamana karşı %bağlanma verimi grafiği



Şekil 4.22. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiği için 30 dk inkübasyon süresi baz alınarak elde edilen polimer miktarı (µg)'na karşı % bağlanma verimi grafiği



Şekil 4.23. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiği için 60 dk inkübasyon süresi baz alınarak elde edilen polimer miktarı (µg)'na karşı % bağlanma verimi grafiği



Şekil 4.24. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiği için 90 dk inkübasyon süresi baz alınarak elde edilen polimer miktarı (µg)'na karşı % bağlanma verimi grafiği

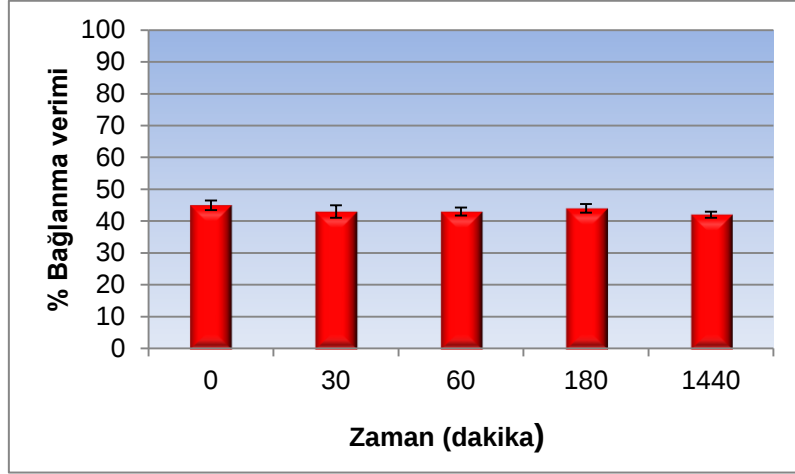
4.5. Lipofilite ve Stabilite Çalışmalarının Sonuçları

4.5.1. Lipofilite Çalışmalarının Sonuçları

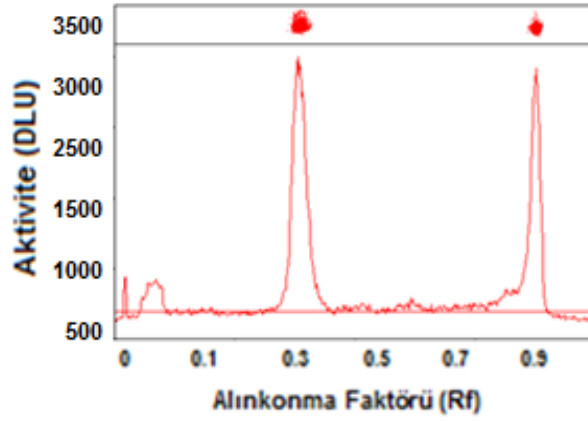
Mag-poli(HEMA-APH) nanopolimerinin teorik lipofilite değeri (logP), ACD programı kullanılarak 5.12 ± 0.65 olarak tespit edilmiştir. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin teorik lipofilitesi ise 6.06 ± 0.70 şeklinde verilmiştir (<http://www.drugbank.com>). Bunun yanında ilgili işaretli bileşiğin deneysel lipofilitesi 0.12 ± 0.02 bulunmuştur.

4.5.2. Stabilite Çalışmalarının Sonuçları

^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiği için gerçekleştirilen stabilite çalışmalarına ilişkin %Bağlanma verimi-zaman değişimine ait grafik Şekil 4.25'de, bu çalışma sonunda elde edilen kromatogram ise Şekil 4.26'da verilmiştir. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) için 37°C 'de sıçan kan serumunda gerçekleştirilen stabilite çalışmalarında n-bütanol-su-asetik asit banyosu kullanılarak yapılan TLRC sonuçlarına göre 0., 30., 60., 180. ve 1440. dk'lardaki bağlanma verimleri sırası ile %45, %43, %43, %44 ve %42 olarak hesaplanmıştır. Bu verilere göre ilgili işaretli bileşiğin Albino Wistar sıçan kan serumundaki stabilitesinin 24 saat süresinde yaklaşık olarak %44 oranında kararlı olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.25. ^{125}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin Albino Wistar sıçan kan serumundaki stabilitesi



Şekil 4.26. Albino Wistar sıçan kan serumunda yapılan stabilite çalışması sonunda elde edilen kromatogram

4.6. Sintigrafi Çalışmalarının Sonuçları

Çizelge 4.4 ve 4.5’de sırası ile dişi ve erkek Albino Wistar sıçanlara enjekte edilen ^{125}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğine ait ROI değerleri görülmektedir. Şekil 4.27 ve 4.28’de sırası ile dişi ve erkek Albino Wistar sıçana kuyruk damarı yolu ile enjekte edilen ^{125}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiği’ne ait dinamik görüntüler, Şekil 4.29 ve 4.30’da ise sırası ile dişi ve erkek Albino Wistar sıçanlar için 30., 60., 120., 180., ve 1440. dk’larda alınan statik görüntüler görülmektedir.

Dişi Albino Wistar sıçana ait statik sintigramlar incelendiğinde tiroid'de, göğüs bölgesinde, abdominal bölgede ve mesane'de belirgin tutulumlar görülmektedir.

Tiroid'de toplanan aktivite, bağlanmaya katılmayan serbest iyod'dan kaynaklanan aktivitedir ve bu bölgede tutulumun gözlenmesi beklenen bir durumdur. Şekil 4.27'de verilen statik sintigramlarda göğüs bölgesinde zaman ile doğru orantılı olarak aktivitenin arttığı gözlenmiştir. Çizelge 4.4'de dişi Albino Wistar sıçan için verilen ROI değerleri incelendiğinde, göğüs bölgesinde toplanan aktivitenin akciğerlere ait olduğu ifade edilebilir. Statik sintigramlarda abdominal bölgede de zaman geçtikçe artan bir aktivitenin varlığı söz konusudur. Bu bölgedeki aktivitenin mide, karaciğer veya barsaklara ait olduğu şeklinde bir öngörüye varılabilir. ROI değerleri incelendiğinde, bu bölgedeki aktivitenin çok büyük bir olasılıkla mideye ait olduğu görülmektedir, çünkü 24 saat de dahil olmak üzere tüm zaman dilimlerinde en yüksek ROI değerine sahip olan organ midedir. Mide'de bu kadar yoğun bir aktivitenin görülmesi, ¹³¹I-mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinden kopan ve metabolize olan iyod'un mide'de birikim yapmasından kaynaklanmaktadır. Mesane'de görülen yüksek tutulum, radyoaktif bileşenlerin böbrekler yolu ile atıldığına bir göstergesidir.

Erkek Albino Wistar sıçana ait statik sintigramlar incelendiğinde, dişi Albino Wistar sıçanda olduğu gibi tiroid, göğüs bölgesi ve abdominal bölgede belirgin tutulumlar görülmektedir. Çizelge 4.5'de erkek Albino Wistar sıçan için verilen ROI değerleri incelendiğinde tiroid'de ¹³¹I aktivitesinin zamanla arttığı görülmektedir. Benzer biçimde sırası ile göğüs bölgesi ve abdominal bölgede bulunan akciğer, mide ve karaciğer'deki aktiviteler de zaman ile doğru orantılı bir artış göstermiştir. Şekil 4.28'de verilen, erkek Albino Wistar sıçana ait statik sintigramlara bakıldığında bu organlardaki tutulumların 180. dk'ya kadar arttığı gözlenmiştir. 24. saatin sonunda ¹³¹I-mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin tamamen metabolize olduğu görülmektedir. 24. saatin sonunda tiroid'de çok yüksek aktivitenin gözlenmesi bu durumun kanıtıdır.

Literatürde HEMA monomeri ile konjuge olan prodrug'ların radyoiyod izotopları ile işaretlenmeleri ve bu moleküllerin kanser tedavi veya teşhisinde kullanım potansiyellerinin incelenmesine yönelik yapılan çalışmalar çok sınırlıdır. Özellikle HEMA'nın direkt olarak radyoiyod izotopları ile işaretlenmesine yönelik bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır, ancak bu molekülün ³H, ¹⁴C, ³²P ve ^{99m}Tc gibi radyoizotoplar ile işaretlenmesine yönelik bazı çalışmalar mevcuttur (Prokes et al, 1996; Schuster et al, 2000; Reichl et al, 2002; Durner et al, 2009; Hsiue et al, 2011).

Daha önceki yıllarda ve yakın zamanda yapılan çalışmalarda 2-hidroksietil metakrilat (HEMA)'ya benzer özelliklere gösteren 2-hidroksipropil metakrilamid (HPMA)'ın kanser tedavi ve teşhisinde kullanılma amacı ile farklı radyoiyod izotopları ile işaretlenmesine yönelik araştırmalar yapılmıştır.

Bu çalışmalarda HPMA radyoiyodinasyona tabi tutulmuş ve işaretli polimer için sintigrafi ve biyodağılım çalışmaları gerçekleştirilmiştir (Lammers et al, 2005; Huang et al, 2012). Bunun yanı sıra, APH molekülünün ^{131}I radyonüklidi ile işaretlenmesine ve sıçan metabolizmasındaki davranışının incelenmesine ilişkin bir çalışma mevcuttur (Avcıbaşı et al, 2008). Avcıbaşı ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bu çalışmada, ^{131}I ile işaretlenen anilinfalein ve fenolftalein ile bu moleküllerin glukuronid türevlerinin erkek Albino tavşanlardaki metabolik davranışları incelenmiş ve karşılaştırılmıştır. Yapılan sintigrafi çalışmalarının sonucunda, metabolize olmuş ^{131}I -APH bileşiğinin (^{131}I -APH-Glukuronid) 30 dk içerisinde tamamıyla mesanede birikim gösterdiği ve 2 saatin sonunda mesanede aktivitenin tam olarak temizlenmediği görülmüştür. Öte yandan, ^{131}I aktivitesinin metabolizmada yeterince uzun bir süre kaldığı ve çok hızlı bir biçimde atılmadığı gözlenmiştir.

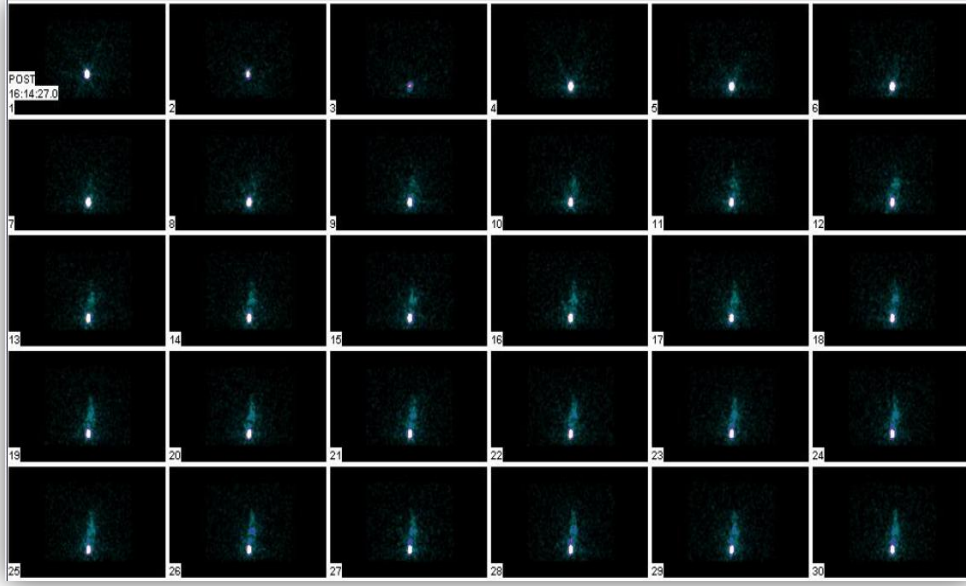
Pimm ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada bir anti-kanser ajanı olan doxorubicin ile HPMA kopolimerinin konjugasyonu sonucunda oluşan HPMA-DOX molekülü ^{131}I radyonüklidi ile işaretlenmiş ve işaretli molekülün Balb/c fare metabolizması üzerindeki davranışı sintigrafi ve biyodağılım çalışmaları ile incelenmiştir (Pimm et al, 1993). Yapılan sintigrafi çalışmalarının sonucunda, ^{131}I -HPMA-DOX bileşiğinin enjeksiyonundan sonra 10.dk'da böbreklerde ve mesanede, 20. dk ve 1 saatin sonunda ise yoğun olarak mesanede birikim yaptığı görülmüştür. Bunun yanında böbrek ve mesanede aktivite değerlerinin zaman geçtikçe, vücuttaki diğer tüm organlara kıyasla %20-30 oranında artış gösterdiği tespit edilmiştir. Özellikle 1 saatin sonunda mesanede aktivite hala tam olarak temizlenmemiş ve 1 saatin sonunda alınan sintigramda mesanede yoğun bir ^{131}I aktivitesi gözlenmiştir. Lammers ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği bir çalışmada HPMA ile HEMA kopolimerlerinin benzer özelliklere sahip oldukları bildirilmiştir (Lammers, 2009). Bu benzerlik dikkate alındığında, 24. saatin sonunda işaretli nanopolimerin hala mesanede tutulum gösteriyor olması, Pimm ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği çalışmayı destekler niteliktedir.

Pimm ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada düşük ve yüksek moleküler ağırlığa sahip HPMA-Doxorubicin konjugatları sentezlenmiş ve sentezlenen yapının ^{123}I veya ^{125}I ile işaretlenmesine imkan tanınması amacıyla bu yapı metakriloiltirosinamid molekülü ile reaksiyona sokulmuştur (Pimm et al, 1996).

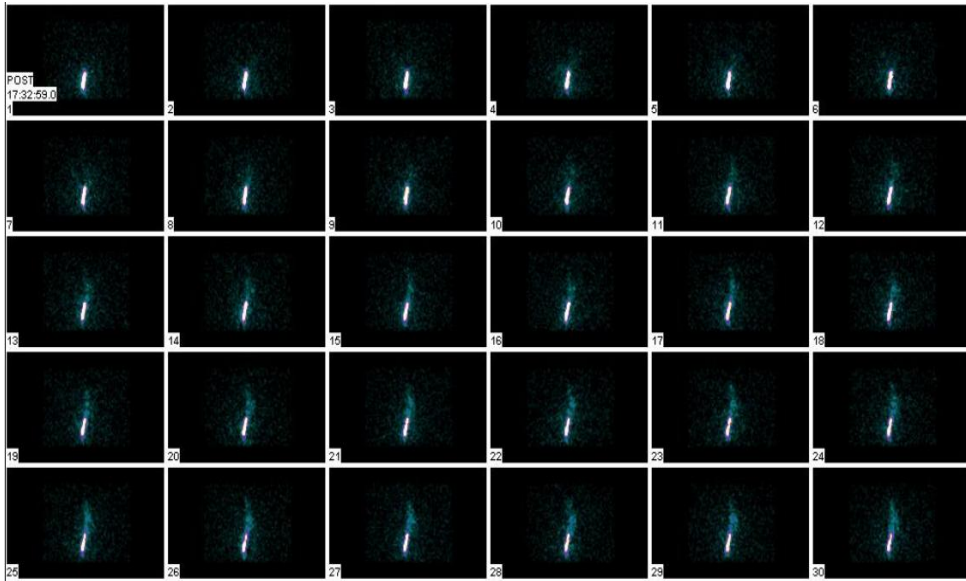
HPMA-DOX konjugatı ^{123}I ile işaretlendikten sonra, işaretli bileşik B16F10 melanomu ve meme karsinomaları taşıyan farelere damar ve periton kesesi yoluyla enjekte edilmiştir. Alınan görüntüler düşük moleküler ağırlığa sahip olan konjugatın, yüksek moleküler ağırlığa sahip olan konjugata göre periton bölgesinden daha hızlı bir biçimde temizlendiğini göstermektedir.

Yapılan sintigrafi çalışmalarında, yüksek moleküler ağırlığa sahip kopolimer içeren ^{123}I -HPMA-DOX bileşiğinin meme karsinomalı fareye enjekte edilmesinden kısa bir süre sonra radyoaktif bileşenlerin 1. ve 2. saatin sonunda mesane bölgesinde tutulum gösterdiği görülmüştür. 24 saatin sonunda mesanede çok az tutulum görülmektedir. 24 saatin sonunda alınan sintigramlara bakıldığında, ^{123}I aktitesinin spesifik bölgelerde daha belirgin hale geldiği görülmüştür ve tümörlü bölgeler artık tamamen görünür bir hal almıştır. Düşük moleküler ağırlıkta kopolimer içeren ^{123}I -HPMA-DOX bileşiği için alınan görüntüler incelendiğinde, 1 saatin sonunda mesanede çok yüksek tutulumun olduğu görülmektedir. Fakat mesanedeki tutulum 24 saatin sonunda tamamen temizlenmiş ve bu sürenin sonunda en belirgin aktivite böbreklerde gözlenmiştir.

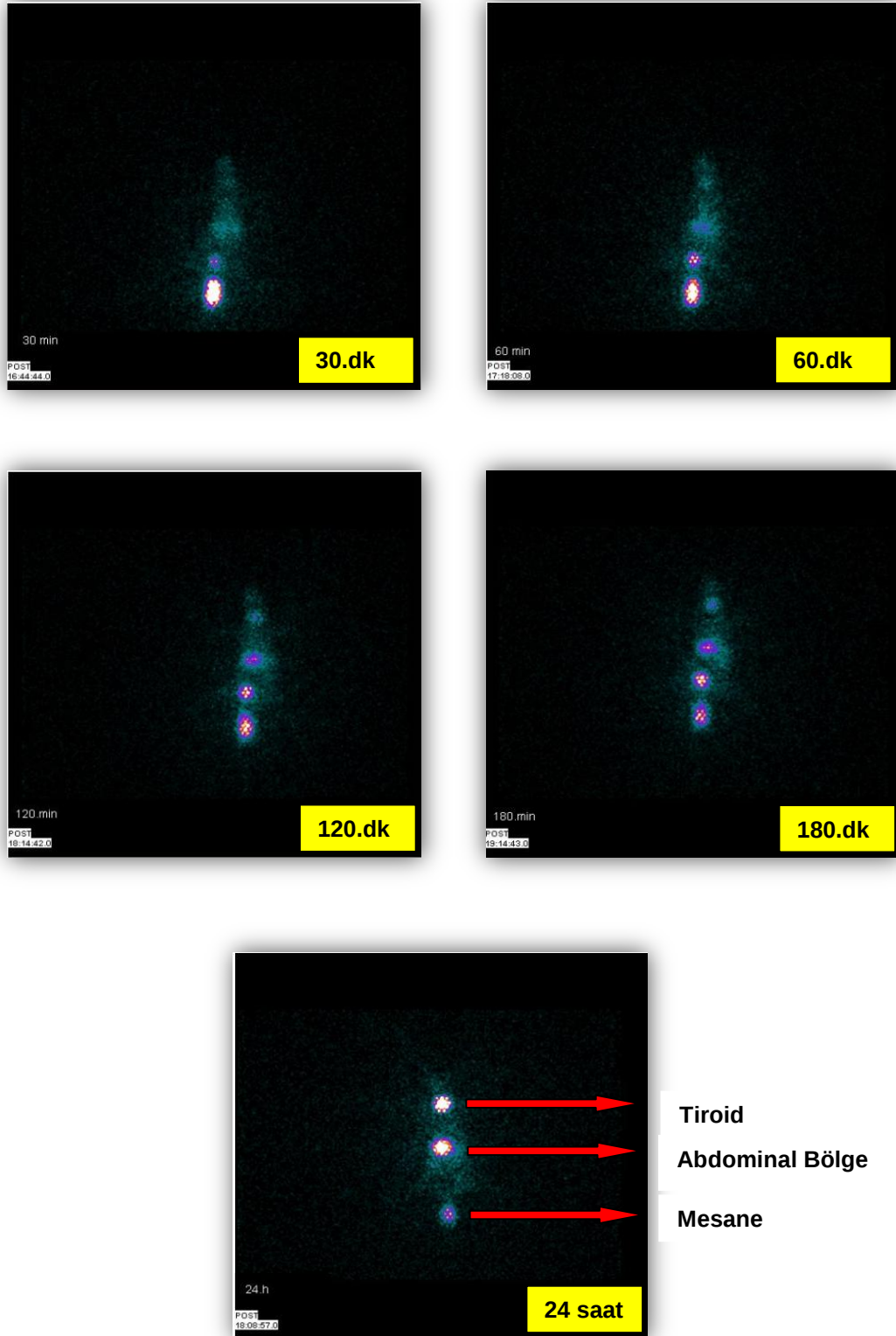
Huang ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, Galectin-3'e duyarlı, insan PC-3 prostat kanser hücrelerini hedefleyen HPMA kopolimerleri ile uyumlu bir ilaç taşıyım sisteminin tasarlanması amaçlanmıştır (Huang et al, 2012). Bu çalışmada bir anti-tümör ajanı olarak kullanılan 5-Fluoroasil model ilaç olarak seçilmiş ve Gal-3'ün karbonhidrat tanınma bölgesine spesifik olarak bağlanma özelliğine sahip olan G3-C12 bağlayıcı peptidi HPMA kopolimerlerine bağlanmıştır. Hedeflenmemiş konjugatlar ile kıyaslandığında, Gal-3-hedefli HPMA kopolimeri-(G3-C12)-5-Fu konjugatları artan bir sitotoksosite ve apoptosis-indüksiyonuna sahip olmakla beraber çok yüksek hücre içi içe-alım özelliği göstermiştir. PC-3 tümör xenograftlarını taşıyan farelere ^{131}I -HPMA ve ^{131}I -G3-C12 bileşiklerinin enjeksiyonun ardından yapılan sintigrafi çalışmalarının sonucunda, 1 saatin sonunda alınan görüntülerde radyoaktif bileşenlerin hala mesanede bölgesinden tam olarak temizlenmediği ve bu sürenin sonunda mesanede ciddi tutulumların olduğu görülmüştür.



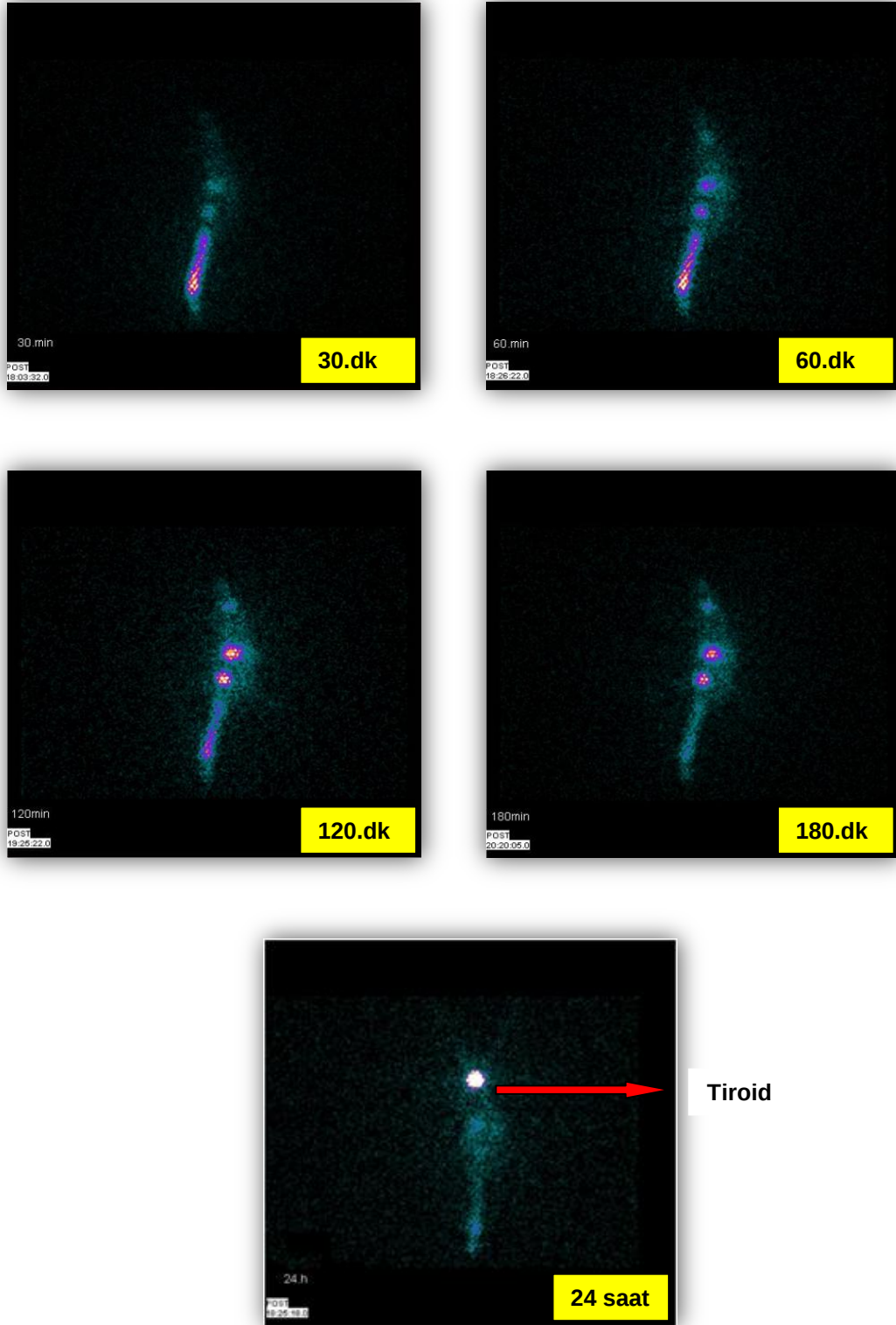
Şekil 4.27. Dişi Albino Wistar sıçana kuyruk damarı yoluyla enjekte edilen ^{131}I -mag-poli-(HEMA-APH) bileşiğine ait dinamik görüntüler



Şekil 4.28. Erkek Albino Wistar sıçana kuyruk damarı yoluyla enjekte edilen ^{131}I -mag-poli-(HEMA-APH) bileşiğine ait dinamik görüntüler



Şekil 4.29. Dişi Albino Wistar sıçana kuyruk damarı yoluyla enjekte edilen ^{131}I -mag-poli-(HEMA-APH) bileşiğine ait statik görüntüler



Şekil 4.30. Erkek Albino Wistar sıçana kuyruk damarı yoluyla enjekte edilen ^{131}I -mag-poli-(HEMA-APH) bileşiğine ait statik görüntüler

Çizelge 4.4. Dişi Albino Wistar sıçana enjekte edilen ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğine ait ROI değerleri

Polimer Dişi	30 dk	60 dk	120 dk	180 dk	24saat
Tiroid	2,97	5,79	5,6	9,11	30,74
KC	4,68	5,64	6,47	5,10	2,99
Sağ AC	2,64	2,94	2,47	2,89	2,07
Sol AC	2,54	3,53	2,61	2,78	1,94
Mesane	10,00	22,57	16,16	29,38	1,64
Mide	6,1	11,74	11,95	15,89	22,72

Çizelge 4.5. Erkek Albino Wistar sıçana enjekte edilen ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğine ait ROI değerleri

Polimer Erkek	30 dk	60 dk	120 dk	180 dk	24 saat
Tiroid	5,47	6,83	5,86	9,46	8,00
KC	6,42	5,63	6,30	6,48	7,32
Sağ AC	3,70	3,36	2,59	3,19	3,90
Sol AC	3,53	3,70	2,56	2,70	4,16
Mesane	19,94	19,61	16,76	23,87	24,56
Mide	16,69	16,40	14,45	22,18	20,15

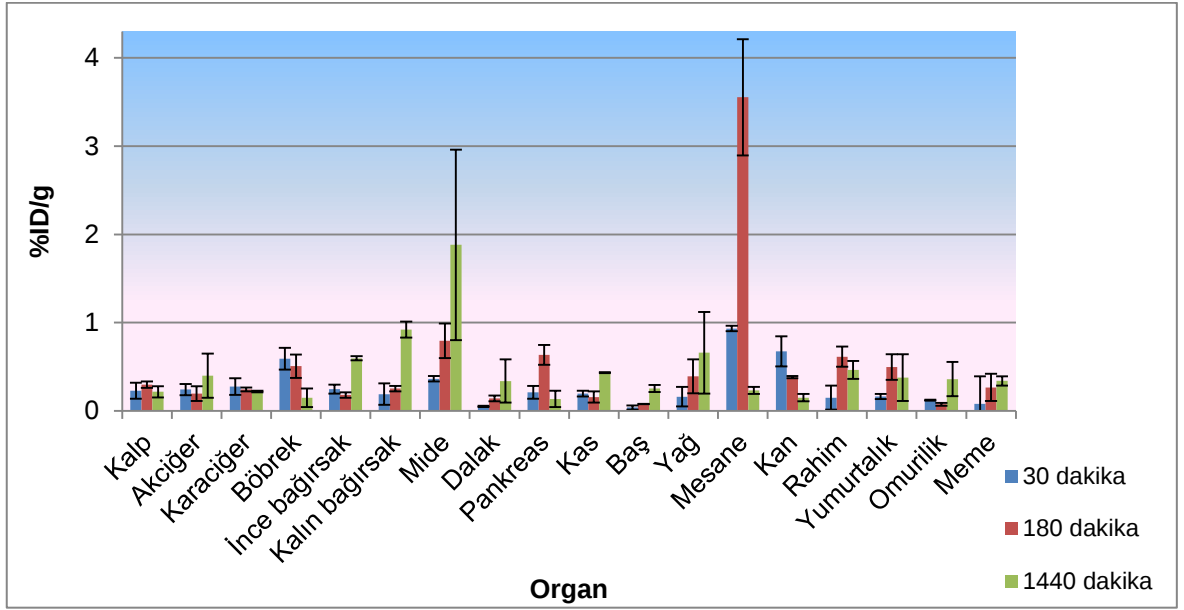
4.7. Biyodağılım Çalışmalarının Sonuçları

4.7.1. Dişi Albino Wistar Sıçanlar Üzerinde Yapılan Çalışmalar

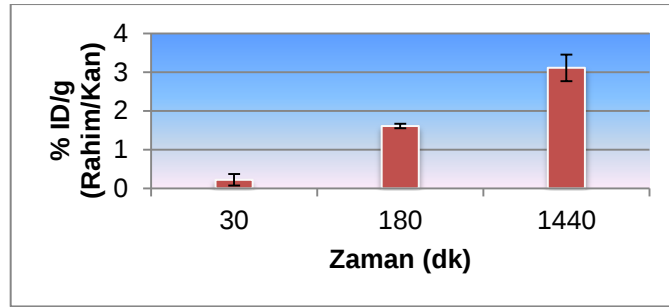
Biyodağılım çalışmalarının sonuçları, ilgili bileşiğin kuyruk damarı yolu ile enjeksiyonunu takiben 30., 180. ve 1440. dk'lar için değerlendirilerek yorumlanmıştır. Verilen bu üç zaman noktasının her biri için üçer adet sıçan kullanılmış ve sonuçlar bu üç deneyin (n=3) ortalaması olarak verilmiştir. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiği için dişi Albino Wistar sıçanlar üzerinde yapılan biyodağılım çalışmasının sonuçlarına ilişkin verilen, farklı organlara ait %ID/g değerleri Çizelge 4.6'da, ilgili zaman aralıkları dikkate alınarak hesaplanan %ID/g değişimlerini gösteren grafikler ise sırasıyla Şekil 4.31 ile Şekil 4.35 arasında verilmiştir.

Çizelge 4.6. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin dişi Albino Wistar sıçanlara enjeksiyonundan sonra geçen 30, 180 ve 1440 dk sonunda sıçanlardan çıkarılan farklı organlara ait % ID/g (organ) değerleri

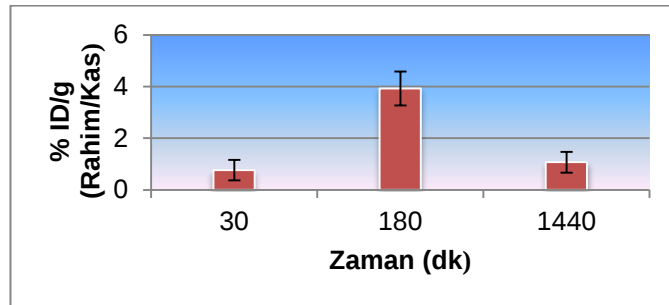
%ID/g (organ)	30 dk	180 dk	1440 dk
Kalp	0.23±0.09	0.30±0.04	0.22±0.06
Akciğer	0.24±0.06	0.20±0.08	0.40±0.25
Karaciğer	0.27±0.10	0.24±0.02	0.22±0.01
Böbrek	0.59±0.12	0.51±0.13	0.15±0.11
İnce Barsak	0.24±0.05	0.18±0.03	0.60±0.02
Kalın Barsak	0.19±0.12	0.25±0.03	0.92±0.09
Mide	0.36±0.03	0.79±0.20	1.88±1.08
Dalak	0.05±0.01	0.14±0.03	0.34±0.24
Pankreas	0.21±0.07	0.63±0.11	0.13±0.09
Kas	0.19±0.03	0.16±0.06	0.43±0.00
Baş	0.04±0.02	0.08±0.00	0.25±0.04
Yağ	0.16±0.11	0.39±0.19	0.66±0.46
Mesane	0.93±0.03	3.55±0.66	0.23±0.04
Kan	0.67±0.17	0.38±0.01	0.15±0.04
Rahim	0.15±0.14	0.61±0.11	0.46±0.10
Yumurtalık	0.16±0.03	0.50±0.14	0.38±0.27
Omurilik	0.12±0.01	0.07±0.02	0.36±0.19
Meme	0.08±0.31	0.27±0.16	0.34±0.05



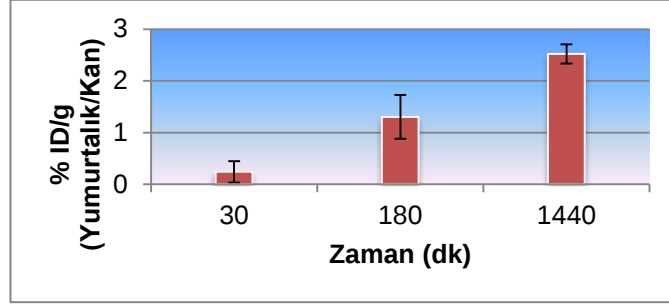
Şekil 4.31. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin dişi Albino Wistar sıçanlardaki biyodağılımı



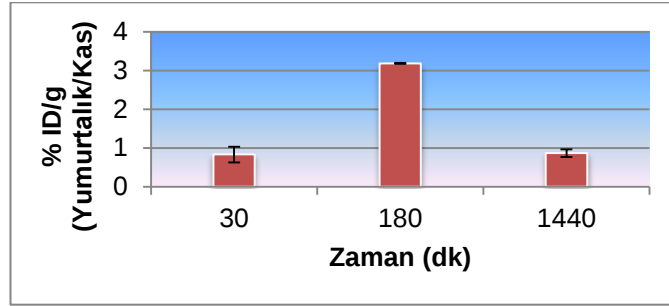
Şekil 4.32. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin rahim dokusundaki % ID/g değerinin hedef olmayan (kan) organlara oranı



Şekil 4.33. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin rahim dokusundaki % ID/g değerinin hedef olmayan (kas) organlara oranı



Şekil 4.34. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin yumurtalık dokusundaki % ID/g değerinin hedef olmayan (kan) organlara oranı



Şekil 4.35. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin yumurtalık dokusundaki % ID/g değerinin hedef olmayan (kas) organlara oranı

Şekil 4.31'de ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin dişi Albino Wistar sıçanlara enjeksiyonunu takiben 30, 180 ve 1440. dk'lar sonundaki %ID/g değerleri ve ilgili bileşiğin dişi sıçan metabolizmasında 18 farklı organ ve dokudaki (kalp, akciğer, karaciğer, böbrek, ince barsak, kalın barsak, mide, dalak, pankreas, kas, baş, yağ, mesane, kan, rahim, yumurtalık, omurilik, meme ve erkek; kalp, akciğer, karaciğer, böbrek, ince barsak, kalın barsak, mide, dalak, pankreas, kas, baş, mesane, kan, testis, prostat, omurilik) biyodağılımları görülmektedir.

Şekil 4.31'de dişi Albino Wistar sıçanlar için verilen biyodağılım grafiği incelendiğinde, ilk göze çarpan mide ve mesane'de çok yüksek tutulumların varlığıdır. Bunun yanında; böbrek, kalın barsak, pankreas, rahim ve yumurtalık'da da belirgin tutumlar görülmektedir. Çizelge 4.6'da verilen %ID/g değerleri incelendiğinde, 30., 180. ve 1440. dk'lar için midedeki aktivite değerlerinin 0.36 ± 0.03 , 0.79 ± 0.20 ve 1.88 ± 1.08 olduğu gözlenmektedir. Aynı çizelgede 30., 180. ve 1440. dk'lar için mesanedeki aktivite değerlerine bakılacak olursa, bu değerlerin sırası ile 0.93 ± 0.03 , 3.55 ± 0.66 ve 0.23 ± 0.04 olduğu görülür.

Buna göre mide'de görülen ^{131}I aktivitesi zaman ile doğru orantılı bir artış göstermiş, mesanede görülen aktivite ise 180. dk'ya kadar artmış, 180. dk'dan 1440. dk'nın sonuna kadar belirgin bir azalma göstermiştir.

Çizelge 4.6 incelendiğinde, dişi Albino Wistar sıçanlar için dalak, pankreas, omurilik ve meme'ye ait %ID/g değerlerinin incelenen üç zaman ağırlığı için diğer organlara kıyasla daha düşük olduğu görülmektedir. Bu değerler sırası ile verilen bu organlar için 30, 180 ve 1440. dk'larda (0.05 ± 0.01 , 0.14 ± 0.03 , 0.34 ± 0.24), (0.21 ± 0.07 , 0.63 ± 0.11 , 0.13 ± 0.09), (0.12 ± 0.01 , 0.07 ± 0.02 , 0.36 ± 0.19) ve (0.08 ± 0.31 , 0.27 ± 0.16 , 0.34 ± 0.05) şeklindedir. Bunun yanında verilen bu organlara kıyasla rahim ve yumurtalıktaki %ID/g değerlerinin oldukça yüksek olduğu görülür. Rahim ve yumurtalıktaki ilgili zaman aralıklarında hesaplanan %ID/g değerlerine bakıldığında bu oranların sırası ile 0.15 ± 0.14 , 0.61 ± 0.11 , 0.46 ± 0.10 ve 0.16 ± 0.03 , 0.50 ± 0.14 , 0.38 ± 0.27 şeklinde olduğu belirgindir. Bu veriler değerlendirildiğinde, ilgili organların dişi Albino Wistar sıçanlar için hedef organ olmayacakları şeklinde bir öngörüye varılabilir.

Şekil 4.32 ve 4.33'de dişi Albino Wistar sıçanlar için hedef organ olarak düşünülen rahime ait rahim/kan ve rahim/kas oranlarının %ID/g grafikleri görülmektedir. Şekil 4.32'de verilen grafik incelendiğinde rahim/kan oranı 30. dk'da 0.22 iken, 180. dk'da bu değer 1.6'ya ulaşmıştır. 1440. dk'nın sonunda rahim/kan oranı 3.11'e kadar yükselmiştir. Şekil 4.33'deki grafiğe bakıldığında rahim/kas oranı 30. dk'da 0.76 iken, 180. dk'da 3.93 değerine ulaşmıştır. 1440. dk'nın sonunda bu değer 1.07 olmuştur. Bu veriler değerlendirildiğinde özellikle rahim/kan için verilen %ID/g değerlerinin zaman ile orantılı olarak artış gösterdiği ve 1440. dk'nın sonunda en yüksek değer olan 3.11'e ulaştığı görülmüştür. Rahim/kas oranlarına bakıldığında ise %ID/g değerlerinin 180. dk'ya kadar çok önemli oranda artış gösterdiği, 180. dk'dan sonra hızlı bir şekilde azaldığı gözlenmektedir. Bu sonuçlara göre rahim/kan ve rahim/kas oranları yüksek olduğundan, ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin rahim kanseri için bir görüntüleme ve tedavi ajanı olarak kullanıma potansiyelinin olabileceği söylenebilir.

Şekil 4.34 ve 4.35'de dişi Albino Wistar sıçanlar için hedef organ olarak düşünülen yumurtalığa ait yumurtalık/kan ve yumurtalık/kas oranlarının %ID/g grafikleri görülmektedir. Şekil 4.34'de verilen grafikte 30.dk'da yumurtalık/kan oranı 0.24 iken, 180.dk'nın sonunda bu değer 1.30'a ulaşmıştır. 1440 dk'nın sonunda ise yumurtalık/kan oranı 2.51'e kadar yükselmiştir. Şekil 4.35'e bakıldığında, 30.dk'da yumurtalık/kas oranı 0.83 iken bu değer 180.dk'nın sonunda yaklaşık olarak 4 kat artarak 3.18 değerine ulaşmıştır. 1440. dk'nın sonunda yumurtalık/kas oranı azalmış ve 0.86 olmuştur. Bu veriler değerlendirildiğinde, yumurtalık/kan için verilen %ID/g değerlerinin sırası ile 30, 180 ve 1440 dk'lar boyunca zaman ile orantılı olarak artış gösterdiği, yumurtalık/kas için verilen %ID/g değerlerinin ise aynı zaman aralıkları için 180.dk'ya kadar

arttığı, 180.dk'dan sonra çok yüksek oranda azaldığı gözlenmiştir. Bu değerlendirmelerin sonucunda yumurtalık/kan ve yumurtalık/kas oranlarının oldukça yüksek olması, ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin yumurtalık kanseri için uygun bir tedavi ve görüntüleme ajanı olarak kullanılma potansiyelinin olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.6'da dişi Albino Wistar sıçanlar için verilen ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğine ait %ID/g değerleri incelendiğinde kan değerlerinin 30, 180 ve 1440. dk'lar için sırası ile 0.67 ± 0.17 , 0.38 ± 0.01 ve 0.15 ± 0.04 olduğu görülmektedir. Bu durum baz alındığında, ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin vücuttan atılım (klirens) değerlerinin yüksek olduğu sonucuna varılabilir.

Çizelge 4.6'da verilen %ID/g değerleri incelendiğinde, sırası ile 30, 180 ve 1440 dk'lar için karaciğer'e ait tutulumların 0.27 ± 0.10 , 0.24 ± 0.02 ve 0.22 ± 0.01 şeklinde olduğu görülmüştür. Bu sonuçlara bakıldığında ilgili bileşiğin dişi ve sıçanlarda karaciğer dokusunda gösterdiği tutulumların zaman geçtikçe azaldığı söylenebilir.

Çizelge 4.6'da verilen sonuçlara göre böbreklerdeki %ID/g değerlerinin dişi sıçanlar için 0.59 ± 0.12 , 0.51 ± 0.13 , 0.15 ± 0.11 olduğu görülmektedir. Bu değerler incelendiğinde ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin sıçan metabolizmasından böbrekler yolu ile hızlı bir biçimde atıldığı sonucuna varılabilir.

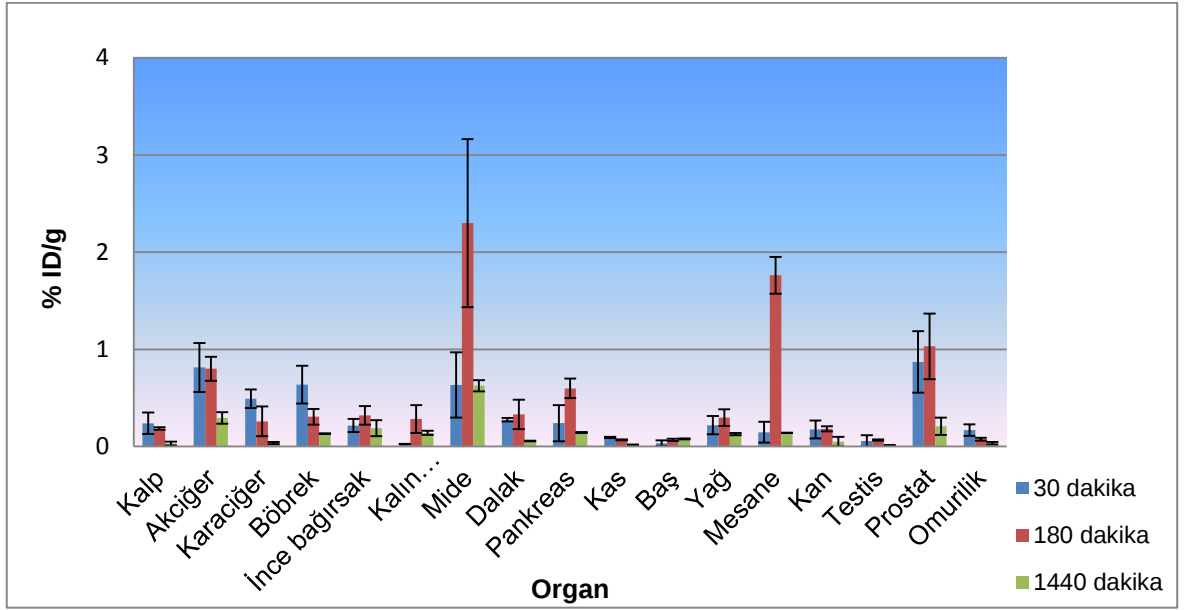
Dişi Albino Wistar sıçanlar için verilen tüm bu değerlendirmeler dikkate alındığında hedef organ/hedef olmayan organ oranları sonuçlarına göre ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin rahim ve yumurtalığa spesifik olduğu, dolayısıyla ilgili bileşiğin rahim ve yumurtalık ile ilgili hastalıkların teşhisi ve tedavisinde kullanılabilme potansiyelinin olduğu sonucuna varılabilir.

4.7.2. Erkek Albino Wistar Sıçanlar Üzerinde Yapılan Çalışmalar

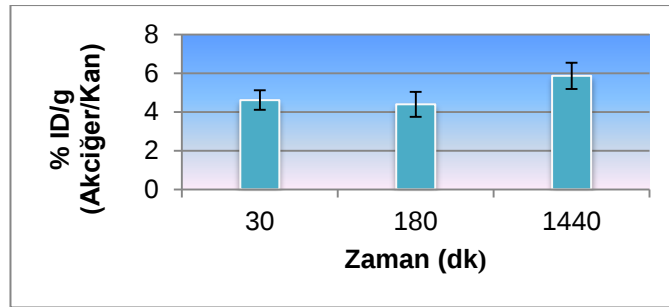
^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiği için erkek Albino Wistar sıçanlar üzerinde yapılan biyodağılım çalışmasının sonuçlarına ilişkin verilen, farklı organlara ait %ID/g değerleri Çizelge 4.7'de, ilgili zaman aralıkları baz alınarak hesaplanan %ID/g değişimlerini gösteren grafikler ise sırasıyla Şekil 4.36 ile Şekil 4.40 arasında verilmiştir.

Çizelge 4.7. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin erkek Albino Wistar sıçanlara enjeksiyonundan sonra geçen 30, 180 ve 1440 dk sonunda sıçanlardan çıkarılan farklı organlara ait % ID/g (organ) değerleri

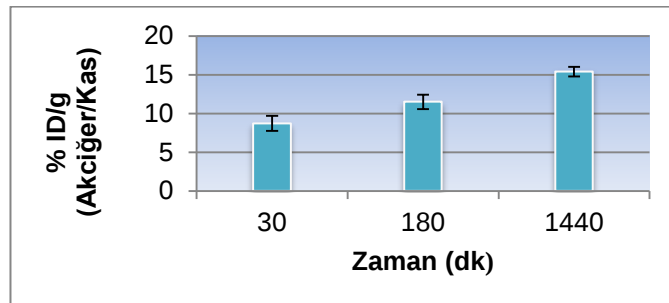
%ID/g (organ)	30 dk	180 dk	1440 dk
Kalp	0.24±0.11	0.19±0.01	0.03±0.02
Akciğer	0.81±0.25	0.80±0.12	0.30±0.06
Karaciğer	0.49±0.10	0.26±0.15	0.04±0.01
Böbrek	0.64±0.19	0.31±0.08	0.13±0.00
İnce Barsak	0.22±0.07	0.32±0.10	0.19±0.08
Kalın Barsak	0.03±0.00	0.28±0.14	0.14±0.02
Mide	0.63±0.34	2.30±0.87	0.63±0.06
Dalak	0.28±0.02	0.33±0.15	0.06±0.00
Pankreas	0.24±0.19	0.60±0.10	0.14±0.01
Kas	0.09±0.01	0.07±0.01	0.02±0.00
Baş	0.04±0.03	0.07±0.01	0.08±0.01
Yağ	0.22±0.09	0.30±0.09	0.13±0.01
Mesane	0.15±0.11	1.76±0.19	0.14±0.00
Kan	0.18±0.09	0.18±0.03	0.05±0.05
Testis	0.06±0.06	0.07±0.01	0.01±0.00
Prostat	0.87±0.32	1.03±0.34	0.21±0.09
Omurilik	0.17±0.06	0.08±0.01	0.04±0.01
Meme	0.08±0.31	0.27±0.16	0.34±0.05



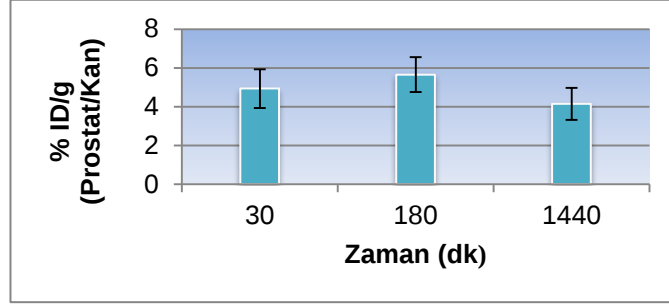
Şekil 4.36. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin erkek Albino Wistar sıçanlardaki biyodağılımı



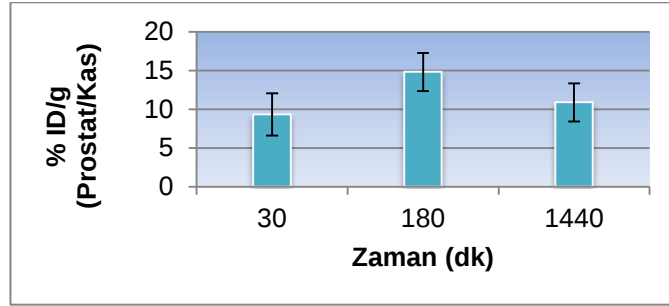
Şekil 4.37. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin akciğer dokusundaki % ID/g değerinin hedef olmayan (kan) organlara oranı



Şekil 4.38. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin akciğer dokusundaki % ID/g değerinin hedef olmayan (kas) organlara oranı



Şekil 4.39. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin prostat dokusundaki % ID/g değerinin hedef olmayan (kan) organlara oranı



Şekil 4.40. ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin prostat dokusundaki % ID/g değerinin hedef olmayan (kas) organlara oranı

Şekil 4.36'da ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin erkek Albino Wistar sıçanlara enjeksiyonunu takiben 30, 180 ve 1440 dk'lar sonundaki %ID/g değerleri ve ilgili bileşiğin erkek sıçan metabolizmasında 18 farklı organ ve dokudaki (kalp, akciğer, karaciğer, böbrek, ince barsak, kalın barsak, mide, dalak, pankreas, kas, baş, mesane, kan, testis, prostat, omurilik) biyodağılımları görülmektedir.

Şekil 4.36'da erkek Albino Wistar sıçanlar için verilen biyodağılım grafiği incelendiğinde, mide, mesane ve prostat'ta çok yüksek tutulumların varlığı kendini göstermektedir. Ayrıca, akciğer, karaciğer, böbrek, pankreas'da da önemli tutulumlar görülmektedir. Çizelge 4.7 incelendiğinde, sırası ile 30, 180 ve 1440 dk'lar için midedeki aktivite değerlerinin 0.18 ± 0.09 , 0.18 ± 0.03 ve 0.05 ± 0.05 olduğu görülmektedir. İlgili zaman aralıklarında mesanede görülen aktivite değerlerinin ise 0.15 ± 0.11 , 1.76 ± 0.19 ve 0.14 ± 0.00 şeklinde olduğu tespit edilmiştir.

Bu sonuçlara göre mide'deki ^{131}I aktivitesi 180. dk'ya kadar artmış, 180. dk'dan sonra azalmaya başlamıştır. Mesanedeki aktivite de aynı şekilde 180. dk'ya kadar artmış, 180. dk'dan sonra azalmıştır.

Çizelge 4.7'de erkek Albino Wistar sıçanlar için kalp, karaciğer, dalak ve testis'e ait %ID/g değerlerinin incelenen üç zaman aralığı için diğer organlara kıyasla daha düşük olduğu görülmektedir. Bu değerler sırası ile verilen bu organlar için 30, 180 ve 1440. dk'larda (0.24 ± 0.11 , 0.19 ± 0.01 , 0.03 ± 0.02), (0.49 ± 0.10 , 0.26 ± 0.15 , 0.04 ± 0.01), (0.28 ± 0.02 , 0.33 ± 0.15 , 0.06 ± 0.00) ve (0.06 ± 0.06 , 0.07 ± 0.01 , 0.01 ± 0.00) şeklindedir. Bunun yanında verilen bu organlara kıyasla akciğer ve prostattaki %ID/g değerlerinin oldukça yüksek olduğu görülür. Akciğer ve prostattaki ilgili zaman aralıklarında hesaplanan %ID/g değerlerine bakıldığında bu oranların sırası ile 0.81 ± 0.25 , 0.80 ± 0.12 , 0.30 ± 0.06 ve 0.87 ± 0.32 , 1.03 ± 0.34 , 0.21 ± 0.09 şeklinde olduğu belirgindir. Bu veriler değerlendirildiğinde, ilgili organların erkek Albino Wistar sıçanlar için hedef organ olmayacakları söylenebilir.

Şekil 4.37 ve 4.38'de hedef organ olarak düşünülen akciğere ait akciğer/kan ve akciğer/kas oranlarına ilişkin %ID/g değerleri verilmiştir. Bu grafikler incelendiğinde, Şekil 4.37'de 30. dk'da akciğer/kan oranının 4.61 iken 180. dk'da 4.38 olduğu tespit edilmiştir. 1440. dk'da bu oran yaklaşık olarak 1.2 kat artarak 5.86 değerini almıştır. Şekil 4.38'de verilen akciğer/kas oranlarına bakıldığında 30. dk'da oran 8.71 değerinde iken bu oran 180. dk'nın sonunda artış göstererek 11.4 değerine ulaşmıştır. Son zaman aralığı olan 1440. dk'da akciğer/kas oranı 180. dk'ya göre yaklaşık 1.35 kat artmış ve 15.4 olmuştur.

Bu verilerden açıkça görüldüğü üzere ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiği erkek Albino Wistar sıçanlarda akciğer dokularında yüksek oranda tutulum göstermiştir. Akciğer/kan ve akciğer/kas oranlarının yüksek olması ilgili bileşiğin akciğer kanseri için uygun bir radyofarmasötik ajan olarak kullanılabileceğine işarettir.

Şekil 4.39 ve 4.40'da hedef organ olarak düşünülen prostata ait prostat/kan ve prostat/kas oranlarına ilişkin %ID/g değerleri verilmiştir. Şekil 4.37'de 30. dk'da prostat/kan oranının 4.93 olduğu görülmektedir. Bu değer 180. dk'nın sonunda 5.65'e yükselmiştir. Son zaman aralığında (1440. dk'da) prostat/kan oranı yaklaşık olarak 1.35 kat azalmış ve 4.14 olmuştur. Şekil 4.40'a bakıldığında 30. dk'da prostat/kas oranının 9.33 olduğu görülür. Bu oran 180. dk'nın sonunda yaklaşık 1.6 kat artarak 14.8 değerine ulaşmıştır. 1440. dk'nın sonunda ise prostat/kas oranı azalmış ve 10.8 olmuştur. Bu veriler değerlendirildiğinde ilgili bileşiğin prostat dokularında yüksek oranda tutulum gösterdiği açıkça görülmektedir.

Bu sonuç baz alındığında, ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin prostat kanseri teşhisi ve tedavisinde bir radyofarmasötik ajan olarak kullanılabileceği söylenebilir.

Çizelge 4.7'de erkek Albino Wistar sıçanlar için verilen %ID/g değerlerine bakıldığında, sırası ile 30, 180 ve 1440 dk'lar için midedeki aktivite değerlerinin 0.18 ± 0.09 , 0.18 ± 0.03 ve 0.05 ± 0.05 olduğu görülmektedir. Bu durum baz alındığında, ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin vücuttan atılım (klirens) değerlerinin yüksek olduğu sonucuna varılabilir.

Aynı çizelgede erkek Albino Wistar sıçanlar için ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğine ilişkin verilen %ID/g değerleri incelendiğinde, sırası ile 30, 180 ve 1440 dk'lar için karaciğer'e ait tutulumların 0.49 ± 0.10 , 0.26 ± 0.15 ve 0.04 ± 0.01 şeklinde olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlara bakıldığında ilgili bileşiğin erkek sıçanlarda karaciğer dokusunda gösterdiği tutulumların zaman geçtikçe azaldığı söylenebilir.

Yine Çizelge 4.7'de erkek Albino Wistar sıçanlar üzerinde yapılan biyodağılım sonuçlarına göre böbrekler için verilen %ID/g değerlerinin 0.64 ± 0.19 , 0.31 ± 0.08 , 0.13 ± 0.00 şeklinde olduğu görülmektedir. Bu değerler incelendiğinde ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin sıçan metabolizmasından böbrekler yolu ile hızlı bir biçimde atıldığı sonucuna varılabilir.

Erkek Albino Wistar sıçanlar için verilen sonuçlar dikkate alındığında hedef organ/hedef olmayan organ oranlarına göre ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin akciğer ve prostata spesifik olduğu, dolayısıyla ilgili bileşiğin akciğer ve prostat ile ilgili hastalıkların teşhisi ve tedavisinde kullanılabileceği ifade edilebilir.

4.7.3 Sonuçların Literatür İle İlişkilendirilmesi

Gerek dişi gerekse erkek Albino Wistar sıçanlar için mesanede yüksek aktivitelerin görülmüş olması esasen beklenen bir durumdur. Bu durum temel olarak ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin üriner sistem yolu ile atıldığına bir göstergesidir. Çünkü radyoaktif bileşenler böbreklerde süzülerek mesaneye gelmekte buradan da sıçan metabolizmasından idrar yolu ile atılmaktadır. Aynı zamanda gerek dişi gerekse erkek Albino Wistar sıçanlar için mesanedeki aktivite değişimleri benzerlik göstermiştir.

Lloyd ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, düşük moleküler ağırlıktaki bir poliaktid kopolimeri ^{125}I ile işaretlenmesine imkan tanınabilmesi amacı ile bir *p*-metoksifenil grubu ile reaksiyona sokulmuştur. Bunun yanında yine düşük moleküler ağırlıkta, *p*-metoksifenil yapısı ile bağlanmış poliaktid-poliyeten glikol kopolimerleri sentezlenmiştir. Polimerizasyona uğratılan gruplar organik bir ortamda ^{125}I ile başarılı bir biçimde işaretlenmiştir.

Radyoişaretli homopolimer ve kopolimerler erkek sıçanlara damardan, periton kesesinden ve deri altı yolları ile enjekte edilmiş, bu kademeden sonra biyodağılım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Radyoişaretli kopolimerlerin enjeksiyonundan 5 dk, 60 dk, 300 dk ve 1440 dk'lar sonunda temel organlara (kalp, akciğer, karaciğer, dalak, böbrek, mide, ince ve kalın barsak, mesane) ait radyoaktivite değerleri belirlenmiştir. Bu çalışmaların sonucunda mesanede 300. dk'ya kadar aktivitede bir artışın olduğu, 300. dk'dan sonra mesanedeki tutulumun azalmaya başladığı görülmüştür (Lloyd et al, 2000).

Sung ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, diyabet hastalarının tedavisinde kullanılan bir ajan olan exendin-4 molekülünün tedavi etkinliğinin, hastalara sık olarak enjekte edilememesinden ötürü sınırlı kaldığı bildirilmiştir. Bu etkinliğin arttırılabilmesi amacı ile vücut içerisine alınabilen, kapsüllenmiş, pH'a duyarlı nanopartiküller kullanılarak, ağızdan vücuda alınabilen yeni nesil exendin-4 molekülleri tasarlanmıştır. Exendin ile yüklenen nanopartiküller ¹²³I radyonüklidi ile iodojen yöntemi kullanılarak işaretlenmiş ve sıçanlara oral olarak verilmiştir. Radyoişaretli nanopartiküllerin oral olarak verilmesinin ardından ilgili ilacın biyodağılımı, dinamik bir dual izotop SPECT/CT tarayıcı kullanılarak incelenmiştir. Yapılan çalışmaların sonunda ilgili ¹²³I-exendin-4 bileşiğinin yemek borusu, mide ve ince barsak'ta önemli ölçüde tutulum gösterdiği daha sonra sistemik sirkülasyon yolu ile metabolize olarak mesane yolu ile vücuttan atıldığı tespit edilmiştir. ¹²³I-exendin-4'ün sıçanlara verilmesinden kısa bir süre sonra mide'de tutulum göstermeye başladığı görülmüştür. Bunun yanında ilgili işaretli bileşik üriner sistem yolu ile sıçan metabolizmasından atılmış ve 24 saatin sonunda bile mide'de ¹²³I aktivitesi tam olarak temizlenmemiştir. (Sung et al, 2011).

Gerçekleştirdiğimiz çalışmada ¹³¹I-mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinin Wistar sıçanlara enjekte edilmesinden kısa bir süre sonra mide'de tutulum göstermesi, ilgili işaretli bileşiğin üriner sistem yolu ile metabolizmadan atılması ve 24 saatin sonunda mide'de radyoyod aktivitesinin tam olarak temizlenmemiş olması Sung ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği bu çalışmayı destekler niteliktedir.

Avcıbaşı ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen diğer bir çalışmada, kanser tedavisinde kemoterapik ajan olarak yaygın bir biçimde kullanılan Bleomycin izomerleri (BLM A2 ve BLM B2) ¹³¹I ile işaretlenmiş ve bu izomerlerin radyofarmasötik potansiyelleri erkek Albino Wistar sıçanlar kullanılarak *in vivo* koşullar altında incelenmiştir. Bu çalışmada, mide ve mesanede çok yüksek radyoyod aktivitesi gözlenmiştir. Buna göre, mide ve mesanede görülen yüksek tutulumların radyoişaretli bileşikten kopan ¹³¹I'den kaynaklandığı sonucuna varılmıştır (Avcıbaşı et al, 2010).

Bu değerlendirme dikkate alındığında Albino Wistar sıçanlarda mide ve mesane'de yüksek tutulumların görülmesi, ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH) bileşiğinden kopan veya bağlanmaya katılmayan ^{131}I 'den kaynaklandığı şeklinde yorumlanmıştır.

Avcıbaşı ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada Bleomycin'in glukuronid konjugatı olan BLMG enzimatik olarak sentezlenmiş ve iodojen yöntemi kullanılarak ^{131}I radyonüklidi ile işaretlenmiştir. Gerçekleştirilen bu çalışmada, işaretli bileşik tümörlü Balb/C dişi farelere ve erkek Albino Wistar sıçanlara enjekte edilerek biyodağılım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Biyodağılım çalışmalarının sonucunda işaretli bileşiğin Albino Wistar sıçanlarda prostat, kalın barsak ve omurilik'te tutulum gösterdiği tespit edilmiştir.

Bunun yanında, tümörlü farelerde gerçekleştirilen xenografi çalışmalarının ^{131}I -BLMG bileşiğinin enjeksiyonu takiben 30 dk içerisinde tümörlü bölgelerde oldukça yüksek tutulum gösterdiği görülmüştür. Bu sonuçlara göre, ^{131}I -BLMG bileşiğinin nükleer tıp uygulamalarında özellikle kolon kanserinin tedavisinde uygun bir radyofarmasötik olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (Demiroğlu et al, 2012).

Ghandehari ve ekibi tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, sağlıklı ve DU145 prostat tümörü oluşturulmuş nude farelerde ^{125}I ile işaretlenmiş HPMa kopolimer-AH-GDM konjugatlarının biyodağılımları incelenmiştir. Gerçekleştirilen bu çalışmada, sağlıklı farelerde 60 mg/kg ilaç ekivalent polimer dozları kan yolu ile çok hızlı bir biçimde vücuttan atılmış ve diğer tüm organlarda azalan birikimler göstermiştir (Ghandehari et al, 2009). Gerçekleştirdiğimiz çalışmada radyo işaretli bileşik için bulunan klirens değerlerinin bu sonuçlar ile uyum içerisinde olduğu tespit edilmiştir.

Kanser tedavisi ve teşhisinde etkili bir radyofarmasötik olarak görev alması beklenen ve bu amaçla tasarlanan bir ilacın, özellikle karaciğerde diğer organlara göre daha az tutulum göstermesi beklenir. Karaciğer vücut için son derece önemli bir organdır ve bu bölgede yüksek radyasyon birikiminin gerçekleşmesi hedef organ olarak belirlenen organların görüntülenmesinde ve tedavi edilmelerinde olumsuz etkiler meydana getirebilmektedir. Bu nedenle karaciğerde düşük ^{131}I aktivitesinin görülmesi, tasarlanan radyofarmasötiğin kanser tedavi veya teşhisinde daha yüksek etkinlik gösterebileceği anlamına gelmektedir. Çizelge 4.6 ve 4.7'deki karaciğer'e ait %ID/g değerlerine bakıldığında, dişi ve erkek sıçanların her ikisinde de bu değerlerin yüksek olmadığı görülmüştür. Dolayısıyla ilgili bileşiğin yukarıda verilen bilgiler ışığında iyi bir radyofarmasötik özellik gösterebileceği söylenebilir. Bu bağlamda, karaciğer metastazları ile ilgili yapılan çalışmalarda, bu organdaki tümörlerin tedavisinde radyoterapinin kullanımının palyatif tedavi ile sınırlı kaldığı bildirilmiştir.

Bunun temel nedeni, karaciğerin radyasyona maruz bırakılmasının ardından radyasyon toleransının 30 ile 35 Gy ile sınırlı kalması olarak açıklanmıştır (Ingold et al, 1965; Phillips et al, 1954). Bu değerlendirme baz alınarak karaciğerin radyasyona karşı olan toleransının çok düşük olduğu ifade edilmiştir (Ingold et al, 1965; Phillips et al, 1954).

Stillwagon ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, %70'i karaciğer kanseri hastası olan 135 hasta 3 Gy'lik günlük radyasyon dozları kullanılarak 7 gün boyunca toplam 31 Gy'lik radyasyona maruz bırakılmıştır. Bunun yanında hastalara kemoterapi de uygulanmıştır. Bu hastalar ikinci kademedeki 59 hastalık gruplara ayrılmışlar ve bu kez toplam 24 Gy'lik radyasyon dozuna maruz bırakılmışlardır. Hastaların verdiği tepkiler ve radyasyon dozları bilgisayarlı tomografi kullanılarak belirlenmiştir. Yapılan tüm çalışmaların sonucunda karaciğerin radyasyon karşı çok düşük tolerasyon değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir (Stillwagon et al, 1989).

Lammers ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen diğer bir çalışmada % 6.4 gemcitabine, % 5.7 doxorubicin ve % 1.0 (mol) tirosinamid içeren HPMA polimer-ilaç konjugatları sentezlenmiştir. Elde edilen ürün olan poli(HPMA-co-MA-GFLG-gemcitabine-co-MA-GFLG-doxorubicin-co-MA-TyrNH₂) P-Gem-Dox olarak adlandırılmış ve bu kopolimer *in vitro* koşullarda kanserli hücreleri seçici olarak öldürme özelliği göstermiştir. P-Gem-Dox molekülü gemcitabine ve doxorubicin'in toksisitesinde bir artışa neden olmadan etkinliğinde bir yükselmeye neden olmuştur. Serbest kopolimer ve ilaç ile yüklenmiş kopolimer ¹³¹I radyonüklidi ile iodojen yöntemi kullanılarak işaretlenmiş ve ilgili kopolimerler erkek Kopenhag sıçanlara damar yolu ile enjekte edilerek biyodağılım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilen biyodağılım çalışmalarının sonucunda ¹³¹I-P-Gem-Dox ve ¹³¹I-p(HPMA) bileşiklerinin karaciğerde düşük tutulumlar gösterdikleri görülmüştür (Lammers et al, 2009).

Bölüm 4.6'da ifade edildiği üzere Lammers tarafından yapılan çalışmalarda poli(HPMA) ile poli(HEMA) moleküllerinin çok yakın kimyasal özelliklere sahip olduğu ifade edilmiştir (Lammers, 2009). Bu bilgi dikkate alındığında ¹³¹I ile işaretli poli(HPMA) molekülü için erkek Kopenhag sıçanlarda karaciğerde düşük aktivitelerin gözlenmiş olması gerçekleştirdiğimiz çalışmanın sonuçlarını destekler niteliktedir.

Karaciğerin yanında böbrekler de vücut için çok önemli bir organdır ve kanser tedavisinde böbreklerin diğer organlara kıyasla daha düşük radyasyon dozu alması istenmektedir. Bu açıdan bakıldığında biyodağılım çalışmalarında böbreklerin de yorumlanması ve sonuçların değerlendirilmesi son derece önem taşımaktadır.

Bu değerlendirmeye göre Çizelge 4.6 ve Çizelge 4.7 incelendiğinde dişi ve erkek sıçanlar için böbreklere ilişkin verilen %ID/g değerlerinin son derece düşük olduğu gözlenmiştir. Bu sonuç dikkate alındığında, ^{131}I radyonüklidi ile işaretli mag-poli(HEMA-APH) molekülünün böbreklerde düşük radyasyon hasarına sebebiyet verdiği ifade edilebilir.

Yapılan bir çalışmada Hoes ve arkadaşları poli(α -L-glutamik asit) (PGA) ve poli(N-(2-hidroksietil)-L-glutamin) (PHEG) polimerleri ile insan monoklonal antikor immunoglobulin M (IgM)'nin konjugasyonunu sağlamış ve radyo işaretli polimerler kullanılarak fareler üzerinde biyodağılım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. İlk kademedeki IgM ^{131}I ile işaretlenmiştir. Bu kademedeki polimerler ^{125}I radyonüklidi ile işaretlenmiş ve bunun sonucunda ^{125}I -PGA ve ^{125}I -PHEG bileşikler elde edilmiştir. Gerçekleştirilen biyodağılım çalışmaları sonucunda ^{125}I -PHEG bileşiğinin ^{125}I -PGA bileşiğine göre daha düşük klirens sahip olduğu, ^{125}I -PGA bileşiğinin karaciğer ve dalakta tutulduğu ve radyo işaretli polimerlerin her ikisinin de böbreklerde düşük tutulum gösterdikleri görülmüştür.

Hsiue ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada hidrofobik özellik gösteren poli(HEMA) polimeri ile bir Teknesyum kompleksi, mPEG-b-P(HEMA-co- $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3$ histidin-PLA farklı polimerizasyon yöntemleri ile sentez edilmiş ve sentezlenen kompleks [$^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3$] $^+$ koru ile reaksiyona sokulmuş ve böylelikle $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ile işaretlenmiştir. Biyodağılım çalışması için, insan boyun adenokarsinoma hücreleri Balb/c farelere deri altı enjeksiyonu ile aktarılmıştır. İki farklı türdeki nanopartiküllerin tutulumları tumor bölgesinde, karaciğerde, dalakta ve akciğerde incelenmiştir. Sonuçlar, tumor bölgesinde biriken hegzagonal nanopartiküllerin küresel nanopartiküllere kıyasla daha yüksek olduğunu göstermiştir. Buna ilaveten, hegzagonal nanopartiküllerin karaciğer, dalak ve akciğerde daha yüksek oranda tutulum gösterdiği görülmüştür (Hsiue et al, 2011).

Durner ve arkadaşları, *in vivo* koşullarda poli(HEMA) ve ^{14}C ile işaretli poli(HEMA)'nın farmokokinetik toksisitesi ve biyodağılımını inceleyen bir çalışma gerçekleştirmiştir. Bu çalışmada ^{14}C -HEMA, erkek ICR (CD-1) farelere oral olarak verilmiş ve deri altından enjeksiyonla vücuda alınmıştır. ^{14}C ile işaretli polimerin oral olarak vücuda verilmesinden sonra en yüksek radyoaktif karbon mide, karaciğer, kan, beyin ve akciğerde tutulum gösterdiği görülmüştür. ^{14}C -HEMA'nın oral olarak vücuda verilmesinden sonra, midedeki tutulumun diğer organlara göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Durner et al, 2009).

Reichl ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, ^{14}C ile işaretlenmiş poli(HEMA)'nın Gine domuzlarındaki tutulumu, biyodağılımı ve vücuttan atılımı *in vivo* koşullarda incelenmiştir. Bu bağlamda, ^{14}C -HEMA izleyicisi ile işaretlenmiş spesifik miktarlardaki poli(HEMA), bir gastrik tüp yolu ve deri altı enjeksiyonu ile domuz metabolizmasına alınmıştır.

Yapılan bu çalışmada karaciğerde diğer organlara kıyasla çok daha yüksek ^{14}C aktivitesi gözlemlenmiştir (Reichl et al, 2002).

Prokes ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada asetil-HEMA molekülü ^3H ile orijinal bir yöntem kullanılarak işaretlenmiş ve hidrojene edilmiş ürün elde edilmiştir. Her iki bileşiğin de biyodağılımı ve vücuttan atılımı sıçanlar metabolizmasında 70 saat boyunca incelenmiştir. İncelenen dokulardaki biyodağılım (karaciğer, dalak, böbrek, akciğer, kas, kalp ve deri) neredeyse aynı iken, asetil-HEMA molekülünün ve hidrojene edilmiş ürünün vücuttan atılımı farklılık göstermiştir. 24 saat içerisinde asetil-HEMA tercihen idrar yolu ile vücuttan atılırken, hidrojenasyona uğramış olan ürün dışkı yolu ile vücuttan atılmıştır. Buna ilaveten, daha sonraki kısım uygulama noktası olan kas üzerinden daha hızlı bir şekilde absorbe edilmiştir. Tüm dokularda farklı aktivite birikimleri gözlemlenmiştir (Prokes et al, 1996).

Kukan ve arkadaşları, ^{14}C ile işaretli termopolimer nanopartiküller (metilmetakrilat, 2-hidroksietil metakrilat ve bütillakrilat) erkek Wistar sıçanlara ağız yolu ile verilmiş ve bu polimerlerin sıçan metabolizmasındaki davranışları incelenmiştir. Plazmadaki ^{14}C miktarları, idrardaki aktivitenin atılımı ve işaretli organlardaki çökeltiden de anlaşıldığı üzere, bu nanopartiküllerin sistemik sirkülasyona ulaşabildiği görülmüştür. ^{14}C dozunun en az % 2'sinin gastrointestinal sistemden absorbe edildiği gözlenmiştir. Radyoaktif nanopartiküller baskın olarak dışkı yolu ile vücuttan atılmıştır. Gastrointestinal bölge, karaciğer ve gövdedeki radyoaktivite miktarı nanopartiküllerin vücuda verilmesinden sonra 7. günde tespit limitinin altına düşmüştür. Buna rağmen çalışmanın 7. gününden sonra dalak ve akciğerde düşük miktarda bir radyoaktivite gözlenmiştir (Kukan et al, 1989).

Schuster ve arkadaşları yaptığı bir çalışmada, kültürlenmiş tavşan böbrek epitelyal hücreleri 24 saat süresince HEMA, EG ve DAG-kinaz enziminin bilinen inhibitörleri ile muamele edilmiş daha sonra sentetik diasilgliserol varlığında 2 saat boyunca $^{32}\text{P}[\text{O}_4^-]$ ile işaretlenmiştir. Diğer kültürler 24 saat süresince ^3H -oleik asit ile işaretlenmiş ve daha sonra ilave bir 24 saat süre boyunca HEMA ile reaksiyona sokulmuştur. Hücreler daha sonra kesilerek çıkarılmış ve yağ dokuları ayrılmıştır. Radyoaktif yağ dokuları ince tabaka kromatografisi ile ayrılmış, otoradyografi ile lokalize edilmiş ve bu dokuların miktarı cpm/ug protein olarak ölçülmüştür. HEMA ile muamele edilen hücre kültürleri homojenize edilmiş ve DAG-kinaz aktivitesi ölçülerek cpm/ug protein olarak ifade edilmiştir. Veriler ANOVA ve Newman-Keuls Çoklu Kıyaslama Testleri ile analiz edilmiştir. Bu çalışmanın sonunda kontrol kültürleri ile kıyaslandığında, fospatidik asit fraksiyonunda HEMA ve DAG-kinaz inhibitörlerine maruz bırakılan kültürlerin azaltılmış radyoaktivite inkorporasyonu gösterdiği görülmüştür. Bu sonuçlara göre, HEMA ile reaksiyona sokulan hücrelerdeki DAG-kinaz aktivitesinin ölçümleri azalan bir enzim aktivitesini işaret etmektedir (Schuster et al, 2000).

Yakın zamanda Huang ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, bir antitümör ajanı olan 5-Fluorouracil (5-Fu) model ilaç olarak seçilmiş ve Galectin-3'e (Gal-3) spesifik olarak bağlanan bir bağlayıcı peptid poli(HPMA) kopolimerine hedefleyici bir parça olarak bağlanmıştır. Bu çalışmada, HPMA öncül maddeleri (hedeflenmemiş ve Gal-3 hedeflenmiş kopolimerler) tirozinamid grupları yolu ile NBS hidrokarbonilasyon yöntemi kullanılarak ¹³¹I ile işaretlenmiştir. Sonraki kademede, işaretli poli(HPMA) ve P-(G3-C12), PC-3 tümör xenograftlı 6 – 8 haftalık Balb/C farelere damardan enjekte edilmiştir. Damardan enjeksiyonun üzerinden 24, 72 ve 120 saat geçmesinden sonra farenin dokuları ve ana organları kesilerek çıkartılmış ve biyodağılım çalışması yapılmıştır. Biyodağılım sonuçlarına göre, P-(G3-C12)'nin tümör, böbrek, karaciğer ve kalpteki tutulumlarının poli(HPMA)'ya göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Huang et al, 2012).

4.8. İstatistiksel Analiz Sonuçları

Biyodağılım sonucu elde edilen verilerin istatistiksel analizleri (Univariate Variance Analyses) SPSS 16.0 programı kullanılarak yapılmıştır. ¹³¹I-mag-poli(HEMA-APH) bileşiği için erkek ve dişi Albino Wistar sıçanlar üzerinde yapılan biyodağılım sonucu organlar arasında Pearson korelasyonu uygulanmıştır. Pearson korelasyonuna göre işaretli bileşiğin tutulumu ile organlar arasında bir ilişki tanımlanmaktadır. Anlamlılık düzeyi (P) değeri ile ifade edilecek olursa $P < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir (korelasyon analizi %95'lik güven aralığında gerçekleştirilmiştir).

Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.9.'da varyans analizi sonucuna göre dişi ve erkek Albino Wistar sıçanlar ile yapılan biyodağılım çalışmalarında bazı organlara ait P ve r (korelasyon katsayısı) değerleri, Çizelge 4.10 ve 4.11'de dişi ve erkek Albino Wistar sıçanlar üzerinde yapılan biyodağılım çalışmaları sonucunda organların birbiri ile korelasyon analizine ait P değerleri verilmiştir. Çizelge 4.12.'da Pearson korelasyonuna göre dişi ve erkek Albino Wistar sıçanlar ile yapılan biyodağılım çalışmalarında cinsiyete göre anlamlılık gösteren bazı organlara ait P değerleri verilmiştir.

Biyodağılım çalışmalarında elde edilen sonuçlar Pearson korelasyonuna göre değerlendirildiğinde erkek sıçanlar için karaciğer, böbrek, mide, pankreas, kas, mesane, prostat ve omurilikteki tutulumlarda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık söz konusudur. Dişi sıçanlarda ise böbrek, kalın barsak, mide, dalak, pankreas, kas, baş, mesane, omurilik ve yumurtalıktaki tutulumlarda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık söz konusudur.

Çizelge 4.8. Pearson korelasyonuna göre dişi Albino Wistar sıçanlar ile yapılan biyodağılım çalışmalarında bazı organlara ait P ve r değerleri

Organ	P	r
Böbrek	0,004	0,842
Kalın barsak	0,000	0,939
Mide	0,015	0,753
Dalak	0,033	0,679
Pankreas	0,000	0,943
Kas	0,000	0,957
Baş	0,000	0,968
Mesane	0,000	0,977
Omurilik	0,039	0,660
Yumurtalık	0,001	0,901

Çizelge 4.9. Pearson korelasyonuna göre erkek Albino Wistar sıçanlar ile yapılan biyodağılım çalışmalarında bazı organlara ait P ve r değerleri

Organ	P	r
Karaciğer	0,003	0,848
Böbrek	0,006	0,823
Mide	0,002	0,866
Pankreas	0,011	0,781
Kas	0,000	0,989
Mesane	0,001	0,916
Prostat	0,004	0,837
Omurilik	0,008	0,800

Çizelge 4.10. Dişi Albino Wistar sıçanlar üzerinde yapılan deney sonuçlarının Korelasyon analizi ile değerlendirilmesi; (organların birbiri ile korelasyon analizine ait P değerleri)

Organ-Organ	P
Böbrek-Kalın barsak	0,001
Böbrek-Mide	0,043
Böbrek-Dalak	0,046
Böbrek-Kas	0,002
Böbrek-Kan	0,025
Böbrek-Omurilik	0,017
Mide-Dalak	0.003
Mide-Kas	0.014
Mide-Baş	0.007
Mide-Yağ	0.009
Mide-Kan	0.044
Dalak-Kas	0,029
Dalak-Baş	0,027
Dalak-Yağ	0,000
Dalak-Omurilik	0,006
Pankreas-Kas	0,048
Pankreas-Mesane	0,000
Pankreas-Yumurtalık	0,003
Mesane-Yumurtalık	0,000
Karaciğer-Kan	0,043
Kas-Baş	0,001
Kas-Mesane	0,030
Kas-Omurilik	0,033
Baş-Omurilik	0,017
Yağ-Omurilik	0,031
Kalın barsak-Böbrek	0,001
Kalın barsak-Mide	0,003
Kalın barsak-Dalak	0,004
Kalın barsak-Kas	0,001
Kalın barsak-Yağ	0,030

Çizelge 4.11. Erkek Albino Wistar sıçanlar üzerinde yapılan deney sonuçlarının Korelasyon analizi ile değerlendirilmesi; (organların birbiri ile korelasyon analizine ait P değerleri)

Organ-Organ	P
Kalp-Akciğer	0,012
Kalp-Dalak	0,026
Kalp-Kas	0,023
Kalp-Kan	0,012
Kalp-Omurilik	0,025
Kalp-Prostat	0,004
Akciğer-Böbrek	0,038
Akciğer-Kan	0,010
Akciğer-Prostat	0,033
Akciğer-İnce barsak	0,034
Akciğer-Omurilik	0,020
Karaciğer-Prostat	0,018
Karaciğer-Böbrek	0,001
Karaciğer-Kas	0,001
Böbrek-Kas	0.002
Böbrek-Kan	0.013
Mide-Mesane	0.008
Mide-Prostat	0.048
Dalak-Testis	0,010
Dalak-Prostat	0,003
Pankreas-Mesane	0,009
Prostat-Pankreas	0,049
Kas-Testis	0,040
Kas-Prostat	0,006
Kas-Omurilik	0,003
Testis-Prostat	0,014
Kan-Omurilik	0,006
Yağ-Prostat	0,026
İnce Barsak-Kan	0,024
Kalın Barsak-Mide	0.014

Çizelge 4.12. Pearson korelasyonuna göre dişi ve erkek Albino Wistar sıçanlar ile yapılan biyodağılım çalışmalarında cinsiyete göre anlamlılık gösteren bazı organlara ait P ve r değerleri

Organ	P	r
Kalp	0,035	0,496
Kalın barsak	0,000	0,935
Kas	0,000	0,981
Baş	0,000	0,939
Yağ	0,030	0,654
Mesane	0,000	0,971
Omurilik	0,002	0,775

5.0. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Yapılan tüm çalışmaların sonucuna göre;

1. Fonksiyonel monomer olarak kullanılan APH'nin kimyasal sentezi gerçekleştirilmiş ve sentezlenen bileşiğe ilişkin yapı karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalar, APH'nin kimyasal yapısını tam anlamı ile desteklemektedir.
2. Mag-poli(HEMA-APH) nanopolimeri, sürfaktant içermeyen emülsiyon polimerizasyonu yöntemi ile başarılı bir şekilde sentezlenmiştir. Sentezlenen nanopolimerin karakterizasyonu SEM, EDX, AFM, ESR ve Zeta Boyut analiz yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yapılan karakterizasyon çalışmaları nanopolimere ilişkin verilen muhtemel kimyasal yapıyı destekler niteliktedir.
3. Sentezlenen nanopolimer iodojen yöntemi kullanılarak ^{131}I radyonüklidi ile işaretlenmiştir. Buna ilişkin bağlanma verimi bağlanma verimi yaklaşık %90 olarak bulunmuştur.
4. Gerçekleştirilen lipofilite ve stabilite çalışmaları sonucunda nanopolimerin deneysel lipofilite değerinin 0.12 ± 0.02 olduğu, stabilitesinin ise 24 saat boyunca kararlı olduğu tespit edilmiştir.
5. Sintigrafi çalışmalarının sonucunda işaretli bileşiğin özellikle mide, karaciğer, mesane ve akciğerde tutulum gösterdiği ve 24 saat içerisinde metabolize olduğu tespit edilmiştir.
6. Biyodağılım çalışmalarının sonucunda dişi Albino Wistar sıçanlarda rahim ve yumurtalığın, erkek sıçanlarda ise akciğer ve prostat'ın hedef organ olabileceği sonucuna varılmıştır. Aynı zamanda biyodağılım çalışmalarının sintigrafi çalışmaları ile uyum içerisinde olduğu görülmüştür.

Elde edilen tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde, özellikle üzerinde çalışılan nanopolimerin ilk defa sentezlenmiş olması ve bununla ilgili olarak gerçekleştirilen nükleer çalışmaların literatürde daha önce yapılmamış olması, bu çalışmanın nükleer tıp alanındaki önemini ortaya koyması açısından önemlidir. Bu bağlamda, ^{131}I -mag-poli(HEMA-APH)'in dişi sıçanlarda rahim ve yumurtalık'ta, erkek sıçanlarda ise akciğer ve prostat'ta tutulum göstermesi, ilgili bileşiğin bu organlar ile ilgili kanserlerin tedavisi ve teşhisinde kullanıma potansiyelini açığa çıkarması bakımından son oldukça önemlidir. İşaretli bileşiğin bir radyofarmasötik olarak bu amaç için kullanılabilmesi ise daha ileriki aşamalarda yapılması planlanan hücre ve xenograft çalışmalarının olumlu sonuçlar vermesi ile mümkün olabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Alazraki, N.P., Mishkin, F.S., Fundamentals of nuclear medicine, The Society of Nuclear Medicine., New York, 1991.
2. Arayne, MS., Sultana, N., Qureshi, F., Nanoparticles in drug delivery of cardiovascular drugs, Pak J Pharm Sci., 20(4): 340-8, 2007.
3. Aşıkoglu, M., Radyofarmasotikler, In: Gursoy AZ.(eds). Farmasötik Teknoloji - Temel Konular ve Dozaj Şekilleri-Kontrollü Salım Sistemleri Dernegi Yayını, İstanbul, 399-407, 2004.
4. Attix, F.H., Introduction to radiological physics and radiation dosimetry, Johnheller, S.L., Goodwin, P.N., SPECT Instrumentation: Performance, Lesion Dedection and Recent Innovations, Seminars in Nuclear Medicine., 184-199, 1987.
5. Avcıbaşı, U., Avcıbaşı, N., Ünak, T., Ünak, P., Müftüler, F.Z., Yıldırım, Y., Dinçalp, H., Gümüşer, F.G., Dursun, E.R., Metabolic comparison of radiolabeled aniline- and phenol-phthaleins with ¹³¹I, Nuclear Medicine and Biology., 35: 481–492, 2008.
6. Avcıbaşı, U., Test of the biological activities Of some glucuronide conjugates Radiolabeled with radioactive Iodine-131 and investigation Of their potentials using In β -glucuronidase Measurements, Ege University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, PhD Thesis, 2004.
7. Avcıbaşı, U., Demiroğlu H., Ünak P., Müftüler F.Z.B., İçhedef, Ç.A., Gümüşer, F.G., In vivo biodistribution of ¹³¹I labeled bleomycin (BLM)and isomers (A2 and B2) on experimental animal models, *J Radioanal Nucl Chem.*, 285: 207–214, 2010.
8. Baker, J.R., Quintana A., Pehlerel, L., Banazak-Hollal, M., Tomalia, D., Raczka, E., The synthesis and testing of anti- cancer therapeutic nanodevices, Biomed Microdevices., 3(1): 61-9, 2001.
9. Barber, H.B., Barrett, H.H., Hickenaelell, T.S., Kwo, D.P., Woolfenden, J.M., Entine Wiley & Sons., New York, 1986.
10. Barrett, H.H., Eskin, J.D., Barber, H.B., Charge transport in arrays of semiconductor gamma-raydetectors, Phys Rev Let., 75(1): 156-159, 1995.

11. Bawa, R., Patents and nanomedicine, *Nanomed: Nanotech Biol Med.*, 2: 351-74, 2007.
12. Bawarski, WE., Chidlowsky, E., Bharali, D.J., Mousa, S.A., Emerging nano pharmaceuticals, *Nanomed: Nanotech Biol Med.*, 4: 273-82, 2008.
13. Bay, Y., Jang, W.D., Nishiyama, N., Fukushima, S., Kataoka, K., Multifunctional polymeric micelles with folate-mediated cancer cell targeting and pH triggered drug releasing properties for active intracellular drug delivery, *Mol Biosyst.*, 1: 242-50, 2005.
14. Bayhan, H., Goktaş., XI. Ulusal Nükleer Tıp Kongresi, Teknik Ders Notları, Ankara, 1997.
15. Berkem, A.R., Çekirdek Kimyasi ve Radyokimya, Üniversite yayınları., İstanbul, 1992.
16. Boyd, C.M., Daüymples, G.V., (Eds): Basic Science principles of Nuclear Medicine, The C.V. Mosby Company., Saint Louis, 1974.
17. British Pharmacopoeia, Radiopharmaceutical Preparations, Volume Ü. Her Majesty's Stationary Office., London, 2577-2637, 2001.
18. Carelle, N., Piotto, E., Bellanger, A., Germanaud, J., Thuiller, A., Khayat, D., Changing patient perceptions of side effects of cancer chemotherapy, *Cancer.*, 95: 155-63, 2002.
19. Convreur, P., Vauthier, C., Nanotechnology: Intelligent design to treat complex disease, *Pharm Res.*, 27(7): 1417-1450, 2006.
20. Demiroğlu, H., Avcıbaşı, U., Ünak, P., Müftüler, F.B.Z., İçhedef, Ç.A., Gümüşer, F.G., Sakarya, S., Radiolabeling of Bleomycin-Glucuronide with ¹³¹I and Biodistribution Studies Using Xenograft Model of Human Colon Tumor in Balb/C Mice, *Cancer Biother Radio.*, 27: 6: 371-383, 2012.
21. Derfus, A.M., Chan, W.C.W., Bhatia, S.N., Probing the cytotoxicity of semiconductor quantum dots, *Nano Lett.*, 4: 11-8, 2004.
22. Durner, J., Kreppel H., Zaspel J., Schweilk, H., Hickel R., Reichl, F-X., The toxicokinetics and biodistribution of 2-hydroxyethyl methacrylate in mice, *Biomaterials.*, 30: 2066-2071, 2009.

23. Eisenhut, M., Mier W., Radioiodination Chemistry and Radioiodinated Compounds, In: A. Vertes, S. Nagy, Z. Klencsar, R.G. Lovas, F. Rösch (editors), Handbook of Nuclear Chemistry, 2011.
24. Farokhzad, OC., Langer, R., Nanomedicine: Developing smarter therapeutic and diagnostic modalities, Adv Drug Deliv Rev., 58: 1456-9, 2006.
25. Ferrari, M., Cancer nanotechnology: Opportunities and challenges, Nat Rev Cancer., 5: 161-71, 2005.
26. Fried, B., Sherma, J., Thin-Layer Chromatography: Techniques and Applications, Mechanism and Theory, Chapter 2 in Thin Layer., 2:35, 1986.
27. Gao, X., Cui, Y., Levenson, R.M., Chung, L.W., Nie, S., In vivo cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots, Nat Biotechnol., 22: 969-76, 2004.
28. Gao, X., Yang, L., Petros, J.A., Marshall, F.F., Simons, J.W., Nie, S., In vivo molecular and cellular imaging with quantum dots, Curr Opin Biotechnol., 16: 63–72, 2005.
29. Gaucher, G., Dufresne, M.H., Sant, V.P., Kang, N., Maysinger, D., Leroux, J.C., Block copolymer micelles: Preparation, characterization and application in drug delivery, J Control Release., 109: 169-88, 2005.
30. Ghandehari, H., Borgman, M.P., Aras, O., Geyser-Stoops, S., Sausville, E.A., Biodistribution of HEMA Copolymer-Aminohexylgeldanamycin-RGDfK Conjugates for Prostate Cancer Drug Delivery, Mol Pharm., 6(6): 1836–1847, 2009.
31. Ghosh, P., Han, G., Dey, M., Kim, C.K., Rotello, V.M., Gold nanoparticles in drug delivery applications, Adv Drug Deliv Rev., 60: 1307-15, 2008.
32. Haley, B., Frenkel, E., Nanoparticles for drug delivery in cancer treatment, Urol Oncol., 26(1): 57-64, 2008.
33. Hayrat, A.Ö., Radyasyon ve Radyoizotopların Tıpta Kullanılması, Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2007.
34. Higgins, CF., Multiple molecular mechanisms for multidrug resistance transports, Nature., 446: 749-57, 2007.

35. Hoes, C.J.T., Grootenk, J., Feijen, J., Boon, P.J., Kaspersen, F., Loeffen, P., Schlachter, I., Winters, M., Bos, E.S., Synthesis and biodistribution of immunoconjugates of a human IgM and polymeric drug carriers, *Journal of Controlled Release.*, 19: 59-76, 1992.
36. Hoh, J.H., Engel, A., *Langmuir.*, 9: 3310, 1993.
37. Hsiue, G-H., Lin, S-Y., Hsu, W-H., Lo J-M., Tsai H-C., Novel geometry type of nanocarriers mitigated the phagocytosis for drug delivery, *J. Control Release.*, 154: 84-92, 2011.
38. Huang, Y., Yang, Y., Zhou, Z., He, S., Fan, T., Jin, Y., Zhu, X., Chen, C., Zhang, Z-R., Treatment of prostate carcinoma with (Galectin-3)-targeted HPMA copolymer-(G3C12)-5-Fluoroacil conjugates, *Biomaterials.*, 33: 2260-2271, 2012.
39. Hubacher, M.H., *Anilinephthalein Notes*, 73:5885–5886, 1951.
40. Ingold, J.A., Reed, G.B., Kaplan, H.S., Bagshaw, M.A., Radiation hepatitis, *Am J Roentgenol.*, 93: 200-8, 1965.
41. Joshi, M., Bhattacharyya, A., Wazed, S.A., Characterization techniques for nanotechnology applications in textiles, *Indian Journal of Fibre & Textile Research.*, 33: 304-317, 2008.
42. Kaji, N., Tokeshi, M., Baba, Y., Quantum dots for single biomolecule imaging, *Anal Sci.*, 23: 21-4, 2007.
43. Kanavis, P., *Annal. Oncol.*, 17: 15, 2006.
44. Kataoka, K., Harada, A., Nagasaki, Y., Block copolymer micelles for drug delivery: design, characterization and biological significance, *Adv Drug Deliv Rev.*, 43: 113-31, 2001.
45. Kewal, K., Jain, T., Jain, K.K., Review nanotechnology in clinical laboratory diagnostics, *Clinica Chimica Acta.*, 358: 37–54, 2005.

46. Kobayashi, H., Sato, N., Saga, T., Nakamoto, Y., Ishimori, T., Toyama, S., Togashi, K., Konishi, J., Brechbiel, M.W., Monoclonal antibody-dendrimer conjugates enable radiolabeling of antibody with markedly high specific activity with minimal loss of immunoreactivity, *Eur J Nucl Med.*, 27: 1334-9, 2000.
47. Kumar, B., Yadav, P.R., Goel, H.C., Moshahid, M., Rizvi, A, Recent developments in cancer therapy by the use of nanotechnology, *Digest J Nanomater Biostr.*, 4(1): 1-12, 2009.
48. Kukan, M., Bezek, S., Koprda, V., Labsky, J., Kalal, J., Baureova, K., Trnovec, T., Fate of ¹⁴C-terpolymer (methylmethacrylate-¹⁴C, 2-hydroxyethylmethacrylate, butylacrylate) nanoparticles after peroral administration to rats, *Pharmazie.*, 44(5): 339-40, 1989.
49. Lacerda, L., Bianco, A., Prato, M., Kastarelos, K., Carbon nanotubes as nanomedicines: From toxicology to pharmacology, *Adv Drug Deliv Rev.*, 58: 1460-70, 2006.
50. Lammers, T., Drug targeting to tumors using HPMA copolymers, Utrecht University, Department of Pharmaceutics, PhD Thesis, 2009.
51. Lammers, T., Kühnlein, R., Kissel M., Subr V., Etrych T., Pola, R., Pechar M., Ulbrich K., Storm G., Huber P., Peschke P., Effect of physicochemical modification on the biodistribution and the tumor accumulation of HPMA copolymers, *J. Control. Release.*, 110: 103-118, 2005.
52. Lammers, T., Subr, V., Ulbrich, K., Peschke, P., Huber, P.E., Hennink, W.E., Storm, G., Simultaneous delivery of doxorubicin and gemcitabine to tumors in vivo using prototypic polymeric drug carriers, *Biomaterials.*, 30: 3466–3475, 2009.
53. Line, B.R., Mitra, A., Nan, A., Ghandehari H., McNeill, E., Mulholland, J., Technetium-99m-Labeled *N*-(2-Hydroxypropyl) Methacrylamide Copolymers: Synthesis, Characterization and *in Vivo* Biodistribution, *Pharmaceut. Res.*, 21: 7, 2004.
54. Lloyd, J.B., Bridges, J.F., Critchlow, M., Irving, M.P., Purkiss, S.C., Taylor, D.C., Radiolabeling, stability, and body distribution in rats, of low molecular weight polylactide homopolymer and polylactide-polyethyleneglycol copolymer, *Biomaterials.*, 21: 199-209, 2000.

55. Loo, C., Lin, A., Hirsch, L., Lee, M., Marton, J., Halas, N., West, J., Drezek, R., Nanoshell-enabled photonicsbased imaging and therapy of cancer, *Technol Cancer Res Treat.*, 91-110, 2004.
56. Mansoori, G.A., Mohazzabi, P., McCormack, P., Jabbari, S., Nanotechnology in cancer prevention, detection and treatment: bright future lies ahead, *World Rev Sci, Tech Sust Dev.*, 4(2/3): 226-57, 2007.
57. McDevitt, M.R., Chattopadhyay, D., Kappel, B.J., Jaggi, J.S., Schiffman, S.R., Antczak, C., Njardarson, J.T., Brentjeus, R., Scheinberg, D.A., Tumor targeting with antibody functionalized radiolabelled carbon nanotubes, *J Nucl Med.*, 48:1180-9, 2007.
58. Meheta, R.M., Thakral, S., Fullerenes: An introduction and overview of their biological properties, *Indian J Pharm Sci.*, 68(1): 13-9, 2006.
59. Meyer, E., *Prog Surf Sci.*, 41:3, 1992.
60. Moffat, B.A., Reddy, G.R., McConville, P., Hall, D.E., Chenevert, T.L., Kopelman, R.R., Philbert, M., Weissleder, R., Rehemtulla, A., Ross, B.D., A novel polyacrylamide magnetic nanoparticle contrast agent for molecular imaging using MRI, *Molecular Imaging.*, 2(4): 324–32, 2001.
61. Moghimi, S.M., Hunter, A.C., Murray, J.C., Longcirculating and target-specific nanoparticles: theory to practice, *Pharmacol Rev.*, 53(2): 283–318, 2001.
62. Morrison, M., *Meth Enzymol* 70:214, 1980.
63. Nishiyama, N., Kataoka, K., Current state, achievements and future prospects of polymeric micelles as nanocarriers for drug and gene delivery, *Pharmacol Ther.*, 112: 630-48, 2006.
64. Nishiyama, N., Kataoka, K., Nanostructured devices based on block copolymers assemblies for drug delivery: designing structures for enhanced drug function, *Adv Polym Sci.*, 193: 67-101, 2006.
65. O'Connor, R., The pharmacology of cancer resistance, *Anticancer Res.*, 27: 1267-72, 2007.

66. Park, JW., Liposome-based drug delivery in breast cancer treatment, *Breast Cancer Res.*, 4: 95-9, 2002.
67. Patri, A.K., Thomas, T., Baker, J.R., Bander, N.H., Antibody-dendrimer conjugates for targeted prostate cancer therapy, *Polym Mater Sci Eng.*, 86: 130, 2002.
68. Pfennig, G., Klewe-Nebenius, H., Seelman-Eggebert W., In: *Chart of the nuclides.* KernforschungszentrumKarlsruhe., 7th edn, 2006.
69. Phillips, R., Karnofsky, D.A., Hamilton, L.D., Vickson, J.J., Roentgen therapy of hepatic metastases. *Am J Roentgenol.*, 71: 826-34, 1954.
70. Pimm, MV., Perkins, A.C., Strohalm, J., Ulbrich, K., Duncan R., Gamma Scintigraphy of the Biodistribution of ¹²³I-Labelled N-(2-Hydroxypropyl)methacrylamide Copolymer-Doxorubicin Conjugates in Mice with Transplanted Melanoma and Mammary Carcinoma, *Journal of Drug Targeting.*, 3:375-383, 1996.
71. Pimm, MV., Perkins, AC., Duncan, R., Ulbrich, K., Targeting of N-(2-Hydroxypropyl) Methacrylamide Copolymer-Doxorubicin Conjugate to the Hepatocyte Galactose-Receptor in Mice: Visulisation and Quantification by Gamma Scintigraphy as a Basis for Clinical Targeting Studies, *Journal of Drug Targeting.*, 1:125-131, 1993.
72. Prokes, J., Cerny, B., Vulterin, K., Labsky, J., Vacik, J., Schneiderka, P., Roosova, M., Distribution of ³H-labeled acetyl-HEMA monomer in rats, *Sb. Lek.*, 97(4):449-54, 1996.
73. Quintana, A., Raczka, E., Piehler, L., Lee, I., Myc, A., Majoros, I., Patri, A.K., Thomas, T., Mulé, J., Baker, J.R., Design and function of a dendrimer-based therapeutic nanodevice targeted to tumor cells through the folate receptor, *Pharm Res.*, 19(9): 1310–6, 2001.
74. Ratner, B., et al., *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, San Diego, CA: Academic., 1996.
75. Reichl, F-X., Durner, J., Kehe, K., Manhart J., Folwaczny., Kleinsasser N., Hume W.R., Rickel R., Toxicokinetic of HEMA in guinea pigs, *J. Dent.*, 30: 353–358, 2002.
76. Roco, M.C., *Curr. Opin. Biotechnol.*, 14: 337, 2003.
77. Rynders, R.M., Hegedus, C.R., Gilicinski, A.G., *J Coat Technol.*, 667: 845-59, 1995.

78. Schuster, G.S., Caughman, G.B., Rueggeberg, F.A., Changes in cell phospholipid metabolism in vitro in the presence of HEMA and its degradation products, *Dental Materials.*, 16: 297–302, 2000.
79. Sherma, J., Basic Techniques, Materials and Apparatus, In *Handbook of Thin Layer Chromatography*, New York: Marcel Dekker Inc., 55: 3-41, 1991.
80. Sherma, J., Larkin, J.D., Larkin, F.H., Thin Layer radiochromatography, a field guide to instrumentation, *Journal Of Aoac International.*, 92:1, 2009.
81. Shi, W., Sahoo, Y., Swihert, M.P., Prasad, P.N., Gold nanoshells on polystyrene cores for control surface plasmon resonance, *Langmuir.*, 21: 1610-17, 2005.
82. Sing, J., Tremendous potential for cancer treatment: Nanotechnology, *The Indian Pharmacist.*, 8: 23-26, 2008.
83. Smith, A.M., Gao, X., Nie, S., Quantum-Dot nanocrystals for in vivo molecular and cellular imaging, *Photochem Photobiol.*, 80: 377-85, 2004.
84. Stillwagon, G.B., Order, S.E., Guse, C., Klein, J.L., Leichner, P.K., Leibel, S.A., Fishman, E.K., 194 hepatocellular cancers treated by radiation and chemotherapy combinations: toxicity and response: a Radiation Therapy Oncology Group Study, *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*, 17:1223-9, 1989.
85. Sung, H-W., Lin, K-J., Nguyen, H-N., Wey, S-P., Juang, J-H., Sonaje, K., Ho, Y-C., Chuang, E-Y., Hsu, C-W., Yen, T-C., The glucose-lowering potential of exendin-4 orally delivered via a pH-sensitive nanoparticle vehicle and effects on subsequent insulin secretion in vivo, *Biomaterials.*, 32: 2673-2682, 2011.
86. Torchilin, V.P., Targeted pharmaceutical nanocarriers for cancer therapy and imaging, *AAPS J.*, 9(2): 128-147, 2007.
87. Vogtle, F., Buhleier, E., Wehner, W., Cascade and Nonskid chain like synthesis of molecular activity, *Topologies Synth.*, 155-8, 1978.
88. Wagner, E., Programmed drug delivery for tumor targeting, *Expert Opin Biol Ther.*, 7: 587-93, 2007.

89. Wang, X., Wang, Y., Chen, Z., Shin, DM., Advances of cancer therapy by nanotechnology, *Cancer Res Treat.*, 41(1): 1-11, 2009.
100. West, J.L., Halas, N.J., Engineered nanomaterials for biophotonics applications: improving sensing, imaging, and therapeutics, *Annu Rev Biomed Eng.*, 5: 285-92, 2003.
101. Wolinsky, J.B., Grinstaff, M.W., Therapeutic and diagnostic applications of dendrimers for cancer treatment, *Adv Drug Deliv Rev.*, 60: 1037–55, 2008.
102. Wong, H.L., Bendayan, R., Rauth, A.M., Li, Y., Wu, X.Y., Chemotherapy with anticancer drugs encapsulated in solid lipid nanoparticles, *Adv Drug Deliv Rev.*, 59: 491-504, 2007.
103. Zheng, G., Patolsky, F., Lieber, C.M., Nanowire biosensors: a tool for medicine and life science, *Nanomed: Nanotech Biol Med.*, 2(4): 277, 2006.
104. <http://novartisonkoloji.com.tr>
105. <http://ovcr.ucla.edu/nanosystems.html>
106. <http://test.gbiosciences.com>
107. <http://ucsdnews.ucsd.edu>
108. <http://vkc.library.uu.nl>
109. <http://wsm.wsu.edu>
110. <http://www.cnst.nist.gov>
111. <http://www.directindustry.com>
112. <http://www.eaglabs.com>
113. <http://www.kanser.org>
114. <http://www.mmi.org/spdendrimers.html>
115. http://www.nsf.gov/news/newsletter/jun_06/index.jsp
116. <http://www.piercenet.com>
117. <http://www.purdue.edu/REM/rs/sem.htm>

118. <http://www.sciencedirect.com>

119 <http://www.sigmaaldrich.com>

120. <http://pubs.rsc.org>

121. <http://www.wifinotes.com>

122. <http://en.wikipedia.org>

123. <http://www.dotmet.com>

124. www.drugbank.com

ÖZGEÇMİŞ



KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Hilmi Arkut AKALIN

Doğum yeri : Manisa

Doğum Tarihi : 08/12/1983

ÖĞRENİM DURUMU

Lisans : Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü (2003-2004)

Celal Bayar Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü (Yatay Geçiş, 2004-2007)

Yüksek Lisans : Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fizikokimya Anabilimdalı (2010-2013)

ULUSAL BİLİMSEL TOPLANTILARDA YAYINLANMIŞ BİLDİRİLER

Akalın, HA., Avcıbaşı, U., Ediz, M., Demiroğlu, H., Avcıbaşı, N., Gümüşer, FG., Uygun, DA., Akgöl, S., Özçalışkan, E., Türkcan, C. Radyoaktif İyod-131 İle İşaretli Manyetik Poli(HEMA-APH) Nanopartiküllerin Radyofarmasötik Potansiyelinin Deney Hayvanları Üzerinde İncelenmesi, IV. Multidisipliner Kanser Araştırma Kongresi, 13-16 Aralık 2012, Bursa.