

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**AMİNOASİT KAPLI MANYETİK
NANOPARÇACIKLARIN SENTEZLENEREK ^{99m}Tc(I)-
TRİKARBONİL KORU İLE İŞARETLENMESİ VE
BİYOLOJİK DAVRANIŞLARININ İNCELENMESİ**

Onur BÜYÜKOK

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Serap TEKSÖZ

Nükleer Bilimler Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu: 622.02.01

Sunuş Tarihi: 05.04.2012

Bornova-İZMİR

2012

Onur Büyükok **tarafından** Yüksek Lisans **tezi olarak sunulan** ‘‘Aminoasit Kaplı Manyetik Nanoparçacıkların Sentezlenerek ^{99m}Tc(I)-Trikarbonil Kору ile İşaretlenmesi ve Biyolojik Davranışlarının İncelenmesi’’ **başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’ nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 05/04/2012 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği ile başarılı bulunmuştur.**

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı	: Prof. Dr. Perihan ÜNAK
Üye	: Doç. Dr. Serap TEKSÖZ
Üye	: Prof. Dr. Suna TİMUR

ÖZET

AMİNOASİT KAPLI MANYETİK NANOPARÇACIKLARIN SENTEZLENEREK ^{99m}Tc(I)-TRİKARBONİL KORU İLE İŞARETLENMESİ VE BİYOLOJİK DAVRANIŞLARININ İNCELENMESİ

BÜYÜKOK, Onur

Yüksek Lisans Tezi, Nükleer Bilimler Anabilim Dalı

Tez Yöneticisi: Doç. Dr. Serap TEKSÖZ

Nisan 2012, 60 Sayfa

Bu çalışmada Fe (II) ve Fe (III) katyonlarından oluşturulan manyetitin doğal aminoasitler olan L-alanin ve L-sistein ile ayrı ayrı kaplanarak sentezlenmesi sağlanmıştır. L-alanin ve L-sistein kaplı manyetik nanoparçacıkların yapı ve büyüklük tayinleri Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile belirlenmiştir. Radyoışaretleme çalışması [^{99m}Tc(CO)₃]⁺ koru ile gerçekleştirilmiştir. Oluşturulan [^{99m}Tc(CO)₃]⁺ korunun kalite kontrolü İnce Tabaka Radyokromatografisi (TLRC) ile yapılmış ve sonucunda korunun serum fizyolojikteki veriminin % 99.72 olduğu saptanmıştır. Yapılan serum stabilite çalışmalarında L-alanin ve L-sistein kaplı radyoışaretleli manyetik nanoparçacıkların kararlılıklarını 4 saat boyunca sürdürdükleri gözlenmiştir. Hem L-alanin hem de L-sistein kaplı radyoışaretleli manyetik nanoparçacık radyofarmasötik potansiyelleri Wistar Albino sıçanlar üzerinde ayrı ayrı yapılan biyodağılım çalışmaları ile belirlenmiştir.

Bu çalışmada edinilen bilgiler aminoasit kaplı radyoışaretleli manyetik nanoparçacık gelişimine ve sağlık uygulamalarında görüntüleme radyofarmasötiği olarak kullanımlarına katkısı olacağını göstermektedir.

Anahtar sözcükler: L-Alanin, L-Sistein, [^{99m}Tc(CO)₃]⁺ kor, manyetik nanoparçacıklar, görüntüleme ajanları, radyo işaretleme, aminoasit kaplama.

ABSTRACT**ANALYSING BIOLOGICAL BEHAVIOR OF RADIOLABELED WITH $^{99m}\text{Tc(I)}$ -TRICARBONYL CORE AMINOACID COATED MAGNETIC NANOPARTICLES**

BÜYÜKOK, Onur

Master Thesis in Nuclear Sciences

Supervisor: Doç. Dr. Serap TEKSÖZ

April 2012, 60 pages

In this study, biofunctionalization of Fe (II) and Fe (III) iron particles were provided with L-alanine and L- cysteine, which are the standard amino acids. Then structure and size determinations of L-alanine and L-cysteine-coated magnetic nanoparticles were performed by using a Scanning Electron Microscope (SEM). The radiolabeling study was carried out through direct labeling work with $[\text{}^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3]^+$ core. The quality control of $[\text{}^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3]^+$ core were made via Thin Layer Radio Chromatography (TLRC) and the yield of the core in the saline solution was determined as % 99.72. In the serum stability studies it was observed that L-alanine and L-cysteine coated radiolabeled magnetic nano particles kept its stability for 4 hours. Biodistribution studies were performed on Wistar Albino rats to determine radiopharmaceutical potential of L-alanine and L-cysteine coated radiolabeled magnetic nano particles.

It is thought that the gained data from this study will make contribution to development and usage as a imaging agent in the medical applications of amino acid coated radiolabeled magnetic nanoparticles complexes.

Keywords: L-alanine, L-cysteine, $[\text{}^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3]^+$ core, magnetic nanoparticles, imaging agents, radiolabeling, amino acid coating.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans çalışmalarım süresince her türlü yardımlarını ve bilgilerini esirgemeyen Tez Danışmanım Sayın Doç. Dr. Serap TEKSÖZ' e, Ege Üniversitesi Nükleer Bilimler Enstitüsü Müdürü ve Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Perihan ÜNAK' a, her konuda yardımlarını esirgemeyen Araş. Gör. Çiğdem İÇHEDEF' e ve her zaman beni yüreklendirerek yanımda olan aileme ve nişanlıma en içten teşekkürlerimi sunarım.

Onur BÜYÜKOK

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vii
TEŞEKKÜR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xvii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xviii
1 GİRİŞ.....	1
2 GENEL BİLGİLER.....	5
2.1 Radyofarmasötik.....	5
2.2 Teknesyum.....	6
2.3 Teknesyum Radyofarmasötiklerinin Kalite Kontrolünde Kullanılan Yöntemler.....	9
2.3.1 İnce tabaka kromatografisi.....	9
2.4 Serumda Stabilite.....	11
2.5 Liyofilizasyon.....	11
2.6 Nanoteknoloji.....	12
2.6.1 Manyetik nanoparçacıklar.....	13

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.6.2 Madde içinde manyetizma.....	13
2.6.3 Ferromanyetik maddeler	14
2.6.4 Paramanyetik maddeler	15
2.6.5 Diamanyetik maddeler	17
2.6.6 Sağlık alanında nanoteknoloji ve manyetik nanoparçacıklar.....	18
2.6.7 Manyetik nanoparçacıkların yüzey kaplaması.....	20
2.7 Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG).....	21
2.8 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM).....	22
2.9 Aminoasitler.....	23
2.9.1 D- ve L- aminoasitler.....	24
2.9.2 Standart aminoasitlerin sınıflandırılması.....	24
2.9.3 Standart aminoasitlerin özellikleri.....	25
2.9.4 Alanin ve sistein.....	27
3. MATERYAL METOD.....	29
3.1 Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar.....	29
3.1.1 Kullanılan kimyasallar.....	29
3.1.2 Kullanılan cihazlar.....	30
3.2 L-sistein ve L-alanin ile Kaplı Manyetik Nanoparçacıkların Sentezlenmesi	30

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
3.3 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi.....	32
3.4 ^{99m} Tc(I)-Trikarbonil Korunun Hazırlanması.....	32
3.5 Manyetik Nanoparçacıkların ^{99m} Tc(I)-Trikarbonil Kuru ile İşaretlenmesi..	33
3.6 Serumda Stabilite.....	34
3.7 Biyodağılım Çalışması.....	35
3.8 İstatistiksel Analiz.....	35
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	37
4.1 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Elde Edilen Sonuçlar	37
4.2 ^{99m} Tc(I)-Trikarbonil Korunun Kalite kontrolü.....	40
4.3 ^{99m} Tc(I)-Trikarbonil Kuru ile İşaretlenmiş Manyetik Nanoparçacıkların Kalite Kontrolü.....	42
4.3.1 Serumda stabilite.....	43
4.4 Biyodağılım Çalışmasının Sonuçları.....	43
4.5 İstatistiksel Analiz ve Sonuçlar.....	50
5 SONUÇ VE ÖNERİLER.....	53
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	55
ÖZGEÇMİŞ.....	60

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Görüntüleme radyofarmasötüğünün özellikleri.....	5
2.2 Teknesyumun oda koşullarındaki görünümü.....	6
2.3 ^{99m}Tc ' in molibden jeneratöründen elde edilmesi.....	8
2.4 Bilgisayar destekli TLC Scanner.....	11
2.5 Nanoölçek.....	12
2.6 Domain duvarı ve bu bölgedeki manyetik momentler.....	15
2.7 Ferromanyetik malzemede domain yapısı.....	15
2.8a Dış manyetik alan yokken paramanyetik malzemede manyetik momentlerin yönelimi.....	16
2.8b Dış manyetik alan varken paramanyetik malzemede manyetik momentlerin yönelimi.....	16
2.9 Süper paramanyetizma.....	17
2.10 Diamanyetik malzeme etrafındaki net manyetik alan.....	18
2.11 Manyetik nanoparçacıkların sağlık alanında kullanımı.....	19
2.12 Demiroksit nanoparçacıklarının yüzey kaplamasında kullanılan maddeler.....	20
2.13a Manyetik Rezonans Görüntüleme (MR) Cihazı.....	21

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.13b Manyetik Rezonans Görüntüleme (MR) Cihazının Mekanizması...	21
2.14 T_1 Ağırlıklı aksiyal MR kesiti.....	22
2.15 Taramalı elektron mikroskobu (SEM)	23
2.16 Amino asitlerin yapısı.....	24
2.17a Aminoasitlerde asimetri.....	26
2.17b Aminoasitlerde izomerlik.....	26
2.18 Zwitterion.....	26
2.19 Alaninin ve Sisteinin Kimyasal Yapıları.....	27
2.20 Sisteindeki disülfür köprüleri.....	28
3.1 Manyetik nanoparçacıkların sentezi sırasında kullanılan deney düzeneği.....	31
3.2 Aminoasit kaplı manyetik nanoparçacık sentezi akış şeması.....	32
3.3 Aminoasit kaplı manyetik nanoparçacıkların alt ve üst fazlarına Ayrılması.....	34
3.4 Mıknatıs yardımıyla çöktürme işlemi.....	34
4.1 L-Alanin kaplı manyetik nanoparçacıklara ait SEM görüntüsü.....	38
4.2 L-Sistein kaplı manyetik nanoparçacıklara ait SEM görüntüsü.....	39

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.3 Alanin kaplı manyetik nanoparçacıkların sentez prosedürünün şematik görünümü.....	39
4.4 Sistein kaplı manyetik nanoparçacıkların sentez prosedürünün şematik görünümü.....	39
4.5 ^{99m}Tc Trikarbonil kuru sentezi.....	40
4.6 ^{99m}Tc - (I)-Trikarbonil kuru damlatılan TLC kağıdının SF banyosundaki kromatogramı.....	41
4.7 ^{99m}Tc - (I)-Trikarbonil kuru damlatılan TLC kağıdının AcN banyosundaki kromatogramı.....	41
4.8 Manyetik nanoparçacıkların bağlanma verimleri.....	43
4.9 ^{99m}Tc (I) trikarbonil koruyla radyoişaretli L-alanin kaplı manyetik nanoparçacıklara ait % ID/g oranı.....	45
4.10 ^{99m}Tc (I) trikarbonil koruyla radyoişaretli L-sistein kaplı manyetik nanoparçacıklara ait % ID/g oranı.....	46
4.11 $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-MNP-Alanin}$ kompleksine ait Organ/Kan değerleri.....	48
4.12 $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-MNP-Alanin}$ kompleksine ait Organ/Kas değerleri.....	48
4.13 $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-MNP-Sistein}$ kompleksine ait Organ/Kan değerleri.....	49
4.14 $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-MNP-Sistein}$ kompleksine ait Organ/Kas değerleri.....	49

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.1 Asetonitril ve SF banyolarında [$^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$] $^+$ korunun R_f ve % verim değerleri.....	40
4.2 Asetonitril ve SF banyolarında [$^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$] $^+$ korunun R_f ve % verim değerleri(Şenocak, 2010).....	41
4.3 Wistar Albino sıçanlarda $^{99m}\text{Tc}(\text{I})$ trikarbonil koruyla radyoişaretli L-alanin kaplı manyetik nanoparçacıklara ait % ID/g - Bg oranı.....	44
4.4 Wistar Albino sıçanlarda $^{99m}\text{Tc}(\text{I})$ trikarbonil koruyla radyoişaretli L-sistein kaplı manyetik nanoparçacıklara ait % ID/g - Bg oranı.....	45
4.5 $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ -MNP-Alanin bileşiğine ait analiz sonuçlarına göre bazı organların r^2 (çoklu korelasyon katsayısı) ve P değerleri.....	51
4.6 $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ -MNP-Sistein bileşiğine ait analiz sonuçlarına göre bazı organların r^2 (çoklu korelasyon katsayısı) ve P değerleri.....	51

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
(-COOH)	: Karboksil grubu
(-NH ₂)	: Amino grubu
Na ^{99m} TcO ₄	: Sodyum perteknetat
¹³² Te	: Tellür-132
(Fe ₃ O ₄)	: Manyetit
(γ-Fe ₂ O ₃)	: Maghemit
¹³² I	: İyot-132
^{99m} Mo	: Molibden-99m
^{99m} TcO ₂	: Teknesyum peroksit
(-SS-)	: Disülfit köprüsü
^{99m} Tc	: Teknesyum-99m
^{99m} [Tc(CO) ₃ (H ₂ O ₃)] ⁺	: Teknesyum (I) Trikarbonil Kuru
[^{99m} TcO ₄] ⁻	: Teknesyum Perteknetat
(HO ₂ CCH(NH ₂)CH ₃)	: L-alanin aminoasiti
(HO ₂ CCH(NH ₂)CH ₂ SH)	: L-sistein aminoasiti
C ₂ O ₄ ²⁻	: Oksalat

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
DNA	: Deoksiribonükleik asit
AC	: Alternatif akım
WHO	: Dünya sağlık örgütü
MRG	: Manyetik rezonans görüntüleme
DNA	: Deoksiribonükleik asit
keV	: Kilo elektron volt
RNA	: Ribonükleik asit
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
M_r	: Kalıcı manyetizasyon
M_s	: Koersivite
μ	: Manyetik maddenin geçirgenliği
μ_0	: Serbest uzayın geçirgenliği
μm	: Mikrometre
μL	: Mikrolitre
NMR	: Nükleer manyetik rezonans
R_f	: İlerleme mesafesi (Relative front)

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
SF	: Serum fizyolojik
AcN	: Asetonitril
TLRC	: İnce tabaka radyokromatografisi
χ	: Manyetik duygunluk
C	: Curie sabiti
T_c	: Curie sıcaklığı
HCl	: Hidroklorik asit
Cd(Te)	: Kadmiyum tellür
r^2	: Çoklu korelasyon katsayısı
P	: Pearson korelasyonu anlamlılık düzeyi

1. GİRİŞ

Günümüzde çeşitli çevresel etkenler sebebiyle insanlarda kanserin görülme yüzdesi artmış ve buna paralel olarak da yeni kanser türleri meydana gelmiştir. Bilindiği gibi kanser, hücrelerde DNA' nın hasarı sonucu hücrelerin kontrolsüz veya anormal bir şekilde büyümesi ve çoğalmasıdır.

En sık rastlanılan hastalıklardan birisi olan kanserin birçok türüne yakalanma riski, yaş ile doğru orantılı olarak artmaktadır. Birçok kanser türünün % 50' den fazlası 65 yaş ve üzerindeki insanlarda teşhis edilmeye ve tüm kanser ölümlerinin % 60' lık bir kısmı da yine bu yaş grubunda gerçekleşmeye başlamıştır (Wedding et al., 2007). Kanser dünya genelinde her yıl 10 milyondan fazla kişide teşhis edilir hale gelmiştir ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO), bu sayının gelecek 20 yılda % 50 oranında artacağını öngörmüştür. Sonuçlanan veya devam eden çalışmalar sayesinde teşhis ve tedavi uygulamalarında gelişmeler yaşanmaya başlamış, Amerika gibi gelişmiş ülkelerde kanser hastalarının 5 yıllık sağ kalım oranının % 75' in üzerine çıkması sağlanmıştır. Sadece Amerika' da 5 yıl yaşama şansına erişen yaklaşık 9 milyon kanser hastası vardır (Kuhn et al., 2005). Bu sebeple de, bu durum bilim insanlarında teşhis ve tedavi yöntemleri konusunda yeni teoriler ortaya atılması ve bu teorilerin daha da geliştirilmesi konusunda büyük bir istek ve merak oluşturmuştur.

Manyetik nanoparçacıklar, son yıllarda teknolojik ve klinik uygulamalar çerçevesinde büyük ilgi çekmektedirler. Bunlar arasında demir oksitler Fe_3O_4 ve $\gamma-Fe_2O_3$ (manyetit ve maghemit) yoğun olarak incelenmişlerdir. Yapılan araştırmalar sonucunda katalitik, biyolojik, manyetik ve iletken özelliklere sahip birçok alanda uygulamalar bulabiliriz (Arruebo et al., 2007; Culita et al., 2008).

Biyomedikal uygulamalar için manyetik mikroküreler uzun yıllardır kullanılmışlardır. Manyetik nanoküreciklerin ise; hastalıkları lokalize edebilen kemoterapötik ilaçların yönlendirilmesi için hedeflenen ajanlar, öldürücü bakterilerin hızlı tespiti için manyetik bağışıklık yöntemi, uygulanan AC manyetik alanı tarafından kanser için hipertermi tedavisi, manyetik rezonans görüntüleme (MRG) için in vivo kontrast ajanlar gibi birçok uygulama alanları vardır. Buna ek olarak, manyetik nanokürecikler tarafından radyonüklitlerin manyetik olarak yönetilerek taşınması yeni bir ilgi alanıdır. Radyoaktif manyetik nanoküreciklerin normal çevre dokulara zarar vermeden hedef alana yüksek konsantrasyonda radyoaktivite verme avantajı vardır. Örneğin, radyoaktif itriyum için taşıyıcı olarak manyetit

nano partiküller içeren manyetik poli (laktik asit) mikroküreler, bölgesel ve intrakaviter radyoterapi (Radyoaktif madde içeren materyalin doğrudan vücut boşluğuna yerleştirilmesiyle gerçekleştirilen radyoterapi, bir diğer deyişle brakiterapi) için büyük umut vermiştir (Fu et al., 2004).

Manyetik nanoparçacıklara bir ilaç veya teşhis/tedavi radyonüklidi bağlanarak vücut içerisine gönderilebilmekte daha sonra dışarıdan bir manyetik alan uygulanması ile hedeflenen bölgede yoğunlaşması sağlanabilmektedir (Torclhin, 2006). Fu ve arkadaşları, şimdiye kadar nano boyutlu manyetik kürelerin sentezlenebildiklerini ve genel olarak biyomolekülün sabitleştirilmesi veya manyetik parçacık üzerine radyonüklidlerin etiketlenmesi gibi karmaşık kimyasal yüzey modifikasyonları gerektirdiğini belirtmişlerdir. Bu nedenle de çalışmalarında teşhis uygulamaları için manyetit (Fe_3O_4) nanoparçacıklarının doğrudan radyoaktif ^{99m}Tc koruyla işaretlenmesiyle ilgili yeni bir yöntem geliştirmişlerdir. Bu yaklaşımda, ^{99m}Tc radyoizotopunu doğrudan ferrit parçacıkların sentezlendiği çözeltiliye karıştırarak ferrit nanoparçacıkların biyomolekül sabitleştirme veya manyetik parçacık üzerine radyonüklidlerin etiketlenmesi gibi karmaşık kimyasal yüzey modifikasyonları gerektirmeyen doğrudan işaretlenmeleri, yüksek işaretleme verimliliği elde edilen, üstün alternatif bir yöntemi rapor etmişlerdir. Ayrıca, kimyasal modifikasyon nedeniyle hacim genişlemesi olmadan, doğrudan işaretli nano boyutta ferrit parçacıkların, in vivo görüntüleme için kontrast madde olarak büyük avantaja sahip olduğunu bildirmişlerdir. Sonuç olarak Fu ve arkadaşları bu çalışma ile hedeflenen teşhis için ^{99m}Tc işaretli manyetik nanoparçacıkların uygulanabilir olduğunu göstermişlerdir (Fu et al.,2004).

Klinik alanlarda, son yıllarda manyetik parçacıklar tıbbi teşhis, hipertermi, hücre ayırma ve ilaç taşıyıcı sistemler olarak kullanılmaktadırlar. Bu uygulamaların çoğu kimyasal olarak kararlı düzgün bir şekle ve boyuta sahip nanoparçacıkları gerektirmektedir. Bu nedenle sentez ve analiz yöntemlerinde yeni teknolojiler geliştirilmiştir. Parçacık yığılmasının önlenmesi için etkili yaklaşımlardan birisi onların biyo uyumluluklarını dikkate alarak, polimer veya diğer hedef ajanlarla nanoparçacıkları kaplamaktır. Bu amaç için kaplama kimyasalları arasında normal şartlarda vücutta birçoğunun bulunabilir olması ve çok da önemli rollere sahip olmaları nedeniyle aminoasitler tercih edilirler (Cao et al., 2004; Tie et al., 2006; Culita et al.,2008).

Özellikle lösin ve arjinin gibi aminoasitlerin tümörlerin küçültülmesinde veya yok edilmesinde çok önemli görevler üstlendiği bu nedenle aminoasit kaplı

manyetik nanoparçacıkların kanserin tedavisi ve teşhisinde kullanımı oldukça büyük bir potansiyele sahip olduğu bilinmektedir (Tie et al., 2006). Tie ve arkadaşları iki aşamalı olarak Fe(II) ve Fe(III) katyonları ile manyetik nanoparçacıkları sentezlemişler ve bu parçacıkların yüzeylerini sistein, arjinin, lösin, sistin, aspartat ve tirozin gibi bir seri aminoasit ile kaplamışlardır. Sonuç olarak bu çalışmadaki aminoasit ile kaplı tüm manyetik nano parçacıkların süperparamanyetik özellik gösterdiğini ve hem biyomedikal hem de çevresel alanlarda kullanımının oldukça büyük bir potansiyele sahip olduğunu rapor etmişlerdir (Tie et al., 2006).

Öte yandan hidrofilik (su molekülleriyle bağ yapabildiği için suda çözünen) yapılı aminoasitlerden olan sistein de thiol grubuna ait olması sebebiyle proteinlerin yapısında bulunur. Antioksidan sistein ile N-asetil-sisteinin de kanser ve AIDS hastalarının bağışıklık sistemini güçlendirdiği keşfedilmiştir. Bu sebeplerden ötürü, özellikle lösin, arjinin ve sistein kaplı manyetik nanoparçacıkların kanserin tedavisi ve teşhisinde kullanımı oldukça büyük bir potansiyele sahip olduğu rapor edilmiştir (Tie et al., 2005).

Culita ve arkadaşları da çalışmalarında manyetik nanoparçacıkları sentezlemişler ve bu parçacıkların yüzey kaplamasını histidin ve tirozin ile gerçekleştirmişlerdir. Araştırmacılar oluşan yapıları fizikokimyasal, termal ve manyetik yöntemler ile tanımlayarak rapor etmişlerdir (Culita et al., 2008).

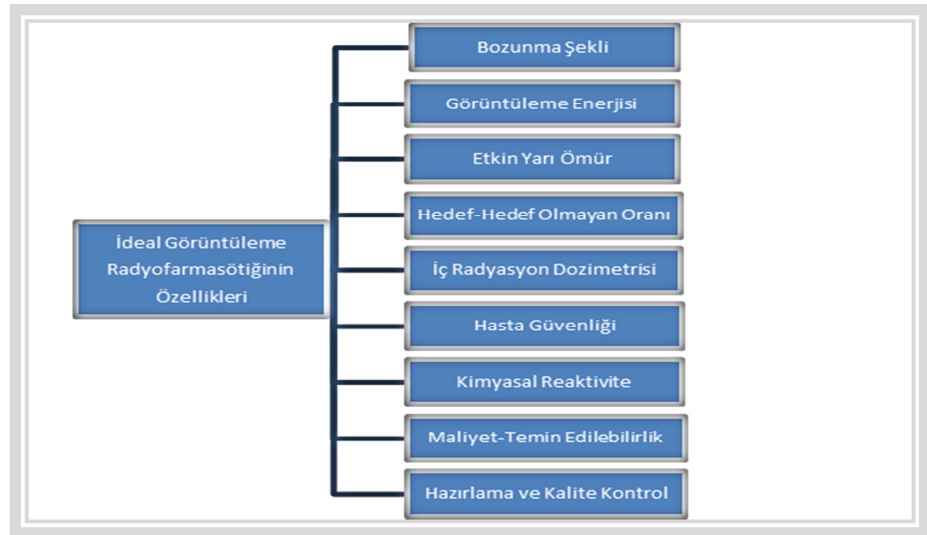
Bu çalışmada; Fe (II) ve Fe(III) katyonları kullanarak tek bir basamakta hem L-alanin hem de L-sistein kaplı manyetik nanoparçacıklar sentezlenmiştir. Hazırlanan iki ayrı ferrit sentez çözeltisine $^{99m}\text{Tc(I)}$ -trikarbonil kuru eklenerek parçacıkların radyoışaretlenmesi gerçekleştirilmiştir. $^{99m}\text{Tc(I)}$ -trikarbonil kuru ile işaretli L-alanin ve L-sistein kaplı manyetik nanoparçacıkların biyolojik davranışları Wistar Albino sıçanlar ile biyodağılım çalışması yapılarak belirlenmiştir. İki ayrı gruptaki sıçanlar üzerindeki biyodağılım çalışması sonucunda oluşturulan aminoasit kaplı radyoışaretli manyetik nanoparçacıkların iyi bir teşhis radyofarmasötici olup olmadığı araştırılmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 Radyofarmasötik

Radyofarmasötikler, nükleer tıpta hastalıkların teşhis ve tedavisinde kullanılan, yapısında bir radyonüklid bulunduran bileşiklerdir. Nükleer tıpta kullanılan radyofarmasötiklerin % 95'i teşhis % 5'i ise tedavi amacıyla kullanılır (İçhedef, 2010). Bir radyofarmasötik, çoğunlukla bir radyonüklid ile ona bağlanabilen fonksiyonel bir gruptan (biyoaktif bileşenden) oluşur. Radyofarmasötüğün kullanımı bu iki bileşenin özelliklerine göre belirlenir (Banerjee, et al., 2001; Ünak, 2003).

Yeni hazırlanan bir radyofarmasötüğün; kolay ulaşılabilmesi, düşük maliyete sahip olması, içerdiği radyonüklidin yarı ömrünün uygun olması, kısa etkin yarı ömre sahip olması, 100 ila 200 keV arası enerjiye sahip gama fotonu yayabilmesi, parçacık radyasyonu yaymaması, izometrik geçiş ile elektron yakalaması veya bozunması, hedef- hedef olmayan organ oranının yüksek olması gibi özelliklere sahip olması gerekir (Banerjee, et al., 2001). Ayrıca, ideal bir teşhis radyonüklidinin yayımladığı fotonlar ve gama ışınları insan vücudunda bulunan karbon, azot, oksijen gibi düşük atom numaralı olan elementlerle etkileşime girmezler. Böylece insan vücudundan çıkarak gama kameralar tarafından yakalanırlar (İçhedef, 2010). Şekil 2.1' de ideal bir görüntüleme radyofarmasötüğünün verilmiştir.



Şekil 2.1 Görüntüleme radyofarmasötüğünün özellikleri

Bu genel özellikler dışında radyofarmasötiklerin farklı organlardaki lokalizasyon mekanizmalarını iyi bilmek, vücuttaki spesifik organlar ve kimyasal reaksiyonları için yeni radyofarmasötik ajanlar üretme konusunda yol gösterici olur. Ayrıca, bir radyofarmasötik hazırlanmadan önce, hazırlanırken ve hazırlandıktan sonra; özgülük, uyumluluk, molekül yükü ve büyüklüğü, çözünürlük, kararlılık, in vivo yöntemlerde metabolik uygunluk ve proteinlerle bağlanma gibi özelliklere de dikkate etmek gerekir (Banerjee, et al., 2001) .

2.2 Teknesyum

Teknesyum elementinin keşfi, 1937 yılına dayanır. İtalyan bilim insanları Emillio Segre ve Carlo Perrier, siklotronda molibden elementini döteryum ile ışınlayarak atom numarası 43 olan teknesyum elementini elde etmişlerdir. Teknesyum adı ise ilk yapay element olması sebebiyle, Paneth tarafından Yunanca' da yapay anlamına gelen "technetos" kelimesinden esinlenilerek bu elemente verilmiş ve kimyasal sembolü Tc olarak belirlenmiştir. Teknesyum elementinin oda koşullarındaki görünümü şekil 2.2' de görülebilmektedir.



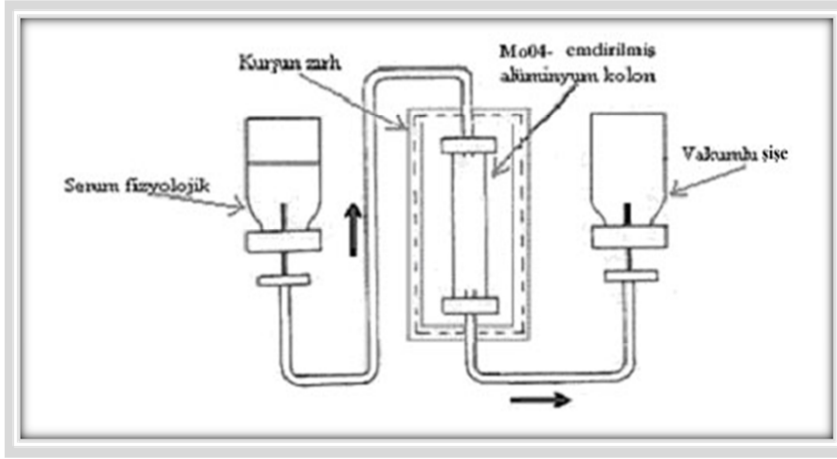
Şekil 2.2 Teknesyumun oda koşullarındaki görünümü

Teknesyum periyodik cetvelde VII-B grubunda yer alır ve -1 ile +7 değerleri arasında değişen 8 tane oksidasyon basamağı olması sebebiyle çok yönlü bir kimyasal yapıya sahiptir. Bu oksidasyon basamaklarının kararlılığı ligandların türü ve kimyasal ortamına bağlıdır. +7 ve +4 basamakları en kararlı halleri olup; oksit, sülfid, halojenür ve perteknetat halleri mevcuttur. Düşük oksidasyon basamakları olan -1, +1, +2 ve +3 basamakları ligandlar ile komplekslerinde kararlıdır. En sık karşılaşılan oksidasyon basamağı +5' tir. Komplekslerinde, teknesyumun koordinasyon sayısı 4 ile 9 arasında değişmekte olup, en yaygın olanları 5 ve 6' dır. Jeneratörden +7 oksidasyon basamağında $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ halinde elde edilir. Fakat $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ (perteknetat), +7 oksidasyon basamağında kimyasal olarak reaktif değil-

dir ve bu sebeple de ligandlarla bu oksidasyon basamağında reaksiyona giremez. Bu reaksiyonun sağlanması TcO_4^- ancak istenen oksidasyon basamaklarına indirgenmesiyle mümkün olabilir. Kalay klorür, kalay tartarat, kalay sitrat, konsantre HCl, sodyum bor hidrür, sodyum ditionit, sodyum metabisülfid ve askorbik asit gibi çeşitli indirgen ajanlar bu amaçla kullanılarak ligandlarla reaksiyonu sağlanabilir (Banerjee, et al., 2001).

Teknesyumun yaygın olarak bilinen en önemli izotopları ^{99g}Tc ve ^{99m}Tc ' dir. Makroskobik ^{99g}Tc füzyon reaktörlerinin bir yan ürünü olup, teknesyum elementinin kimyası üzerine yapılan çalışmalarda kullanılır. Bir diğer teknesyum izotopu olan ^{99m}Tc ' dan ise tıp alanında radyofarmasötiklerin üretilmesi çalışmaları sırasında yararlanır.

^{99m}Tc ' in radyoaktif yarı ömrü 6.02 saattir ve bozduğunda 140 keV' lik enerjiye sahip bir gama fotonunu serbest bırakır. Nükleer tıp prosedürlerine uygun radyoaktif yarı ömrü ve gama fotonu serbest bırakması sebebiyle nükleer tıpta kullanılan tarayıcılar için en yaygın kullanılan izotoptur. Bir diğer önemli teknesyum izotopu olan ^{99g}Tc ' nin ise radyoaktif yarı ömrü 212.000 yıldır ve bozunması esnasında düşük enerjili beta parçacıklarını serbest bırakır. Çok uzun yarı ömrü ve saldıdığı düşük enerjili beta parçacıkları sebebiyle, inorganik kimya için iyi bir izotoptur, fakat bu özellikleri onun akademik olarak daha çok kullanılmasını engeller. Yine aynı sebeplerden ötürü endüstriyel alanda ve radyofarmasi çalışmalarında kullanımını zorlaştırır. Çünkü uzun yarı ömründen dolayı, çözelti içerisindeki veya katı halindeki ^{99g}Tc ' in radyoaktif kontaminasyonunun bertaraf edilmesi ve temizlenmesi büyük problemdir. Bu sebeple de, kimyadaki faydalarına rağmen kontaminasyon riskleri ve uzun ömürlü radyoaktif atıklarının atılmasındaki zorlukları sebebiyle üniversiteler, hastaneler ve çeşitli kuruluşlardaki radyasyon güvenliği birimleri tarafından kabul edilmesi zordur (Nosco and Beaty-Nosco, 1999).



Şekil 2.3 ^{99m}Tc ' in molibden jeneratöründen elde edilmesi (Hayrat, 2007)

Radyofarmasi çalışmalarında geniş kullanım alanına sahip olan ^{99m}Tc izotopu ise bir jeneratör ürünüdür. 1950 yılında Brookhaven Ulusal Laboratuvarı' nda (BNL) $^{99m}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ jeneratörünün geliştirilmesiyle ^{99m}Tc izotopu elde edilmeye başlanmıştır. BNL laboratuvarında devam eden, $^{132}\text{Te}/^{132}\text{I}$ jeneratörünü geliştirmeye yönelik çalışmalar esnasında 140 keV' lik gama fotonu yayan ^{99m}Tc ' in radyonüklit safsızlığı gözlenmiştir. Bu durumdan esinlenen bilim insanları, $^{132}\text{Te}/^{132}\text{I}$ jeneratörünün kimyasal bir özelliği olan ana-ürün (daughter) nüklid özelliğinden yararlanarak $^{99m}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ jeneratörünü geliştirmişlerdir. En çok kullanılan ve piyasada yaygın olarak bulunan $^{99m}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ jeneratörü, alüminyum sistemine dayanan bir jeneratör çeşididir (Şekil 2.3).. Bu tür alüminyum sütunlarında, jeneratörün çalışması, steril serum fizyolojik ile $^{99m}\text{TcO}_4^-$ ' in tek bir adımda elde edilmesi prosedürüne dayanır (Banerjee, et al., 2001). Molibdenyum ve teknesyumun farklı kimyasal özelliklere sahip olması, ürün nüklid olan ^{99m}Tc 'in Şekil 2.3' te görüldüğü gibi ana nüklid olan ^{99}Mo ' dan kimyasal olarak ayrılmasına olanak vermektedir (Arano, 2002; İçhedef, 2010).

İlk olarak ^{99m}Tc 'un görüntülenme çalışmaları 1961 yılında $^{99m}\text{TcO}_4^-$ (per-teknetat)' ın tiroid görüntülenmesinde kullanılması ile başlamıştır. Daha sonraları karaciğer, böbrek, kemik, kalp ve beyin gibi organların görüntülenmesi amacıyla da ^{99m}Tc kompleksleri geliştirilmiştir. Radyoışaretle bileşiklerin biyodağılımı bileşiklerin yük, boyut ve lipofilité gibi fiziksel özelliklerine bağlıdır (İçhedef, 2010).

Genellikle, teknesyum Tc(V) hali sadece dört dişli azot, oksijen ve kükürt içeren ligandlarla basit kompleksler oluşturur. Kimyanın standart şelatlama kuralları bu komplekslerin kararlılığı açısından da geçerlidir. Bu kural, ligandların daha kararlı olanından daha az kararlı olanına doğru (dört dişli > üç dişli > ikidişli > tek dişli) olmaları durumuna göre kabul edilir. Ayrıca thiol grupları içeren ligandlar,

alkol içeren ligandlara göre daha kararlıdır ve daha çok tercih edilirler (Nosco and Beaty-Nosco, 1999). Bugüne kadar radyoişaretlemede kullanılan yöntemlerin çoğu Tc(V)'ün dört dişli azot ve kükürt içeren ligandlarla kompleks oluşturmasını içermektedir. Ancak bu yöntemler çoğunlukla kimyasal (işaretlenmeden kalan madde) veya radyokimyasal safsızlıklar (ayırışma ürünü olan $^{99m}\text{TcO}_2$) içerdiği için saflaştırma gerektirmektedirler (Alberto et al., 1998, 1999; İçhedef 2010). Bu nedenle organometalik teknesyum kompleksleri ile ilgili farklı yaklaşımların geliştirilmesine gerek duyulmuştur. Bu amaçla trikarbonilrenyum (I) ve trikarbonil-teknesyum (I) komplekslerine ait çalışmalar gerçekleştirilmeye başlanmış ve 1995 yılında Alberto ve arkadaşları tarafından $[\text{}^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3]^+$ koruna ait sentez metodu geliştirilmiştir (İçhedef, 2010).

Alberto ve araştırma grubu, yapmış oldukları çalışmalarda jeneratörden elde edilen $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ ' ın sodyum bor hidrür kullanılarak, 11 pH' lık serum fizyolojik ortamında, 1 atmosferlik karbon monoksit gazı altında ($75\text{ }^\circ\text{C}$ 30 dakika), $[(\text{}^{99m}\text{Tc}[\text{CO}]_3[\text{H}_2\text{O}]_3)^+]$ trikarbonil kompleksine indirgenebileceğini saptamışlardır. Yine aynı çalışma esnasında, değişken su ligandlarının, bifonksiyonel ligandlar ile sonradan kompleks içerisinde yapmış olduğu yer değiştirmeler sonucunda, oluşturulan karbonil komplekslerinin biyomoleküllerle bağ yapabileceği anlaşılmıştır. Bu durum kompleksten özellikle nükleer tıp uygulamalarında sıkça faydalanılabileceği gerçeğini ortaya çıkarmıştır (Alberto et al., 1998, 1999; İçhedef 2010).

2.3 Teknesyum Radyofarmasötiklerinin Kalite Kontrolünde Kullanılan Yöntemler

2.3.1 İnce tabaka kromatografisi (TLC)

Birbirine yakın özellikteki madde karışımlarını ayırmak ya da saflaştırmak için kullanılan güçlü ayırma ve saflaştırma yöntemlerine "Kromatografi" adı verilir (Şenocak, 2010). İnce tabaka kromatografisi (TLC) ise, kullanımının kolaylığı, yüksek hassasiyeti, maddeleri hızlı ayırması ve aynı anda birden fazla numuneyi analiz edebilme kapasitesi bakımından en popüler ve yaygın ayırma tekniklerinden birisidir. Bu sebeple TLC' den biyokimya, toksikoloji, farmakoloji, çevre bilimi, gıda bilimi ve kimya gibi birçok bilim dallarında yararlanır. TLC; ayırma, izolasyon, tanımlama ve karışım içerisindeki bileşenleri ölçmede kullanılır (Grillini, 2006).

İnce tabaka kromatografisi genellikle ince tabaka şeklinde cam, plastik veya alüminyum formlarda destek madde olarak seçilen sabit bir faz üzerinde yapılan bir sıvı kromatografisi türüdür. Adsorban madde ile ince bir tabaka şeklinde düzgün olarak kaplanmış olan destek madde üzerine, örnek çözeltilen küçük bir noktaya ya da ince bir bant şeklinde sürülerek yapılır. Ana prensibi, hareketli faz olan solvent karışımının, kılcallık etkisiyle içerisine daldırılan adsorban kaplı TLC plakaları üzerinde ilerlemesi ve damlatılan örnek çözeltinin bileşenlerine ayrılmasıdır (Tocher, 2003).

Hazırlanan örnek karışımın bileşenleri, kılcallık etkisiyle farklı hızlarla sabit faz üzerinden ilerlerler. Bu hareketli faz, TLC plakaları üzerinde uygun uzaklığa taşındığında, plakalar içine daldırıldıkları solvent tankından çıkarılırlar ve hareketli fazın yürüdüğü mesafe işaretlenir. Daha sonra plakalar oda sıcaklığında, güçlü bir hava akımı ile ya da ısıtılmış bir fırında kurutulur ve üzerindeki hareketli faz buharlaştırılır. Bazı durumlarda, karışımın doğal bileşenleri renkli veya floresans özellikli değilse, ikincil bir reaktif bileşen kullanılarak bant üzerindeki bileşenler görünür hale getirilir. Karışım içerisindeki bileşenleri saptayabilmek için bazen birden çok dedeksiyon yöntemi uygulanabilir.

İnce tabaka kromatografisinde, sabit faz olarak kullanılan TLC plakalarının üstünün kaplandığı adsorban maddeler genel olarak; çeşitli silika jel, selüloz, alüminyum, poliamid, iyon değiştiriciler, kimyasal olarak düzenlenmiş silika jel ve uygun bir destek kaplı iki ya da daha fazla farklı malzeme karışımlardan oluşan kaplamalardan seçilebilir. Silika jel en çok kullanılan adsorban maddelerden birisidir. Şu anda ilaç endüstrisi piyasasında kullanılan ince adsorban katmanlar ile kaplanmış yüksek performanslı TLC plakalar, genellikle yüksek verimli, hızlıca kullanılabilen ve üretken olanlardır.

Solventler içerisinde ise hareketli faz olarak; tek bileşenli komponentlerden, çok bileşenli komponentlere kadar birçok farklı solvent seçilebilmektedir (Grillini, 2006).

TLC plakalarının analizinin yapılmasını sağlayan temel cihaz ise düşük kalitede bile tek plaka üzerinde birçok farklı örneğin analizini yapabilen ve yaptığı verimli işlemlere göre oldukça düşük maliyetli ve basit bir cihazdır. Ancak farklı uygulama ve nicelikler için tasarlanmış daha karmaşık ve yüksek maliyetli olanları da vardır (Tocher, 2003). TLC plakalarının taramalarını yapan sistemlerde; plakalar taranır, veriler hafızaya alınır ve sonuçlar bilgisayarda izlenebilir (Grillini, 2006). Eğer hazırlanan örnek bir radyonüklid içeriyorsa uygun bir dedektör ile

radioaktivite sayımı yapılır (İçhedef, 2010). Radyoaktif örneklerin sayımlarının da alındığı TLC yöntemine İnce Tabaka Radyokromatografisi (TLRC) adı verilir. TLRC Scanner (Şekil 2.4); hareketli yatay bir dedektör sisteminden oluşur. Yatay dedektörün bulunduğu kısma plakalar yerleştirildikten sonra hareketli dedektör belli süreler zarfında sayımlar alarak bilgisayar ekranında kromatogramın oluşmasını sağlar. Ortaya çıkan kromatogramdaki sayım piklerinden radyofarmasötüğün radyokimyasal saflık verim yüzdesi okunur. Sayım sırasında her noktanın aktivitesi dedektör tarafından ölçülür.



Şekil 2.4 Bilgisayar destekli TLC Scanner

2.4 Serumda Stabilite

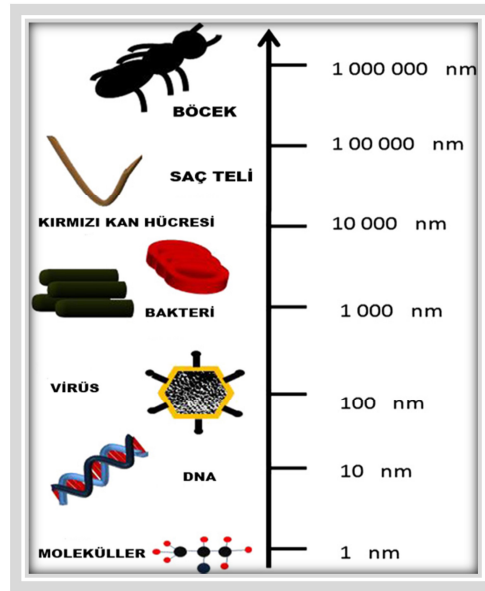
Serumda stabilite çalışmaları bileşiğin in-vivo kararlılığının tahmin edilmesi amacıyla yapılan bir çalışmadır. Çalışma serum kullanılarak gerçekleştirilir. Farklı zaman dilimlerinde örneklemeler yapılarak sonlandırılır. Bu süre boyunca serum ve kararlılığı araştırılan örnek karışımı 36-37 °C derecede tutulur (Şenocak, 2010).

2.5 Liyofilizasyon

Liyofilizasyon dondurulmuş maddede bulunan su moleküllerinin süblimasyon ile dışarı çıkarılmasını sağlayacak uygun koşulların oluşturularak kurutulmasını sağlayan bir yöntemdir. Bu yöntemle kurutulan maddenin yapısı bozulmaz. Bu da liyofilizasyonun yalnız bir kurutma yöntemi değil aynı zamanda iyi bir koruma yöntemi olmasını sağlar. Liyofilize madde normal ortam koşullarında başlangıç halleriyle saklanabilir. Bu yöntem ısıya duyarlı maddelerin asgari düzeyde hasar ve etkinlik kaybına uğramaları, kolay toz haline getirilebilmeleri, çok hızlı ve etkin bir biçimde sulandırılabilimleri gibi avantajlardan ötürü diğer kurutma yöntemlerine göre avantajlıdır (Şenocak, 2010).

2.6 Nanoteknoloji

Mühendislik, fizik, kimya ve biyoloji alanları çerçevesinde sunulan çeşitli geniş kapsamlı gelişmeleri kapsayan çok disiplinli bir çalışma alanı olan nanoteknoloji; aynı zamanda nanometre ölçeğindeki küçük boyutlarda organize edilmiş malzeme ve cihazların tasarım, sentez, karakterizasyon ve uygulamalarının bilimi ve mühendisliği olarak da açıklanabilir. Teknoloji kelimesine eklenen nano öneki, Yunanca' da cüce anlamına gelmektedir. Bir nanometre, metrenin milyarda birine eşittir ya da başka bir deyişle 6 karbon atomu ya da 10 su molekülüne karşılık gelmektedir. Bir insan saç teli yaklaşık 80.000 nm genişliğinde ve bir kırmızı kan hücresi, yaklaşık 7000 nm genişliğindedir. Bir atomun boyutları 1 nm' den daha küçük, birçok molekül içeren proteinler ise yaklaşık 1 nm veya 1 nm' de biraz daha büyüktür (Sahoo, 2007). Şekil 2.5' de farklı maddelerin boyutları nano ölçekte görüldüğü gibi sıralanmaktadır.



Şekil 2.5 Nanoölçek

Nanoteknoloji; atomik, moleküler veya süper moleküler düzeyleri (1 ile 100 nm arasındaki değişik boyutlarda), anlama, yaratma ve onların kendi küçük yapılarının temel yeni özellikleri ve işlevleriyle madde yapılarını, cihazları ve sistemleri kullanma yeteneğidir. Nanoteknolojinin amacı molekülleri nesnelere içine yerleştirebilme ya da nesnelere çıkartabilme yeteneği olarak da tanımlanabilir. Bu durum, doğanın canlı sistemler ve çevreye yaptığı müdahalelerin bir benzeridir. Nano boyutlardaki maddelerin bu şekilde yeniden düzenlenmesinde, Van der Waals kuvvetleri, hidrojen bağları, elektrostatik dipoller, akışkanlar ve çeşitli yü-

zey kuvvetleri gibi 'zayıf' moleküler etkileşimler; düşük enerji tüketimi gerektiren ve geri dönüşüm imkanı olan veya sonradan yapılacak diğer tüm değişiklikler için olanak sağlar (Roco, 2003).

Nanoyapı ve nanoteknolojinin potansiyel uygulama alanları, malzeme üretimi, elektronik, ilaç, sağlık, çevre, enerji, kimya, biyoteknoloji, tarım, bilgisayar ve bilişim teknolojileri ile ulusal güvenlikte gözle görülür bir şekilde atağa geçmiştir. Nanomanyetik malzemelerin kullanım alanları; nanokristal malzemelerde yüksek manyetik direnç elde etme, nanokatmanlara ayrılabilen optik bariyerler ve sert kaplamalar oluşturma, opto elektronik özelliklerde dağılganlık ve yüksek reaktivite elde etme, kimyasal ve biyodedektörler tasarlama, ilaç dağıtım sistemlerinde avantaj sağlama, kimyasal-mekanik cilalama, yeni lazerlerin, çiplerin ve nanoyapıdaki katalizörlerin, karbon nanotüplerin, nanoparçacıklarla güçlendirilmiş malzemelerin, termal bariyerlerin, bilgi kayıt tabakalarının, moleküler eleklerin ve yüksek sertlikteki keski aletlerinin üretimi olarak sıralanabilir (Can, 2005).

2.6.1 Manyetik nanoparçacıklar

Nanometre ölçekli parçacıkların manyetik özelliklerini anlamak, manyetik malzemeler açısından önemlidir. Manyetik nanoparçacıklar; kayıt bantları, esnek disk kayıt ortamının yanı sıra biyomedikal malzemeler ve katalizörler olarak da kullanılmaktadırlar. Bu farklı teknolojik uygulamalar, birçok araştırmanın odak noktasını oluşturmakla beraber; manyetik nano malzemeler, fizik, jeoloji, biyoloji ve tıp alanlarında araştırma araçları olarak da kullanılırlar.

Manyetik nanoparçacıkları oluşturan malzemelerin özellikleri, parçacıkların kendi içsel özellikleri ve parçacıklar birbirleri arasındaki etkileşimlerin de bir sonucudur (Kodama, 1999).

Küçük nanoparçacıkların özelliklerinin değiştirilmesi, makroskopik boyutlarda ilgili malzeme ile karşılaştırıldığında malzeme biliminde heyecan verici bir konudur. Nanoparçacıklara manyetik, elektronik, optik ve manyeto optikal özelliklerin kazandırılması, malzeme biliminde parçacık boyutu açısından çok önemli bir devrimdir (Diaz, 2011).

2.6.2 Madde içinde manyetizma

Bir tel sargıdaki akımın oluşturduğu manyetik alan, bazı maddelerin kuvvetli manyetik özellikler göstermelerinin nedenini açıklar. Genelde herhangi bir akım

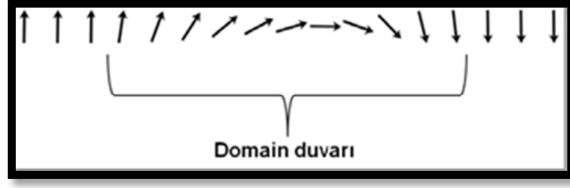
ilmeği bir manyetik alana ve buna karşılık gelen bir manyetik momente sahiptir. Benzer şekilde, mıknatıslanmış bir maddedeki manyetik momentler i atomik akımlardan kaynaklanır. Bu akımların elektronların çekirdek etrafında ve çekirdekdeki protonların birbirleri etrafında dolanımlarından ileri geldikleri söylenebilir.

Bir elektronun net manyetik momenti, yörüngesel hareketi ile spin adı verilen bir i özelliğinin birleşiminden kaynaklanır. Bu manyetik momentlerin aralarındaki karşılıklı etkileşim kuvvetleri ve bir dış manyetik alanla etkileşimleri manyetik maddelerin özelliklerini anlamak açısından önemlidirler. Bu özelliklerden yola çıkılarak maddeleri ferromanyetik, paramanyetik ve diamanyetik olmak üzere üç kısımda toplayabiliriz (Serway, 1996).

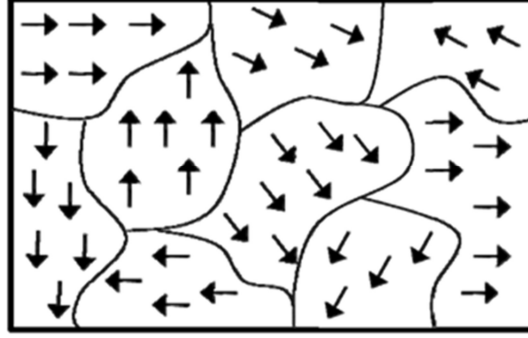
2.6.3 Ferromanyetik maddeler

Kristal maddelerin az sayıda bir kısmını güçlü manyetik etkiler gösteren kalıcı manyetik momentlere sahip olanları oluşturur ve bu tür maddelere ferromanyetik maddeler adı verilir. Demir, kobalt, nikel, godolium, disporsiyum gibi maddeler bu tür maddelere örnektir. Bu tür maddeler, zayıf bir dış manyetik alan içinde bile birbirlerine paralel olarak yönelmeye çalışan atomik manyetik dipol momentlere sahiptirler. Bir kere manyetik momentler paralel hale getirildikten sonra, dış manyetik alan ortamdan kaldırılrsa bile madde mıknatıslanmış olarak kalacaktır. Bu sürekli yönelim, komşu olan manyetik momentler arasında kuvvetli bir etkileşmeden kaynaklanır. Bu etkileşim ancak kuantum mekaniksel ifadelerle anlaşılabilir.

Tüm ferromanyetik maddeler şekil 2.6' daki " **domain** " adı verilen mikroskobik bölgelerden oluşurlar. Herhangi bir bölgedeki momentlerin hepsi aynı yönde yönelmişlerdir. Bu bölgelerin hacimleri yaklaşık 10^{-12} ile 10^{-8} m³ arasında olup bu bölgeler 10^{17} ila 10^{21} arası atom içerirler. şekil 2.7' deki gibi farklı yönelimlere sahip olan bölgeler arasındaki sınırlara bölge duvarları adı verilir. Mıknatıslanmamış bir numunede bölgeler net manyetik moment sıfır olacak biçimde rasgele yönlenirler. Numune bir dış manyetik alan içine konduğunda ise bölgeler hafifçe dönerek manyetik alan yönünde konumlanmaya çalışırlar. Bu durum mıknatıslanmış numuneyi ortaya çıkarır (Serway, 1996).



Şekil 2.6 Domain duvarı ve bu bölgedeki manyetik momentler



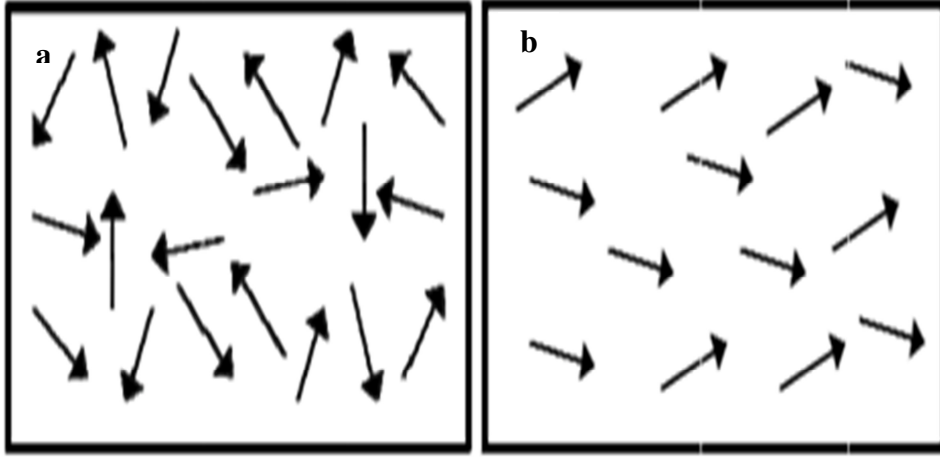
Şekil 2.7 Ferromanyetik malzemede domain yapısı

2.6.4 Paramanyetik maddeler

Paramanyetik maddeler pozitif ama küçük bir manyetik duyunluğa sahip maddelerdir ($0 < \chi \leq 1$). Bu duyunluk sürekli manyetik dipol momentli olan atom ya da iyonların varlığından kaynaklanır. Bu dipoller birbirleriyle yalnız çok zayıf etkileşimlerde bulunurlar ve bir dış manyetik etkisi yokken yönelimleri Şekil 2.8a' daki gibi gelişir. Maddeye dış manyetik alan uygulandığı takdirdeyse atomik dipoller Şekil 2.8b' deki gibi manyetik alan yönünde yönelmeye zorlanırlar. Ancak bu yönelme süreci, dipolleri rasgele yönlere yönelmeye zorlayan ısısal hareketin etkileriyle yarışmak zorundadır.

Deneysel çalışmalarda bazı koşullar altında paramanyetik bir maddenin mıknatıslanmasının manyetik alanla doğru; sıcaklıkla ters orantılı olduğu görülmüştür. Bu durumu ilk keşfeden Pierre Curie' nin anısına bu durum **Curie yasası** olarak adlandırılır. Bu yasayla mıknatıslanmanın artan manyetik alan etkisi ve azalan sıcaklık ile arttığı anlaşılmaktadır. Ferromanyetik bir maddenin sıcaklığı **Curie sıcaklığı** denilen kritik sıcaklığa ulaştığı ya da bu sıcaklığı geçtiği zaman madde kendiliğinden mıknatıslanmasını kaybeder ve paramanyetik duruma geçer. Maddenin manyetik momentleri bu sıcaklığın altında paralel olarak dizildiği için madde ferromanyetiktir. Bu sıcaklığın üstünde ise ısısal enerji, dipollerin gelişir

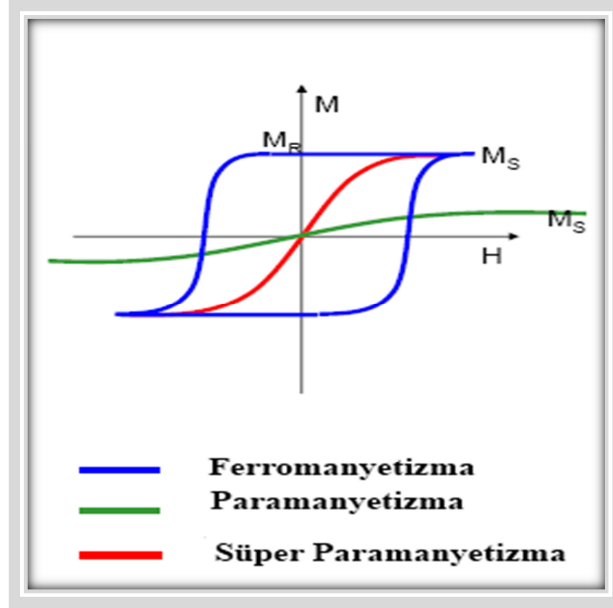
güzel yönelmelerine sebep olacak kadar yüksek olduğu için madde paramanyetik-tir (Serway, 1996).



Şekil 2.8 Paramanyetik malzemede manyetik momentlerin yönelimi: a) Dış manyetik alan yokken
b) Dış manyetik alan varken.

Ayrıca, nanoparçacıklar olarak adlandırılan nano boyutlu parçacıklarda da diğer maddelerden daha farklı bir manyetik özellik mevcuttur. Bu tür maddeler hacimsel yapılarından farklı manyetik özellik içermektedirler. Bunun başlıca nedeni parçacık boyutunun manyetik domain boyutundan küçük olmasıdır. Bu sayede nanoparçacıklar tek domain manyetizması sergilemektedirler. Bu konu üzerine yapılan çalışmalarda, manyetizmanın boyuta olan bağımlılığı ile ilgili tartışmalar devam etmektedir. Manyetik özellik denince ilk akla gelen demir grubu olan metallerin, makroskobik boyutta oda sıcaklığında ferromanyetik özellik gösterirken, nano boyutlara inildiğinde süper paramanyetik davranış sergiledikleri görülmektedir. Süper paramanyetiklik aslında makroskobik malzemelerde de Curie sıcaklığının üzerinde gözlemlenen paramanyetiklikle aynı davranışa sahip olup, tek farkı kritik sıcaklık olan Curie sıcaklığının (T_c) altında ortaya çıkmasıdır. Manyetizasyonun sıcaklığa bağımlılığında görünen sınırlı boyut etkisinin malzemelerin Curie sıcaklığını değiştirdiği daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Ayrıca ince parçacıklar üzerinde yapılan manyetik hysteresis çalışmaları anizotropinin ve zorlayıcı düzenin büyüklüğünün nanoparçacıklarda hacimsel malzemelerden daha etkili olduğunu göstermiştir (Ebin, 2008).

Şekil 2.9' da süper paramanyetizmaya ait histerezis eğrisinin paramanyetizma ve ferromanyetizma durumlarına ait histerezis eğrileriyle karşılaştırılması görülmektedir.

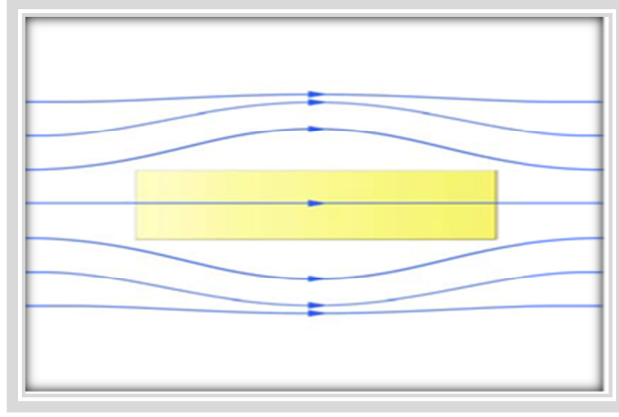


Şekil 2.9 Süper paramanyetizma

2.6.5 Diamanyetik maddeler

Atomları sürekli manyetik dipol momente sahip olmayan maddelere diamanyetik madde adı verilir. Bizmut ya da gümüş gibi bir diamanyetik maddeye bir dış manyetik alan uygulandığında bu alana zıt yönde zayıf bir manyetik dipol moment oluşur. Her çeşit maddede bu etki olmakla beraber, paramanyetizma veya ferromanyetizmaya göre zayıftır.

Bir atomun çekirdeğinin etrafında zıt yönlerde fakat aynı hızla iki elektron ele alındığında diamanyetizma daha rahat anlaşılabilir. Elektronlar bu çembersel yörüngelerde, pozitif yüklü çekirdeğin oluşturduğu merkezci kuvvet etkisiyle dolanırlar. İki elektronun manyetik moment büyüklükleri eşit fakat yönleri zıt olduğundan birbirlerini yok ederler ve atomun dipol momentini sıfır olur. Bir dış manyetik alan uygulanınca elektronlar ek bir kuvvet hissederler. Bu ek kuvvet nedeniyle elektronlara uygulanan merkezci kuvvetler artık eşit olmaz. Manyetik momentini alana anti paralel olan elektronun yörüngesel hızı artarken, paralel olanın ki azalır. Sonuçta elektronların manyetik momentleri birbirlerini yok edemezler ve madde manyetik alana zıt yönde net bir dipol moment edinir. Bu durumda diamanyetizma ortaya çıkar (Serway, 1996). Şekil 2.10' da diamanyetik bir malzeme etrafında oluşan net manyetik alan eğrileri gözlenebilmektedir.



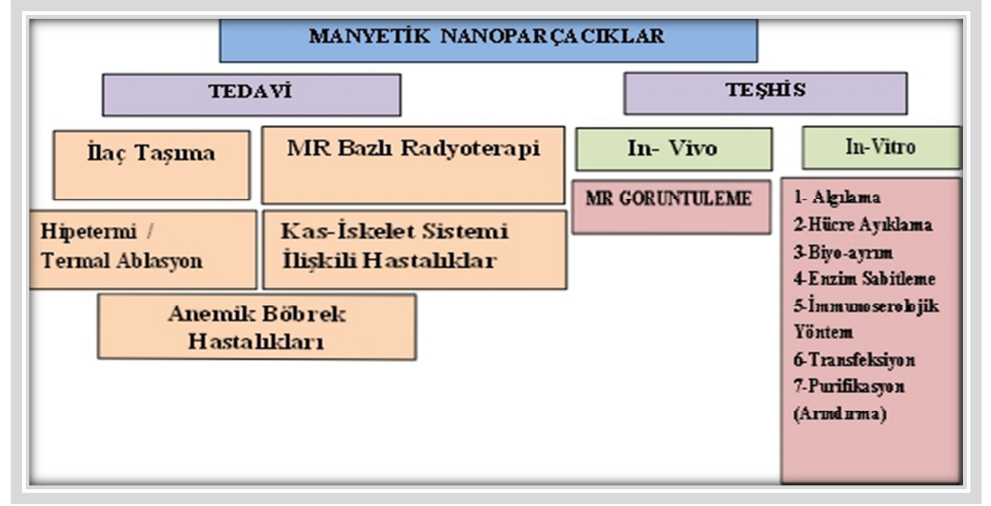
Şekil 2.10 Diamanyetik malzeme etrafındaki net manyetik alan

Manyetik özellikli maddelerdeki μ sabitine maddenin geçirgenliği adı verilir. Maddelerin geçirgenlikleri μ ile serbest uzayın geçirgenliği μ_0 arasındaki ilişki aşağıdaki gibi olur.

- Paramanyetik maddelerde $\mu > \mu_0$
- Diamanyetik maddelerde $\mu < \mu_0$
- Ferromanyetik maddelerde $\mu \gg \mu_0$

2.6.6 Sağlık alanında nanoteknoloji ve manyetik nanoparçacıklar

Nanoteknolojinin in-vivo olarak, ilaç taşınımı ve tıbbi görüntülemelerde kullanımı hızla genişleyen bir alandır. İlaç taşınım ve tıbbi görüntüleme platformlarının yanı sıra hasarlı veya hastalıklı doku ve hücrelerin tedavisinde de nanoteknolojiden yararlanır (Koo et al., 2005). Bilim ve teknolojiye gelişmeler sonucu ortaya çıkan nanoteknoloji, ilerleyen tıp bilimi içerisinde hastalıkların tedavisi için sayısız fırsatlar oluşturur. Nanoteknolojinin tıp ve fizyoloji için yapılan uygulamaları, vücutla hücre içi yani moleküler anlamda oldukça özel bir etkileşime geçilebilmesi için tasarlanmış malzeme ve cihazları içerir. Bu durum; potansiyel olarak hedeflenen hücre ve dokularda en az yan etki ile maksimum tedavi etkinliği elde etmek için tasarlanmış olan özel klinik uygulamalar olarak da açıklanabilir (Sahoo, 2007). Bunun yanında, manyetik nanoparçacıklar bir dış manyetik alan rehberliğinde, manyetik rezonans görüntüleme (MRG), ilaç hedefleme ve gen iletimi, doku mühendisliği, hücre izleme ve biyolojik ayırma gibi çalışmalar için de kullanılırlar (Shubayev, 2009). Şekil 2.11 manyetik nanoparçacıkların sağlık alanındaki uygulamalarını göstermektedir.



Şekil 2.11 Manyetik nanoparçacıkların sağlık alanında kullanımı

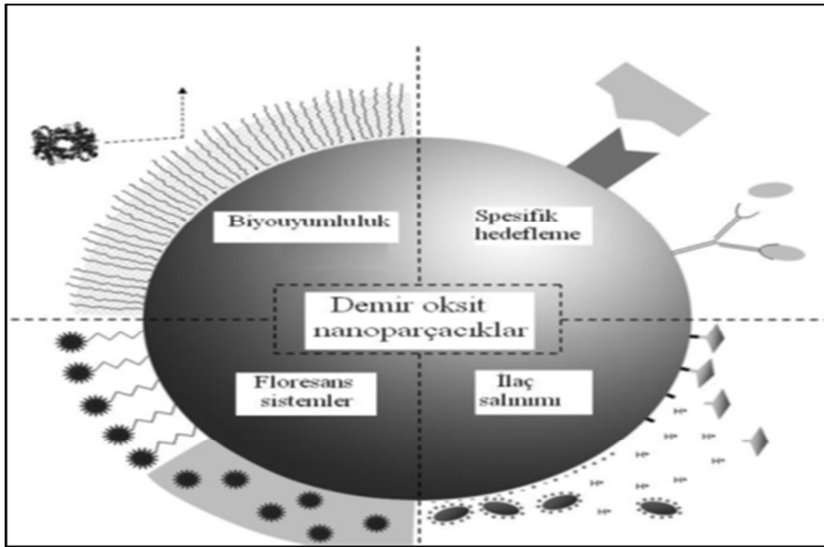
Nanotıp olarak da adlandırılan nanoteknolojinin tıbbi uygulamaları nanoparçacıkların kimyasal ve yapısal birçok özelliğini, kanserin teşhisi ve tedavisi amacıyla bir araya getirir. Tıpta kullanılan bu nanoparçacıklar, genelde yüz nanometre çapında olan, bir ya da iki algılama sinyalini veya tedavi ajanını içeren nanoparçacıklardır. Bu nanoparçacıkların benzersiz bir türü olan "theragnostic" yani hem teşhis hem de tedavi işlemlerinde yararlanan nanoparçacıklar da tasarlanmaya başlanmıştır. Bu tarz multifonksiyonel nanoparçacıklar aynı anda hem tarama hem tümör ve metastazları görüntüleme hem tedavi hem de tedavi aşamasını takip etme olanağı sağlar (Wang and Thanou, 2010).

Nanotıp üç şekilde kabul edilebilir. Birincisinde incelenen teşhis uygulamaları, hem in vitro hem de in vivo uygulamalarında teşhis için kabul edilebilir. In vitro uygulamalarda, sentezlenmiş parçacıklar ve onların kullanılması ya da dedeksiyon cihazları; tanıma, yakalama ve biyomoleküllerin konsantrasyonunu anlamak için olanak sağlar. In vivo olarak ise, esasen sentetik molekül grupları görüntüleme uygulamaları için kontrast ajan olarak tasarlanmışlardır.

Hızlı bir gelişim sergileyen ikinci bir alan ise "nanoilaçlar" dır. Bu alanda nanoparçacıklar hedefli ilaç dağıtımı için tasarlanmışlardır. Bu tür taşıyıcıların kullanımı, sağlıklı dokuyu koruyarak hastalıklı dokuların aktif moleküllerini hedefleyen, ilaç biyodağıtımını geliştirmektedir. Nanoteknolojinin üçüncü bir uygulama alanı olan rejeneratif tıpta ise hücre terapisinde kullanılan hücre büyümesine dayanan biyoyumlu malzemelerin geliştirilmesi amaçlanmaktadır (Boisseau and Loubaton, 2011).

2.6.7 Manyetik nanoparçacıkların yüzey kaplaması

Son 10 yıl içerisinde nano yapılı taşıyıcıların, ilaçların in-vivo etkinliğini arttırmak amacıyla klinik ortamda ve araştırmalarda kullanımı önemli hale gelmiştir. Lipozomlar, miseller, nanokapsüller, polimerik nanoparçacıklar, katı yağ parçacıkları ve niyozomlar gibi daha birçok farmasötik nano taşıyıcının yüzey modifikasyonları yapılarak, onların biyolojik özellikleri arzu edilen şekilde kontrol edilmeye ve aynı anda da onları terapi ve görüntüleme alanlarında önemli fonksiyonlarından yararlanılacak hale getirilmeye başlanmıştır (Torchilin, 2006). Ancak bu nanotaşıyıcıları oluşturmada kullanılan kobalt, nikel gibi yüksek manyetik özellikli maddeler aynı zamanda toksik özelliği olan oksidasyona duyarlı maddelerdir (Ma and Liu, 2007). Şekil 2.12’ de demir oksit nanoparçacıklarının yüzey kaplanmasında kullanılan maddelere örnekler verilmiştir. Nanoparçacıkların yüzeyi biyo-uyumluluk sağlamak ve kandaki dolaşım zamanını arttırmak amacıyla ampifilik polimerle, spesifik hedefli sistemler geliştirmek amacıyla ligandlarla veya antikorlarla, görüntüleme amaçlı manyetik floresans kompozitler oluşturmak amacıyla organik floresans maddelerle, kontrollü ilaç salınımı amacıyla da tedavi ajanları ile kaplanabilir (Figuerola et al., 2010; İçhedef, 2010).



Şekil 2.12 Demiroksit nanoparçacıklarının yüzey kaplamasında kullanılan maddeler (İçhedef, 2010)

Manyetik nanoparçacıklara genellikle daha iyi fiziksel ve kimyasal özellikler elde edebilmek için, amino grupları, silisler, polimerler, çeşitli yüzey aktifleri veya diğer organik bileşikler kullanılarak işlevsellik kazandırılır. Genel olarak, manyetik nanoparçacıklar; iyi dispersiyonları ve oksidasyona karşı yüksek kararlı-

lık avantajları nedeniyle polimer ile kaplanır. Yeterli hidrofilitiyi korumak ve ağdamarsı sistem tarafından hızlı temizlenmeyi önlemek için kabuk kaplamasıyla beraber boyutu en fazla 100 nm olan manyetik nanoparçacıklar tercih edilir. Yüzeyle bu işlevsellik nanoparçacık toksisitesinde de kilit bir rol oynamaktadır (Ma and Liu, 2007; Chomoucka et al., 2010).

İlaç dağıtımı için kullanılan polimerik yapılar ilacın taşınımını ve biyo bozunum sırasında ilacın salınımının kolaylaşmasını sağlar. Manyetik nanoparçacıklar güçlü manyetik dipol dipol etkileşimlerinden dolayı birleşme eğiliminde olmalarından dolayı, bu sorunu çözmek amacıyla manyetik nanoparçacıkların yüzeyi nişasta, dekstran veya kitosan gibi hidrofilik polimerlerle kaplanarak parçacıkların sıvı içerisinde dağılımları sağlanmaktadır (Chomoucka et al., 2010). Polimer kaplı Fe_3O_4 nanoparçacıkların sentezi, polimer kaplamaların sentezi sırasında beraber çökeltme (co-precipitation) yöntemi ile sağlanır. Böylece dar bir boyut dağılımı ile suda çözünen nanoparçacıklar, tek bir adımda üretilir. Çok fazla aşama ile sentezlenmeyen bu nanoparçacıkların verimindeki azalma da bu tek adımlı doğrudan sentezleme ile minimum olur (Keshavarz, 2010).

2.7 Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG)

Periyodik sistemdeki bazı atom çekirdeklerinin manyetik özelliklerinden kaynaklanan bir fiziko kimyasal olay olarak gözlenen nükleer manyetik rezonans, ilk kez 1946 yılında ABD’de Felix Bloch ve Edward M. Purcell adında iki bilim adamı tarafından birbirlerinden bağımsız olarak tanımlanmış, MR görüntüleme ise ilk kez 1973 yılında Lauterbur tarafından kullanılmıştır. 1980 yılında Hawkens, MR görüntülemenin multiplanar görüntüleme özelliğini ortaya çıkarmış ve bu yöntemlerle ilk lezyonu saptamıştır.



Şekil 2.13 a) Manyetik Rezonans Görüntüleme (MR) Cihazı b) Mekanizması (Tavlayan, 2006)

MRG' de sinyal kaynağı olarak sadece tek sayıda nükleonu bulunan diğer bir deyişle manyetik dipol hareketine sahip hidrojen, karbon, sodyum, fosfor gibi çekirdeklerden yararlanır. Bu atomlar kuvvetli manyetik alan içine yerleştirildiklerinde manyetik alana paralel net bir vektörel manyetizasyon ortaya çıkar. Böylece bu atomlara radyofrekans dalgaları gönderip gelen sinyalleri inceleyerek iç yapıyı incelemek mümkün olmaktadır.

Manyetik rezonans görüntüleme cihazları, ana manyet, sarmallar, radyofrekans kaynağı, görüntü işlemcisi ve bilgisayar sistemi olmak üzere beş temel parçadan oluşmaktadır. Ana manyet manyetik alanı oluşturan birimdir. Bu birim tek parça büyük bir mıknatıs olabileceği gibi bir elektro mıknatıs da olabilir. Gradyent sarmallar temel olarak manyet içinde manyetik alanı kademeli olarak düşürür ve artırır. Böylece ana manyetin oluşturduğu ana manyetik alan gücüne eklenen ilave bir manyetik alan oluşturulur. Radyofrekans sarmalları ile, sistem içerisine sinyal yayını yapılmakta ya da hastadan gelen ve oluşan sinyaller toplanmaktadır. Bilgisayar, radyofrekans sargıları tarafından dokulardan algılanan sinyallerin osiloskopta ölçümünü güçlendirip, çeşitli filtrasyonlardan geçiren ve dijitalize ederek gri skala değerleriyle görüntüye çeviren kısımdır (Tavlayan, 2006).



Şekil 2.14 T₁ Ağırlıklı aksiyal MR kesiti

2.8 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Taramalı elektron mikroskobuna ait bilinen ilk tasarımı 1935 yılında Almanya'da M. Knoll tarafından gerçekleştirilmiştir. Bunu daha sonra 1938'de M.von Ardenne ve 1942'de Zworykin' in çalışmaları izlemiştir. Ancak Şekil 2.15' teki gibi günümüzde kullanılan elektron mikroskoplarının özelliklerine uyarak 3 boyutlu fotoğraf çekme işlemi gerçekleştirebilen taramalı elektron mikroskobu ilk olarak 1953' de McMullan tarafından üretilmiştir (Çakır, 2003).



Şekil 2.15 Taramalı elektron mikroskobu (SEM) (Anadolu, 2012)

Temel olarak Taramalı elektron mikroskobu, Tungsten, Lantan hekzaborit katottan veya alan emisyonlu (FEG) tabancadan ortaya çıkan elektronların, kullanımını incelenecek malzeme yüzeyine gönderilmesi sonucu oluşan etkileşmelerden yararlanılması esasına dayanır. SEM' lerin genel olarak bu elektron enerjisi 200-300 eV' dan 100 keV' a kadar değişebilir. Bu amaçla, yoğunlaştırıcı elektromanyetik mercekle toplanan, objektif mercekle odaklanan elektron demeti, yine elektromanyetik saptırıcı bobinlerle örnek yüzeyinde tarama işlemini gerçekleştirir. Bir taramalı elektron mikroskobunda görüntü oluşumu temel olarak; elektron demetinin incelenen örneğin yüzeyi ile yaptığı fiziksel etkileşmelerin (elastik, elastik olmayan çarpışmalar ve diğerleri) sonucunda ortaya çıkan sinyallerin toplanması ve incelenmesi prensibine dayanır (TAEK., 2009).

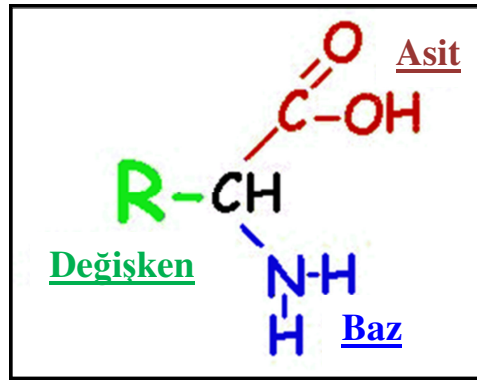
2.9 Aminoasitler

Amino asitler, yapılarında hem amino grubu ($-NH_2$) hem de karboksil grubu ($-COOH$) içeren bileşiklerdir. Doğada 300 kadar farklı aminoasit bulunur. Aminoasitlerin **standart aminoasitler** diye bilinen 20 tanesi, DNA tarafından kodlanan ve proteinleri oluşturan birimlerdir. L-alanin, L-asparagin, L-aspartikasıit, L-lösin, L-histidin, L-fenilalanin, L-sistein, L-taurin, L-valin... gibi bir çok çeşidi vardır ve bu aminoasit türlerinin her biri vücutta önemli fonksiyonların işlemlerine yardımcı olurlar.

Aminoasitlerin yapısında bir karbon atomunun dört valansına dört farklı grup bağlanmıştır. Bu gruplardan üçü ($-COOH$, $-NH_2$ ve $-H$) değişmez. Karbon atomunun 4. Valansına bağlanan R grubu ise değişerek çeşitli aminoasitlerin türemesini sağlar. R grubuna aminoasidin yan zinciri denir. Aminoasitler, amino grubunun karboksil grubuna göre bulunduğu pozisyona bağlı olarak α . β . ve γ -

aminoasit şeklinde adlandırılırlar. Şekil 2.16' da aminoasitlerin yapısı görülmektedir.

Aminoasitler aynı zamanda proteinleri oluşturan temel yapı taşlarıdır. Çok sayıda aminoasit peptid bağları ile bağlanarak proteinleri oluşturur. Aminoasitlerin kovalent bağlarla uç uca eklenmesiyle oluşturdukları kısa polimer zincirler "peptid", uzun polimer zincirler ise "polipeptid" veya "protein" olarak adlandırılırlar. Hücre içerisinde ribozomlar, m-RNA moleküllerini kalıp olarak kullanıp aminoasitleri uç uca ekleyerek proteinleri sentezlerler. Bu işleme translasyon (çeviri) denir (Altınışık,2006).



Şekil 2.16 Amino asitlerin yapısı

2.9.1 D- ve L- aminoasitler

D-ve L- simgeleri aminoasitlerin polarize ışığı sağa ya da sola çevirdikleri anlamına gelmez, sadece D- ve L-gliseraldehide benzerliklerine göre aminoasitlerin D- ve L- serisine dahil olduklarına işaret eder. Doğal olanları L-serilerdir ve canlı organizmalar daima L-aminoasitleri kullanırlar. Bitkisel ve hayvansal proteinlerin kuruluşuna sadece L-aminoasitler katılırlar. D-aminoasitleri ise genellikle bakterilerin hücre duvarlarında bulunurlar (D-glutamik asit vb...). Bazı böcek larvalarından yada krizalitlerinden elde edilen D-alanin ve yer solucanından elde edilen D-serin diğer örnekleri oluştururlar (Altınışık,2006).

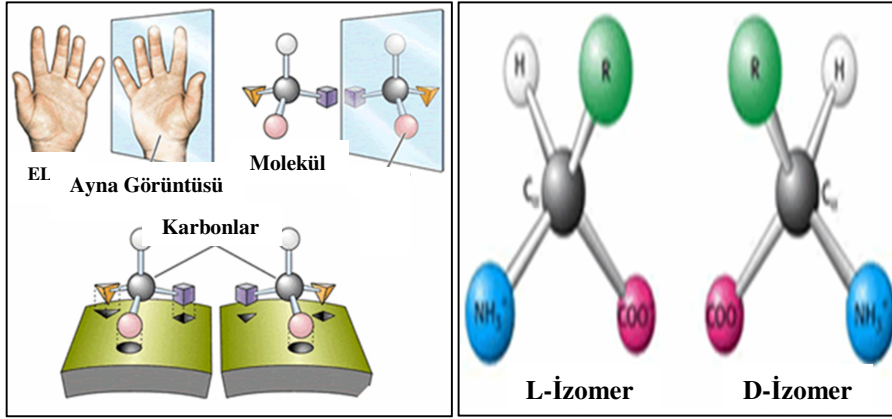
2.9.2 Standart aminoasitlerin sınıflandırılması

Aminoasitler yan zincirlerine göre yük taşıyan (pozitif veya negatif yüklü), aromatik zincir taşıyan, alifatik zincir taşıyan aminoasitler olarak sınıflandırılabilir:

- a) Nonpolar, alifatik ve aromatik R gruplu aminoasitler
- b) Polar, fakat yüksüz R gruplu aminoasitler
- c) Asidik R gruplu aminoasitler
- d) Bazik R gruplu aminoasitler
- a) **Nonpolar, alifatik ve aromatik R gruplu aminoasitler:** Glisin, alanin, valin, lösin, izolösin, alifatik yan zincirli; metionin, kükürt içeren; fenilalanin ve triptofan aromatik yan zincirlidir.
- b) **Polar, fakat yüksüz R gruplu aminoasitler :** Asparajin ve glutamin, sırasıyla aspartik asit ve glutamik asidin amidi olup;serin, treonin ve tirozin-hidroksil gruplu,sistein ise kükürt içeren aminoasittir.
- c) **Asidik R gruplu aminoasitler:** Bu gruba aspartik asit ve glutamik asit dahildir.
- d) **Bazik R gruplu aminoasitler:** Lisin, arganin ve histidin bazik R gruplu aminoasitlerdir.

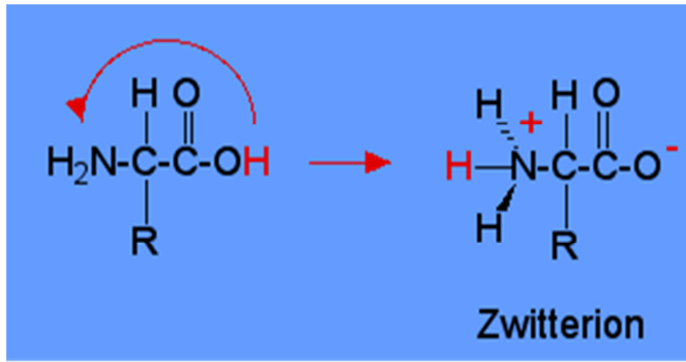
2.9.3 Standart aminoasitlerin özellikleri

- Glisinden başka bütün standart aminoasitlerde α -karbon atomu asimetriktir (Şekil 2.17a).
- Glisinden başka bütün standart aminoasitler optikçe aktif iki stereoizomere veya enantiyomere sahiptirler (Şekil 2.17b).



Şekil 2.17 a) Aminoasitlerde Asimetri b) Aminoasitlerde İzomerlik

- Bir tek amino grubuna ve bir tek karboksil grubuna sahip standart aminoasitler, nötral sulu çözeltilerden **zwitterion** olarak bilinen, tam olarak iyonlaşmış şekillerde kristalize edilebilirler (Şekil 2.18).



Şekil 2.18 Zwitterion

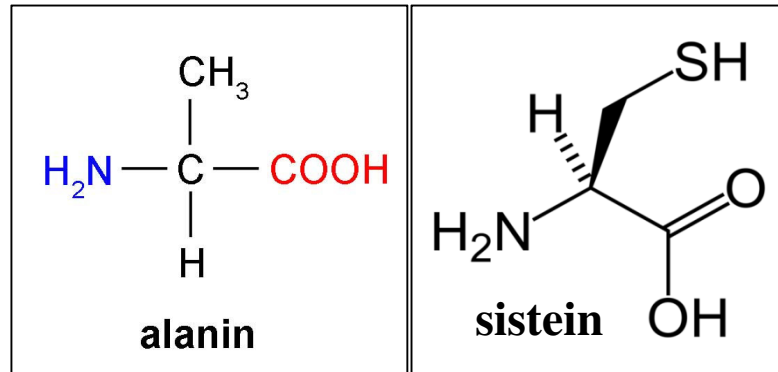
- Bir standart aminoasit, kendisi için karakteristik olan izoelektrik nokta değerine eşit pH ortamında net elektrik yükü taşımaz. Bu nedenle bir elektrik alanında hareketsiz kalır.
- Bir aminoasit, izoelektrik nokta değerinden yüksek pH ortamında bazik anyon şeklinde; izoelektrik nokta değerinden düşük pH ortamında asit katyon şeklinde bulunur.
- Bir aminoasit, izoelektrik nokta değerinden yüksek pH ortamında bazik anyon şeklinde bulunduğu için elektrik alanında anoda göçer.
- Bir aminoasit, izoelektrik nokta değerinden düşük pH ortamında asit katyon şeklinde bulunduğu için elektrik alanında katoda göçer.

- Bir standart aminoasit, hem proton donörü (asit) hem proton akseptörü (baz) olarak davranabilir.
- Aminoasitler, hem karboksil grubu hem amino grubunun proton vermek üzere iyonlaşması nedeniyle, karakteristik titrasyon eğrileri verirler.
- Bütün aminoasitler infrared bölgedeki ışığı absorbe ederler.
- Tirozin ve triptofan, daha az derecede de fenilalanin, ultraviyole ışığı absorbe ederler.
- Proteinlerdeki aminoasit kalıntılarının karakteristik NMR spektrumları vardır (Altınışık,2006).

2.9.4 Alanin ve sistein

Alanin bir alfa-aminoasittir ve kimyasal formülü $(HO_2CCH(NH_2)CH_3)$ ' tür. Molekül ağırlığı 89.1 g/mol' dür. Doğada L-alanin ve D-alanin olmak üzere iki farklı formu bulunmaktadır. L-izomeri, 20 temel aminoasitten biridir, yani proteinin ana yapı taşlarındandır. Polar olmayan aminoasitler sınıfındadır.

Hemen hemen her proteinin yapısında bulunan ve endojen bir aminoasit olan α -alanin, organizmada redüktif aminasyon ve transaminasyon reaksiyonları ile piruvik asitten üretilir. Piruvik asit ise organizmada özellikle karbonhidratlardan meydana gelir. Alanin oksidatif bir dezaminasyon ile piruvik asit ve NH_3 ortaya çıkarır. Bu suretle meydana gelen pruvik asit ya tekrar alanine, glukoza veya asetil Co-A' ya çevirilir.

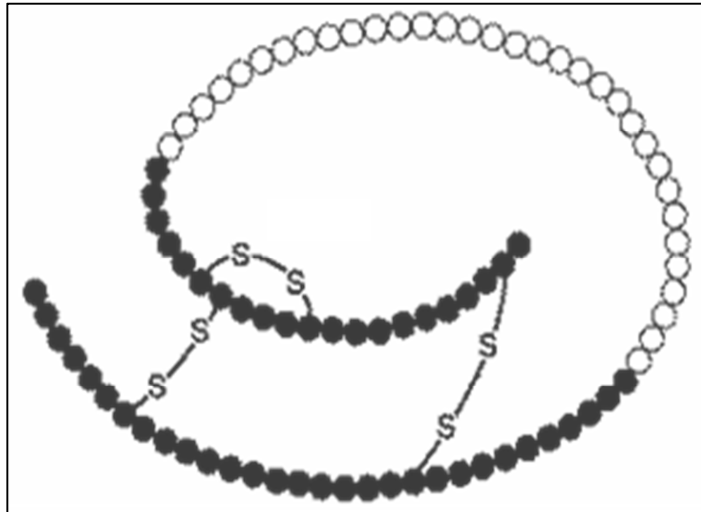


Şekil 2.19 Alaninin ve Sisteinin Kimyasal Yapıları

α -Alanin' den başka bir de β -alanin vardır. β -Alanine proteinlerde rastlanmaz; kaslardan elde edilen anserin ve karnosin adlı dipeptitlerde ve bundan başka pantotenik asitin yapısında bulunmaktadır. α -Alanin organizmada aspartik asidin amino grubuna komşu olmayan karboksil grubunun dekarboksilasyonu, β -alanin ise amino grubuna komşu olan karboksil grubunun dekarboksilasyonu ile meydana gelir (Tekman et al., 1994).

Sistein de alanin gibi proteinleri oluşturan 20 aminoasitten biridir. Polar özelliğindedir, ancak fizyolojik pH' da yüksüzdür. Birçok proteinde ve özellikle de keratinin yapısında disistein (sistin) şeklinde fazlaca bulunur. Sistein ayrıca glutathionun da bileşimine girer. Organizmada metionin olması durumunda vücutta serin aminoasitinden sentezlenebilir, aksi halde eksojen bir aminoasittir.

Sistein kükürt içeren bir aminoasittir. Proteinlerin peptit zincirlerinde bulunan sisteinler yükseltgenerek bazı böbrek taşlarının bileşeni olan ve bu yüzden zor çözünen sistini meydana getirirler. Bu nedenle, peptit zincirlerinde Şekil 2.20' deki gibi molekül içi veya moleküller arası disülfür köprüleri meydana gelir. Bu köprüler genelde aynı polipeptid zincirinde birbirinden uzakta bulunan veya iki farklı polipeptid zincirine ait sisteinler arasında kurulur. Disülfür köprüleri enzimlere ve diğer dış etkilere çok dayanıklıdır. Bundan dolayı saç, tırnak, boynuz, gibi keratin içeren, sindirilmeyen maddelerin yapısında bulunurlar (Tekman et al., 1994; Karlson, 1992).



Şekil 2.20 Sisteindeki disülfür köprüleri

3.MATERYAL VE METOD:

3.1 Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar

3.1.1 Kullanılan kimyasallar

- L- alanin Aminoasiti ($\text{HO}_2\text{CCH}(\text{NH}_2)\text{CH}_3$)
- L- sistein Aminoasiti ($\text{HO}_2\text{CCH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{SH}$)
- Sodyum Borhidrür (NaBH_4) (Sigma-AldrichCo.)
- Sodyum Karbonat (Na_2CO_3) (Sigma-AldrichCo.)
- Sodyum/ Potasyum Tartarat($\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) (Riedel Heiden)
- Sodyum Perteknetat, Na [$^{99\text{m}}\text{TcO}_4$], (Şifa Üniversitesi Hastanesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı)
- İnce Tabaka Sıvı Kromatografi Kağıdı, (ITLC-SG Silika Kaplı Alüminyum Şeritler), (MerckCo., 5554)
- Amonyak (NH_3) (MerckCo.)
- Asetonitril (CH_3CN) (MerckCo.)
- Serum Fizyolojik (% 0.9 NaCl) (Eczacıbaşı-Baxter H.Ü. San.ve Tic. A.Ş.)
- Argon Gazı (Ar) (HABAŞ, Sinai ve Tıbbi Gazlar İstihsal Endüstrisi A.Ş.)
- Karbonmonoksit Gazı (CO) (HABAŞ, Sinai ve Tıbbi Gazlar İstihsal Endüstrisi A.Ş.)
- Milipore Filtre (0.22 μm)
- Hidroklorik Asit (HCl) (MerckCo.)
- 2-N-Morfolinoetansulfonik Asit (MES) (Sigma)
- Demir (II) Klorür (FeCl_2) (Fluka)
- Demir (III) Klorür (FeCl_3) (Fluka)

- 1.17-1.21 Tesla NdFeB mıknatısları (DMEGC Metalic Magnetic Material)
- PBS (pH=7) (MerckCo.)
- İzopropil Alkol ($\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$) (MerckCo.)

3.1.2 Kullanılan cihazlar

- RAD-501 Cd(Te) Tek Kanallı Gamma Sayım Sistemi (E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı)
- TLC Scanner (Bioscan AR-2000) (E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı),
- TLC Küvetleri (Sigma) (E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı)
- Millipor (Milli-Q Gradient A-10) (E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü)
- SEM (Scanning Electron Microscopy) (Phillips XL-30 S FEG) (İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü)
- XRD (Phillips X'Pert Pro) (İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü)
- Liyofilizasyon Cihazı (E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı)

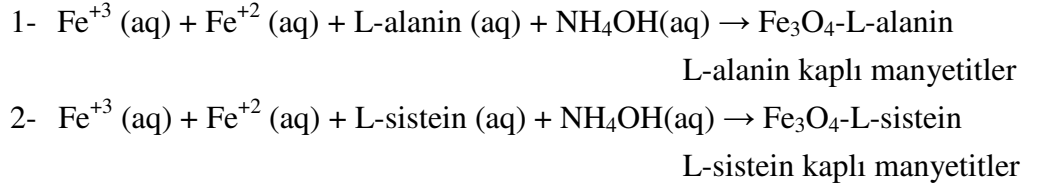
3.2 L-sistein ve L-alanin ile Kaplı Manyetik Nanoparçacıkların Sentezlenmesi

Bu aşamada; L-alanin ve L-sistein ile kaplı manyetik nanoparçacıklar ayrı ayrı sentezlenmişlerdir. Bu amaçla aşağıda verilen çözeltiler bidistile su ile balon jojeler içerisinde hazırlandı.

- ❖ 1 M 25 mL' lik çözelti; L-alanin' den 0.025 mol (2.225g) tartılıp bidistile su ile hacmi 25 mL' ye tamamlanarak oluşturuldu.
- ❖ 1 M 25 mL' lik çözelti; L-sistein' den 0.025 mol (3 g) tartılıp bidistile su ile hacmi 25 mL' ye tamamlanarak oluşturuldu.
- ❖ 0.25 M 100 mL' lik çözelti; FeCl_3 ' den 0.025 mol (4 g) tartılıp bidistile su ile hacmi 100 mL' ye tamamlanarak oluşturuldu.

- ❖ 0.125 M 100 mL' lik çözelti; FeCl₂' den 0.0125 mol (1.5 g) tartılıp bidistile su ile hacmi 100 mL' ye tamamlanarak oluşturuldu.

Hazırlanan çözeltiler her iki sentez için de Şekil 3.1' deki gibi 3 boyunlu balon joje içerisine konularak, geri soğutucu altında 40 °C sıcaklığındaki su banyosunda 15 dakika aynı sıcaklıkta karıştırıldıktan sonra sıcaklık 80 °C' ye yükseltildi. Ardından, çözeltilere % 24' lük amonyaktan damla damla eklenerek pH' 1, 11' e yükseltildi. Sentezleme basamağı aşağıdaki gibidir:

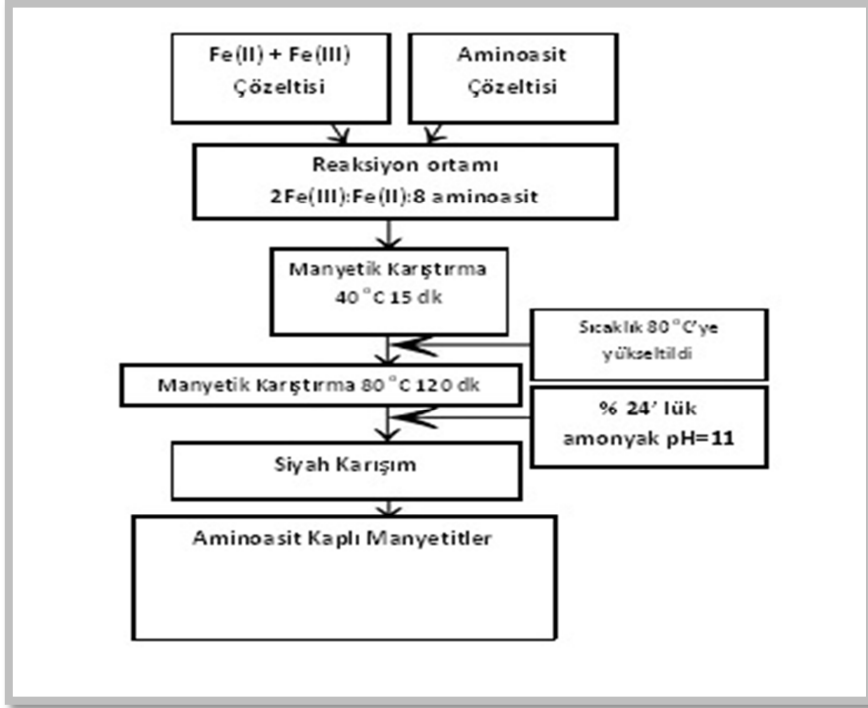


Deneysel çalışmaların tamamı argon gazı ortamında gerçekleştirilmiştir.

Çalışmanın bitiminde kalıcı manyetik özellik kazanan ve siyah renk alan parçacıklar mıknatıs yardımıyla dibe çöktürüldü. Üst faz atılarak manyetik parçacıklar su ile 3 kez yıkandı. Bu işlemin sonunda L-alanin ve L-sistein kaplı manyetik nanoparçacıklar ayrı ayrı sentezlenmiş oldu.



Şekil 3.1 Manyetik nanoparçacıkların sentezi sırasında kullanılan deney düzeneği



Şekil 3.2 Aminoasit kaplı manyetik nanoparçacık sentezi akış şeması

L-sistein ve L-alanin ile kaplı manyetik nanoparçacıkların SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) görüntüleri alınmıştır.

3.3 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi

L-sistein ve L-alanin kaplı manyetik nanoparçacıkların SEM görüntülerinin alınabilmesi amacıyla analiz için ayrılan kuru örnekler metanol içerisinde dağıtılmıştır. Bu süspansiyonlardan mikropipet ile alınan örnekler SEM cihazına ait çelik plakalar üzerine ayrı ayrı damlatılmıştır. Çelik plakalar üzerindeki çözgenin uçması için 5 dakika beklendikten sonra kuruyan örneklerin SEM görüntüleri alınmıştır.

3.4 $^{99m}\text{Tc(I)}$ -Trikarbonil Korunun Hazırlanması

$^{99m}\text{Tc(I)}$ -Trikarbonil korunu hazırlamak amacıyla

- 5.5 mg Sodyum Borhidrür,
- 4 mg Sodyum Karbonat,
- 20 mg Sodyum Potasyum Tartarat hassas terazide tartılarak cam tüpün içerisinde karıştırıldı. Tüpün kapağı sıkıca kapatılarak ortamdan sırasıyla 5

dakika argon ve 15 dakika karbonmonoksit gazları geçirildi. Ayrı bir tüpte sodyum perteknetat çözeltisinden 5 dakika boyunca argon gazı geçirilerek hazırlanan maddenin içerisine eklendi.

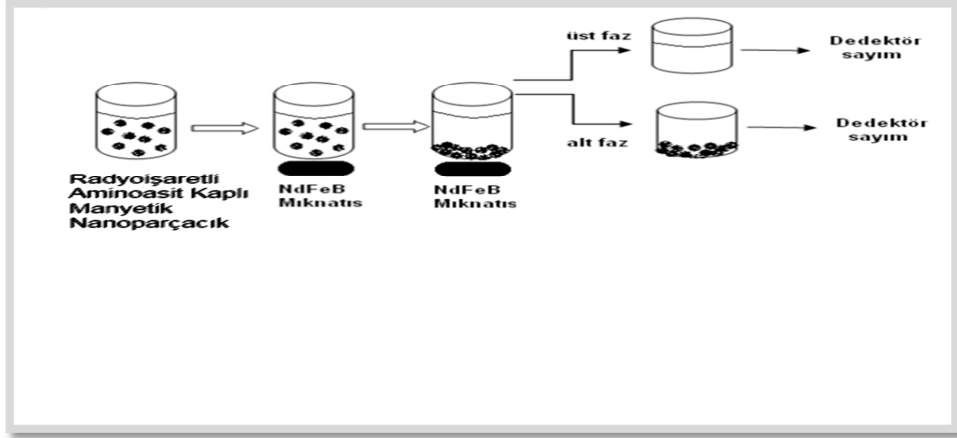
30 dakika boyunca ısıtıcı içerisinde 90°C sıcaklıkta bekletilen çözelti bu sürenin sonunda buz içerisinde konularak soğutuldu. Soğutulan çözeltinin üzerine yaklaşık 220 µL 1 M HCl:Fosfat tamponu (pH=7) 3:1 oranında eklenerek pH' ı 7' ye ayarlandı. Oluşan ^{99m}Tc(I)- trikarbonil korunun radyokimyasal verimi TLRC (İnce Tabaka Radyokromatografisi) yöntemiyle saptanmıştır.

^{99m}Tc(I)-trikarbonil korunun, TLRC ile kalite kontrol çalışmalarında sabit faz olarak (10 cm x 1.5 cm) boyutlarında hazırlanan silikajel kaplı alüminyum şeritler kullanılmıştır. Çözgen sistemi olarak, SF (Serum fizyolojik) ve asetonitril (AcN) kullanılmıştır. Bu çalışmada her iki çözgen sistemi için de hazırlanan üçer adet TLRC şeridine başlangıcından 0.5 cm ileriye kılcal boru yardımıyla ^{99m}Tc(I)-trikarbonil korundan damlatılmıştır. TLRC şeritlerine damlatılan örnekler kuru- duktan sonra şeritler her birinde farklı çözgenler bulunan (asetonitril ve serum fizyolojik) TLC tanklarına yerleştirilmiştir. Tanktaki çözgenler şeritler üzerinde yürüdükten sonra şeritler tanklardan çıkarılarak oda sıcaklığında kurutulmuş ve şeffaf bantla kaplanmıştır. Bioscan AR-2000 TLC tarayıcı kullanılarak şeritlerin her birinin radyokromatogramları alınmıştır. Elde edilen kromatogramlardan radyoaktif maddelerin taşındığı R_f değerleri ve verimler elde edilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçların güvenilirliğini sağlamak amacıyla deneyler en az üç kez tekrarlanmıştır. TLRC kromatogramları Bölüm 4.2' de ayrıntılı olarak verilmiştir.

3.5 Manyetik Nanoparçacıkların ^{99m}Tc(I)-Trikarbonil Kuru ile İşaretlenmesi

Radyoişaretleme çalışmaları esnasında, alaninli ve sisteinli manyetik nanoparçacıkların her birinden 50' şer µL alınarak ependorflara koyulmuştur. Her birine 1'er mCi(37MBq) ^{99m}Tc(I)-trikarbonil kuru doğrudan eklenerek 90°C' de 40 dakika ısıtılmaya bırakılmışlardır.

İşaretlenen maddeler, mıknatıs yardımıyla ependorfların dibine çöktürülerek üst fazdaki serbest teknesyum ependorflara koyularak aktiviteleri ölçülmüştür. Alt fazın üzerine 2 kez saf su eklenerek çöktürme işlemi tekrarlanmış ve 2.yıkamadan sonra alt fazdaki manyetik nanoparçacıkların üzerlerinde kalan aktivitenin verimleri değerlendirilmiştir (Şekil 3.2 ve Şekil 3.3).



Şekil 3.3 Aminoasit kaplı manyetik nanoparçacıkların alt ve üst fazlarına ayrılması



Şekil 3.4 Mıknatıs yardımıyla çöktürme işlemi

3.6 Serumda Stabilite

Bölüm 3.5' de radyoşaretlenmeleri sağlanan $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-MNP-Alanin}$ ve $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-MNP-Sistein}$ komplekslerinin 0., 60., 120., 180. ve 240. dakikalarda insan kan serumundaki kararlılıkları belirlenmiştir. $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-MNP-Alanin}$ ve $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-MNP-Sistein}$ kompleksleri için belirlenen zamanlarda manyetik parçacıkların alt ve üst fazının radyoaktivite sayımları Bölüm 3.5' te anlatıldığı gibi yapılmıştır. Bu amaçla $100 \mu\text{L}$ $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-MNP-Alanin}$ ve $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-MNP-Sistein}$ komplekslerine ayrı ayrı $200 \mu\text{L}$ kan serumuna eklenerek belirlenen sürelerde herbirinin kararlılığı araştırılmıştır. Bu çalışma üç kez tekrarlanmıştır ve elde edilen sonuçlar Bölüm 4.3.1' de incelenmiştir.

3.7 Biyodağılım Çalışması

Biyodağılım çalışmasında; $^{99m}\text{Tc}(\text{I})$ -trikarbonil koru ile işaretlenerek verimleri saptanan L-alanin ve L-sistein kaplı manyetik nanoparçacıkların biyodağılımı 2 ayrı günde yapıldı. Biyodağılım esnasında her iki aminoasit için de 9' ar adet olmak üzere Wistar Albino erkek sıçanlar 30, 90 ve 180 dakikalık gruplara 3' er 3' er ayrıldı. L-alanin kaplı manyetik nanoparçacıklardan her bir hayvana 12 $\mu\text{L}/100 \mu\text{Ci}$, L-sistein kaplı manyetik nanoparçacıklardan 5 $\mu\text{L}/100 \mu\text{Ci}$ kuyruktan intravenöz yolla enjekte edildi.

Her bir aminoasit için her bir enjektöre gerekli miktarlar alınarak, enjeksiyon öncesi ve sonrası enjektör aktiviteyi Cd(Te) dedektörü ile sayılmıştır. Zaman takip edilerek 30., 90. ve 180. dakikalar sonunda sıçanlar sodyum pentobarbital ile sakrifiye edilerek organları önceden daraları alınmış küçük kaplar içerisine konulmuştur. Her organa ait tartım değerleri belirlenerek aktiviteyi Cd(Te) dedektörü ile üçer kez ölçülmüştür. Her bir organ için gram başına düşen doz değerleri (% ID/g) hesaplanmış ve bu verilere dayanarak Excel programında zamana bağlı biyodağılım grafikleri elde edilmiştir.

3.8 İstatistiksel Analiz

Biyodağılım çalışmaları sonucunda elde edilen veriler istatistiksel olarak SPSS 16 programı ile değerlendirilmiştir. Bununla birlikte tüm verilerin varyans analizleri (Univariate Variance Analyses) yapılmıştır. Bu değerlendirme sonuçları Bölüm 4.4' de verilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

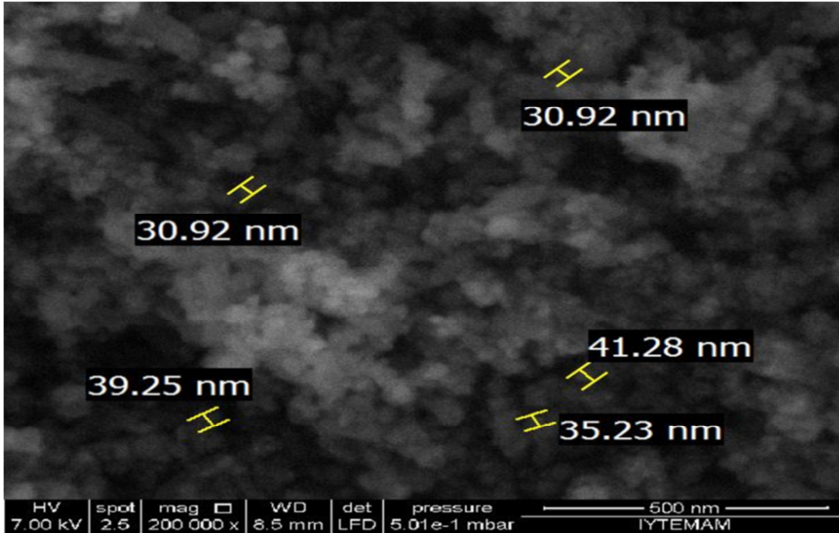
4.1 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Elde Edilen Sonuçlar

Kanserin teşhis ve tedavisinde kullanımları açısından manyetik nanoparçacıkların suda iyi dağılımları ve işlevselliklerinin yüksek olması büyük önem taşımaktadır. Ayrıca biyomedikal uygulamalarda manyetik nanoparçacıkların boyutlarının da 5 ile 20 nm arası parçacık boyutuna sahip olmaları ideal ölçütler olarak kabul edilebilir (Patel et al., 2008). Bu bilgiler ışığında, Patel ve çalışma grubu 80 °C' de 24 saat boyunca üzerine yavaş yavaş amonyum hidroksit (NH₄OH) eklenerek serum fizyolojik çözeltisi içerisinde argon gazı ortamında, L-glutamik asit ve L-lisin aminoasitleriyle, 2 M HCl içerisinde hazırlanan 0.2 M (FeCl₂.4H₂O) ve 0.1 M (FeCl₃. 6H₂O) stok çözeltilerini **tek adımda** birlikte sentezlemiş ve demir parçacıklarının yüzeylerinin aminoasitlerle kaplamasını sağlamışlardır. Ardından yaptıkları TEM (geçişli elektron mikroskobu) analizinde L-glutamik asitle kaplanan manyetik nanoparçacık boyutlarının 4 ile 7 nm, L-lisin ile kaplanan manyetik nanoparçacıkların boyutlarının ise 3 ile 5 nm arasında olduğunu saptamışlardır (Patel et al., 2008).

Tie ve çalışma grubu ise, nano boyutlardaki manyetik parçacıkları **iki adımda** (two-step transformation) aminoasitlerle kaplamışlardır. Öncelikle ilk adımda, Fe³⁺ ve Fe²⁺ parçacıkları dikarboksil anyon (amonyum oksalat veya sodyum oksalat formundaki C₂O₄²⁻) ile sırasıyla 2:1:0.1 oranlarında birbirine karıştırılmış olan çözeltilere 75 °C pH=9' daki amonyum hidroksit çözeltisinden 90 dakika boyunca yavaş yavaş eklemişler ve 8.6' lık pH' a sahip koyu siyah renkte bir çözelti elde etmişlerdir. Tie ve çalışma grubu daha sonraki ikinci adımda ise; hazırladıkları sıvı fazdaki C₂O₄²⁻ manyetik nanoparçacık süspansiyonuna L-lösin, L-sistein, L- arjinin, L-sistin, L-aspartat ve L-tirosin aminoasitlerinin her birinden Fe₃O₄ : L- aminoasit oranı 10:1 molar olacak şekilde eklemişlerdir. İçerisine aminoasit karıştırılmayan çözeltilere 'a' , L-lösin, L-arjinin, L-sistein, L-tirosin, L-sistin ve L-aspartat karıştırılan çözeltilere de sırasıyla 'b', 'd', 'e', 'f', 'g' ve 'h' adlarını vermişler ve aminoasit karıştırarak oluşturdukları tüm çözeltilere hidrojen klorid çözeltisinden yavaş yavaş ekleyerek pH değerlerinin 4.6 ila 5 arasında olmasını sağlamışlardır. Tie ve arkadaşları yine aynı prosedürleri kullanarak referans olması amacıyla oluşturdukları bir çözeltilere de aminoasit eklemeyerek yine pH'ı 5' e dengelemişler ve bu çözeltiyi de 'c' olarak adlandırmışlardır. Tüm aşamaları nitrojen gazı ortamında gerçekleştirmişlerdir.

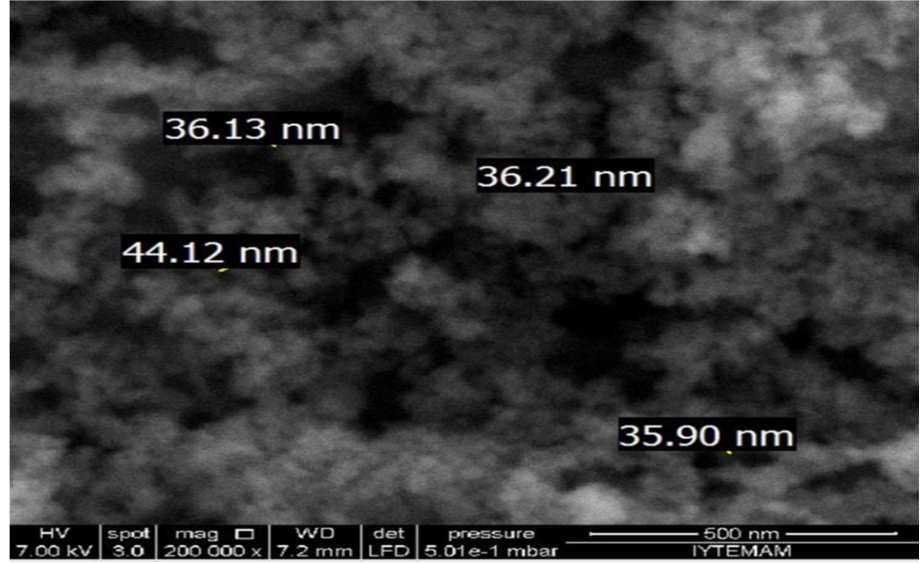
Sonuç olarak, yapılan TEM analizinde özellikle pH=5 asidik ortamındaki L-lösin içeren 'b' çözeltisinin boyutlarının oldukça küçük ve şekillerinin küresel veya elipsoidal oldukları görmüşlerdir. Ayrıca 'a', 'b' ve 'c' çözeltilerinde parçacık boyutlarının sırasıyla 9.6, 8.7 ve 11.7 nm olduklarını saptamışlardır. Bu veriler ışığında Tie ve çalışma grubu, L-lösin içeren asidik 'b' çözeltisini 'a' çözeltisiyle karşılaştırdıklarında L-lösin kaplı manyetik nanoparçacıkların aminoasit ilave edilmeyenlere oranla küçülerek ideal boyutlara yaklaştığını görmüşlerdir. Bu durum manyetik nanoparçacıkların yüzey enerjilerini azaltan L-lösin ile yüzey kaplamasının parçacık büyüklüklerini kontrol etmede önemli bir gelişme olduğunu ortaya koymaktadır (Tie et al., 2005).

Hem tek hem de iki adımdaki çalışmalarda da görüldüğü üzere manyetik nanoparçacıkların yüzeylerinin aminoasitlerle kaplanması nano boyutlardaki manyetik parçacıkların boyutlarını ideale yaklaştırmaktadır. Bu düşünceden yola çıkılarak Bölüm 3.2 de sentezlediğimiz manyetik nanoparçacıkların boyutlarını ve yüzey özelliklerini belirlemek amacıyla İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsünde Phillips XL-30 S FEG cihazı kullanılarak SEM görüntüleri alınmıştır.

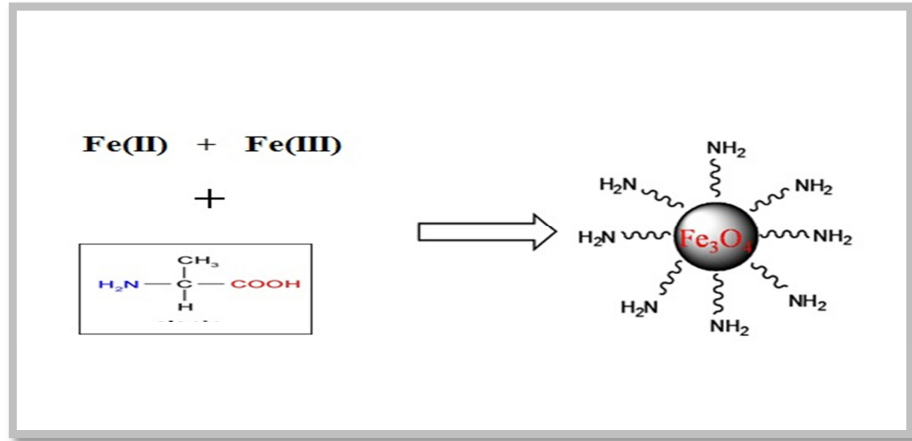


Şekil 4.1 L-alanin kaplı manyetik nanoparçacıklara ait SEM görüntüsü

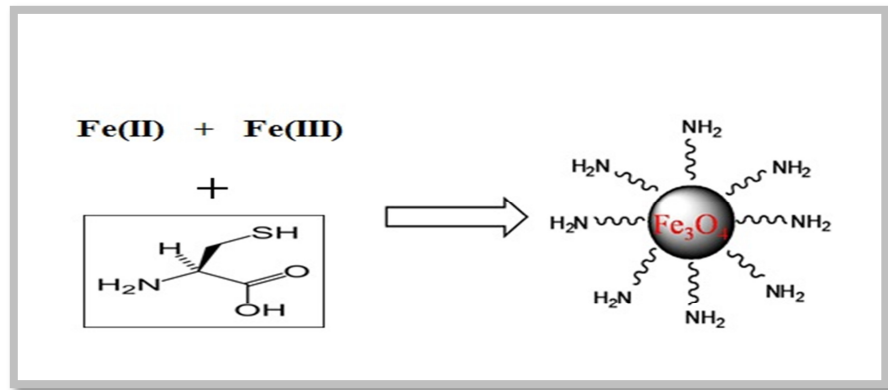
SEM tayininde L-alanin ile kaplanan demir parçacıklarının boyutlarının (Fe_3O_4 -L-alanin) 30 ila 40 nm arasında (Şekil 4.1), L-sistein ile kaplanan demir parçacıklarının boyutlarının (Fe_3O_4 -L-sistein) ise 35 ila 45 nm arasında (Şekil 4.2) olduğu saptanmıştır. Ayrıca hem alanin hem de sistein ile kaplı olan parçacıkların şekillerinin küresel olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar her iki aminoasitle de kaplı manyetik nanoparçacıkların boyutlarının ve şekillerinin ideale yakın olduklarını göstermektedir.



Şekil 4.2 L-sistein kaplı manyetik nanoparçacıklara ait SEM görüntüleri



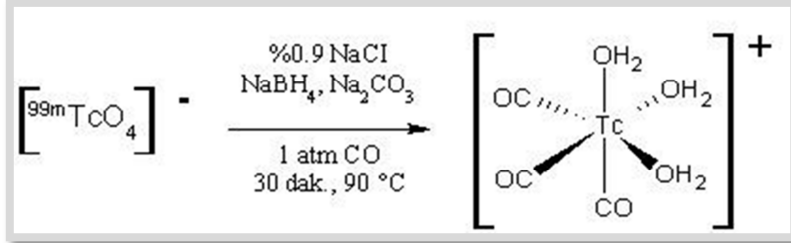
Şekil 4.3 Alanin kaplı manyetik nanoparçacıkların sentez prosedürünün şematik görünümü



Şekil 4.4 Sistein kaplı manyetik nanoparçacıkların sentez prosedürünün şematik görünümü

4.2 $^{99m}\text{Tc(I)}$ -Trikarbonil Korunun Kalite Kontrolü

Bu çalışmada; ^{99m}Tc ' in (+1) oksidasyon basamağında oluşturduğu $^{99m}\text{Tc(I)}$ -trikarbonil kuru sentezlenerek (Şekil 4.3), kalite kontrolü TLRC yöntemiyle yapılmıştır.



Şekil 4.5 $^{99m}\text{Tc(I)}$ -trikarbonil kuru sentezi

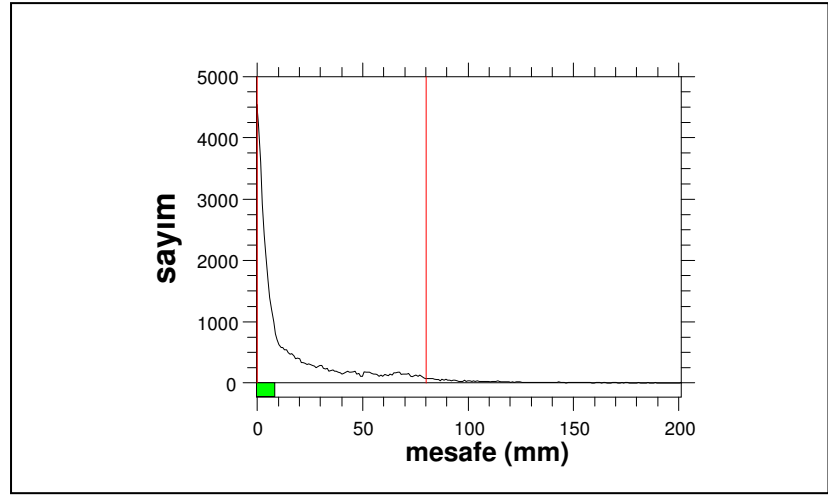
Tc(I) -trikarbonil kuru ilk olarak Alberto ve arkadaşları tarafından sentezlenmiştir (Şekil 4.3) (Alberto et al.,1998) . Bu çalışmada literatürdeki yöntem kullanılarak $[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3]^+$ kuru Bölüm 3.4 de anlatıldığı gibi sentezlenmiştir. Sonuç olarak; TLRC yöntemiyle gerçekleştirilen $^{99m}\text{Tc(I)}$ -trikarbonil kuru damlatılmış plakalar için verim ve R_f değerleri incelenmiş; SF banyosunun ve AcN banyosu için alınan değerler Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2 de verilmiştir. $[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3]^+$ kuru için uygulanan TLRC yönteminde elde edilen R_f ve % verim değerleri, daha önce yapılan benzer bir çalışmadaki (Şenocak, 2010) R_f ve % verim değerleriyle karşılaştırıldığında sonuçların birbirine uygun olduğu gözlenmiştir (İçhedef, 2010; Şenocak, 2010). Bu çalışmada SF ve AcN banyolarında alınan kromatogramlar Şekil 4.4 ve Şekil 4.5 de görülmektedir.

Çizelge 4.1 Asetonitril ve SF banyolarında $[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3]^+$ korunun R_f ve % verim değerleri

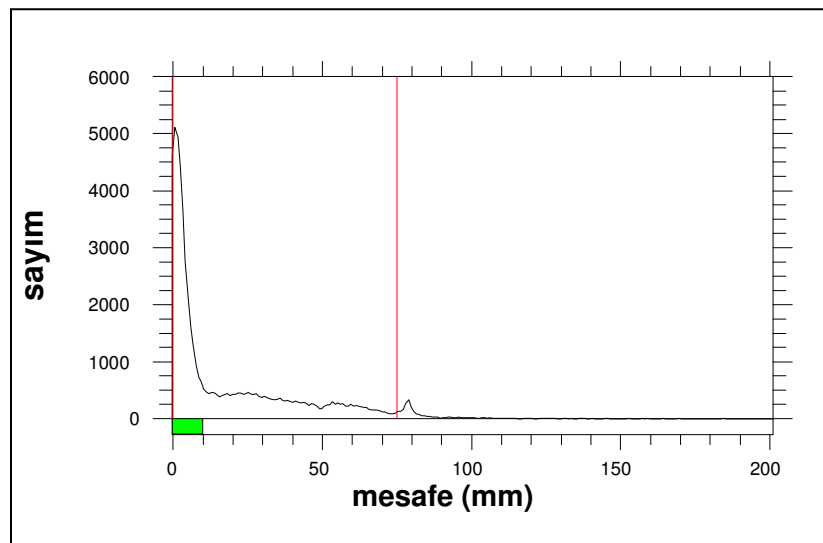
Banyo Çözeltileri	$[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3]^+$ için R_f değerleri	$[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3]^+$ için % Verim değerleri
Asetonitril	0.00-0.10	93.32 ± 1.83
SF	0.00-0.10	99.72 ± 0.12

Çizelge 4.2 Asetonitril ve SF banyolarında $[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3]^+$ korunun R_f ve % verim değerleri (Şencak, 2010)

Banyo Çözeltileri	$[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3]^+$ için R_f değerleri	$[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3]^+$ için % Verim değerleri
Asetonitril	0.00-0.10	99.22 ± 1.10
SF	0.00-0.10	99.22 ± 0.91



Şekil 4.6 $^{99m}\text{Tc}(\text{I})$ -Trikarbonil kuru damlatılan plakaların SF banyosundaki kromatogramı



Şekil 4.7 $^{99m}\text{Tc}(\text{I})$ -Trikarbonil kuru damlatılan plakaların AcN banyosundaki kromatogramı

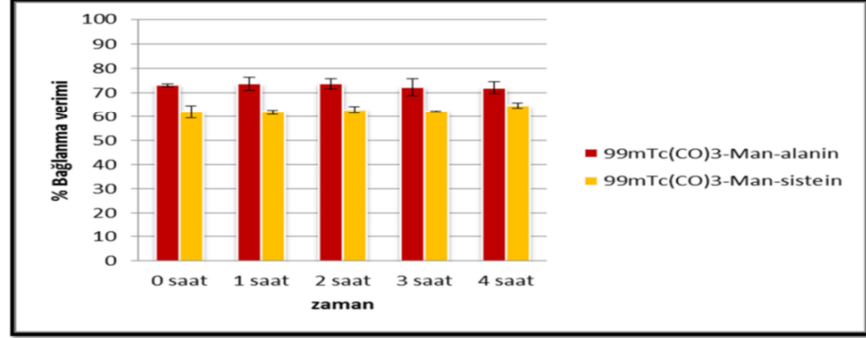
4.3 ^{99m}Tc(I)-Trikarbonil Kuru ile İşaretlenmiş Manyetik Nanoparçacıkların Kalite Kontrolü

Yüzey kaplaması yapılmış manyetik nanoparçacıkların radyoişaretlenmesi ile ilgili bugüne kadar birçok çalışma yapılmıştır. Banerjee ve arkadaşları yaptıkları çalışmada yapışkan bir hidrojen polimeri olan kitosan ile kaplı manyetik nanoparçacıklar hazırlayarak ^{99m}Tc ile bu parçacıkları % 80-85 arası bir verimle radyoişaretlemişler ve nanoparçacıkların ilk 2 saatte kararlılığını sürdürdüğünü saptamışlardır (Banerjee et al., 2002). Bir başka çalışmada ise sentezlenen aminoasilan ile kaplı guanin manyetik nanoparçacıkların ^{99m}Tc(I)-trikarbonil kuru ile % 72' lik verimle radyoişaretlenmesi sağlanmış ve kompleksin 37 °C' deki insan kanı serumunda kararlılığını 24 saat koruduğu gözlemlenmiştir (İçhedef, 2010). Jordan ve çalışma grubu ise hem aminoasilan kaplı hem de dekstran kaplı manyetik nanoparçacıkları sentezleyerek bu nanoparçacıkların meme kanserli hücrelerdeki tedavi potansiyellerini karşılaştırmışlardır (Jordan et al, 1999). Fu ve arkadaşları da sentezlemiş oldukları manyetik nanoparçacıkların ^{99m}Tc ile % 99'luk verimle radyoişaretlenmesini sağlayarak, in-vivo potansiyelini gözlemlemişlerdir (Fu et al, 2004). Manyetik nanoparçacıkların yüzey kaplamalarıyla ilgili çalışmaların dışında Wei ve arkadaşları gibi bilim insanları da glikopeptitleri doğrudan ^{99m}Tc ile % 95' in üzerinde bir verimle radyoişaretleyerek 24 saat sonunda kararlı olduklarını saptamışlardır (Wei et al, 2007).

Bölüm 3.5 de anlatıldığı gibi hem L-alanin hem de L-sistein kaplı manyetik nanoparçacıkların ^{99m}Tc(CO)₃⁺ ile radyoişaretlenmesi sağlanmış ve sonuçta L-alanin kaplı olanların % 74±2, L-sistein kaplı olanların ise % 63±3' lük radyoişaretleme verimlerine sahip oldukları saptanmıştır. Radyoişaretleme gerçekleştirildikten sonra L-alanin kaplı nanoparçacıkların veriminin % 54.75±7.15; L-sistein kaplı nanoparçacıkların veriminin ise % 51±4.54 olduğu gözlemlenmiştir. Ardından serbest teknesyumun ortamdaki uzaklaştırılması amacıyla radyoişaretli nanoparçacıklar SF ile 3 kez yıkanmıştır. SF ile yıkanma işlemleri sonrasında L-alanin kaplı nanoparçacıkların verimi % 97.6±1.06, L-sistein kaplı nanoparçacıkların verimi ise % 94.3±0.47 olarak bulunmuştur.

4.3.1 Serumda stabilite

L-alanin ve L-sisteinle kaplı manyetik nanoparçacıkların 4 saat boyunca 37 °C’ de kan serumundaki verimleri belirlenmiştir.



Şekil 4.8 Manyetik nanoparçacıkların bağlanma verimleri

Şekil 4.6’ daki serum stabilite grafiğinden de anlaşılacağı üzere, $^{99m}\text{Tc(I)}$ -trikarbonil koruyla işaretlenmiş L-alanin ve L-sistein kaplı manyetik nanoparçacıkların bağlanma verimlerinin; 1. ,2. ,3. ve 4. saatler için kontrol edilen değerlerinin birbirine yakın olduğu ve kararlı halde devam ettiği gözlemlenmiştir. L-alanin kaplı manyetik nanoparçacıkların başlangıçta % 74 ± 2 olan işaretlenme verimleri ile L- sistein kaplı manyetik nanoparçacıkların başlangıçta % 63 ± 3 olan işaretlenme verimleri 4 saat boyunca kararlılıklarını devam ettirmişlerdir.

Daha önce yapılan benzer bir çalışmada ise yine $^{99m}\text{Tc(CO)}_3$ ile radyo- işaretlenmiş olan guanin kaplı manyetik nanoparçacıkların % 98 olan başlangıç verimlerinin 24 saatin sonunda kararlılıklarını korudukları gözlenmiştir (İç hedef, 2010). Bu iki çalışma karşılaştırıldığında, hem L-alanin hemde L- sistein ile kaplı manyetik nanoparçacıkların $^{99m}\text{Tc(CO)}_3$ ile radyo işaretlenmesinin yüksek verimde olduğu ve kararlılıklarını belli süreler içerisinde korudukları görülmektedir.

4.4 Biyodağılım Çalışmasının Sonuçları

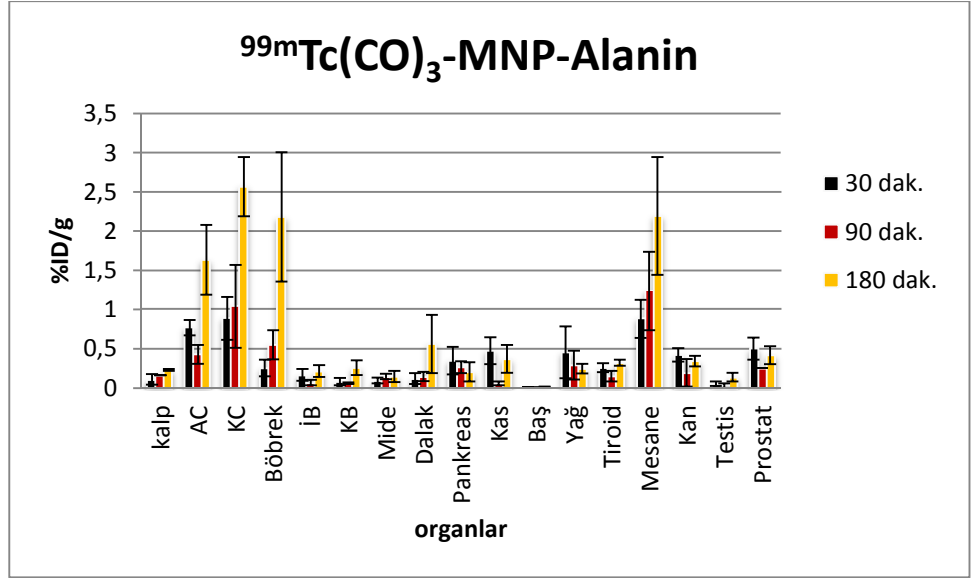
Biyodağılım çalışması, hem L-alanin, hem de L-sistein kaplı $^{99m}\text{Tc(I)}$ -trikarbonil koru ile radyo işaretli manyetik nanoparçacıklar için Wistar Albino sıçanlar üzerinde 30., 90. ve 180. dakikalarda olmak üzere 3 zaman parametresinde gerçekleştirilmiştir. Biyodağılım çalışmasında her zaman dilimi için 3’ er adet

olmak üzere 9 adet L-alanin, 9 adet de L-sistein kaplı $^{99m}\text{Tc(I)}$ -trikarbonil koru ile radyoişaretili manyetik nanoparçacıklar için toplam 18 adet erkek Wistar Albino sıçanlar kullanılmıştır. Her bir aminoasit için gerçekleştirilen biyodağılım koşulları Bölüm 3.7' de anlatılmıştır.

Çizelge 4.3' de $^{99m}\text{Tc(I)}$ trikarbonil koruyla radyoişaretili L-alanin kaplı manyetik nanoparçacıklara ait her bir organ için gram başına enjekte edilen doz değerinin % ID/g çalışılan zamanlarla ilişkisi görülmektedir. Şekil 4.7' de ise % ID/g (organ) oranlarına ait grafik görülmektedir.

Çizelge 4.3 Wistar Albino sıçanlarda $^{99m}\text{Tc(I)}$ trikarbonil koruyla radyoişaretili L-alanin kaplı manyetik nanoparçacıklara ait % ID/g oranı

% ID/g (organ) oranı	30 Dakika	90 Dakika	180 Dakika
Kalp	0.10 ± 0.06	0.16 ± 0.001	0.23 ± 0.01
Akciğer	0.76 ± 0.09	0.43 ± 0.12	1.63 ± 0.44
Karaciğer	0.88 ± 0.27	1.04 ± 0.52	2.56 ± 0.38
Böbrek	0.25 ± 0.10	0.55 ± 0.18	2.18 ± 0.82
İnce Bağırsak	0.16 ± 0.07	0.07 ± 0.03	0.21 ± 0.07
Kalın Bağırsak	0.08 ± 0.04	0.06 ± 0.01	0.25 ± 0.09
Mide	0.09 ± 0.03	0.14 ± 0.03	0.14 ± 0.07
Dalak	0.12 ± 0.06	0.14 ± 0.06	0.56 ± 0.37
Pankreas	0.35 ± 0.18	0.26 ± 0.07	0.20 ± 0.12
Kas	0.47 ± 0.17	0.05 ± 0.02	0.37 ± 0.18
Baş	0.008 ± 0.003	0.005 ± 0.003	0.01 ± 0.005
Yağ	0.45 ± 0.32	0.29 ± 0.18	0.25 ± 0.06
Tiroid	0.25 ± 0.05	0.15 ± 0.06	0.32 ± 0.04
Mesane	0.88 ± 0.24	1.23 ± 0.5	2.19 ± 0.75
Kan	0.42 ± 0.08	0.19 ± 0.17	0.34 ± 0.06
Testis	0.05 ± 0.02	0.03 ± 0.02	0.14 ± 0.05
Prostat	0.50 ± 0.13	0.25 ± 0.0003	0.42 ± 0.11

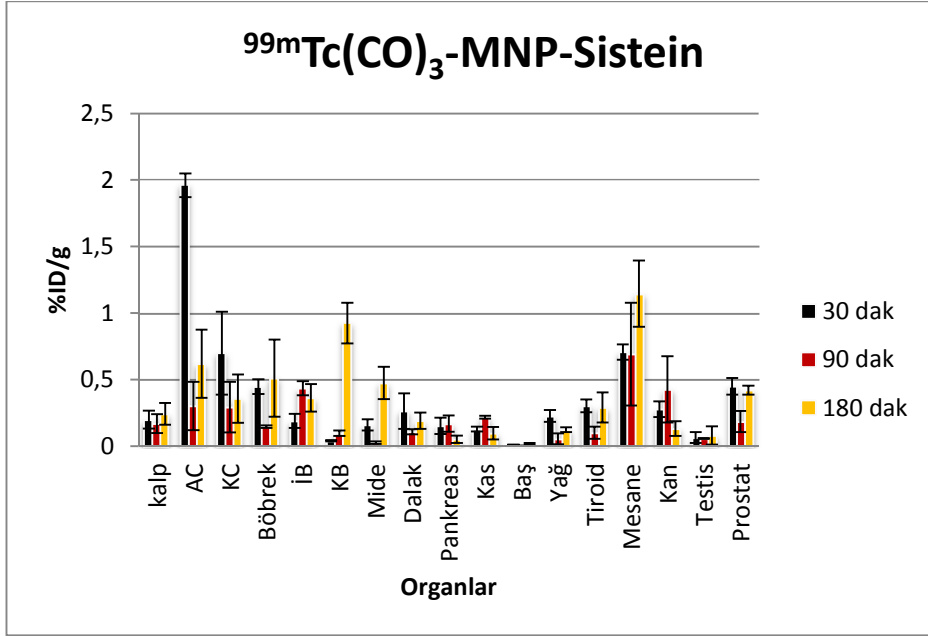


Şekil 4.9 $^{99m}\text{Tc}(\text{I})$ trikarbonil koruyula radyoişaretli L-alanin kaplı manyetik nanoparçacıklara ait % ID/g oranı

Çizelge 4.4 Wistar Albino sıçanlarda $^{99m}\text{Tc}(\text{I})$ trikarbonil koruyula radyoişaretli L-sistein kaplı manyetik nanoparçacıklara ait % ID/g oranı

% ID/g (organ) oranı	30 Dakika	90 Dakika	180 Dakika
Kalp	0.19 ± 0.06	0.16 ± 0.07	0.24 ± 0.08
Akciğer	1.96 ± 0.09	0.30 ± 0.18	0.61 ± 0.25
Karaciğer	0.70 ± 0.31	0.29 ± 0.19	0.35 ± 0.18
Böbrek	0.45 ± 0.05	0.14 ± 0.009	0.51 ± 0.29
İnce Bağırsak	0.19 ± 0.05	0.43 ± 0.05	0.36 ± 0.10
Kalın Bağırsak	0.04 ± 0.005	0.09 ± 0.02	0.92 ± 0.15
Mide	0.16 ± 0.04	0.02 ± 0.01	0.47 ± 0.12
Dalak	0.26 ± 0.13	0.10 ± 0.02	0.19 ± 0.06
Pankreas	0.15 ± 0.06	0.16 ± 0.06	0.05 ± 0.03
Kas	0.12 ± 0.01	0.21 ± 0.01	0.09 ± 0.05
Baş	0.009 ± 0.003	0.002 ± 0.002	0.01 ± 0.006
Yağ	0.22 ± 0.04	0.05 ± 0.04	0.12 ± 0.01
Tiroid	0.30 ± 0.05	0.10 ± 0.04	0.29 ± 0.11
Mesane	0.70 ± 0.06	0.69 ± 0.04	1.14 ± 0.25
Kan	0.27 ± 0.06	0.42 ± 0.25	0.13 ± 0.05
Testis	0.06 ± 0.04	0.05 ± 0.002	0.08 ± 0.07
Prostat	0.45 ± 0.06	0.18 ± 0.08	0.42 ± 0.03

Çizelge 4.4' de $^{99m}\text{Tc}(\text{I})$ -trikarbonil koruyula radyoişaretli L-sistein kaplı manyetik nanoparçacıklara ait her bir organ için gram başına enjekte edilen doz değerinin % ID/g çalışılan zamanlarla ilişkisi görülmektedir. Şekil 4.8' de ise % ID/g (organ) oranlarına ait grafik görülmektedir.



Şekil 4.10 $^{99m}\text{Tc}(\text{I})$ trikarbonil koruyula radyoişaretli L-sistein kaplı manyetik nanoparçacıklara ait % ID/g oranı

Şekil 4.7 incelendiğinde $^{99m}\text{Tc}(\text{I})$ trikarbonil koruyula radyoişaretli L-alanin kaplı manyetik nanoparçacıkların enjeksiyondan sonraki 30. dakikada özellikle akciğer ve karaciğerdeki tutulumlarının diğer organlara göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Şekil 4.8' deki $^{99m}\text{Tc}(\text{I})$ trikarbonil koruyula radyoişaretli L-sistein kaplı manyetik nanoparçacıkların grafiklerine bakıldığında da 30. dakikadaki tutulumun akciğer ve karaciğerde alanin kaplı manyetik nanoparçacıklara göre biraz daha fazla olmakla beraber, birbirlerine paralel oldukları gözlenmektedir. Aynı şekilde Fu ve arkadaşları ^{99m}Tc ile doğrudan işaretlenen Fe(II)/Fe(III) den oluşan manyetik nanoparçacıklarla yaptıkları biyodağılım sonucunda akciğer, karaciğer ve dalak tutulumlarının yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Fu et al.,2004). Bir diğer çalışmada Monge-Fuentes ve arkadaşları dimerkaptosuksinik asit (DMSA) ile oluşturdukları manyetik nanoparçacıklarla primatlarda gerçekleştirilen biyodağılım çalışmasında akciğer, karaciğer ve böbreklerde yüksek tutulum olduğu sonucunu bulmuşlardır (Monge-Fuentes et al., 2011). Radyoişaretli manyetik nanoparçacıkların karaciğerdeki tutulumları, karaciğerde bulunan fagositik sistem hücreleri olan Kupffer hücreleri tarafından tutulması olarak açıklanabilmektedir. Bu durumun; intravenöz olarak enjekte edilen parçacıkların çoğunun vücut tarafından

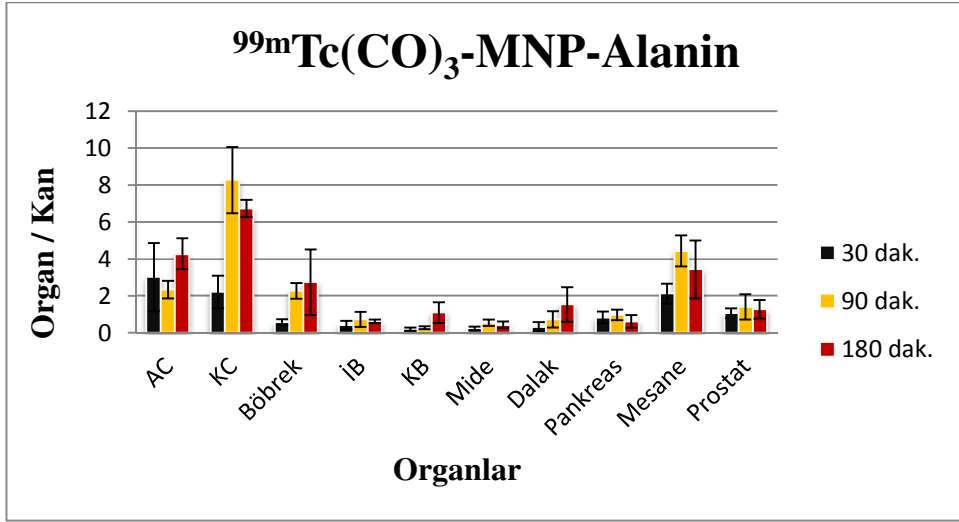
yabancı madde olarak kabul edilip kan dolaşımından mononükleer fagositik sistem (MPS) tarafından tutulması olarak açıklanabildiğini Fu ve arkadaşları rapor etmişlerdir (Fu et al., 2004).

Enjeksiyondan sonraki 90. dakikada ise sisteinle kaplı manyetik nanoparçacıklara ait biyodağılım grafiğinde akciğer ve karaciğerdeki tutulumların azalmaya başladığı, özellikle böbrek ve mesane tutulumlarının artışa geçtiği gözlemlenmektedir. Bu gözlem bize sistein kaplı parçacıklar için boşaltımın hem hepatobiliar hem de renal yolla gerçekleştiğini göstermektedir. Ancak 90. dakikadaki böbrek ve mesane tutulumlarının artışa geçmesi renal boşaltımın baskın olduğu sonucunu vermektedir. Alaninle kaplı manyetik nanoparçacıklara ait biyodağılım grafiğinde ise böbrek ve mesane tutulumlarının artmasıyla beraber aynı zamanda karaciğer ve akciğer tutulumlarının da 30. dakikadaki değerlerinin üstüne çıkmaya başladığı hatta 180. dakikada maksimum noktalarına ulaştıkları görülmektedir. Alanin kaplı manyetik nanoparçacıklara ait biyodağılım grafiğindeki karaciğer ve akciğer tutulumlarının, sistein kaplı olanlardakinin aksine arttığı anlaşılmaktadır. Bu durum, başlangıçta L-alanin kaplı manyetik nanoparçacıkların parçacık boyutlarının L-sistein kaplı manyetik nanoparçacıkların boyutlarından yaklaşık 5 ile 10 nm az olmasına rağmen zamanla birbirlerine yapışarak parçacık boyutlarının büyümesi ve bu nedenle de makrofaj sistemindeki karaciğerin Kupffer hücreleri ve akciğerdeki alveoler fagositleri tarafından daha fazla tutulmaları olarak gösterilebilir. 180. Dakikadaki sonuçlar incelendiğinde ise her iki grafikteki böbrek ve mesane tutulumlarının da maksimuma ulaştığı gözlenmektedir. Bunun da nedeni boşaltımın renal yollardan yapılması olarak açıklanabilir. Bu durum alanin kaplı parçacıklar için hepatobiliar yolla başlayan boşaltımın renal yolla devam etmesi olarak açıklanabilir.

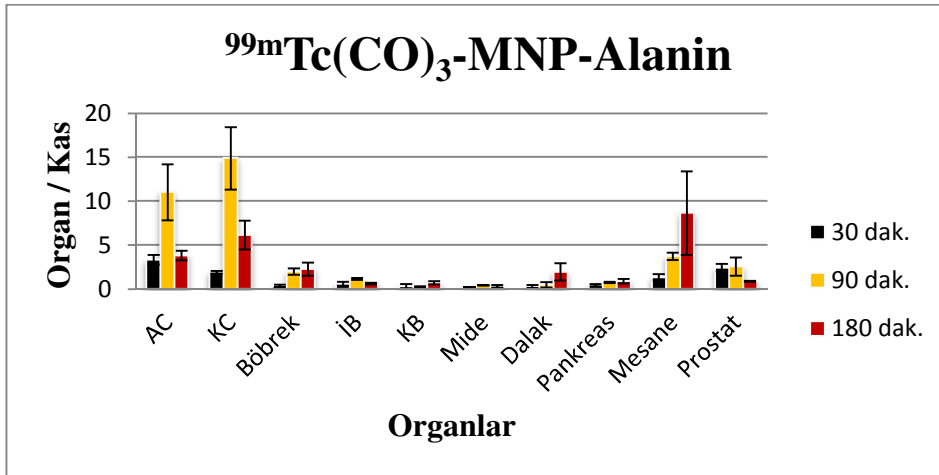
Bilindiği gibi ideal bir radyofarmasötüğün amaca ulaşılabilmesi için hedef organdaki tutulum ile hedef olmayan organdaki tutulum arasındaki farkı önemlidir. Oluşan bu fark, tutulum sonucunda seçiciliğin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (Şenocak, 2010). Bu verilerden yola çıkılarak bu çalışmada da radyoişaretli alanin ve sistein manyetik nanoparçacıklarının biyodağılım değerlerinden hedef/hedef olmayan organ oranları hesaplanarak tutulum oranları grafiğe aktarılmıştır. Radyoişaretli alanin manyetik nanoparçacıklarının, Organ/Kan oranı Şekil 4.9' da, Organ/Kas oranı da Şekil 4.10' da verilmiştir. İdeal bir teşhis radyofarmasötüğünün hedef/hedef olmayan organ oranının 2' den büyük olması gerekmektedir. Buna göre hedef olanlar organlar, hedef olmayanlar ise kas ve kandır. Şekil 4.9 incelendiğinde 30. dakikada akciğer, karaciğer ve mesane tutulumlarının kan tutulumuna oranının 2' den büyük olduğu görülebilmektedir. 90. dakikada ise karaci-

ğer tutulumunun artması sonucu bu karaciğer/kan oranı 8 olmuştur. Mesane/kan ile böbrek/kan oranlarında da boşaltım sebebiyle artış gözlenmiş; 180. dakikada ise bu oranlar azalmaya başlamıştır.

Şekil 4.10' daki organ/kas tutulum grafiğinde ise 30. dakikada sadece akciğer/kas oranı 2' nin üzerindeyken, 90. dakikada karaciğer, akciğer ve mesane tutulumlarının kas tutulumuna oranı oldukça artmış, özellikle karaciğerde bu oranın 14' e, akciğerde ise 11' e ulaştığı gözlenmiştir. 180. dakikada ise mesane/kas oranı 8' e yükselmiş, karaciğer ve akciğer tutulumları ise oldukça azalmıştır. Bunun da sebebi yine renal boşaltımın başlamasıdır. Bu sonuç $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-MNP-Alanin}$ için hepatobiliar boşaltımın baskın olduğunun bir göstergesidir.

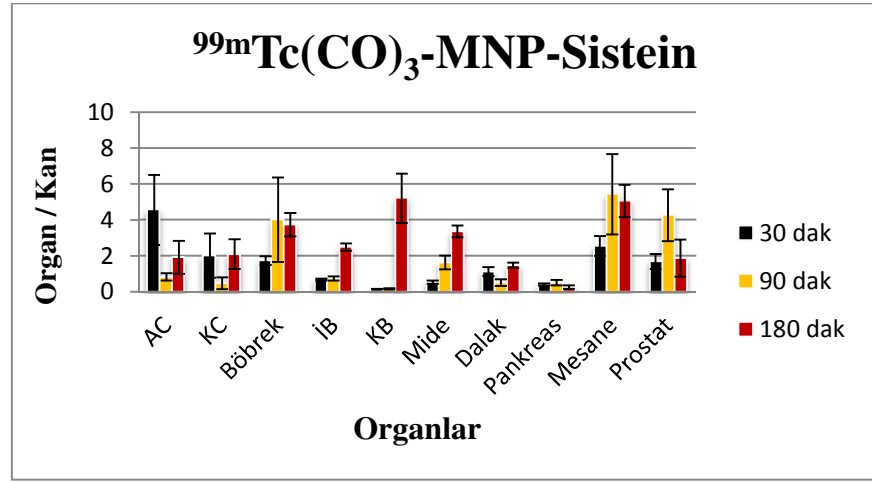


Şekil 4.11 $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-MNP-Alanin}$ kompleksine ait Organ/Kan değerleri

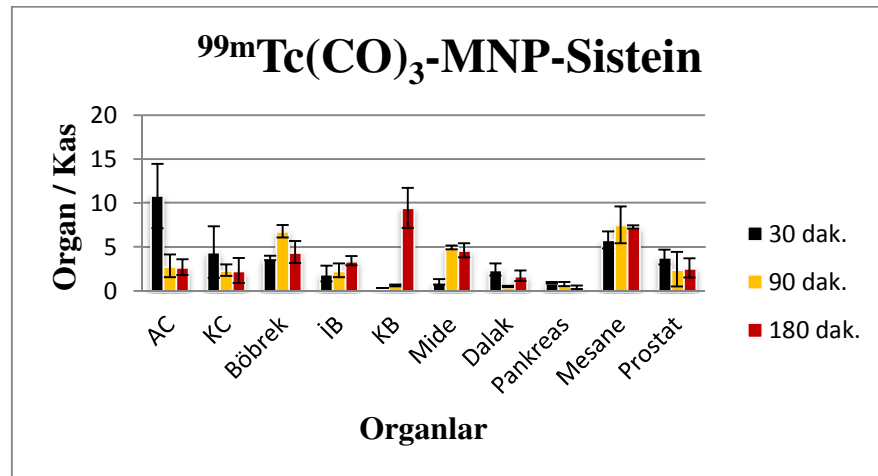


Şekil 4.12 $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-MNP-Alanin}$ kompleksine ait Organ/Kas değerleri

Radyoışaretili sistein manyetik nanoparçacıklarının, Şekil 4.11' de Organ/Kan ve Şekil 4.12' de ise Organ/Kas değerleri verilmiştir. Bu iki şekil incelendiğinde 30. dakikada tıpkı alanın kaplı manyetik nanoparçacıklarda olduğu gibi akciğer tutulumlarının kas ve kan tutulumlarına oranının öteki organlara göre daha yüksek olduğu gözlenebilmektedir. Özellikle akciğer/kas oranı 10' u geçmektedir. Ayrıca Şekil 4.11' deki mesane/kan ile Şekil 4.12' deki mesane/kas, prostat/kas, dalak/kas, karaciğer/kas ve böbrek/kas oranları 2' den büyüktür. 90. dakikada ise böbrek/kan, mesane/kan ve prostat/kan oranları ile böbrek/kas, mide/kas ve mesane/kas oranlarında artış gözlenebilmektedir. 180. dakikada ise boşaltım sebebiyle kalınbağırsak/kan ve kalınbağırsak/kas oranları birbirlerine paralellik göstererek bir anda artmış; yine mide/kan oranı da artmaya devam etmiştir. Sonuç olarak $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-MNP-Sistein}$ için renal boşaltımın baskın olduğu anlaşılmaktadır.



Şekil 4.13 $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-MNP-Sistein}$ kompleksine ait Organ/Kan değerleri



Şekil 4.14 $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-MNP-Sistein}$ kompleksine ait Organ/Kas değerleri

4.5 İstatistiksel Analiz ve Sonuçlar

Biyodağılım sonucu elde edilen verilerin istatistiksel analizleri SPSS 15 programı kullanılarak yapılmıştır. Hem $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-MNP-Alanin}$ hem de $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-MNP-Sistein}$ bileşiğı için organlar arasında Pearson korelasyonu yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntemle göre radyoişaretli bileşiğın tutulumu ile organlar arasındaki ilişki tanımlanmış ve anlamlılık düzeyi (P) değeri olarak ifade edilmek suretiyle $P < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir. Pearson korelasyon yöntemiyle elde edilen sonuçlar bazı organlar arasında istatistiksel olarak oldukça anlamlı bir ilişkiye işaret etmiştir.

$^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-MNP-Alanin}$ bileşiğı için incelenen istatistik sonuçlarına göre;

- Akciğer ile karaciğer ve dalak arasında,
- Karaciğer ile dalak ve testis arasında,
- Böbrek ile kalınbağırsak, mide, dalak, mesane ve testis arasında,
- Kas ile kan arasında,

$^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-MNP-Sistein}$ bileşiğı için incelenen istatistik sonuçlarına göre;

- Mide ile böbrek ve kalınbağırsak arasında
- Pankreas ile kan arasında

istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki söz konusudur. Organ-Süre ilişkisine bakılarak yapılan değerlendirmeye göre ise $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-MNP-Alanin}$ bileşiğinde akciğer, karaciğer, böbrek, kalınbağırsak ve testis için istatistiksel bir anlamlılık söz konusudur ($P < 0.05$). $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-MNP-Sistein}$ bileşiğinde ise bu istatistiksel anlamlılığın yağ ve prostat için ($P < 0.05$); akciğer, kalınbağırsak ve mide için ($P < 0.01$) olduğu gözlenmiştir. Çizelge 4.5 ve 4.6' da bazı organlar için analiz sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.5 $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-MNP-Alanin}$ bileşimine ait analiz sonuçlarına göre bazı organların r^2 (çok-
lu korelasyon katsayısı) ve P değerleri

<u>Organ</u>	<u>r^2 Değeri</u>	<u>P değeri</u>
Akciğer	0.824	< 0.05
Karaciğer	0.748	< 0.05
Böbrek	0.786	< 0.05
Kalınbağırsak	0.673	< 0.05
Testis	0.549	< 0.05

Çizelge 4.6 $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-MNP-Sistein}$ bileşimine ait analiz sonuçlarına göre bazı organların r^2 (çok-
lu korelasyon katsayısı) ve P değerleri

<u>Organ</u>	<u>r^2 Değeri</u>	<u>P değeri</u>
Akciğer	0.945	< 0.01
Kalınbağırsak	0.960	< 0.01
Mide	0.848	< 0.01
Yağ	0.804	< 0.05
Prostat	0.802	< 0.05

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada L-alanin ve L-sistein kaplı manyetik nanoparçacıklar tek bir adımda ayrı ayrı sentezlenerek her birinin $^{99m}\text{Tc(I)}$ -trikarbonil koruyla işaretlenmeleri sağlanmıştır. Manyetik nanoparçacıkların boyut ve yapı analizleri SEM ile yapılmıştır. $^{99m}\text{Tc(I)}$ -trikarbonil korunun kalite kontrolünde TLRC yöntemi kullanılmış ve bu sayede korun R_f ve % verim değerleri incelenebilmiştir. Kor ile radyoışaretlenen L-alanin ve L-sistein kaplı manyetik nanoparçacıklara serumda stabilite yöntemi uygulanarak kararlılıkları gözlemlenmiştir. Her basamakta yapılan kalite kontrol çalışmalarında elde edilen sonuçlar mevcut bilimsel literatürlerle karşılaştırılıp desteklenerek bir sonraki basamaklara geçilmiştir.

Öncelikle sentezlenen manyetik nanoparçacıklarından L-alanin kaplı olanların 30 ile 40 nm, L-sistein kaplı olanların 35 ila 45 nm arasında boyutlara sahip oldukları saptanmıştır. Ayrıca hem alanin hem de sistein ile kaplı olan parçacıkların şekillerinin küresel olduğu gözlemlenmiştir. Sonrasında boyutlarının ve şekillerinin ideale yakın olduğu belirlenen aminoasit kaplı manyetik nanoparçacıkların $^{99m}\text{Tc(I)}$ -trikarbonil koruyla radyoışaretlenmeleri sağlanmıştır. Radyoışaretleme işleminde kullanmak amacıyla sentezlenen $^{99m}\text{Tc(I)}$ -trikarbonil korunun kalite kontrolü TLRC yöntemiyle SF ve AcN banyoları kullanılarak yapılmıştır. Sonuç olarak $^{99m}\text{Tc(I)}$ -trikarbonil korunun SF banyosundaki verimi % 99.72 olarak saptanmış ve SF banyosunun AcN banyosundan daha uygun olduğu belirlenmiştir. Ardından $^{99m}\text{Tc(I)}$ -trikarbonil koru ile radyoışaretlenen hem alanin hem de sistein ile kaplı manyetik nanoparçacıklara serum stabilite çalışması yapılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde her iki aminoasitle de kaplı manyetik nanoparçacıkların 4 saat süresince kararlılıklarını sürdürdükleri gözlenmiştir. Son aşamada ise her iki aminoasitle de kaplı manyetik nanoparçacıkların Wistar Albino erkek sıçanlar ile biyodağılım çalışmaları yapılarak, biyolojik davranışları incelenmiştir. Alınan sonuçlara göre alanin kaplı manyetik nanoparçacıkların karaciğer ve akciğer tutulumlarının, sistein kaplı parçacıklara göre daha yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Bununla birlikte biyodağılım sonuçları her iki aminoasitle kaplı radyoışaretili manyetik nanoparçacıklar için boşaltımın hem hepatobiliar hem de renal yolla gerçekleştiğini göstermektedir. Ancak hedef/hedef olmayan organ oranları incelendiğinde alanin kaplı manyetik nanoparçacıklarda hepatobiliar boşaltımın, sistein kaplı parçacıklarda ise renal boşaltımın baskın olduğu anlaşılmaktadır.

Bu sonuçlardan $^{99m}\text{Tc(I)}$ -trikarbonil koruyula işaretli aminoasit kaplı manyetik nanoparçakların biyolojik davranışı kaplanan aminoasitin türüne göre farklılık gösterdiği anlaşılmaktadır. Böylelikle $^{99m}\text{Tc(CO)}_3\text{-MNP-Alanin}$ ve $^{99m}\text{Tc(CO)}_3\text{-MNP-Sistein}$ kompleksleri ve benzeri komplekslerin nükleer tıp alanında teşhis amaçlı kullanımıyla ilgili daha geniş kapsamlı çalışmaların yapılmasının önü açılacaktır. Bu çalışmanın devamında hem alanin hem de sisteinle kaplı radyoişaretli manyetik nanoparçacık komplekslerinin tavşanlar ile statik ve dinamik görüntüleme çalışmaları yapılarak incelenmesi önerilmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Alberto, R., Schibli R., Egli, A. and Schubiger, A.P.,** 1998, A Novel Organometallic Aqua Complex of Technetium for the Labeling of Biomolecules: Synthesis of $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$ from $[\text{}^{99\text{m}}\text{TcO}_4]^-$ in Aqueous Solution and Its Reaction with a Bifunctional Ligand, *Journal of the American Chemical Society*, 120(31): 7987-7988pp.
- Alberto, R., Schibli, R., Waibel, R., Abram, U. and Schubiger, A.P.,** 1999, Basic aqueous chemistry of $[\text{M}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]$ (M=Re, Tc) directed towards radiopharmaceutical application, *Coordination Chemistry Reviews*, 190–192pp.
- Arano, Y.,** 2002, Recent advances in $^{99\text{m}}\text{Tc}$ radiopharmaceuticals, *Annals of Nuclear Medicine*, 16(2):79-93pp.
- Arruebo, M., Fernández-Pacheco, R., Ibarra, M.R. and Santamaría, J.,** 2007, Magnetic nanoparticles for drug delivery, *Nano Today*, 2(3):22-32pp.
- Banerjee, S., Pillai, M.R.A. and Ramamoorthy, N.,** 2001, Evolution of Tc-99m in Diagnostic Radiopharmaceuticals, *Seminars in Nuclear Medicine*, 31 (4); 390-396pp.
- Banerjee, T., Mitra, S., Singh, A.K., Sharma, R.K. and Maitra, A.,** 2002, Preparation, characterization and biodistribution of ultrafine chitosan nanoparticles, *International Journal of Pharmaceutics*, 243; 93–105pp.
- Boisseau, P. and Loubaton, B.,** 2011, Nanomedicine, nanotechnology in medicine, *Comptes Rendus Physique*, 12; 620-636pp.
- Can, M.,** 2005, Investigation of physical properties of magnetic nanoparticles, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fizik Mühendisliği Anabilim Dalı, 96s.
- Cao, J., Wang, Y., Yu, J., Xia, J., Zhang, C., Yin, D. and Hafeli, U.O.,** 2004, Preparation and radiolabeling of surface-modified magnetic nanoparticles with rhenium-188 for magnetic targeted radiotherapy, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 277:165–174pp.
- Chomoucka, J., Drbohlavova, J., Huska, D., Adam, V., Kizek, R. and Hubalek, J.,** 2010, Magnetic nanoparticles and targeted drug delivering, *Pharmacological Research*, 62(2); 144-149pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Culita, D.C., Marinescu, G., Patron, L., Carp, O., Cizmas, C.B. and Diamandescu, L.**, 2008, Superparamagnetic Nanomagnetites Modified with Histidine and Tyrosine, *Materials Chemistry and Physics*, 111; 381-385pp.
- Çakır İ .**, 2003, Enerji dağılımlı x-ışını analizörlü taramalı elektron mikroskobu SEM-eds ile sıkça karşılaşılan katı adli delillerin incelenmesi, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Adli Fen Bilimleri Anabilim Dalı, 123s.
- Diaz, M., Martinez, L., Ruano, M.M., Llamasa P.D., Roman, E., Garcia-Hernandez, M., Ballesteros, C., Fermento, R., Cebollada, A., Armelles, G. and Huttel, Y.**, 2011, Morphological, structural, and magnetic properties of Co nanoparticles in a silicon oxide matrix., Source: *Journal of Nanoparticle Research*, 13: 5321-5333pp.
- Ebin, B.**, 2008, Demir Nano-partiküllerinin Ultrasonik Sprey Piroliz ve Hidrojen Redüksiyonu Yöntemi ile Üretimi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 93s.
- Figuerola, A., Corato, R.D., Manna, L. and Pellegrino, T.**, 2010, From iron oxide nanoparticles towards advanced iron-based inorganic materials designed for biomedical applications, *Pharmacological Research*, 62:126-143pp.
- Fu C.M., Wang Y.F., Chao Y.C., Hung S.H. and Yang M.D.**, 2004, Directly labeling ferrite nanoparticles with Tc-99m radioisotope for diagnostic applications ; *IEEE Transactions on Magnetics*; 40; 3003-3005pp.
- Grillini, P.M.**, 2006, Thin-layer Chromatography , *Comprehensive Analytical Chemistry*, 47(13): 413-422pp.
- İçhedef, Ç.**, 2006, Guanin ve türevlerinin $M(CO)_{3+}$ (M=Tc ve Re) korları ile işaretli manyetik özellikli nanoparçacıklarının oluşturulması ve biyolojik aktivitelerinin incelenmesi, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Nükleer Bilimler Enstitüsü, 103s.
- Jordan, A., Scholz, R., Wust, P., Schirra H., Schiestel, T., Schmidt, H. and Felix, R.**, 1999, Endocytosis of dextran and silan-coated magnetite nanoparticles and the effect of intracellular hyperthermia on human mammary carcinoma cells in vitro, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 194: 185-196pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Karlson, P.**, 1992, Tıp ve Fen Bilimciler için Biyokimya, (Çev. A. Telefoncu) Sermet matbaası, Kırklareli-Vize, 464s.
- Keshavarz, S., Xu, Y.L.; Hardy, S., Lemley, C., Mewes, T. and Bao, Y.P.**, 2010, Relaxation of Polymer Coated Fe₃O₄ Magnetic Nanoparticles in Aqueous Solution, *IEEE Transactions on Magnetics*, 46(6): 1541-1543pp.
- Kodama, R.H.**, 1999, Magnetic nanoparticles, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 200:359pp.
- Kuhn, K.G., Boesen, E., Ross, L. and Johansen, C.**, 2005, Evaluation and outcome of behavioural changes in the rehabilitation of cancer patients: a review, *European Journal of Cancer*, 41, 216–224pp.
- Ma, Z. and Liu, H.**, 2007, Synthesis and surface modification of magnetic particles for application in biotechnology and biomedicine, *China Particuology*, 5, 1–10pp.
- Monge-Fuentes, V., Garcia, M.P., Tavares, M.C.H., Valois, C.R.A. and Lima, E.C.D.**, 2011, Biodistribution and biocompatibility of DMSA-stabilized maghemite magnetic nanoparticles in nonhuman primates (*Cebus spp.*), *Nanomedicine*, 6(9): 1529-44pp.
- Nosco, D.L. and Nosco, J.A.B.**, 1999, Chemistry of technetium radiopharmaceuticals 1: Chemistry behind the development of Contents technetium-99m compounds to determine kidney function, *Coordination Chemistry Reviews*, 184, 91–123pp.
- Patel, D., Chang, Y. and Lee, G.H.**, 2009, Amino acid functionalized magnetite nanoparticles in saline solution, *Current Applied Physics*, 9, 32–34pp.
- Roco, M.C.**, 2003, Nanotechnology: convergence with modern biology and medicine, *Current Opinion in Biotechnology*, 14:337–346pp.
- Koo, O.M., Rubinstein I. and Onyuksel H.**, 2005, Role of nanotechnology in targeted drug delivery and imaging: a concise review, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 1(3): 193– 212pp.
- Sahoo, S.K., Parveen S. and Panda, J.J.**, 2007, The present and future of nanotechnology in human health care, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 3: 20– 31pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Serway, B.**, 1996, Sources of the magnetic field, *Physics for The Scientists and Engineers*, 30(8), 956-964pp.
- Shubayev V.I., Pisanic T.R.(II). and Jin S.**, 2009, Magnetic nanoparticles for theragnostics, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61, 467–477pp.
- Şenocak, K.**, 2010, $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})^{3+}$ Korumalı İlaç İle İşaretli Bisfosfonat Bileşiğinin Radyofarmasötik Potansiyelinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, 42s.
- Tavlayan E.**, 2006, Beyin Tümörlerinin Radyoterapi Planlamasında, BT VE MR Görüntü Eşleştirilmesinin Hedef Volüm Belirlenmesine Ve Doz Dağılımına Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı Tıbbi Radyofizik Programı, 50s.
- Tekman, Ş. ve Öner, N.**, 1994, Genel Biyokimya, *İstanbul Üniversitesi Yayınları*, 206-216s.
- Tie, S.L., Lin, Y.Q., Lee, H.C., Bae, Y.S. and Lee, C.H.**, 2006, Amino acid-coated nano-sized magnetite particles prepared by two-step transformation, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 273, 75–83pp.
- Tocher, D.R.**, 2003, Thin-layer Chromatography, *Chromatography*, 1267pp,
- Torchilin, V.P.**, 2006, Multifunctional nanocarriers, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58, 1532–1555pp.
- Ünak, P.**, 2003, Ulusal Radyofarmasi Kursu Ders Notları Bölüm I, Radyonüklidlerin Üretimi.
- Wang M. and Thanou M.**, 2010, Targeting nanoparticles to cancer, *Pharmacological Research*, 62, 90–99pp.
- Wei, I.C., Tsao, N., Huang, Y.H., Ho, Y.S., Wu, C.C., Yu, D.F. and Yang, D.J.**, 2008, ^{99m}Tc -glycopeptide: Synthesis, biodistribution and imaging in breast tumor-bearing rodents, *Applied Radiation and Isotopes*, 66, 320–331pp.
- Wedding, U., Pientka, L. and Höffken, K.**, 2007, Quality-of-life in elderly patients with cancer: A short review, *European Journal of Cancer*, 43, 2203-2210pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Altınışık, M., 2006, Aminoasitlerin Yapısal ve İşlevsel Özellikleri 1, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakóltesi, Biyokimya Anabilim Dalı, www.mustafaaltinisik.org.uk/sunularim.html,

(Son Erişim Tarihi: 13 Mart 2012)

Anadolu Üniversitesi, 2012, <http://www.emp.anadolu.edu.tr/mikroskop.html>,

(Son Erişim Tarihi: 17 şubat 2012)

Türkiye Atom Enerjisi Kurumu., 2009,

[http://www.taek.gov.tr/component/content/article/130-malzeme-teknolojisi / 486-taramali-elektron-mikroskobu-sem-nasil-calisir.html](http://www.taek.gov.tr/component/content/article/130-malzeme-teknolojisi/486-taramali-elektron-mikroskobu-sem-nasil-calisir.html), (Son Erişim Tari-

hi: 2 şubat 2012)

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Onur BÜYÜKOK

Doğumyeri : İzmir

Doğum Yılı : 22.01.1986

Öğrenim Durumu:

Lisans : 2004-2010 Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fizik Bölümü

Yüksek Lisans : 2010-2012 Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı

Mesleki Durumu:

02/2011- : İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Stajyer Sağlık Fizikçisi