



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ



$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ NANOPARÇACIKLARIN SENTEZİ ve Tc-99m ile İŞARETLENMESİ

Yüksek Lisans Tezi

Elif TUTUN

Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Ana Bilim Dalı

İzmir
2019

T.C.

EGE ÜNİVERSİTESİ

Fen Bilimleri Enstitüsü

$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ NANOPARÇACIKLARIN SENTEZİ ve Tc-99m ile İŞARETLENMESİ

Elif TUTUN

Danışman: Prof. Dr. Perihan ÜNAK

Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Anabilim Dalı

Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Yüksek Lisans Programı

İzmir

2019

Elif TUTUN tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan “Fe₃O₄@TiO₂ Nanoparçacıkların Sentezi ve ^{99m}Tc ile İşaretlenmesi” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 08 / 08 / 2019 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı

: Prof. Dr. Perihan ÜNAK

.....
.....

Raportör Üye

: Doç. Dr. Ayfer Yurt KILÇAR

.....
.....

Üye

: Prof. Dr. Serhan SAKARYA

.....
.....



EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi / ~~Doktora~~ Tezi olarak sunduğum “Fe₃O₄@TiO₂ Nanoparçacıkların Sentezi ve ^{99m}Tc ile İşaretlenmesi” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

08 / 08 / 2019

İmzası

Elif Tutun



ÖZET

**Fe₃O₄@TiO₂ NANOPARÇACIKLARIN SENTEZİ ve ^{99m}Tc ile
İŞARETLENMESİ**

Tutun, Elif

Yüksek Lisans Tezi, Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Perihan ÜNAK

Temmuz 2019, 82 sayfa

Bu çalışmada, fotodinamik terapi ve MRI (Manyetik Rezonans (MR) görüntüleme) kontrast ile görüntüleme özelliklerini bir arada taşıyan Fe₃O₄@TiO₂ nanoparçacıkların sentezlenmesi ve teknesyum-99m (^{99m}Tc) ile işaretlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla öncelikle, çok fonksiyonlu Fe₃O₄@TiO₂ nanoparçacıklar sentezlenmiştir. Sentezlenen yapının yüzey modifikasyonu, tetraetil ortosilikat ve 3-aminopropil trietoksi silan ile kaplanarak gerçekleştirilmiştir. Fonksiyonlanmış Fe₃O₄@TiO₂ nanoparçacıklar antikanser potansiyeli arttırmak için lupulon türevleri (heksahidrolupulon ve asetolupufenon) ile konjuge edilerek Fe₃O₄@TiO₂-Si, Fe₃O₄@TiO₂-Si-HLP, Fe₃O₄@TiO₂-Si-ALP şeklinde adlandırılmıştır. Fe₃O₄@TiO₂ nanoparçacıklar ve fonksiyonlanmış Fe₃O₄@TiO₂ nanoparçacıkların yapısal karakterizasyonları fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi ile belirlenmiştir. Nanoparçacıkların boyut dağılımı için dinamik ışık saçılımı, optik özellikleri ve floresans şiddetleri için floresans spektroskopisi ve yüzey özellikleri ve boyut analizleri için taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılmıştır. Sentezlenen Fe₃O₄@TiO₂ nanoparçacıkların yaklaşık 40 nm çapında olduğu gözlemlenmiştir. ^{99m}Tc ile işaretlenen örneklerin kalite kontrolü, HPLRC (Yüksek Performanslı Sıvı Radyo Kromatografi) ve TLRC (İnce Tabaka Radyo Kromatografi) yöntemleri ile yapılmıştır. Fe₃O₄@TiO₂-Si-HLP nanoparçacıkların biyolojik davranışlarının *in vitro* yöntemle belirlenmesi amacıyla sağlıklı (RWPE-1 normal insan prostat epitel hücre hattı) ve kanser prostat hücre hatları (PC-3 insan prostat kanser hücre hattı) üzerinde çalışmalar gerçekleştirilmiştir. İnkorporasyon çalışmaları sonucunda, Fe₃O₄@TiO₂-Si-HLP örneğinin prostat hücrelerine bağlanma veriminin zamana göre değişimi incelenmiştir. Sonuç olarak, Fe₃O₄@TiO₂-Si-HLP örneğinin zamanla bağlanma yüzdesi artmış ve 2 saatte yaklaşık olarak % 11'e ulaşarak deneyin sürdüğü 4 saat boyunca hücreden ayrılma olmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Fe₃O₄@TiO₂ nanoparçacıklar, lupulon, prostat kanseri, ^{99m}Tc, SPECT, MR görüntüleme

ABSTRACT**SYNTHESIS of Fe₃O₄@TiO₂ NANOPARTICLES and LABELING with ^{99m}Tc**

Tutun, Elif

MSc. Thesis, Department of Material Science and Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Perihan ÜNAK

July 2019, 82 pages

In this study, it is aimed to synthesize Fe₃O₄@TiO₂ nanoparticles which combine photodynamic therapy and MRI contrast properties and to label them with technetium-99m (^{99m}Tc). For this purpose, multifunctional Fe₃O₄@TiO₂ nanoparticles were synthesized. The surface modification of the synthesized structure was carried out by coating with tetraethyl orthosilicate and aminosilane. The functionalized Fe₃O₄@TiO₂ nanoparticles were conjugated with lupulon derivatives (hexahydrolupulon and acetolupufenone) to increase anticancer potential and named as Fe₃O₄@TiO₂-Si, Fe₃O₄@TiO₂-Si-HLP, Fe₃O₄@TiO₂-Si-ALP. Structural characterizations of Fe₃O₄@TiO₂ nanoparticles and functionalized Fe₃O₄@TiO₂ nanoparticles were determined by fourier transform infrared spectroscopy. Dynamic light scattering for the size distribution of nanoparticles, fluorescence spectroscopy for optical properties and fluorescence intensities, and scanning electron microscopy (SEM) were used for surface properties and size analysis. Diameter of the synthesized Fe₃O₄@TiO₂ nanoparticles were observed approximately as 40 nm. The quality control studies of the ^{99m}Tc samples labeled was performed by using HPLRC (High Performance Liquid Radio Chromatography) and TLRC (Thin Layer Radio Chromatography) methods. Studies were conducted on healthy (RWPE-1 normal human prostate epithelial cell line) and cancer prostate cell lines (PC-3 human prostate cancer cell line) to determine *in vitro* biological behavior of the Fe₃O₄@TiO₂-Si-HLP nanoparticles. As a result of the incorporation studies, it is seen that there is a time dependent change at the binding efficiencies Fe₃O₄@TiO₂-Si-HLP to prostate cells over time. As a result, the percentage of binding of Fe₃O₄@TiO₂-Si-HLP sample increased with time and reached approximately 11 % in 2 hours and no cell separation observed during the 4 hours of the experiment.

Keywords: Fe₃O₄@TiO₂ nanoparticles, lupulon, prostate cancer, ^{99m}Tc, SPECT, MRI

ÖNSÖZ

Bu çalışmada öncelikle $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıklar sentezlenmiştir. Yüzey modifikasyonu tetraetil ortosilikat (TEOS) ve 3-aminopropil trietoksi silan (APTES) ile kaplanarak gerçekleştirilmiştir. Daha sonraki aşamada ise şerbetçi otundan elde edilen lupulon türevleri (heksahidrolupulon ve asetolupufenon) sentezlenerek $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıklar ile konjuge edilmiştir. Fonksiyonlanan ve lupulon türevleri ile konjuge edilen $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıklara SPECT görüntüleme özelliklerini kazandırmak için $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ile radyoişaretleme yapılmıştır. Son olarak nanoparçacıkların biyolojik davranışları *in vitro* yöntemlerle belirlenerek sağlıklı ve kanserli prostat hücrelerine afiniteleri incelenmiştir.

İZMİR

08 /08 /2019

Elif Tutun

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
ÖNSÖZ.....	xi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xx
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xxii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Kanser Nedir?.....	3
2.1.1 Kanser Tedavisi.....	3
2.2 Nanoteknoloji.....	4
2.3 Manyetik Nanoparçacıklar.....	4
2.4 Demir Oksit Nanoparçacıklar.....	5
2.5 Titanyum Dioksit Nanoparçacıklar.....	6
2.6 Heksahidrolupulon (HLP).....	6
3. MATERYAL VE METOT.....	9
3.1 Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar.....	9
3.1.1 Kullanılan Kimyasallar.....	9
3.1.2 Kullanılan Cihazlar.....	10
3.2 TiO ₂ Nanoparçacık Sentezi.....	11

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

3.3 Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ Nanoparçacık Sentezi.....	11
3.4 Sentezlenen Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ Nanoparçacıkların Silikalanması.....	12
3.5 Silakalanmış Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ Nanoparçacıkların Silanlanması (Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ -Si).....	13
3.6 Heksahidrolupulon Sentezi (HLP).....	13
3.7 Silika ve Silanlı Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ Nanoparçacıkların Heksahidrolupulon ile Konjugasyonu (Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ -Si-HLP).....	14
3.8 Asetolupufenon Sentezi (ALP).....	15
3.9 Silika ve Silanlı Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ Nanoparçacıkların Asetolupufenon Sentezi ile Konjugasyonu (Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ -Si-ALP).....	15
3.10 Sentezlenen Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ Nanoparçacıkların Karakterizasyon Çalışmaları.....	16
3.10.1 FTIR ile Yapı Analizi.....	16
3.10.2 DLS ile Boyut Analizi.....	16
3.10.3 SEM ile Yüzey Analizi.....	16
3.10.4 Floresans Spektroskopisi Analizi.....	16
3.10.5 HPLC Analizi.....	17
3.11 ^{99m} Tc ile Radyoişaretleme.....	17
3.12 Radyoişaretleli Örneklerin Kalite Kontrol İşlemleri.....	18
3.12.1 İnce Sıvı Radyokromatografisi (TLRC).....	18
3.12.2 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC).....	18
3.12.3 Lipofilite.....	19
3.12.4 Stabilitate.....	19
3.13 Hücre Kültürü Çalışmaları.....	20

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

3.13.1 RWPE-1 ve PC-3 Hücrelerinin Hazırlanması.....	20
3.13.2 Sitotoksosite Çalışması.....	20
3.13.3 İnkorporasyon Çalışması.....	21
4. BULGULAR.....	23
4.1 Sentez Mekanizmaları.....	23
4.1.1 Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ Nanoparçacık Sentezi.....	23
4.1.2 Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ Nanoparçacıkların TEOS ile Kaplanması.....	24
4.1.3 Silikalı Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ Nanoparçacıkların APTES ile Kaplanması.....	25
4.1.4 Heksahidrolupulon ve Asetolupulon Sentezi.....	26
4.1.5 Silikalı ve Silanlı Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ Nanoparçacıkların Heksahidrolupulon ile Konjugasyonu.....	27
4.1.6 Heksahidrolupulon ile Konjuge Edilen Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ Nanoparçacıkların DTPA ile Şelatlanması.....	28
4.2 Sentezlenen Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ Nanoparçacık ve Türevlerinin Karakterizasyonuna İlişkin Bulgular.....	29
4.2.1 FTIR Yapı Analizi Sonuçları.....	29
4.2.2 DLS Boyut Analizi Sonuçları.....	34
4.2.3 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Sonuçları.....	36
4.2.4 Floresans Spektroskopisi Sonuçları.....	38
4.2.5 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Sonuçları.....	40
4.3 Radyoişaretli Örneklerin TLRC Analiz Sonuçları.....	41
4.4 Radyoişaretli Örneklerin HPLC Analizi Sonuçları.....	43
4.5 Lipofilite Sonuçları.....	46
4.6 Stabilitate Sonuçları.....	46

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
4.7 Hücre Kültürü Sonuçları.....	48
4.7.1 Sitotoksisite Sonuçları.....	48
4.7.2 İnkorporasyon Sonuçları.....	49
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	50
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	51
TEŞEKKÜR.....	57
ÖZGEÇMİŞ.....	58

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Kanserin oluşumu ve yayılması.....	3
2.2 Şerbetçi otu.....	7
2.3 Lupulonun açık yapısı.....	7
2.4 Lupulonun türevleri.....	8
3.1 Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ nanoparçacık sentezinin inkübasyonu.....	12
3.2 Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ nanoparçacıkların silikalanması.....	13
3.3 Amonyak destilasyonu ve heksahidrolupulon sentezi.....	14
3.4 Sitotoksosite çalışması için hazırlanan 96'lık plate.....	20
3.5 PC-3 ve RWPE-1 hücrelerinin inkorparasyon deneyinde 24' lük plate gösterimi.....	22
4.1 Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ nanoparçacık sentezi.....	23
4.2 Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ nanoparçacıkların TEOS ile fonksiyonlaştırılması.....	24
4.3 Silikalı Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ nanoparçacıkların APTES ile fonksiyonlaştırılması.....	25
4. 4 Heksahidrolupulon ve asetolupufenon sentezi.....	26
4.5 Silikalı ve silanlı Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ nanoparçacıkların heksahidrolupulon ile konjugasyonu.....	27
4.6 Heksahidrolupulon ile konjuge edilen Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ nanoparçacıkların DTPA ile şelatlanması.....	28
4.7 Silanlı ve silikalı Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ -Si nanoparçacıkların FTIR spektrumu.....	29
4.8 Heksahidrolupulon ile konjuge edilen silikalı ve silanlı (Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ -Si-HLP) nanoparçacıkların FTIR spektrumu.....	30

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Şekil

Sayfa

4.9 Asetolupufenon ile konjuge edilen ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-ALP}$) nanoparçacıkların FTIR spektrumu.....	31
4.10 Heksahidrolupulon sentezi FTIR spektrumu.....	32
4.11 Asetolupufenon sentezi FTIR spektrumu.....	33
4.12 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıkların DLS analiz sonuçları.....	34
4.13 Silikalı ve silanlı $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si}$ nanoparçacıkların DLS analiz sonuçları.....	35
4.14 Heksahidrolupulon ile konjuge edilen silikalı ve silanlı $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ nanoparçacıkların DLS analiz sonuçları.....	35
4.15 Heksahidrolupulon sentezi DLS analiz sonuçları.....	36
4.16 Etanol ile seyreltilen $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si}$ nanoparçacıkların SEM görüntüsü.....	37
4.17 Asetolupufenon ile konjuge edilen silikalı ve silanlı $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-ALP}$ nanoparçacıkların SEM görüntüsü.....	37
4.18 Heksahidrolupulon ile konjuge edilen silikalı ve silanlı $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ nanoparçacıkların SEM görüntüsü.....	38
4.19 TiO_2 nanoparçacıkların floresans spektrumu.....	38
4.20 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıkların floresans spektrumu.....	39
4.21 Silikalı ve silanlı $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıkların floresans spektrumu.....	39
4.22 Heksahidrolupulon sentezi HPLC sonucu.....	40
4.23 Asetolupufenon sentezi HPLC kromatogramı.....	41
4.24 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si}$ sentezi HPLC sonucu.....	41
4.25 $^{99\text{m}}\text{Tc-DTPA-Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ örneğinin SF banyosundaki TLRC kromotogramı.....	42
4.26 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ örneğinin SF banyosundaki TLRC kromotogramı.....	42

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.27 İndirgenmiş ^{99m}Tc örneğinin SF banyosundaki TLRC kromatogramı.....	42
4.28 ^{99m}Tc -DTPA- $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ nanoparçacıkların HPLRC kromatogramı.....	43
4.29 ^{99m}Tc ve ^{99m}Tc -DTPA- $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ nanoparçacıkların HPLRC kromatogramı.....	44
4.30 ^{99m}Tc -DTPA- $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-ALP}$ nanoparçacıkların HPLRC kromatogramı.....	45
4.31 ^{99m}Tc -DTPA- $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-ALP}$ nanoparçacıkların ^{99m}Tc ile birlikte karşılaştırmalı olarak radyoaktivite dedektöründe alınan HPLRC kromatogramı.....	46
4.32 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ nanoparçacıkların PC-3 ve RWPE-1 hücrelerinde üzerindeki 25 $\mu\text{L}/\text{mL}$ -500 $\mu\text{L}/\text{mL}$ doz ve 24-72 saat zaman aralığında sitotoksosite değerleri.....	48
4.33 ^{99m}Tc -DTPA- $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ nanoparçacıkların PC-3 ve RWPE-1 hücrelerine bağlanma grafiği.....	49

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge

Sayfa

3.1 HPLC koşulları.....	17
3.2 Radyoişaretleli örnekler için HPLRC koşulları.....	19
4.1 Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ -Si nanoparçacıkların dalga sayısına göre tahmin edilen eğilme ve gerilme pikleri.....	30
4.2 Heksahidrolupulon ile konjuge edilen silikalı ve silanlı (Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ -Si-HLP) nanoparçacıkların dalga sayısına göre tahmin edilen eğilme ve gerilme pikleri.....	31
4.3 Asetolupufenon ile konjuge edilen silikalı ve silanlı (Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ -Si-ALP) nanoparçacıkların dalga sayısına göre tahmin edilen eğilme ve gerilme pikleri.....	31
4.4 Heksahidrolupulon sentezi FTIR spektrumunda görülen karakteristik pikler.....	33
4.5 Asetolupufenon sentezi FTIR spektrumunda görülen karakteristik pikler.....	33
4.6 Heksahidrolupulon sentezi alıkonma zamanları ve % alan değerleri.....	40
4.7 Asetolupufenon sentezi alıkonma zamanları ve % alan değerleri.....	41
4.8 Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ -Si sentezi alıkonma zamanları ve % alan değerleri.....	41
4.9 ^{99m} Tc-Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ -Si-HLP, indirgenmiş ^{99m} Tc ve ^{99m} Tc örneklerinin TLRC yöntemiyle hesaplanan SF banyosundaki işaretleme verimleri ve Rf değerleri.....	43
4.10 ^{99m} Tc-DTPA-Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ -Si-HLP nanoparçacıkların alıkonma zamanları ve % alan değerleri.....	43
4.11 ^{99m} Tc ve ^{99m} Tc-DTPA-Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ -Si-HLP nanoparçacıkların alıkonma zamanları ve % alan değerleri.....	44
4.12 ^{99m} Tc-DTPA-Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ -Si-ALP nanoparçacıkların alıkonma zamanları ve % alan değerleri.....	45
4.13 ^{99m} Tc ve ^{99m} Tc-DTPA-Fe ₃ O ₄ @TiO ₂ -Si-ALP nanoparçacıkların alıkonma zamanları ve % alan değerleri.....	46

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)ÇizelgeSayfa

4.14 İşaretleme verilerinin ortalama değeri ve standart sapmaları.....	47
--	----



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
NP	Nanoparticle
MNP	Magnetic Nanoparticle
SPION	Super Paramagnetic Iron Oxide Nanoparticle
USPION	Ultra Super Paramagnetic Iron Oxide Nanoparticle
FTIR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
SEM	Scanning Electron Microscopy
DLS	Dynamic Light Scattering
TLRC	Thin Layer Radio Chromatography
HPLRC	High Pressure Liquid Radio Chromatography
PET	Positron Emission Tomography
SPECT	Single Photon Emission Computerized Tomography
MRI	Magnetic Resonance Imaging
HLP	Heksahidrolupulon
ALP	Asetolupufenon
DTPA	Dietilen Triamin Pentaasetik Asit
R _t	Retention time
R _f	Relative front

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$	Demir oksit/titanyum dioksit nanoparçacıklar
$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si}$	Silikalı ve silanlı nanoparçacıklar
HLP	Heksahidrolupulon
ALP	Asetolupufenon
$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$	Heksahidrolupulon ile konjuge edilen silikalı ve silanlı nanoparçacıklar
$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-ALP}$	Asetolupulfenon ile konjuge edilen silikalı ve silanlı nanoparçacıklar
$^{99\text{m}}\text{Tc-DTPA-Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ ile işaretli DTPA şelatlı heksahidrolupulon ile konjuge edilen silikalı ve silanlı nanoparçacıklar
$^{99\text{m}}\text{Tc-DTPA-Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-ALP}$	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ ile işaretli DTPA şelatlı asetolupufenon ile konjuge edilen silikalı ve silanlı nanoparçacıklar



1. GİRİŞ

Nanoteknolojinin gelişmesi ile birlikte nanoparçacıkların (NP'ler), ilaç salınım sistemlerinde, kozmetikte, anti-bakteriyel maddelerin üretiminde ve elektronik sektöründe kullanımında büyük bir artış gerçekleşmiştir (Kisin et al., 2007; Wang et al., 2008). Hücresel görüntüleme, kanser tanısı ve araştırmalarında kullanılan demir oksit nanoparçacıklar (Fe_3O_4 NP'ler), hücre ve dokunun anatomik yapısı hakkında detaylı bilgiler sağlayabilmektedir. Fe_3O_4 NP'ler, hazırlama kolaylıkları, biyokonjugasyona olan yatkınlıkları ve ayrıca düşük toksisiteyi nedeniyle diagnostik uygulamalar ve biyolojik görüntüleme çalışmaları için önemli alternatif olmaktadır. Araştırmalar belirli boyuta sahip Fe_3O_4 NP'lerin kanser hücrelerine normal hücrelere kıyasla daha fazla spesifik olduğunu göstermiştir.

Titanyum dioksit (TiO_2) düşük maliyeti, yüksek stabilitesi ve insanlar ve çevre için güvenli olması nedeniyle ideal bir fotokataliz yarı iletkeni olarak kabul edilir (Gupta and Tripathi, 2011). Son zamanlarda, TiO_2 NP'ler; toz, kristal, ince film, nanoküre ve nanoçubuk gibi farklı şekillerde hazırlanabilmektedir. Sentezde genellikle sıvı faz prosesleri tercih edilmektedir. Bu durum sitokiyometrinin kontrolü, homojenitenin sağlanması, kompleks ve kompozit materyallerin şekillenmesi gibi hususlarda avantaj sağlamaktadır (Dawson et al., 2010). TiO_2 NP'ler genel olarak az çözünen ve düşük toksisiteye sahip parçacıklar olarak bilinir (Gupta and Tripathi, 2011).

Demir oksit tabanlı manyetik nanoparçacıklar (MNP'ler) tanı ve tedavi alanında sıkça kullanılan materyallerdir. Bu materyaller tanı ve tedavi yöntemi olarak kişiye özel tıp uygulamalarına olanak sağlamaktadır (Brigger et al., 2002; Campo et al., 2005). MNP'ler dışarıdan uygulanan bir manyetik alan ile hedefe yönlendirilebilme özelliğine sahiptirler. Aynı zamanda tanı ve tedavi yaklaşımları içerisinde seçici tümör görüntüleme ile gen iletiminde de fonksiyonel MNP'ler kullanılmaktadır. Süper Paramanyetik NP'lerin (SPION) biyoteknolojide ilaç taşıyıcısı olarak kullanımı ile ilgili çeşitli çalışmalar mevcuttur. Ancak radyonüklid işaretli MNP'ler ile ilgili çalışmalar daha azdır (Jain et al., 2005, Glaus et al., 2008). Anabilim Dalımızda ^{18}F ile işaretli MNP'ler ile ilgili yapılmış bir Yüksek Lisans tezi ve bu tezden çıkan bilimsel makale mevcuttur (Toksöz et al., 2008, Özkaya et al., 2012).

Lupulonlar şerbetçi otundan (*Humulus lupulus* L.) türetilen polifenollerdir. Şerbetçiotu (*Humulus lupulus* L.) ve şerbetçiotu ürünleri, temel olarak bira endüstrisinde biraya keskin tat ve aroma vermek için kullanılırlar (Liu et al., 2019; Ghasemivarnamkhasti et al., 2011; Foster et al., 2009; Killeen et al., 2014). Şerbetçiotu tıp ve gıda alanındaki uygulamaların yanı sıra şerbetçiotu polifenollerinin (Zanoli et al., 2008; Arimotokobayashi et al., 1999) antioksidan aktivitesinin keşfedilmesi üzerine araştırmacıların ilgisini çekmiştir. Şerbetçiotu flavonoidler, uçucu yağlar ve *Humulus lupulus* L. asitleri dahil olmak üzere sağlık üzerinde olumlu etkileri olan yüzlerce değerli bileşen içermektedir (Jaskula et al.,

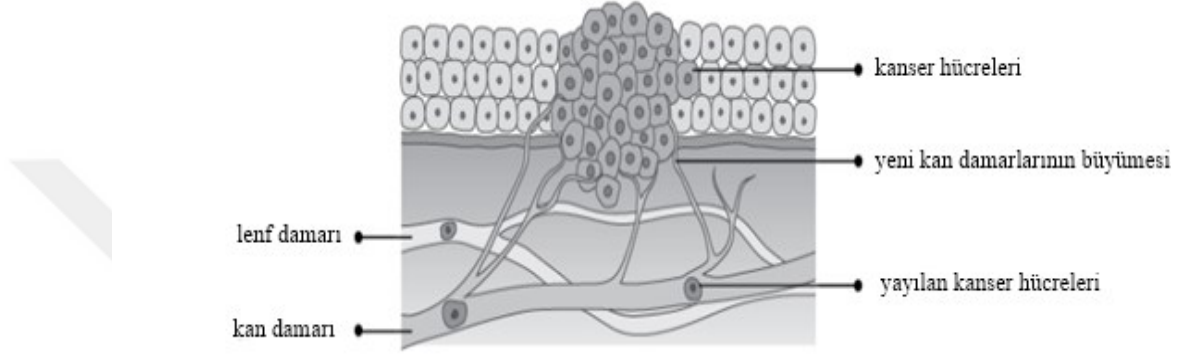
2010; Alfi et al., 2010; Dresel, et al., 2016; Liu, et al., 2011). Bu içerikler nedeniyle, şerbetçiotu'un yatıştırıcı, idrar söktürücü etkileri ve antibakteriyel özellikleri vardır (Kretzschmar et al., 2007; Schaefer et al., 2005; Müller et al., 2002). İlaven şerbetçiotu ayrıca sindirim sistemine sindirimi hızlandırarak yardımcı olur (Nemeth et al., 2003). Bu nedenle, gastrointestinal sistem rahatsızlıkları ve mide rahatsızlığını tedavi etmek için sıklıkla diğer ilaçlarla birlikte kullanılır. Ek olarak, portakal suyu ekstresinin depolanması için de şerbetçiotu çok etkilidir. Hein ve grubu (Hein et al., 2002), şerbetçi otunun meyve suyu ekstresinde mikrobiyolojik aktiviteyi yavaşlatacağını ve invert şeker ve asit oluşumuna dönüşmeden raf ömrünü önemli ölçüde uzatabildiğini bildirmiştir. Lupulonların doğal ürünlerden ekstraksiyonla ayrılması dışında son yıllarda kimyasal sentezi ile ilgili yapılmış olan az sayıda araştırma yapılmıştır (Mouratidis et al., 2013; Tyrrell et al., 2012). Lupulonların antikanser aktiviteleri ile ilgili de prostat ve meme kanser hücre hatları ile ilgili az sayıda rapor mevcuttur (Petros et al., 2013; Tyrrell et al., 2012).

Bu tez çalışmasında ise yeni bir teranostik ajan oluşturulması amacıyla fotodinamik terapi ve MRI (Manyetik Rezonans (MR) görüntüleme) kontrast özelliklerini bir arada taşıyan $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanopacıklar sentezlenmiş, antikanser potansiyeli arttırmak için heksahidrolupulonlar (HLP) ile konjuge edilmiş, SPECT görüntüleme özelliklerini kazandırmak için $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ile radyoışaretlenmiş ve *in vitro* çalışmalarla sağlıklı ve kanser prostat hücrelerine afiniteleri incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kanser Nedir?

Günümüzün en önemli sağlık sorunlarından birisi olan kanser, vücutta kontrolsüz olarak çoğalan bir ya da bir grup hücre topluluğunu tanımlayan genel bir terimdir. Kanser hücreleri çoğalarak bir kütle haline geldiğinde tümör olarak tanımlanır. İyi huylu tümörler basitçe organın işlevselliğini engelleyebilecek fiziksel engellerken, kötü huylu tümörler çevredeki dokuları istila edebilir veya vücudun diğer bölümlerine yayılabilir (Wu et al., 2013).



Şekil 2.1 Kanserin oluşumu ve yayılması (Canadian Cancer Society, 2019)

Kanser ülkemizde ve dünyada ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer almaktadır. Küresel olarak yaklaşık her 6 ölümden biri kanserden kaynaklanmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, 2018'deki tahmini 9.6 milyon ölümün sebebi kanserdir. En yaygın görülen kanser türleri sırasıyla akciğer, meme, kolorektal, prostat, deri ve mide kanseridir (World Health Organization, 2019). Erkeklerde prostat kanseri, en sık tanı konan ikinci kanser türüdür; bu, yeni kanser vakalarının % 14'ünü ve 2008'de erkeklerde toplam kanser ölümlerinin % 6'sını oluşturmaktadır (Jemal et al., 2011).

2.1.1 Kanser Tedavisi

Kanser tedavisinde yaygın olarak cerrahi girişim, kemoterapi, çeşitli radyasyon terapisi içeren gelişmiş tedavi şekilleri uygulanmaktadır. Etkili kanser tedavisinde önemli bir ilerleme olmasına ve birçok kanser türü tedavi edilebilir olmasına rağmen, tedaviler çoğu zaman istenmeyen yan etkilere sahiptir. Başarılı bir tedavi için erken tanı şart olduğundan, aynı anda hem tanı hem de tedavi imkanı sunan yöntemlerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Nanoteknoloji, moleküler biyoloji ve görüntüleme teknolojisi gibi diğer disiplinler bir araya getirildiğinde, benzersiz imkanlar doğmakta ve yenilikçi tanı ve tedavi sistemleri elde edilebilmektedir. Ayrıca bu sistemler, hasta değişkenliği ve dolayısıyla tedavi yanıtı dikkate alarak, uygulanan tedavinin en uygun etkinliği sağlayarak, hem

kişiselleştirilmiş tedaviye ve tedavi takibine hem de uygun dozdaki ilacın istenilen bölgeye iletimi sırasında sağlıklı hücrelerin yan etkilerden korunmasına olanak tanımaktadır (Blasiak et al., 2013; Tran et al., 2009).

2.2 Nanoteknoloji

Metrenin milyarda biri (10^{-9} m) bir nanometre olarak tanımlanmaktadır. Nanoteknoloji ise, atom ve moleküler ölçekte yeni bir ürün üretimi ya da var olan ürünü daha işlevsel hale getirme şeklinde açıklanabilmektedir. Üretilen malzeme boyutu küçüldükçe mevcut mekanik, fiziksel, kimyasal özellikler değiştirilebilmektedir. Boyut kontrolü sağlandıkça daha hafif, daha dayanıklı, daha hızlı, daha küçük ve daha kapasiteli ürünler üretilebilmektedir. Bu teknoloji, mühendislik, fizik, kimya, biyoloji ve sağlık gibi çeşitli alanlarda yararlanılmaktadır (Joeng et al., 1999).

2.3 Manyetik Nanoparçacıklar

Son on yılda, nanoteknolojide, biyomedikal uygulamalar ve teşhisler için nanoparçacıkların fonksiyonel özellikleri yaygın bir şekilde kullanılmıştır. Küçük boyutlu demir oksit nanoparçacıkları *in vitro* olarak teşhis amacıyla yaklaşık 40 yıldır kullanılmaktadır. Son on yılda, manyetik nanoparçacıklar ile ilgili olarak demir oksiti içeren araştırmalar artmıştır. Uygun yüzey kaplamasıyla, bu manyetik nanoparçacıklar, ferrofluidler adı verilen homojen süspansiyonlar oluşturan uygun çözücüler içine dağıtılabilir. Böyle bir süspansiyon, harici bir manyetik alanla etkileşime girebilmekte ve tıbbi tanı ve alternatif akım manyetik alan yardımcı kanser tedavisi için manyetik rezonans görüntülemesini kolaylaştırarak belirli bir alana yerleştirilebilmektedirler. Nanoparçacıklarda, boyut küçüldükçe fiziksel ve kimyasal özellikler tamamen değişmektedir. Boyutun küçülmesi manyetik özelliklerin bazılarını önemli ölçüde değiştirmekte ve her bir partikül, süper paramanyetik özellik ve mıknatıslanma göstermektedir. (Gupta et al., 2005). Tanım olarak, süperparamanyetik demir oksit parçacıkları genel olarak büyüklüğüne göre 30 nm'den daha büyük hidrodinamik çapları gösteren süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıkları (SPION) ve 30 nm'den daha küçük hidrodinamik çaplara sahip çok süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıkları (USPION) olarak sınıflandırılır (Gubin, 2009).

Manyetik nanoparçacıklar, manyetik rezonans görüntüleme kontrast artırma, doku onarımı, biyolojik sıvıların detoksifikasyonu, hipertermi, ilaç dağıtımı ve hücre ayrışması, vb. gibi birçok *in vivo* uygulamada yaygın olarak kullanılmıştır. Tüm bu biyomedikal ve biyomühendislik uygulamaları, bu nanoparçacıkların, yüksek mıknatıslanma değerlerine ve 100 nm'den küçük parçacık büyüklüğü dağılımına sahip olmasını, böylece parçacıkların tek tip fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olmasını gerektirmektedir. Ek olarak, bu

uygulamalar sadece toksik olmayan ve biyo-uyumlu olması gereken değil, aynı zamanda belirli bir alanda parçacık lokalizasyonu ile hedeflenebilir bir teslimat sağlayan manyetik parçacıkların özel yüzey kaplamalarına ihtiyaç duymaktadır. Yüzey kaplamalarının doğası ve daha sonra nanoparçacıkların üzerindeki geometrik düzenlemeleri, kolloidin sadece toplam büyüklüğünü belirlemekle kalmaz, aynı zamanda nanoparçacıkların vücutta biyokinetiği ve biyo-dağılımında önemli bir rol oynamaktadır. Manyetik nanoparçacıklar, ilaçlara, proteinlere, enzimlere, antikorlara veya nükleotitlere bağlanabilir ve harici bir manyetik alan kullanılarak bir organ, doku veya tümöre yönlendirilebilir veya hipertermide kullanılmak üzere alternatif manyetik alanlarda ısıtılabilirler. (Gupta et al., 2005).

2.4 Demir Oksit Nanoparçacıklar

Çekirdeğinde 26 protonu olan demir, geçiş elementleri grubunun bir bileşenidir. ^{54}Fe , ^{56}Fe , ^{57}Fe ve ^{58}Fe gibi izotopları son derece karardır. Geçiş metalleri değerlik elektronlarını veya diğer elementlerle birleştirmek için kullandıkları elektronları birden fazla kabukta bulundurur. Bunun nedeni, genellikle birçok ortak oksidasyon durumu sergilemeleridir. Demirin sekiz değerlik elektronu vardır ve iki ve üç değerlikli kombinasyonlar oluşturabilir (Chirita et al., 2009).

Demir doğada farklı kimyasal bileşikler halinde yaygın olarak bulunur. Demir oksitler, demir ve oksijenden oluşan kimyasal bileşiklerdir. Hematit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$), manyetit (Fe_3O_4), maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), $\beta\text{-Fe}_2\text{O}_3$, $\epsilon\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ve Wüstite (FeO) gibi çeşitli demir oksitler vardır (Lee et al., 2006).

En yaygın demir oksit Fe_2O_3 'tür ve manyetik olarak önemli özelliklere sahiptir. Amorf ve dört polimorf (alfa, beta, gama ve epsilon) formunda olmak üzere farklı yapılarda bulunabilir. Hematit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) doğada eşkenar dörtgen-altıgen, $\beta\text{-Fe}_2\text{O}_3$ kübik bixbit yapı, $\epsilon\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ortorombik yapı ve maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) kübik spinel yapı şeklinde bulunmaktadır. 650°C sıcaklıkta hematit Fe_3O_4 'e yüksek enerji kaybederek dönüşür. Hematit güçlü bir şekilde antiferromagnetik özelliklere sahiptir. Gama Fe_2O_3 (maghemit), Fe (III) oksidin ferrimagnetik kübik formudur ve katyon alt düzlemindeki boşluklardan manyetit ters spinel yapısından farklıdır. Zamanla oda sıcaklığında maghemit hematit kristal yapıya dönüşür. Maghemite ile Fe_3O_4 (magnetit) aynı kristal yapıya sahiptir. Gama ve epsilon tipi Fe_2O_3 ferromanyetik, alfa Fe_2O_3 antiferromagnetik, beta tipi Fe_2O_3 ise paramanyetik bir malzemedir. Maghemit Fe_2O_3 biyo-uyumludur ve bu nedenle hücre ayırma, kanser terapisinde ilaç verme, manyetik kaynaklı hipertermi, MRI kontrast ajanı, immünomagnetik ayırma IMC ve diğerleri gibi farklı uygulamalar için en yaygın kullanılan biyomalzemelerden biridir. Genel olarak, hematitin yarı iletken özellikleri güneş enerjisi dönüşümünde, fotokatalizde, suyun ayrılmasında ve maghemitin manyetik

özelliklerinde sağlık hizmetlerinin farklı uygulamalarında önemli bir rol oynamaktadır (Chirita et al., 2009).

2.5 Titanyum Dioksit Nanoparçacıklar

Geçiş metal oksitleri sınıfına giren titanyum dioksit (TiO_2), n-tipi bir yarı iletken özellik gösteren, doğal olarak anataz, rutil, brokit ve TiO_2 isimleri ile bilinen 4 farklı polimorf kristal yapısı halinde bulunmaktadır. Bu kristal yapılarından anataz ve rutil tetragonal kristal geometrisine sahipken, brokit ortorombik, TiO_2 ise monoklinik kristal geometrisine sahiptir (Cargnello et al., 2014). TiO_2 düşük maliyeti, yüksek stabilitesi ile insanlar ve çevre için güvenli olması nedeniyle ideal bir fotokataliz yarı iletkeni olarak kabul edilmektedir. (Gupta and Tripathi, 2011). Son zamanlarda TiO_2 toz, kristal, ince film, nanotip ve nanorot formlarında hazırlanmaktadır. Sentezde genellikle sıvı faz prosesleri tercih edilmektedir. Bu durum sitokiyometrinin kontrolü, homojenitenin sağlanması, kompleks ve kompozit materyallerin şekillenmesi gibi hususlarda avantaj sağlamaktadır (Dawson et al., 2010). TiO_2 NP'ler genel olarak az çözünen ve düşük toksisiteye sahip parçacıklar olarak bilinmektedir (Gupta and Tripathi, 2011). Yeryüzünde bol bulunması, eşsiz fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olması ve yüksek termal ve kimyasal stabilite, onu UV güneşten koruyucularda, kozmetiklerde, tıbbi implantlarda ve sensörlerde en çok kullanılan malzemelerden biri yapmaktadır (Cargnello et al., 2014).

Küçük parçacıklara ve özellik boyutuna (100 nm'nin altında) sahip olan TiO_2 parçacıkları ve yapıları, yüksek UV ışık emilimi ile birlikte yüksek görünür ışık şeffaflığı gösterebilir. Küçük nanoparçacıklar ayrıca yüzeylerinde adsorbe olan organik moleküllerin adsorpsiyon katsayılarını da artırabilir. Ek olarak, TiO_2 nanoparçacıklarının boyutu yanı sıra şeklinin değiştirilmesinin moleküllerin adsorpsiyonunu ve partikül yüzeyindeki elektron transfer olaylarının oranını kuvvetle etkilediği gösterilmiştir; kataliz gibi çeşitli uygulamalar için potansiyel olarak önemli etkileri vardır (Cargnello et al., 2014).

Sonuç olarak, 1–100 nm boyutundaki TiO_2 nanoparçacıkları, çeşitli teknolojik uygulamalar için çok ilgi çekicidir ve nihai malzemeye istenen özellikleri kazandırmak için iyi kontrol edilmiş TiO_2 nanoyapılarının sentezi önemlidir. Parçacık büyüklüğü, şekli ve fazı, nano ölçekli malzemelerin nihai özelliklerini belirlemede kritik öneme sahiptir (Cargnello et al., 2014).

2.6 Heksahidrolupulon (HLP)

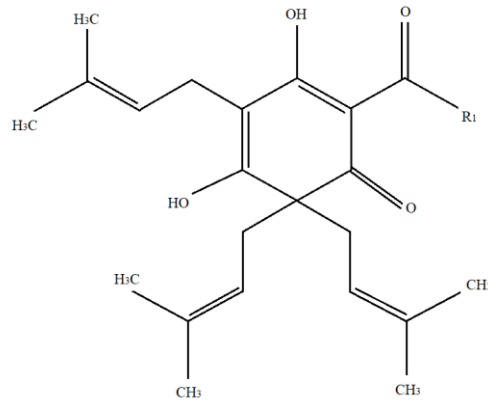
Şerbetçiotu (*Humulus lupulus* L.) ve şerbetçiotu ürünleri temel olarak bira endüstrisinde biraya keskin tat ve aroma vermek için kullanılır. Şerbetçiotu tıp ve gıda alanındaki uygulamaların yanı sıra şerbetçiotu polifenollerinin antioksidan aktivitesinin keşfedilmesi üzerine yapılan bir araştırma da bu alanda

araştırmacıların ilgisini çekmiştir. Şerbetçi otu, flavonoidler, uçucu yağlar ve şerbetçi otu asitleri dahil olmak üzere sağlık üzerinde olumlu etkileri olan yüzlerce değerli bileşen içerir. Bu maddeler nedeniyle, yatıştırıcı, idrar söktürücü etkileri ve antibakteriyel özellikleri vardır. Ayrıca sindirim sistemine, sindirimin hızlandırılmasında yardımcı olur. Bu nedenle, gastrointestinal rahatsızlıkları ve mide rahatsızlığını tedavi etmek için sıklıkla diğer ilaçlarla birlikte kullanılır. Şerbetçiotu, yoğun meyve suyundaki mikrobiyolojik aktiviteyi yavaşlatabilir ve asit oluşumu olmadan süreyi önemli ölçüde uzatarak portakal suyunun depolanmasını sağlar.



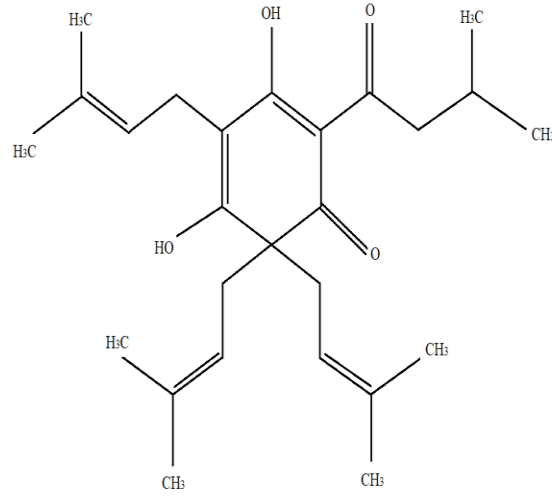
Şekil 2.2 Şerbetçi otu (https://tr.wikipedia.org/wiki/Şerbetçi_otu)

Lupulonlar şerbetçiotu yumuşak reçinelerinin önemli bir bileşenidir ve genellikle şerbetçiotu özütü elde etme işlemi sırasında yan ürünler olarak elde edilirler. Lupulonlar güçlü antibakteriyel aktiviteye sahiptir, fakat stabilitesi kötüdür. Ticari şerbetçiotu çeşitleri, güçlü antibakteriyel aktiviteye sahip ağırlıkça yaklaşık % 3-9 oranında lupulon içerebilir. Ancak, lupulonların bira endüstrisinde bira matrisindeki zayıf çözünürlükleri nedeniyle etkili olmadığı düşünülmektedir (Liu et al., 2019).



Şekil 2.3 Lupulonun açık yapısı (Tyrrell et al., 2012)

Şerbetçi otundan elde edilen lupulonun antiinflamatuvar, antioksidan ve antianjiyogenez aktivitesine yol açtığı bilinmektedir. Ek olarak, lupulonun farklı kanser hücrelerinde antikanser aktivitesini gösterdiği gösterilmiştir. Prostat kanseri, Batı dünyasında kanser ölümlerinin önde gelen nedenlerinden biridir. Cerrahi ve radyoterapi ile birlikte, kemoterapi, tedavi için en faydalı yaklaşımdır; ancak prostat kanseri hücrelerinin mevcut tedavilere dirençli olma eğilimini azaltan yeni antikanser bileşiklerin geliştirilmesi büyük bir zorluktur. Şerbetçiotu kaynaklı lupulonlar doğal bileşiklerdir ve potansiyel olarak daha az toksik yan etkileri olan kemoterapi için uygun adaylar olabilirler. Lupulon türevlerinin (heksahidrolupulon, asetolupufenon, postlupulon, butryolupufenon, kolupulon vb.) kimyasal olarak modifikasyonu, bileşiğin etki ve stabilitesini artırarak lupulondan daha güçlü antikanser potansiyel göstermiştir (Mouratidis et al., 2013).



Şekil 2.4 Lupulonun türevleri a) $R_1 = \text{CH}_3$ asetolupufenon, b) $R_1 = \text{C}_2\text{H}_5$ postlupulon, c) $R_1 = \text{C}_3\text{H}_7$ butryolupufenon, d) $R_1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$ kolupulon (Tyrrell et al., 2012)

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar

3.1.1 Kullanılan Kimyasallar

- Demir(III) Klorür (FeCl_3) (Sigma-Aldrich)
- Titanyum Klorür (TiCl_4) (Sigma-Aldrich)
- Demir(II) Klorür (FeCl_2) (Sigma-Aldrich)
- Serum Fizyolojik (SF) (%0.9 NaCl)
- Sodyum Perteknetat ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$)
- Piridin ($\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$) (Sigma-Aldrich)
- Fosfat tamponu (PBS) (Merck)
- Metanol (CH_3OH) (Merck)
- Etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) (Merck)
- Asetik asit (CH_3COOH) (Merck)
- Aseton ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$) (Merck)
- Sodyum hidroksit (NaOH) (Merck)
- Amonyak (% 25 NH_3) (Merck)
- Hidroklorik Asit (% 37 HCl) (Merck)
- N-Dodecylamine (Sigma-Aldrich)
- Oleik Asit (Sigma-Aldrich)
- Tetraetil ortosilikat (TEOS) (Merck)
- 3-Aminopropil trietoksi silan (APTES) (Sigma-Aldrich)
- Asetonitril (Chromasolve) (Sigma-Aldrich)
- Dietil Eter (Sigma-Aldrich)
- Acylphloroglucinol (Sigma-Aldrich)
- 3,3 Dimethylallyl Bromide (Sigma-Aldrich)
- 1_bromo_3metil_bütan (Sigma-Aldrich)
- Amonyum klorür (NH_4Cl) (Merck)
- Anhidrür Sodyum Sülfat (Sigma-Aldrich)
- 2 4 6 Trihidroksiasetofenon Monohidrür (Sigma-Aldrich)
- NHS (Sigma-Aldrich)
- DTPA
- PC-3 insan prostat (adenokarsinoma) epiteli (American Type Culture Collection, Rockville, MD, ABD)
- RWPE-1 sağlıklı insan prostat epiteli (American Type Culture Collection, Rockville, MD, ABD)
- Min. Essential Medium (Mem Eagle) (Lonza)
- L-Glutamine (Lonza)
- Essential amino acid (Lonza)

- Sodyum pruvat (Lonza)
- Fetal bovine serum (Biowest)
- Penisilin/streptomisin (Lonza)
- Tripan mavisi (Bio.Ind.)
- PBS (Amresco)
- Tripsin EDTA (Lonza)
- Sintilasyon Kokteyli (Sigma-Aldrich)

3.1.2 Kullanılan Cihazlar

- RadyoTLC (Bioscan 2000) (Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı)
- RAD-501 Cd(Te) tek kanallı gamma sayım sistemi (Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı)
- TLC küvetleri (Sigma) (Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı)
- Ultrasonik Homojenizatör (Bandelin, Sonoplus HD 2070) (Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı)
- Ultrasonik Banyo (CEIA CP104 Standard Ultrasonic Cleaner) (Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı)
- Doz Kalibratörü (Biodex AtomLab 100 Plus) (Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı)
- Liyofilizasyon Cihazı (E.Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Bilimler Anabilim Dalı)
- Multimode Mikroplaka Okuyucu (Thermo Varioscans Flash) (Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı)
- Laminar Flow Kabin (Thermo) (Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı)
- CO₂ inkübatörü (Sanyo) (Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı)
- Soğutmalı Santrifüj (Hettich) (Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı)
- Işık mikroskobu (Olympus) (Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı)
- HPLC (Shimadzu SCL-10AVP) (LC-10Atvp quaterner pompalı, SPD-10AV UV dedektörlü) (Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı)
- Floresan ataçmanlı araştırma mikroskobu (Olympus) (Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı)
- Inverted mikroskop (Leica) (Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı)

- Otoklav (Hirayama) (Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı)
- Su banyosu (Memmert) (Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı)
- Packard Tri-corb-1200 sıvı sintilasyon sayacı (Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı)
- DLS (Dynamic Light Scattering) (Malvern Nano-ZS) (Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı)
- Fourier Transform Infrared Spektrofotometre (FT-IR) Cihazı (Perkin-Elmer Spectrum 100 FT-IR) (E.Ü, Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Teknoloji Anabilim Dalı)

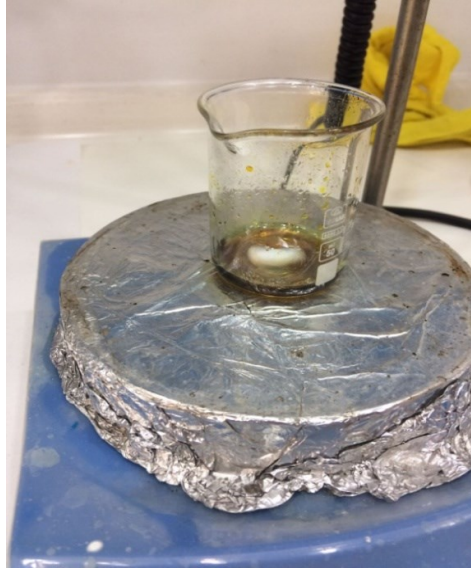
3.2 TiO₂ Nanoparçacık Sentezi

Öncelikle bir behere alınan 2 mL (0.75 g) titanyum klorürün (TiCl₄) üzerine damla damla 10 mL metanol eklenerek oda sıcaklığında çekerocak içerisinde 1 saat karışmaya bırakılmıştır. 1 saatin sonunda çözeltiye 160 mL saf su ve 10 mL dodesilamin eklenmiştir. Dodesilamin eklenmeye başladığı andan itibaren çözelti renginin beyaza döndüğü gözlenmiştir. Ekleme işlemi sonrasında çözeltiden 10 mL alınmış ve çeker ocak içerisinde 1 saat 100°C'de karışmaya bırakılmıştır. Çözeltinin kalan kısmı stok çözelti olarak kullanılacağı için 50 mL'lik bir falkon tüp içerisine alınarak buzdolabında +4°C'de saklanmıştır. Karışma tamamlandıktan sonra aseton ile yıkama işlemi yapılmıştır. 15 mL'lik bir falkon tüpe alınan çözeltinin üzerine 10 mL aseton eklenmiş ve çözelti önce 1 dk 1000 rpm'de vorteksenerek dağıtılmıştır. Daha sonra 5 dk 10000 rpm de çözelti santrifüjlenmiş ve üst faz atılmıştır. Bu yıkama işlemi 3 kez tekrarlanmıştır. Son olarak çözeltinin tamamı (yaklaşık 2 mL) 10 mL oleik asitte 1 dk vorteksenerek dağıtılmış ve çözelti porselen krozeeye konmuştur. Elde edilen bu çözelti fırında 5°C/dk ısıtma hızı ile 250°C'de 2 saat boyunca bekletilmiş ve sonrasında 1°C/dk soğutma hızı ile soğutulmuştur.

Ertesi gün oleik asitin fazlasından kurtulmak için 15 mL'lik falkon tüpe alınan çözeltinin üzerine toplam 5 mL olacak şekilde aseton eklenmiştir. Çözelti 5 dk boyunca 1500 rpm de santrifüjlenmiştir. İşlem 3 kez tekrarlanmıştır. Son olarak elde edilen nanoparçacıklar asetonun içerisinde dağıtılarak depolanmıştır (Ünak vd., 2016).

3.3 Fe₃O₄@TiO₂ Nanoparçacık Sentezi

0.365 g FeCl₃ ve 0.365 g FeCl₂ hassas terazide tartıldıktan sonra 0.75 g titanyum klorür (TiCl₄) ile birlikte bir behere alınmıştır. Üzerine 10 mL metanol damla damla eklenerek oda sıcaklığında çekerocak içerisinde 1 saat karışmaya bırakılmıştır.



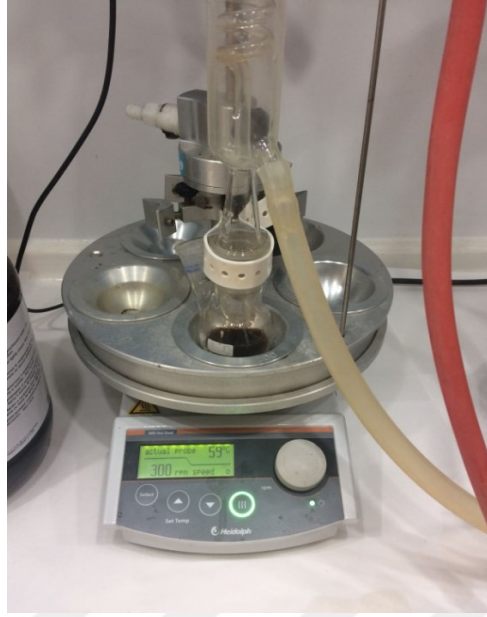
Şekil 3.1 Çözeltinin İnkübasyonu

1 saatin sonunda 80 mL saf su ve 5 mL dodesilamin eklenerek tekrar çeker ocak içerisinde 1 saat 100°C 800 rpm’de karışmaya bırakılmıştır. Karışma işlemi tamamlandıktan sonra çözeltiden bir falkon tüpe 50 mL alınarak stok çözelti olarak saklanmak üzere buzdolabına +4°C’ye konmuştur. Kalan çözelti asetondan 5 mL alınarak yıkanmıştır. 5 dk 10000 rpm’de üst faz atılmış ve bu işlem 3 kez tekrarlanmıştır. Daha sonra çözeltiden 2 mL alınarak 10 mL oleik asit içerisinde dağıtılmıştır. Dağıtılan çözelti fırında 5°C/dk ısıtma hızı ile 250°C’de 2 saat boyunca bekletilmiş ve sonrasında 1°C/dk soğutma hızı ile soğutulmuştur.

Ertesi gün çözelti fırından alınmıştır. Yaklaşık 3 mL çözelti üzerine 10 mL aseton eklenerek 10 dk 10000 rpm’de santrüfjlenmiştir. Birkaç kez tekrarlanan santrüfjleme işlemi sonrası sonrasında çözelti çökmemiştir. Bir beher içerisinde alınan çözelti, ısıtıcı yardımıyla yaklaşık 45°C’de 25 dk bekletilerek, içerisindeki asetonun uzaklaştırılması ile çöktürülmüştür. Tetraetil ortosilikat (TEOS) ile NP’lerin silikalanması işlemine bu şekilde devam edilmiştir.

3.4 Sentezlenen Fe₃O₄@TiO₂ Nanoparçacıkların Silikalanması

Stoktan alınan 500 µL hacimli Fe₃O₄@TiO₂, 10 mL etanolde dağıtılmıştır. Daha sonra sentez ünitesinde geri soğutma altında çözelti üzerine 3 mL stok amonyak ve 2 mL TEOS (tetraetil ortosilikat) eklenmiştir. Çözelti 40°C’de 600 rpm’de 14 saat karışmaya bırakılmıştır. Sonrasında çözelti sentez ünitesinden alınmış ve 5 mL etanol eklenerek yıkanmıştır.



Şekil 3.2 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ Nanoparçacıkların Silikalanması

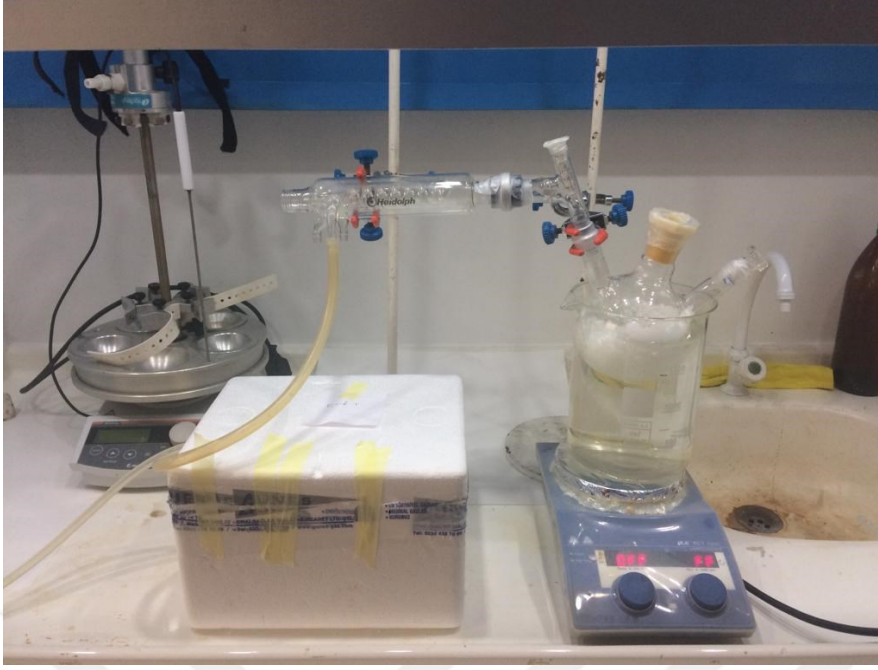
3.5 Silikalanmış $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ Nanoparçacıkların Silanlanması ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si}$)

Öncelikle etanol içerisinde saklanan silikalanmış nanoparçacıkların ağırlığının % 20 si olacak şekilde (yani 5 mL) üzerine 1 mL 3-aminopropil tetraetil silikat (APTES) eklenerek 5 dk boyunca ultrasonik banyoda tutulmuştur. Çözelti iyice çözüldükten sonra $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de gece boyunca (14 saat) sentez ünitesinde karıştırılmıştır.

Karışma işlemi sonrasında nanoparçacıklar metanol ile 5 dk 10000 rpm de yıkanarak etanolde dağıtılmış ve buzdolabında $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir.

3.6 Heksahidrolupulon Sentezi (HLP)

Öncelikle amonyak sentezi için gerekli destilasyon düzeneği kurulmuştur (Şekil 3.3). Destile balonu olarak kullanacağımız balon joje (sağdaki) içerisine 89 g sodyum hidroksit (NaOH) ve 107 g amonyum klorür (NH_4Cl) konarak düzeneğe sabitlenmiştir. Tepkimenin başlaması için gerekli ısı, balon jojenin altına su banyosu ve bir ısıtıcı konarak sağlanmıştır. Düzeneğin diğer ucundaki toplama balonu (soldaki) içerisine ise azot atmosferi altında 162.14 mg. floroglusinol (1,3,5-trihidroksibenzen) ve 15 mL susuz dietil eter eklenmiştir. Toplama balonu içerisine destile edilen amonyanın uçmaması için balon joje $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de kuru buz içerisinde tutularak karıştırılmıştır.



Şekil 3.3 Amonyak destilasyonu ve heksahidrolupolon sentezi

Karışım 15 dk karıştırıldıktan sonra üzerine 4 mol yani 0.479 μL 1-bromo 3-metil bütanın 15 mL susuz dietil eterdeki çözeltisi eklenmiştir. Daha önce sentezlenen susuz dietil eter kullanılmıştır. Sıcaklık 5 saat boyunca -78°C 'de tutulmuştur. Gece boyunca sentez çekerocak içerisinde bırakılarak amonyağın fazlasının uçmasına izin verilmiştir.

Ertesi gün çözeltinin üzerine 5 mL dietil eter eklenerek HCl asit çözeltisi (12 M için 1 mL) ve su ile yıkama işlemine geçilmiştir. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra çözelti bir tüp içerisine alınmış ve üzerine susuz sodyum sülfat eklenerek 1 gün boyunca kurutulmuştur. Deney tüpü parafilmle iyice kapatılarak buzdolabında muhafaza edilmiştir (Tyrrell et al., 2012).

3.7 Silika ve Silanlı $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ Nanoparçacıkların Heksahidrolupulon ile Konjugasyonu ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$)

4 mL Heksahidrolupulon çözeltisi etanolde dağıtılmış olan 10 mL silika ve silanlı $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıkların üzerine eklenmiştir. Son olarak karıştırılan çözelti üzerine 0.080 g N-Hidroksisüksinimid (NHS) eklenerek orbital karıştırıcıda 2 saat boyunca karıştırılmıştır. Karışma işlemi bittikten sonra sentez bir tüp içerisine alınarak parafilmle kapatılmış ve buzdolabında muhafaza edilmiştir (Yasakçı, 2017).

3.8 Asetolupufenon Sentezi (ALP)

Amonyak sentezi için gerekli destilasyon düzeneği kurulduktan sonra destilasyon balonu içerisine hassas terazide tartılarak 89 g sodyum hidroksit (NaOH) ve 107 g amonyum klorür (NH_4Cl) eklenmiştir. Destilasyon balonunda amonyak çıkışının başlaması için balon altına bir su banyosu ve bir ısıtıcı konmuştur. Düzenegın diğer ucundaki toplama balonu içerisine ise 15 mL susuz dietil eter ve 240 mg 2'4'6' trihidroksiasetofenon monohidrür (2-acylphloroglucinol) eklenerek iyice çözündürölmüştür. Reaktantların bulunduğu bu balon reaksiyon balonu kuru buz içinde $-78\text{ }^\circ\text{C}$ 'de tutulmuştur. Çözelti 15 dk karıştıktan sonra 500 μL 1-bromo-3-metil-bütan eklenmiştir. Çekerocak içersindeki sentez ünitesine geçen amonyak çıkışı azaldığındaki (yaklaşık 2 saat sonra) için sürekli NH_3 geçişini sağlamak için bir miktar daha NaOH ve NH_4Cl eklenmiştir. Reaksiyon balonundaki sıcaklık 5 saat boyunca kuru buz içinde $-78\text{ }^\circ\text{C}$ 'de tutulduktan daha sonra sentez ürünü çekerocak içinde bırakılarak amonyağın fazlasının uçmasına izin verilmiştir.

Ertesi gün daha önceden hazırlamış olduğumuz % 10 luk HCl çözeltiden 5mL ve dietil eterden 5mL eklenerek çözelti ayırma hunisinden geçirilmiştir. Böylece çözelti önce HCl çözeltisi ile yıkanmış sonra alttaki yoğun olan asitli faz uzaklaştırılmıştır. Daha sonra ayırma hunisindeki çözelti üzerine 5 mL su eklenerek 1 kez de su ile yıkama işlemi yapılmıştır. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra çözelti bir tüp içerisine alınmış ve üzerine susuz sodyum sülfat eklenerek 1 gün boyunca kurutulmuştur. Deney tüpü parafilmle iyice kapatılarak buzdolabına konmuştur.

3.9 Silika ve Silanlı $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ Nanoparçacıkların Asetolupufenon Sentezi ile Konjugasyonu ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-ALP}$)

2 mL asetolupufenon çözeltisi etanolde dağıtılmış olan 2 mL silika ve silanlı $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıkların üzerine eklenmiştir. En son karıştırılan çözelti üzerine 0.0230 g N-Hidroksisüksinimid (NHS) eklenerek orbital karıştırıcıda 2 saat boyunca karıştırılmıştır. Karışma işlemi bittikten sonra sentez bir deney tüpü içerisine alınarak parafilmle kapatılmış ve buzdolabında muhafaza edilmiştir.

3.10 Sentezlenen $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ Nanoparçacıkların Karakterizasyon Çalışmaları

3.10.1 FTIR ile Yapı Analizi

$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-ALP}$ örneklerinin Perkin-Elmer Spectrum Two IR spektrofotometresi (ATR (Attenuated Total Reflection) ile yapı analizleri gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçları yorumlanarak sentezlenen maddeler literatür bilgileriyle karşılaştırılmıştır.

3.10.2 DLS ile Boyut Analizi

$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıklar, heksahidrolupulon sentezi (HLP) ve heksahidrolupulon ile konjuge edilen silikalı ve silanlı $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$) nanoparçacıkların parçacık boyutu analizi için, 10 μL örnek 590 μL oleik asitte çözümüştür. Silikalı ve silanlı $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıklar ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si}$) parçacık boyutu analizi için, 10 μL örnek 1 mL etanolde çözümüştür. Ardından hazırlanan çözeltilerden 600 μL ölçüm yapılacak küvet içerisine alınmıştır. Analiz, 3 tekrarlı olarak Malvern Nano-ZS DLS (Dynamic Light Scattering) cihazı ile incelenmiştir. Örneklerin her biri 0.45 μm 'lik filtrelerden geçirilmiştir.

3.10.3 SEM ile Yüzey Analizi

Yüzey modifikasyonun belirlenmesi için; öncelikle 1 mg/mL örnek bir ependorf tüp içerisinde % 96'lık etanol ile seyreltilmiştir. Hazırlanan numunenin sonikatörde iyice karışması sağlanmıştır. Karışma tamamlandıktan sonra her örnekten karbon kaplı ızgara (grid) üzerine yüzeyi tamamen kaplayacak şekilde 5 μL damlatılmıştır. Damlatma esnasında kullanılan pipet ucu ızgara yüzeyine değdirilmemelidir. Numuneler tam olarak kuruyana kadar beklenmiş ve analizi yapılmıştır. Analiz, Ege Üniversitesi Merkezi Araştırma Test ve Analiz Laboratuvarı Uyg. Ve Arş Merkezi (MATAL) bünyesinde Thermo Scientific Apreo S yüzey analiz cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

3.10.4 Floresans Spektroskopisi Analizi

TiO_2 nanoparçacıklarının Floresans Spektroskopisi analizi için; 190 μL etanol ve 10 μL çözeltiden alınarak cihazın ölçüm bölgesine konmuştur. Cihaz 190-860 nm arasında uygun dalga boyunu belirlemektedir. Önce spektrum taraması daha sonra floresans taraması yapılmıştır.

$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıklarının ve $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si}$ 'lerinin floresans spektroskopisi analizi için; her iki örnek için de farklı konsantrasyonlarda 2 ayrı

ependorf tüpe 2 ayrı örnek hazırlanmıştır. 1. ependorf tüpe 190 μL etanol ve 10 μL çözelti, 2. ependorf tüpe 199 μL etanol ve 1 μL çözelti konmuştur. Daha sonra hazırlanan 4 ayrı ependorf tüpteki örneklerden pipetle 200 mikrolitre alınarak ölçüm için okuyucuya yerleştirilmiştir. Analiz, Ege Üniversitesi Nükleer Bilimler Enstitüsü'nde Hücre Kültürü Laboratuvarı'nda bulunan Multimode Mikroplaka Okuyucu (Thermo Varioscan Flash) Cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

3.10.5 HPLC Analizi

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) (Shimadzu SCL-10AVP) cihazında Nucleodur 100-5 C18 RP-C18 (250 x 4,6mm I.D.) (Macharey – Nagel) kolon kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir sentez aşamasının karakterizasyonu yapılmıştır. Her bir örnek için 1 mg/1 mL asetonitril olacak şekilde çözelti hazırlanmıştır. Otomatik örnekleyici yardımıyla kolona 10 μL örnek enjekte edilerek analizler yapılmıştır. Analiz koşulları çizelge 3.1'deki gibidir.

Çizelge 3.1 HPLC koşulları

	Koşullar
Mobil Faz (C)	Ultra Saf Su % 40
Mobil Faz (D)	ACN % 60
Akış Hızı	0.7 mL/dk
Sıcaklık	25°C
Enjeksiyon Süresi	30 dk
Dedektör	Photodiode Array Detector (PDA), Floresans Detektör (RF10XL)
Kolon	NUCLEODUR 100 – 5 C18 (250 x 4.6 mm I.D.) Analitik kolon (Macherey - Nagel)
Dalga boyu	Floresans detektör için, Eksitasyon dalga boyu:280 nm Emisyon dalga boyu:320 nm

3.11 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ile Radyoişaretleme

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ ile işaretleme için öncelikle bölüm 3.7 ve 3.8'de hazırlanan $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ ve $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-ALP}$ çözeltilerimiz dietilentriamin pentaasetik asit (DTPA) ile şelatlanmıştır. 0.1 M DTPA çözeltisi hazırlamak için 0.039 g DTPA hassas terazide tartılarak bir ependorf tüp içerisine alınmıştır. Daha sonra üzerine 1 mL saf su ve 50 μL $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ eklenerek 1 saat ultrasonik banyoda tutulmuştur. 10 mg SnCl_2 tartılarak 1 mL 10^{-3} M HCl ile vorteksenerek çözünmesi sağlanmıştır. Hazırlanan DTPA şelatlı çözeltimizden 100 μL alınarak 50 μL SnCl_2 çözeltisi ile karıştırılmıştır. Ayrı bir ependorf tüpe indirgenmiş teknesyum (ind. $^{99\text{m}}\text{Tc}$) olarak kullanmak için 50 μL SnCl_2 alınmış ve

bu iki ependorf tüpe de 98 μL $^{99\text{m}}\text{Tc}$ eklenmiştir. Süspansiyon oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilmiştir. Reaksiyon sonrası radyokimyasal saflık, ince tabaka radyokromatografisi ve yüksek performanslı sıvı radyokromatografisi kalite kontrol yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir. TLC Scanner (Bioscan AR2000) cihazında ölçümler yapılmıştır.

3.12 Radyoişaretli Örneklerin Kalite Kontrol İşlemleri

3.12.1 İnce Sıvı Radyokromatografisi (TLRC)

Bölüm 3.11’de hazırlanan radyoişaretli örneklerin TLRC ile kalite kontrolünde sabit faz olarak selüloz kaplı plastik şeritler 1x10 cm’ lik şeritler halinde kesilmiştir. Hazırlanan şeritlerin başlangıç noktasından 0.5 cm üzerine mikropipet ile (2 μL) örnekler damlatılıp, kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan TLC kağıtları, içerisinde 20 mL serum füzyolojik (SF) ve Piridin-Asetik Asit-Su (3:5:1,5) (PAS) çözeltisi bulunan tanklara yerleştirilmiştir. Çözgen yaklaşık 8-9 cm ilerledikten sonra şeritler çıkarılıp yürüme mesafeleri işaretlenip oda sıcaklığında kurutulmaya bırakılmıştır. Muhtemel kontaminasyonları önlemek amacıyla TLC kâğıtlarının her iki yüzeyi bir bant yardımıyla kaplanmıştır. Radyokromatogramlar Bioscan–AR2000 cihazı ile alınmıştır. Kromatogramlardan yararlanarak $^{99\text{m}}\text{Tc-Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ örneğinin taşındığı R_f değerleri ve işaretleme verimleri belirlenmiştir.

3.12.2 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Shimadzu (LC-10ATvp quaternary pump, autosampler sampler (SIL-20A HT) cihazında $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ile işaretlenen $^{99\text{m}}\text{Tc-Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$, $^{99\text{m}}\text{Tc-Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-ALP}$ örneklerinin analizi yapılmıştır. İşaretli örnekler, Bölüm 3.11’ de anlatıldığı şekilde hazırlanmış ve 30 dakika inkübasyondan sonra otomatik örnekleyici yardımıyla kolona 120 μL enjekte edilerek analizi yapılmıştır. Aynı koşullarda $^{99\text{m}}\text{Tc}$, indirgenmiş $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ve inaktif HLP, ALP örneklerinin analizleri yapılmıştır. Elde edilen kromatogramlar karşılaştırılıp yorumlanmıştır. Inertsil C-18, ODS-3 4.6x250 mm, GL Sciences Inc. 5 μm kolon, UV ve AD2 dedektörleri kullanılmıştır. Mobil faz için ACN % 8, TFA-H₂O % 0.15 çözeltisi hazırlanmıştır. Akış hızı 1mL/min, dalga boyları 280 nm-320 nm ve sıcaklık 26°C’dir. Analiz koşulları Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2 Radyoişaretli örnekler için HPLC koşulları

	Koşullar
Kolon	Inertsil C-18, ODS-3 4.6x250 mm, GL Sciences Inc.
Mobil Faz	ACN %8, TFA-H ₂ O %0.15
Akış Hızı	1mL/dk
Dedektör	UV, AD2 dedektörü
Sıcaklık	26°C
Enjeksiyon Süresi	30 dk
Enjeksiyon Hacmi	120 µL
Basınç	60 bar

3.12.3 Lipofilite

^{99m}Tc ile işaretli Fe₃O₄@TiO₂-Si-HLP, Fe₃O₄@TiO₂-Si-ALP örneklerinin lipofilite tayini n-oktanol/su sisteminde gerçekleştirilmiştir. 300 µL n-oktanol, 300 µL ultra saf su bulunan tüpe 150 µL işaretli örnek eklenmiş ve 5 dakika oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra 2500 rpm’de 15 dakika santrifüj işlemi uygulanmıştır. Santrifüj sonrasında alt faz (su) ve üst fazdan (oktanol) 100 µL ayrı ependorf tüplere alınıp aktiviteleri Cd(Te) dedektörlü RAD501 tek kanallı sayıcıda sayılmıştır. N-oktanol’ün su’ya oranı ile log P (log (n- oktanol/su)) değerleri hesaplanmıştır. Bu işlem her bir örnek için 3 kez tekrar edilmiştir.

3.12.4 Stabilite

Bu çalışma ^{99m}Tc ile işaretli Fe₃O₄@TiO₂-Si-HLP, Fe₃O₄@TiO₂-Si-ALP örneklerinin stabilitesini tespit etmek amacıyla yapılmıştır. Bölüm 3.11’de anlatıldığı şekilde işaretlenen örnekler 0, 60, 120, 240 ve 360. Dakikalarda radyo işaretli örneklerin işaretleme verimi SF (20 mL) banyo çözeltisi kullanılarak ince tabaka kromatografisi (TLRC) ile tespit edilmiştir.

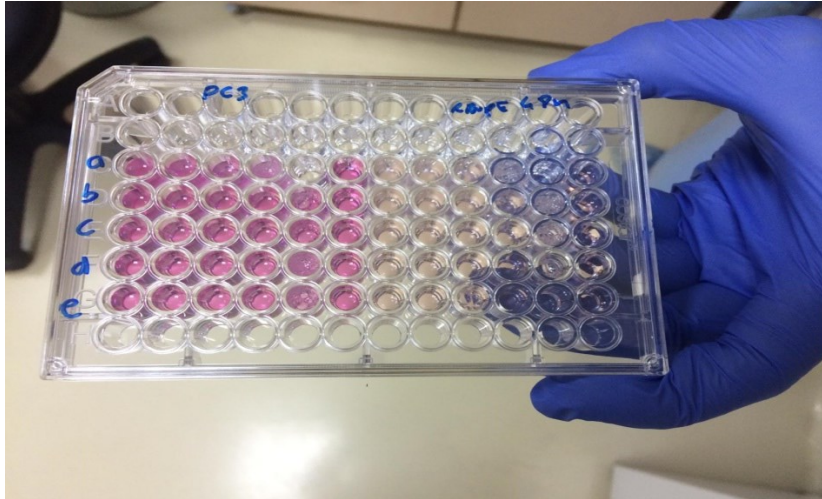
3.13 Hücre Kültürü Çalışmaları

3.13.1 RWPE-1 ve PC-3 Hücrelerinin Hazırlanması

Bu çalışmada kullanılan sağlıklı prostat (RWPE-1) ve insan prostat kanser (adenokarsinoma) hücreleri (PC-3) American Type Culture Collection'dan (Rockville, MD, ABD) temin edilmiştir. PC-3 hücreleri için % 10 fetal bovine serumu (% 10 FBS), % 1 L-glutamin, % 1 penisilin streptomisin, % 1 sodyum prüvat, % 1 nonesansiyel aminoasit içeren Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) besiyeri kullanılmıştır. RWPE-1 hücreleri için Roswell Park Memorial Institute 1640 (RPMI 1640) besiyeri kullanılmıştır. Tüm hücreler, flaskları % 80 kaplayacak kadar üretildikten sonra çalışma grupları oluşturulmuştur.

3.13.2 Sitotoksosite Çalışması

Sitotoksosite testleri WST metodu ile yapılmıştır. Öncelikle sitotoksosite çalışması için yeterli popülasyona ulaşan hücreler Tripsin-EDTA enzimatik reaksiyonu sonucunda flask yüzeyinden kaldırılmıştır. Daha sonra hücre süspansiyonu, 96 kuyucuklu mikrotelaterde her bir kuyucuğa 2×10^6 hücre/mL olarak hazırlanmıştır. Her bir kuyucuğa 100 μ L hücre süspansiyonu ve kontrol dışındaki kuyucuklara 5 farklı konsantrasyonda (100 μ g/mL, 50 μ g/mL, 25 μ g/mL, 10 μ g/mL, 5 μ g/mL) $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ -etanol çözeltisi eklenmiştir.



Şekil 3.4 Sitotoksosite çalışması için hazırlanan 96'lık plate

Hücreler 37 °C, % 5 CO_2 ortamında 24, 48 ve 72. saate kadar inkübe edilmiştir. İşlem sonunda besiyer içeren üst faz atılmış ve her kuyucuğa 100 μ L besiyer, 10 μ L WST solüsyonu eklenmiştir. 4 saat inkübe edildikten sonra 450 nm dalga boyunda ve 690 nm referans aralığında her bir kuyucuğun absorbans değeri (OD), spektrofotometre kullanılarak okunmuştur. Aşağıdaki formülden öncelikli

her kuyucuğun net absorbans değeri bulunmuş, bu değerler kullanılarak % canlılık hesaplanmıştır.

Her kuyucuğa ait Nod = od 450nm – od 690nm

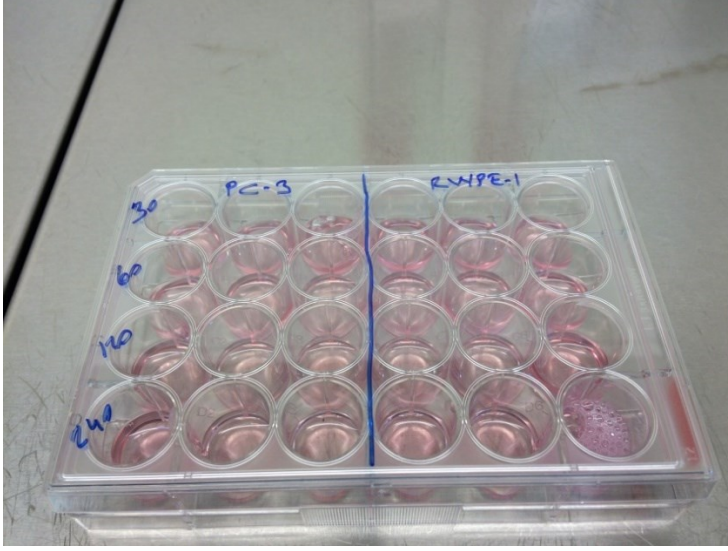
% Canlılık = [Örneğin bulunduğu kuyuların Nod $\times$ 100]/ Kontrol kuyularının Nod

3.13.3 İnkorporasyon Çalışması

$^{99m}\text{Tc-Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ örneğinin sağlıklı ve kanser prostat (RWPE-1 ve PC-3) hücreleri üzerindeki bağlanma düzeylerini belirlemek amacıyla RWPE-1 ve PC-3 hücrelerinin ekimi yapılmıştır. Hücrelerin yeteri kadar çoğalmasından sonra hücreler 24'lük plakaya alınmıştır. Çalışmada incelenecek zaman parametreleri 1. saat, 2. saat, 4. saat ve 6. saat olarak belirlenmiştir.

Kuyu başına 500 $\mu\text{g/ mL}$ $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ çözeltisi kullanılacağı için toplamda 12000 $\mu\text{g/ mL}$ çözelti kullanılmıştır. Madde miktarı üzerinden yapılan hesaplamada 24 kuyu için kullanılan toplam çözelti hacmi ise 500 μL alınmıştır. 500 μL $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ çözeltisi bir ependorf tüpe alınarak inkorporasyon çalışması için aktivitesi 2 mCi olacak şekilde ^{99m}Tc ile işaretlenmiş ve 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İşaretli örnekler 13 mL besiyer ile ^{99m}Tc ise 4 mL besiyer ile karıştırılmıştır.

Kuyucuklardaki ölü hücreleri uzaklaştırmak için öncelikle kuyucuklar üzerindeki besiyerler uzaklaştırılmıştır. İşlem sonrasında her bir kuyucuk fosfat tampon çözeltisi (PBS) ile 2'şer kez yıkanmıştır. Son yıkamanın ardından her bir kuyucuğa 0.5 mL ^{99m}Tc işaretli örnekleri içeren besiyerler ilave edilip, 37 °C'de inkübe edilmiştir. Bileşiğin etkisini incelemek amacıyla, aynı prosedür sadece ^{99m}Tc kullanılarak da gerçekleştirilmiş ve elde edilen veriler ^{99m}Tc kontrol grubu ile değerlendirilmiştir. 30. dk dolduğunda sadece 1. Sıradaki besiyerler uzaklaştırılarak 500 μL PBS ile yıkanmıştır. Sadece 1. sıranın Cd(Te) dedektörlü RAD501 tek kanallı sayıcıda başlangıç (A_0) ve son (A_1) aktivitelerinin sayımı alınmıştır. 60, 120 ve 240. dakikalar geldiğinde sırayla aynı işlemler tekrarlanmıştır.

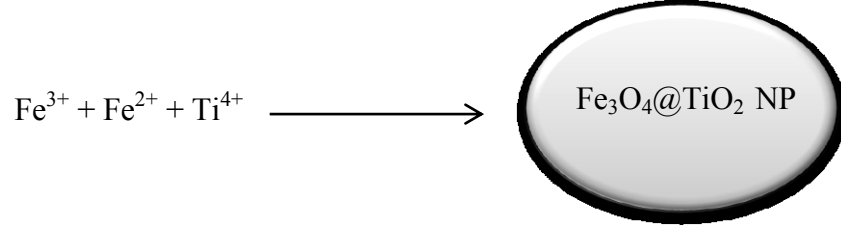


Şekil 3.5 PC-3 ve RWPE-1 hücrelerinin inkorporasyon deneyinde 24' lük plate gösterimi

4. BULGULAR

4.1 Sentez Mekanizmaları

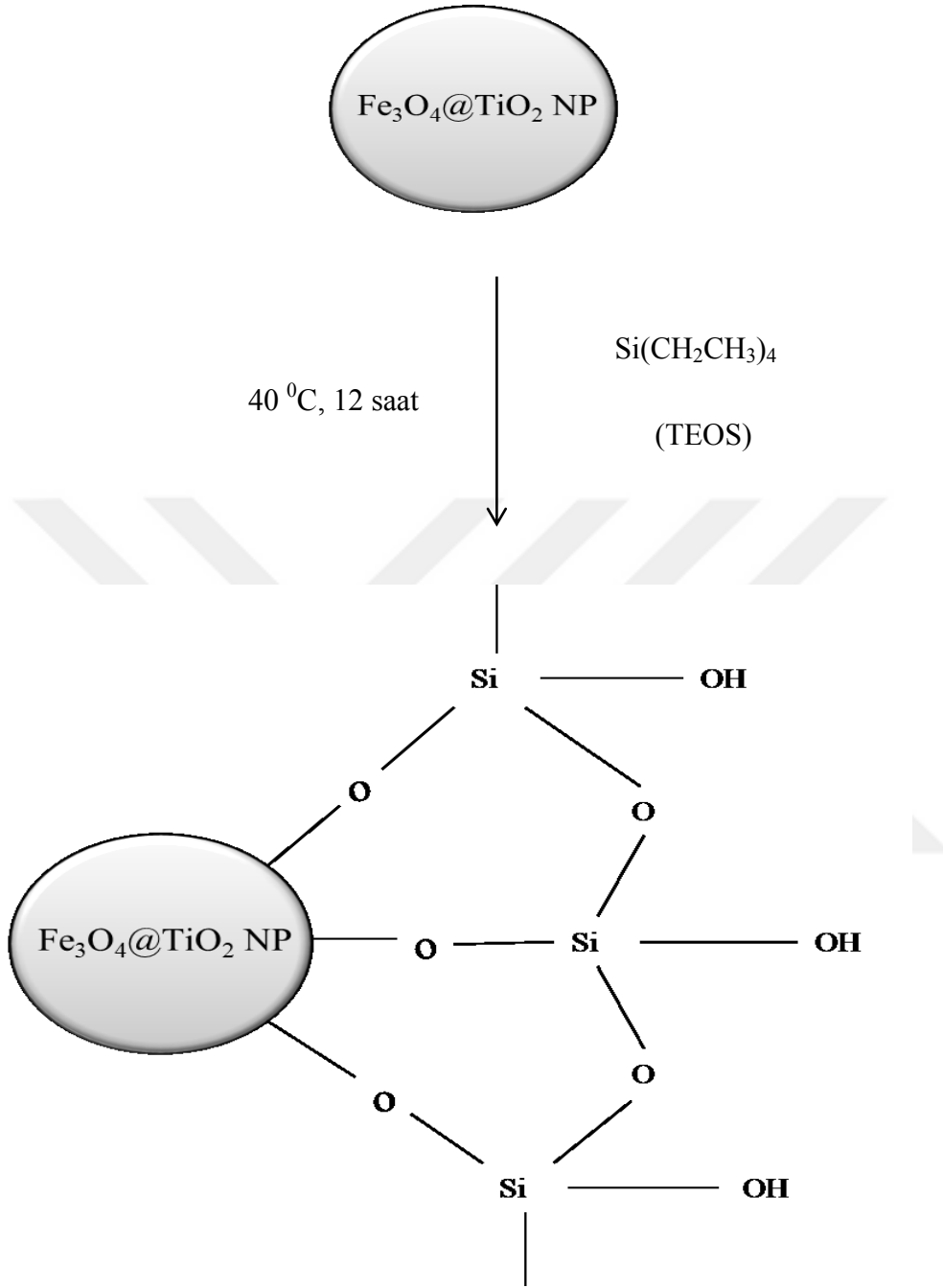
4.1.1 Fe₃O₄@TiO₂ Nanoparçacık Sentezi



Şekil 4.1 Fe₃O₄@TiO₂ nanoparçacık sentezi

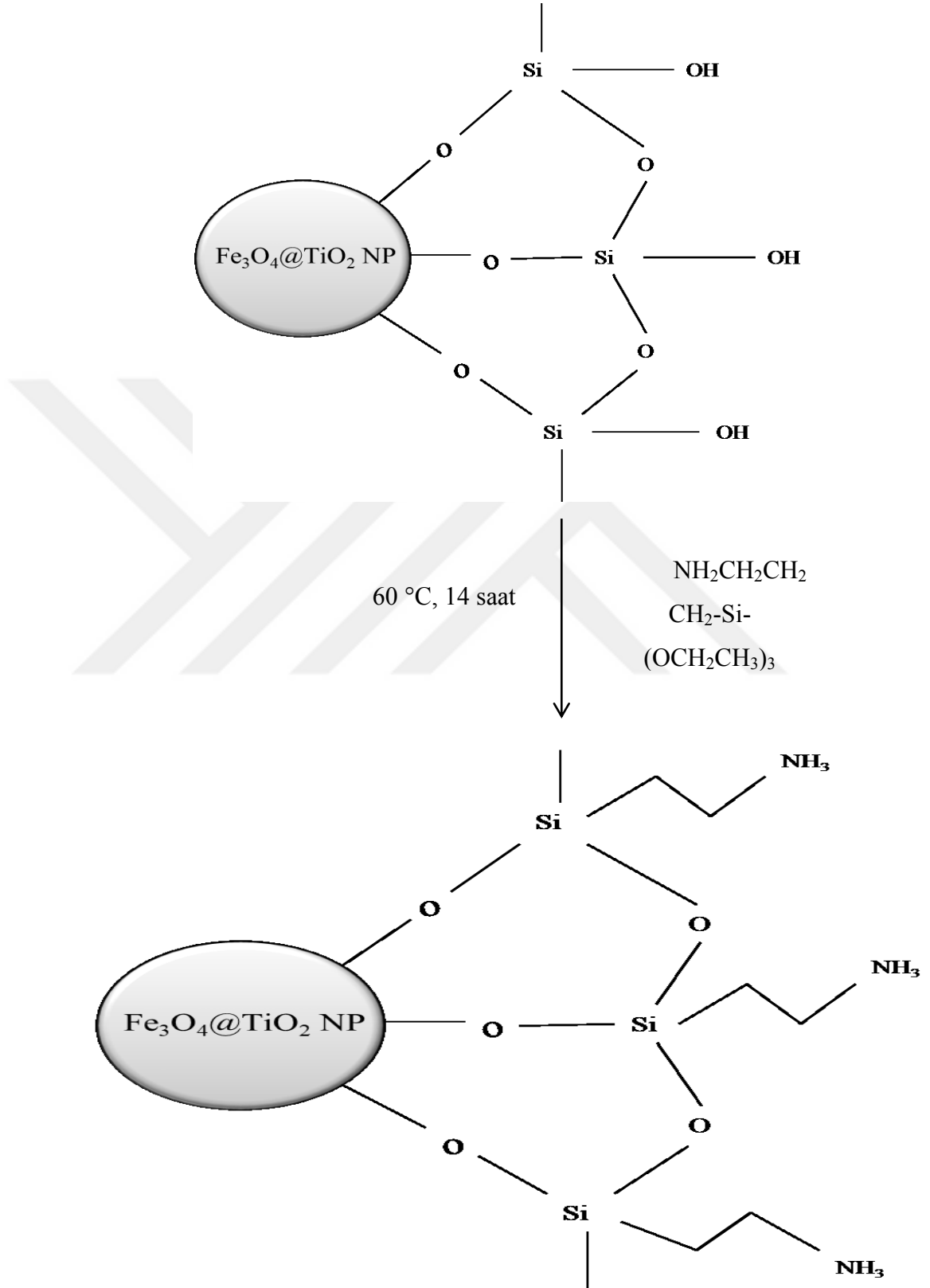
Fe₃O₄@TiO₂ nanoparçacıklar verilen Şekil 4.1’de mekanizmayla ile sentezlenmiştir. Deneysel bölümde açıklandığı gibi ilk olarak, Fe₃O₄@TiO₂ nanoparçacıkları, birlikte çökeltme metodu ile sentezlenmiştir. Daha sonra yüzey modifikasyonu tetraetil ortosilikat (TEOS) ve 3-aminopropil-trietoksisilan (APTES) ile kaplanarak gerçekleştirilmiştir. Son olarak fonksiyonlanmış Fe₃O₄@TiO₂ nanoparçacıklar lupulon türevleri ile konjuge edilerek radyoişaretleme için DTPA ile şelatlanmıştır.

4.1.2 Fe₃O₄@TiO₂ Nanoparçacıkların TEOS ile Kaplanması



Şekil 4.2 Fe₃O₄@TiO₂ nanoparçacıkların TEOS ile fonksiyonlaştırılması

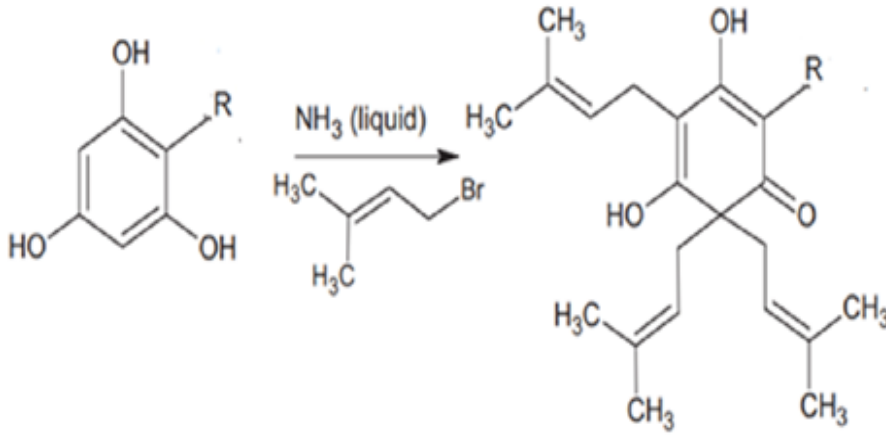
4.1.3 Silikalı $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ Nanoparçacıkların APTES ile Kaplanması



Şekil 4.3 Silikalı $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıkların APTES ile fonksiyonlaştırılması

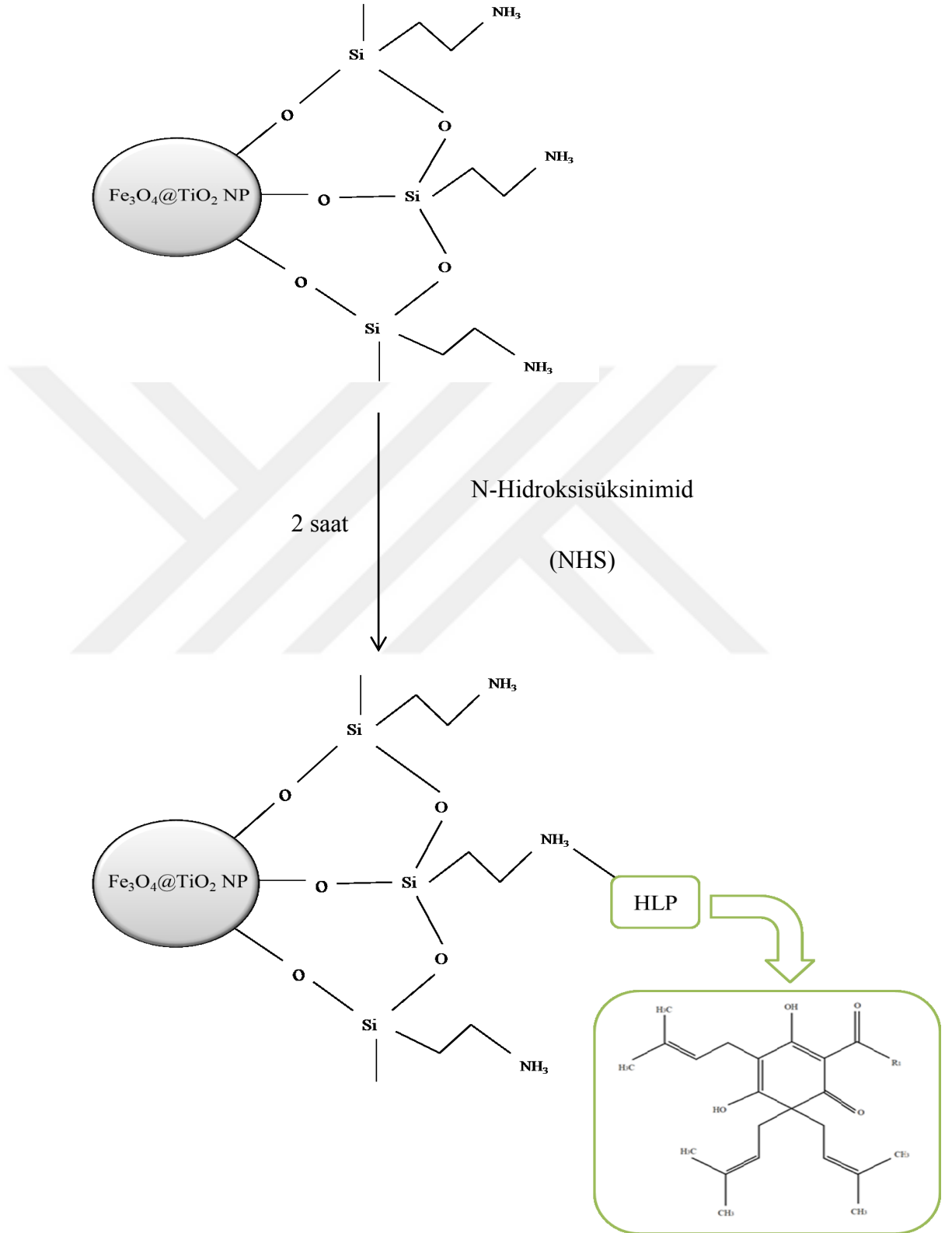
4.1.4 Heksahidrolupulon ve Asetolupufenon Sentezi

Heksahidrolupulon (HLP) ve asetolupufenon (ALP) sentez reaksiyonları Tyrrell ve grubunun yöntemine göre yapılmıştır (Tyrrell et al., 2012). Şerbetçi otundan (*Humulus lupulus* L.) türetilen β asitleri, lupulonlar olarak sınıflandırılan polifenollerdir. Antibakteriyal ve antikanser özellikleri ile ilgili az sayıda yayın bulunan bu doğal ürünlerin kimyasal sentezinin gerçekleşmesi ile farklı türevlerin de sentezlenmesi ile farklı antikanser aktivitesi daha iyi olan türevlerin de sentezi mümkün olabileceğinden bu çalışmada kimyasal sentez ile iki türevin sentezi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4. 4 Heksahidrolupulon ve asetolupufenon sentez reaksiyonu mekanizması a) R=H heksahidrolupulon, b) R= CH₃ asetolupufenon

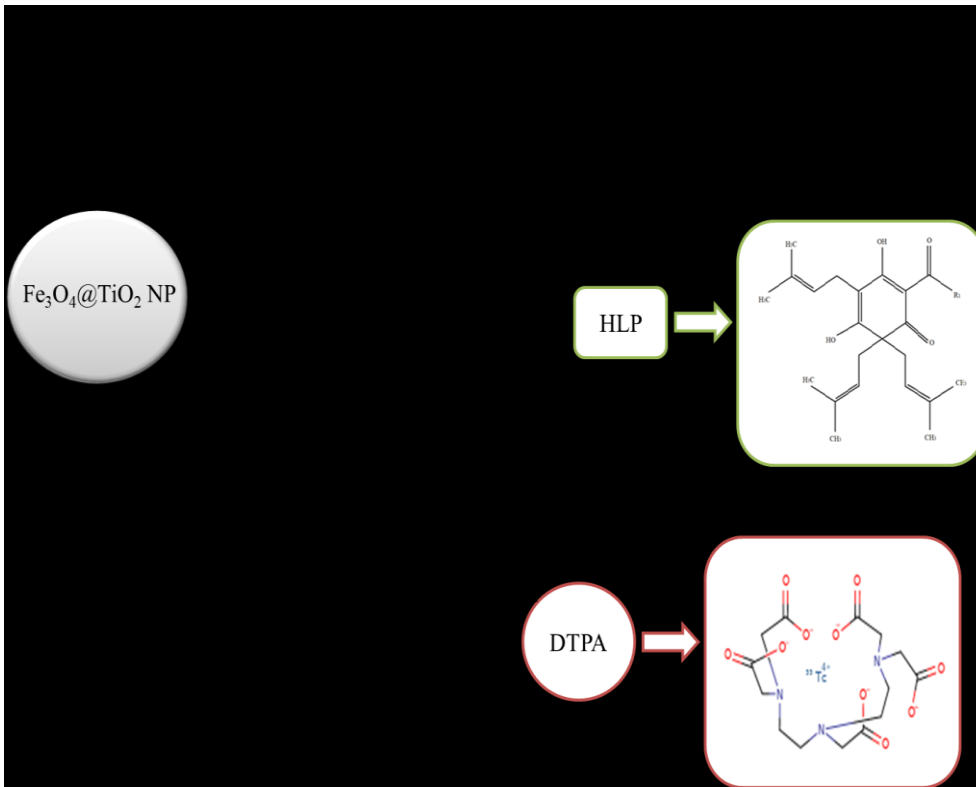
4.1.5 Silikalı ve Silanlı $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ Nanoparçacıkların Heksahidrolupulon ile Konjugasyonu



Şekil 4.5 Silikalı ve silanlı $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıkların heksahidrolupulon ile konjugasyonu

Sentezi yapılan lupulon türevlerine (HLP ve ALP) teranostik özellik kazandırmak için de yine sentezi yapılan $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıkların N-Hidroksisüksinimid (NHS) kimyası ile konjugasyonu yapılmıştır. Şekil 4.5 silikalı ve silanlı $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıkların heksahidrolupulon ile konjugasyon mekanizmasını göstermektedir. Asetolupufenon konjugasyon mekanizması da heksahidrolupulonlar ile aynı şekilde $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıklar ve N-Hidroksisüksinimid (NHS) kimyası ile konjuge edilerek gerçekleştirilmiştir.

4.1.6 Heksahidrolupulon ile Konjuge Edilen $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ Nanoparçacıkların DTPA ile Şelatlanması



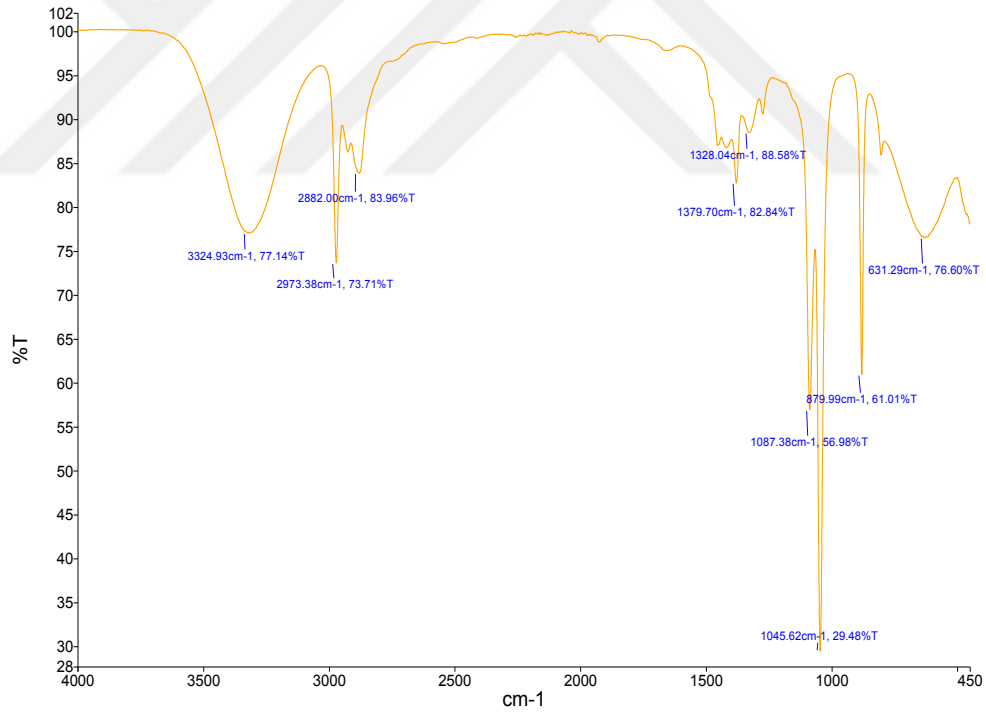
Şekil 4.6 Heksahidrolupulon ile konjuge edilen $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıkların DTPA ile şelatlanması

DTPA'nın yapısında bulunan serbest (COOH) gruplarının ve NH_2 uçlu amin içeren nanoparçacıklarımızla doğrudan konjugasyonla kolayca DTPA amid bağı oluşturularak bağlanabilmiştir. Böylece $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ile koordinasyon kimyası ile kompleks yapan bir şelatlayıcı yapıya sokulmuştur. Şelatlama ve $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 'in yapıya bağlanması tek basamakta yapılmıştır.

4.2 Sentezlenen $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ Nanoparçacık ve Türevlerinin Karakterizasyonuna İlişkin Bulgular

4.2.1 FTIR Yapı Analizi Sonuçları

Şekil 4.7 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si}$ nanoparçacıklarının FTIR spektrumunu göstermektedir. 3324 cm^{-1} 'de görülen geniş band O-H ve N-H titreşim bandını göstermektedir (Niu et al., 2014; Vinosel et al., 2017). 2973 cm^{-1} 'de nanoparçacıklar ile koordine H-O-H un titreşim bandı aralığıdır. 1379 cm^{-1} - 1390 cm^{-1} civarında ve 585 cm^{-1} spektrum Fe-O gerilmesine ilişkin zayıf bantları göstermektedir (Quy et al., 2013). $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıklarının FTIR spektrumunda 631 cm^{-1} de görülen kuvvetli band Ti-O bağına ilişkin gerilme titreşimlerini göstermektedir. Hidroksil grubuyla sarılı Fe_3O_4 yüzeyleri Fe_3O_4 ve TiO_2 nanoparçacıkları arasındaki afiniteyi arttırmaktadır. 1045 cm^{-1} , 879 cm^{-1} ve 631 cm^{-1} 'de görülen silika nanoparçacıklarının (Si-O-Si) gerilmelerine alt olan piklerdir.

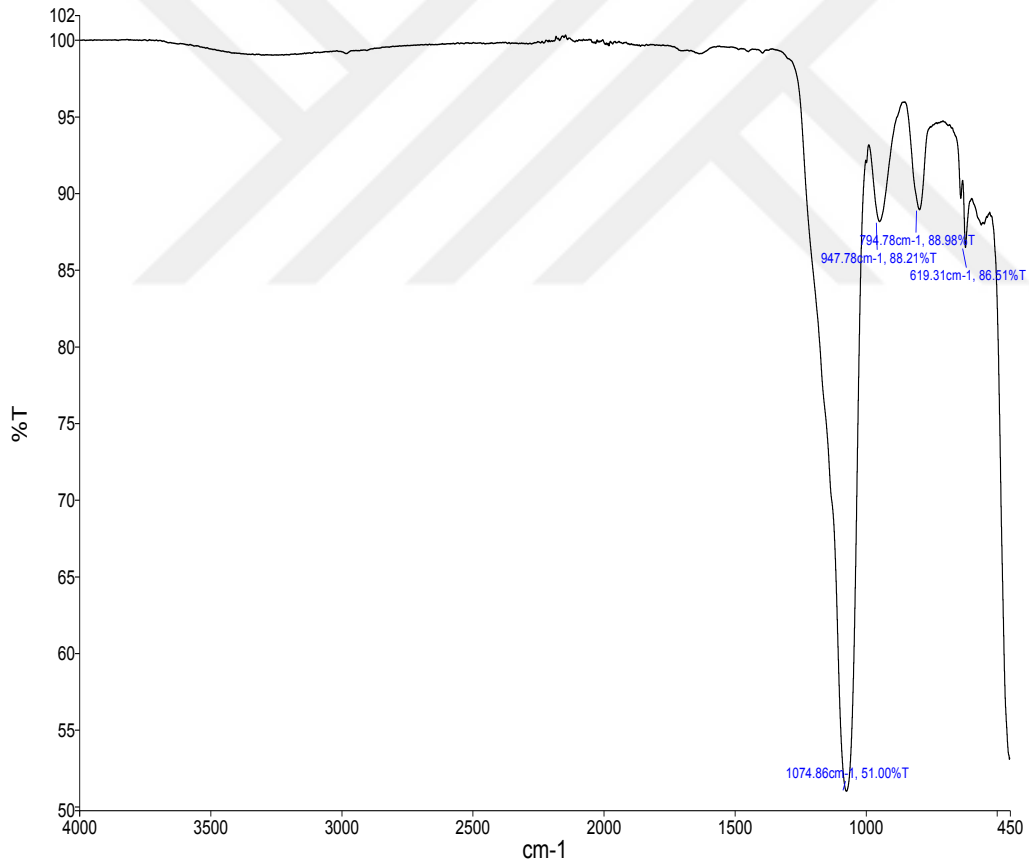


Şekil 4.7 Silanlı ve silikalı $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si}$ nanoparçacıkların FTIR spektrumu

Çizelge 4.1 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si}$ 'nin dalga sayısına göre tahmin edilen eğilme ve gerilme pikleri

IR Bandı	Özellikler
3324 cm^{-1}	O-H, N-H
2973 cm^{-1}	H-O-H
1390 cm^{-1}	Fe-O
1087 cm^{-1}	Fe-O-Si
1045 cm^{-1}	Si-O-Si
879 cm^{-1}	Si-O
733 cm^{-1}	N-H
631 cm^{-1}	Ti-O
585 cm^{-1}	Fe-O

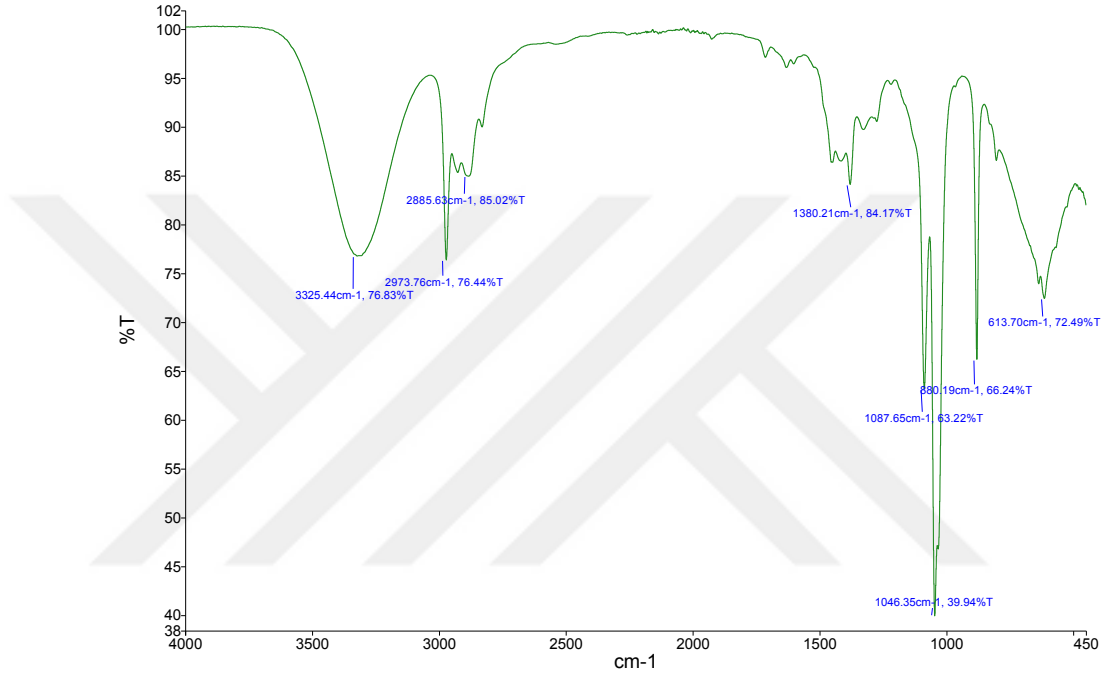
Şekil 4.8 ve Çizelge 4.2 heksahidrolupulon ile konjuge edilen silikalı ve silanlı $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıkların ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$) FTIR yapı analizi sonuçlarını göstermektedir. Silan konsantrasyonunun yoğun olması ve silan piklerinin baskın olması nedeniyle spektrumda daha çok Si-O gerilmelerine ilişkin pikler görülmüştür.



Şekil 4.8 Heksahidrolupulon ile konjuge edilen silikalı ve silanlı ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$) nanoparçacıkların FTIR spektrumu

Çizelge 4.2 Heksahidrolupulon ile konjuge edilen silikalı ve silanlı ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$) nanoparçacıkların dalga sayısına göre tahmin edilen eğilme ve gerilme pikleri

IR Bandı	Özellikler
1074 cm^{-1}	Fe-O-Si
947 cm^{-1}	Si-O -Si
794 cm^{-1}	Si-O
619 cm^{-1}	Ti-O
585 cm^{-1}	Fe-O



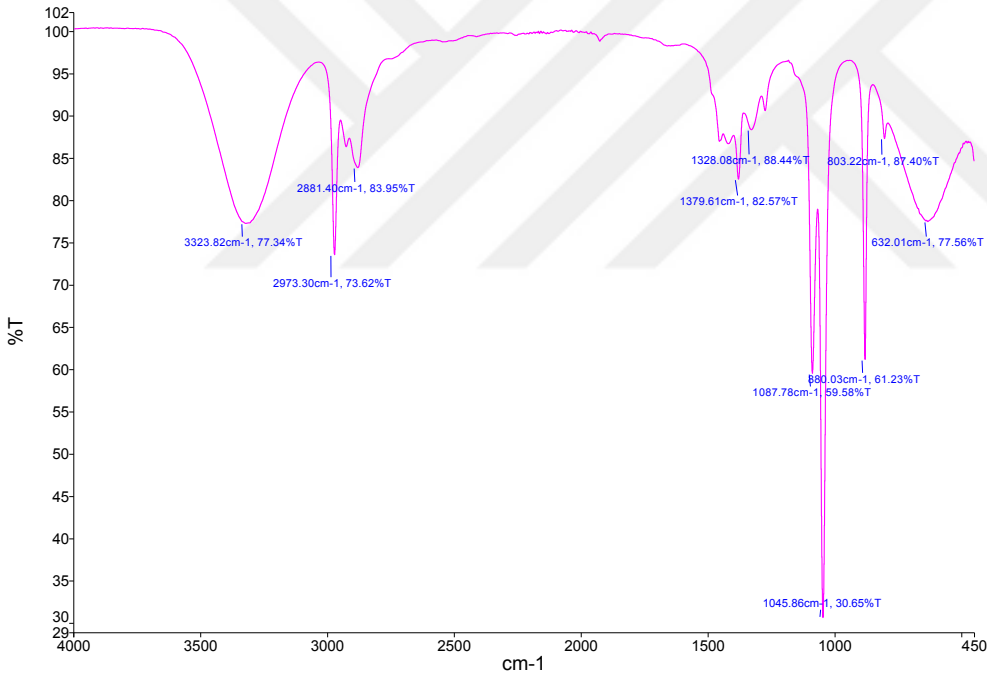
Şekil 4.9 Asetolupufenon ile konjuge edilen silikalı ve silanlı ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-ALP}$) nanoparçacıkların FTIR spektrumu

Çizelge 4.3 Asetolupufenon ile konjuge edilen silikalı ve silanlı $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-ALP}$ nanoparçacıkların dalga sayısına göre tahmin edilen eğilme ve gerilme pikleri

IR Bandı	Özellikler
3325 cm^{-1}	O-H, N-H
2973 cm^{-1}	H-O-H
2865 cm^{-1}	C-H
1380 cm^{-1}	Fe-O
1087 cm^{-1}	Fe-O-Si
1045 cm^{-1}	Si-O -Si
880 cm^{-1}	Si-O
613 cm^{-1}	Ti-O
585 cm^{-1}	Fe-O

Şekil 4.9 asetolupufenon ile konjuge edilen silikalı ve silanlı ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-ALP}$) nanoparçacıkların FTIR Spektrumunu göstermektedir. Çizelge 4.3

titreşim frekanslarını vermektedir. IR spektrumunda, 1480-1650 cm^{-1} aralığında, C=C ve C=O gerilme titreşimlerinden kaynaklanan bantları gösterir. 2845-2975 cm^{-1} aralığında kuvvetli pikler molekül içi C=C simetrik veya asimetrik germe titreşimleri ve C=C germe titreşimlerini 1376 cm^{-1} ve 1460 cm^{-1} 'de C-H bağlarını göstermektedir. 3738 cm^{-1} , 3188 cm^{-1} ve 1302 cm^{-1} 'de gözlenen bantlar, O-H germe ve karışma titreşimlerine karşılık gelir. Liu ve grubunun hexahydrocolupulonlar için verdiği spektumlar için uyumludur (Liu et al., 2019). 3324 cm^{-1} de görülen geniş band O-H ve N-H titreşim bandını göstermektedir (Niu et al., 2014, Vinosel et al., 2017). 2973 cm^{-1} de de nanoparçacıklar ile koordine H-O-H un titreşim bandı aralığıdır. 1379 cm^{-1} -1390 cm^{-1} civarında ve 585 cm^{-1} spektrum Fe-O gerilmesine ilişkin zayıf bantları göstermektedir (Quy et al., 2013). $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıklarının FTIR spektrumunda 631 cm^{-1} de görülen kuvvetli band Ti-O bağına ilişkin gerilme titreşimlerini göstermektedir. Hidroksil grubuyla sarılı Fe_3O_4 yüzeyleri Fe_3O_4 ve TiO_2 nanoparçacıkları arasındaki afinitiyi arttırmaktadır. 1066 cm^{-1} , 951 cm^{-1} ve 793 cm^{-1} 'de görülen silica nanoparçacıklarının (Si-O-Si) gerilmelerine ait olan piklerdir.

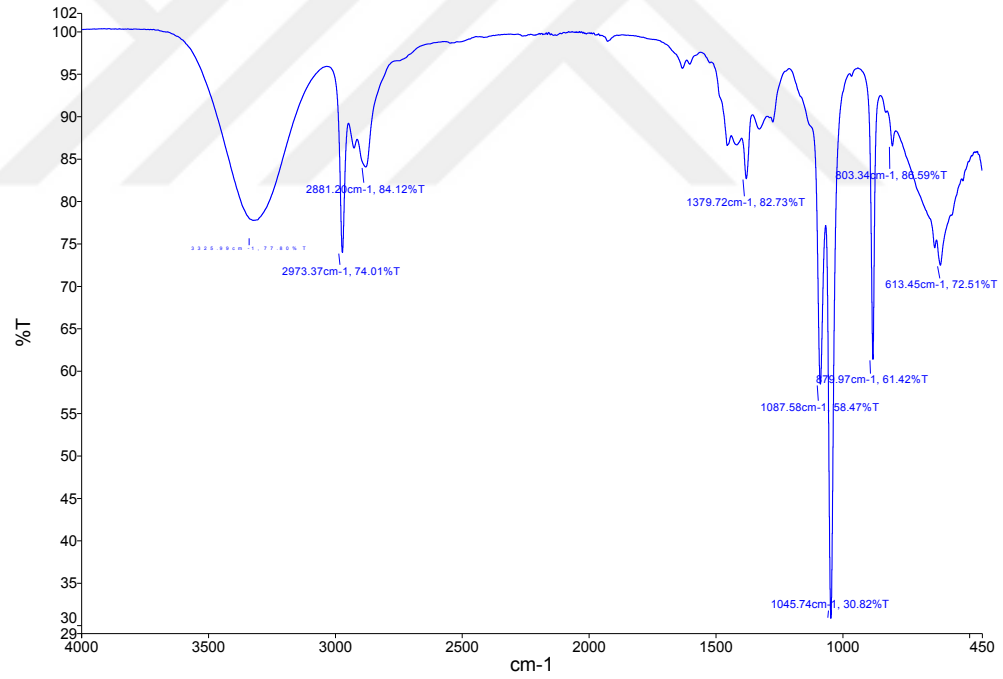


Şekil 4.10 Heksahidrolupulon sentezi FTIR Spektrumu

Çizelge 4.4 Heksahidrolupulon sentezi FTIR spektrumunda görülen dalga sayısına göre tahmin edilen eğilme ve gerilmeleri

IR Bandı	Özellikler
3323 cm^{-1}	O-H
2973 cm^{-1}	CH_2 , C=C
2881 cm^{-1}	C-H
1580 cm^{-1}	C=O
1379 cm^{-1}	C-H
1045 cm^{-1}	C-OH
1513 cm^{-1}	C=O

Şekil 4.10 heksahidrolupulon sentezinin FTIR spektrumunu göstermektedir. IR spektrumunda, 1580 cm^{-1} civarında altı üyeli konjuge halkanın C=C ve C=O gerilme titreşimlerinden kaynaklanan IR bantlarını gösterir. 2845-2975 cm^{-1} aralığında kuvvetli üçlü pik metilen molekül içi metilen (CH_2) için simetrik veya asimetrik germe titreşimleri ve C=C germe titreşimleri vermektedir. 1379 cm^{-1} C-H bağlarını gösterir. 3323 cm^{-1} , 2973 cm^{-1} ve 1302 cm^{-1} 'de gözlenen bantlar, O-H titreşimlerine karşılık gelir (Liu et al., 2019).



Şekil 4.11 Asetolupufenon sentezi FTIR spektrumu

Çizelge 4.5 Asetolupufenon sentezi FTIR spektrumunda görülen karakteristk pikler

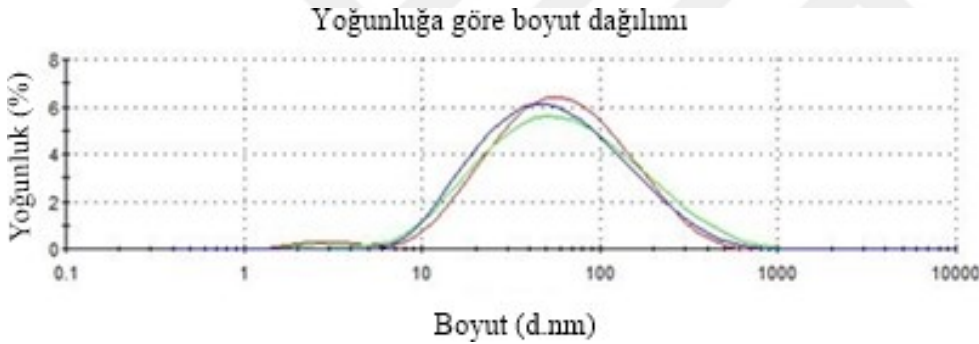
IR Bandı	Özellikler
3323 cm^{-1}	O-H
2973 cm^{-1}	CH_2 , C=C
2881 cm^{-1}	C-H
1580 cm^{-1}	C=O
1379 cm^{-1}	C-H
1045 cm^{-1}	C-OH

1513 cm^{-1}	C=O
-----------------------	-----

Şekil 4.11 sentezi yapılan asetolupufenonun FTIR spektrumunu göstermektedir. IR spektrumunda, 1580 cm^{-1} civarında altı üyeli konjuge halkanın C=C ve C=O gerilme titreşimlerinden kaynaklanan IR bantlarını gösterir. 2845-2975 cm^{-1} aralığında kuvvetli üçlü pik metilen molekül içi metilen (CH_2) için simetrik veya asimetrik germe titreşimleri ve C=C germe titreşimleri vermektedir. 1379 cm^{-1} C-H bağlarını gösterir. 3323 cm^{-1} , 2973 cm^{-1} ve 1302 cm^{-1} 'de gözlenen bantlar, O-H titreşimlerine karşılık gelir (Liu et al., 2019).

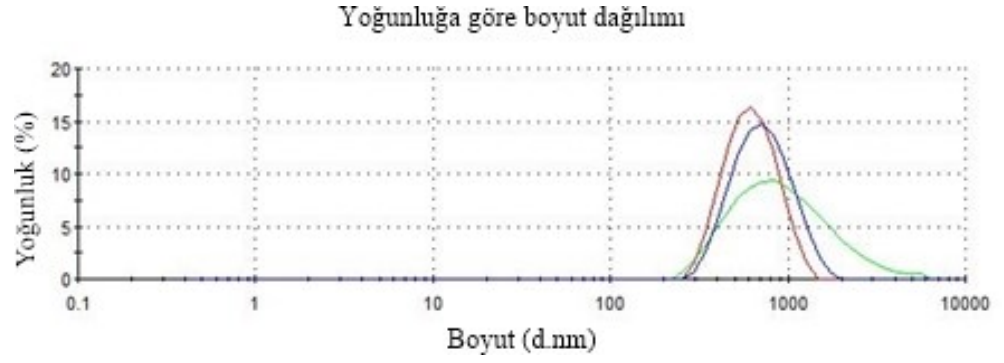
4.2.2 DLS Boyut Analizi Sonuçları

Sentezlenen $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacık ve türevlerinin parçacık boyutu Ege Üniversitesi Nükleer Bilimler Enstitüsü Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı'nda Malvern Nano-ZS DLS (Dynamic Light Scattering) cihazı analizi ile incelenmiştir. Bulunan çaplar parçacığın etrafındaki çözgen molekülleri ile birlikte olduğundan değerler bize hidrodinamik çapı vermektedir.



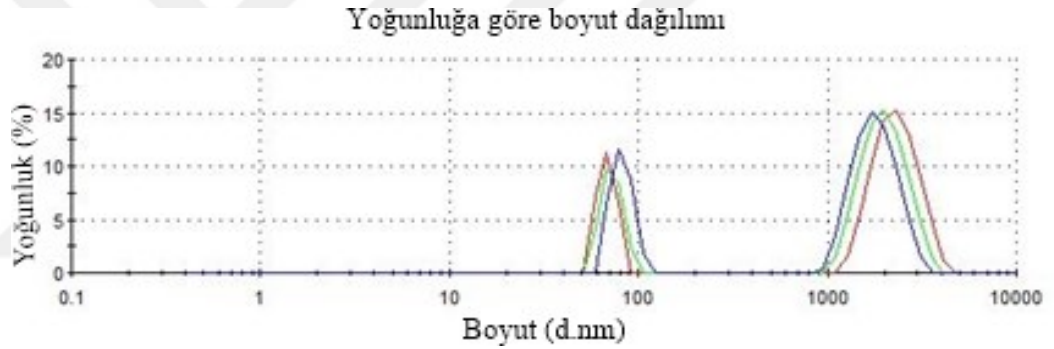
Şekil 4.12 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıkların DLS analiz sonuçları

Bölüm 3.3'de sentezlenen $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıklarının DLS tekniği ile ölçümü sonucunda elde edilen boyut dağılım grafiği şekil 4.12'de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre oleik asitte dağılmış olan $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıklarının hidrodinamik çapı 38.64 nm ve polidispersite indeksi de 0,410 olarak kaydedilmiştir.



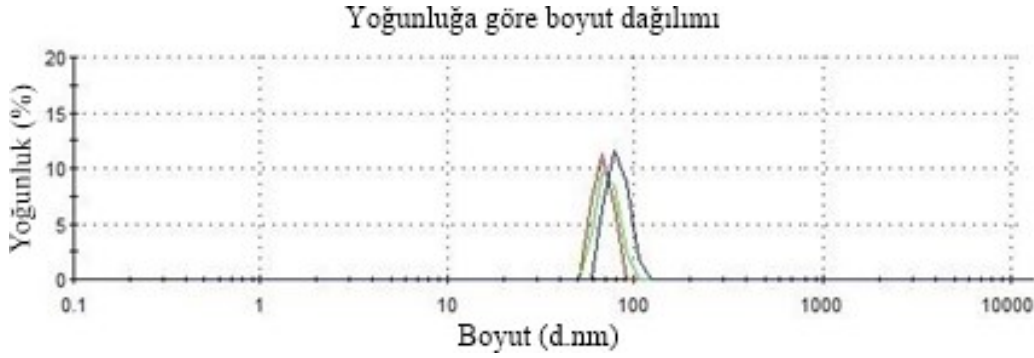
Şekil 4.13 Silikalı ve silanlı $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si}$ nanoparçacıkların DLS analiz sonuçları

Bölüm 3.5’de sentezlenen silikalı ve silanlı $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıklarının DLS tekniği ile ölçümü sonucunda elde edilen boyut dağılım grafiği şekil 4.13’te gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre oleik asitte dağılmış olan $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıklarının hidrodinamik çapı 573.8 nm ve polidispersite indeksi de 0.242 olarak kaydedilmiştir. Ölçüm sonucunda silikalama ve silanlama işleminin nanoparçacıkların boyutunu arttırdığı gözlenmektedir.



Şekil 4.14 Heksahidrolupulon ile konjuge edilen silikalı ve silanlı $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ nanoparçacıkların DLS analiz sonuçları

Bölüm 3.7’de Heksahidrolupulon ile konjuge edilen silikalı ve silanlı $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıklarının DLS tekniği ile ölçümü sonucunda elde edilen boyut dağılım grafiği şekil 4.14’te gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre oleik asitte dağılmış olan $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıklarının hidrodinamik çapı 489 nm ve polidispersite indeksi de 1 olarak kaydedilmiştir. Ölçüm sonucunda iki ayrı pik gözlenmiş olması yapıda daha küçük boyutlu olan bağlanmamış Heksahidrolupulon da mevcut olduğunu, 1828 de görülen nanoparçacıkların ise $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ ’lere ilişkin olabileceğini düşündürmektedir.

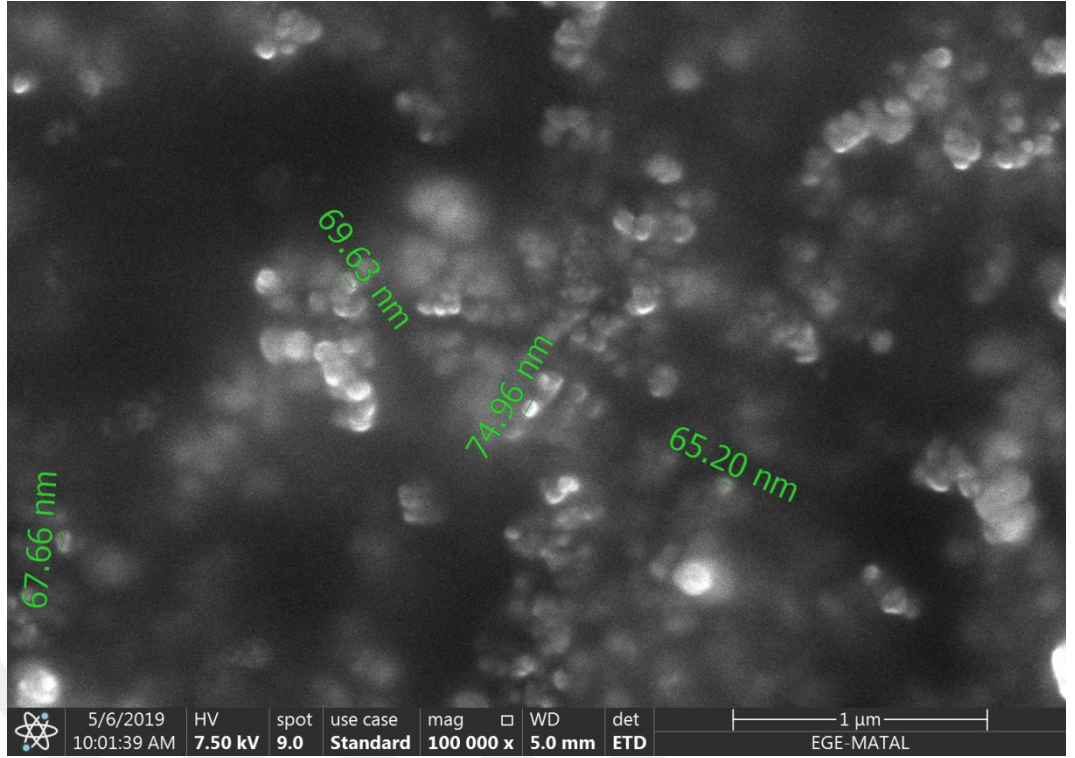


Şekil 4.15 Heksahidrolupulon sentezi DLS analiz sonuçları

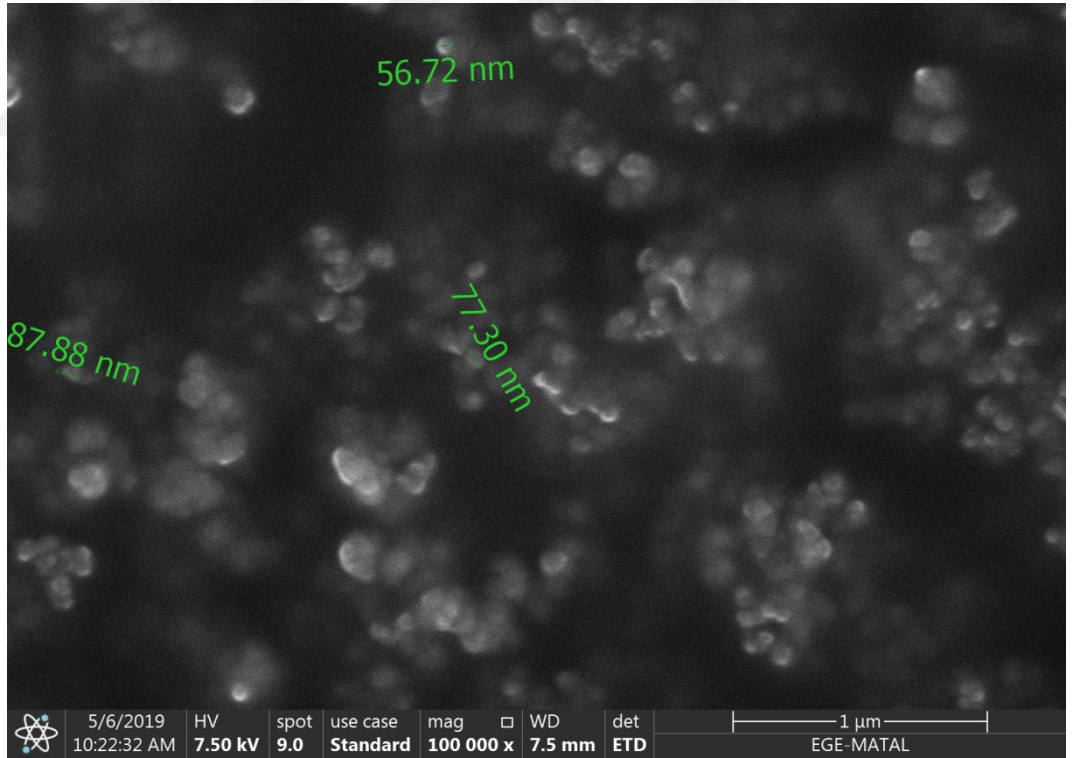
Bölüm 3.6’da Heksahidrolupulon sentezinin DLS tekniği ile ölçümü sonucunda elde edilen boyut dağılım grafiği şekil 4.15’te gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre oleik asitte dağılmış olan lupulonların hidrodinamik çapı 67.5 nm ve polidispersite indeksi de 1.000 olarak kaydedilmiştir. Ölçüm sonucunda heksahidrolupulonların ortalama parçacık boyutunun 100 nm’den küçük olduğu görülmektedir.

4.2.3 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Sonuçları

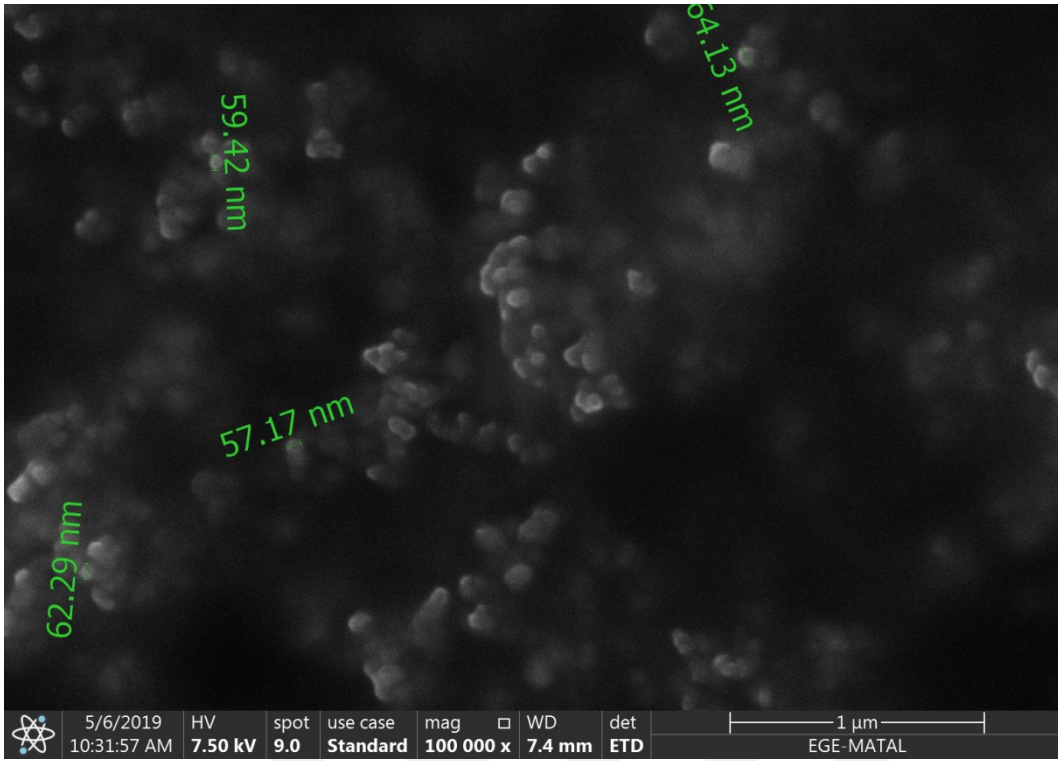
Şekil 4.16 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si}$ nanoparçacıkların, Şekil 4.17 asetolupufenon ile konjuge edilen $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-ALP}$ nanoparçacıkların, Şekil 4.18 heksahidrolupulon ile konjuge edilen $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ nanoparçacıkların SEM görüntüsünü vermektedir. Nanoparçacıkların ortalama boyutlarının 60-75 nm civarında homojen nanoküreler şeklinde olduğu görülmektedir. Asetolupulon veya heksahidrolupulon konjugasyonunun boyut ve morfolojilerini değiştirmedeği de görülmektedir. $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıkların SEM görüntülerine ilişkin literatürde benzer morfolojiler görülmekle birlikte farklı boyutta nanoparçacıklar rapor edilmiştir (Unak et al., 2018; Tan et al., 2015). Tan ve grubu 200 nm boyutunda $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ sentezlemişken, başka bir çalışmamızda, benzer morfoloji ve boyutta nanoparçacıklar sentezlenmiştir.



Şekil 4.16 Etanol ile seyreltilen $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si}$ nanoparçacıkların SEM görüntüsü

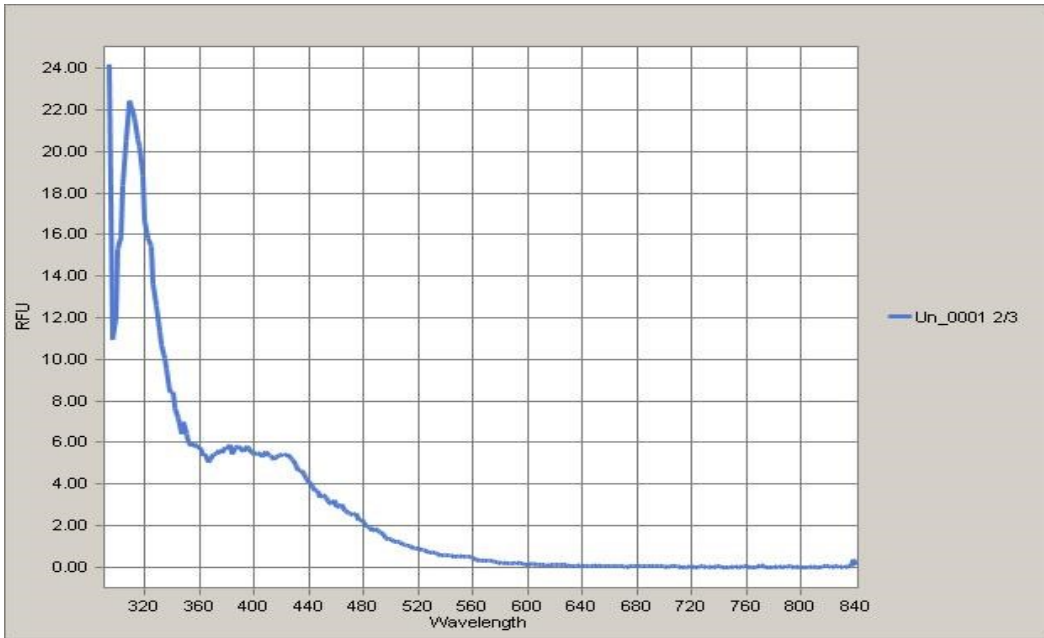


Şekil 4.17 Asetolupufenon ile konjuge edilen $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-ALP}$ nanoparçacıkların SEM görüntüsü



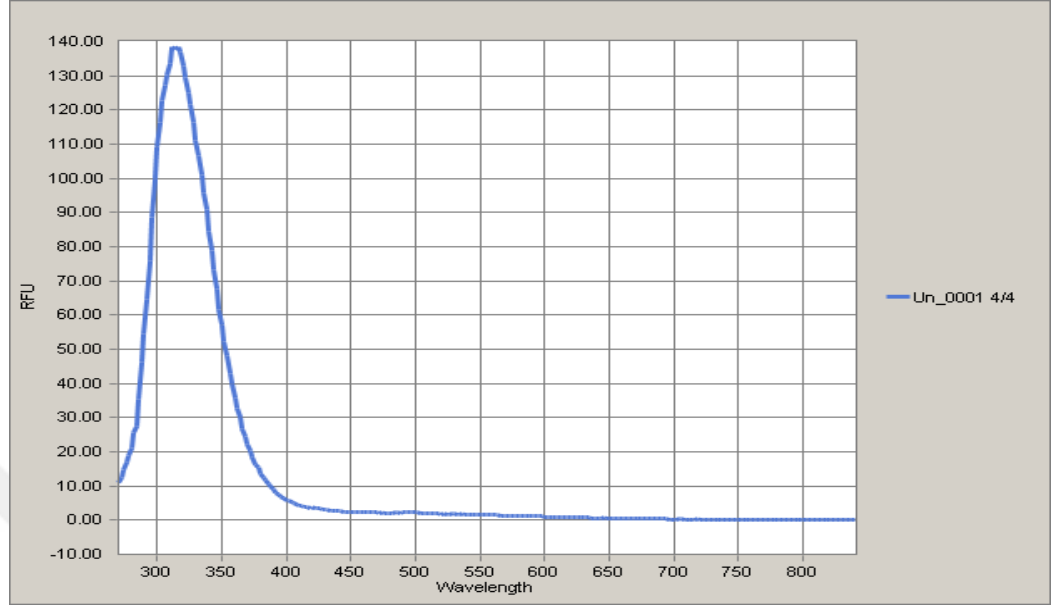
Şekil 4.18 Heksahidrolupulon ile konjuge edilen $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ nanoparçacıkların SEM görüntüsü

4.2.4 Floresans Spektroskopisi Sonuçları



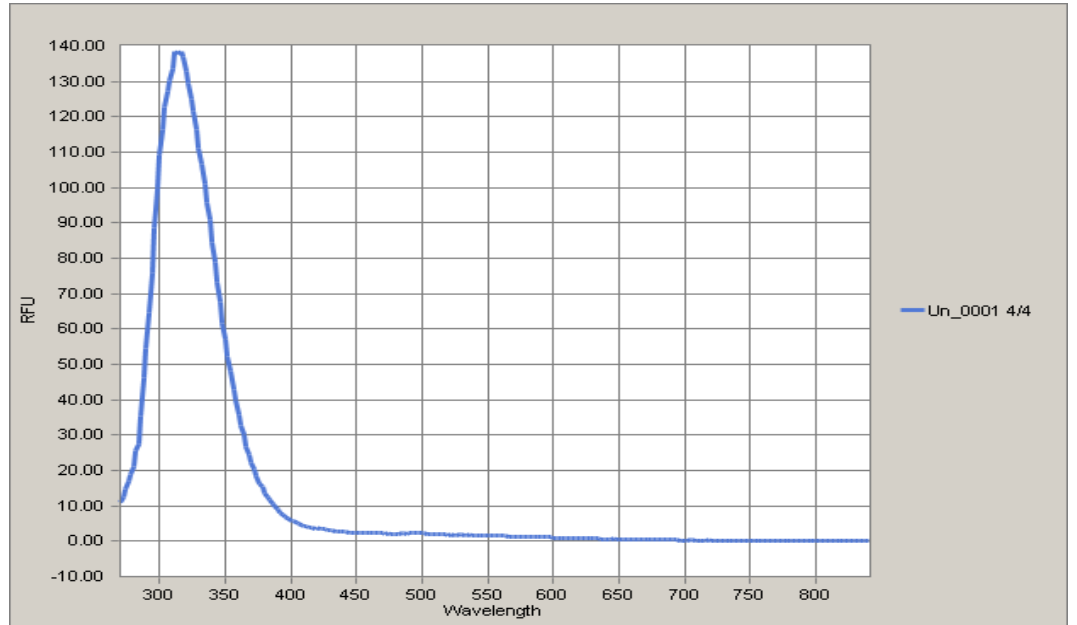
Şekil 4.19 TiO_2 nanoparçacık sentezi floresans spektrumu

Sentezlenen TiO_2 nanoparçacıklarının floresans spektroskopisi analizinde 190-860 nm dalga boyu aralığında eksitasyon dalga boyu 250 nm, emisyon dalga boyu 288 nm olarak ölçülmüştür.



Şekil 4.20 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacık sentezi floresans spektrumu

$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıklarının da floresans gösterdiği ve optimum eksitasyon dalga boyu 250 nm, optimum emisyon dalga boyu 316 nm olarak bulunmuştur.

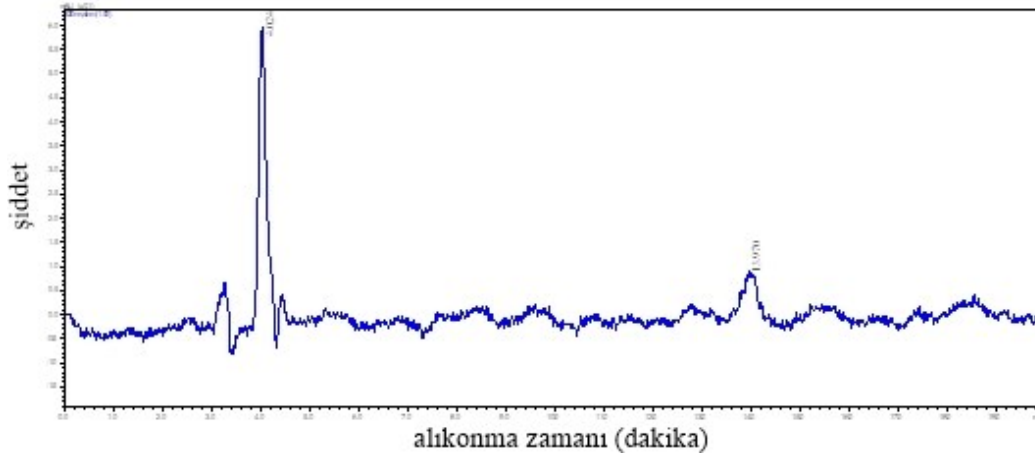


Şekil 4.21 Silikalı ve silanlı $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacık sentezi floresans spektrumu

Ölçüm sonucunda silikalı ve silanlı $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıkların ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si}$) optimum eksitasyon dalga boyu 250 nm, optimum emisyon dalga boyu 314 nm bulunmuştur. Örnekler 300 nm üzerinde deşarj piki vermiştir.

4.2.5 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Sonuçları

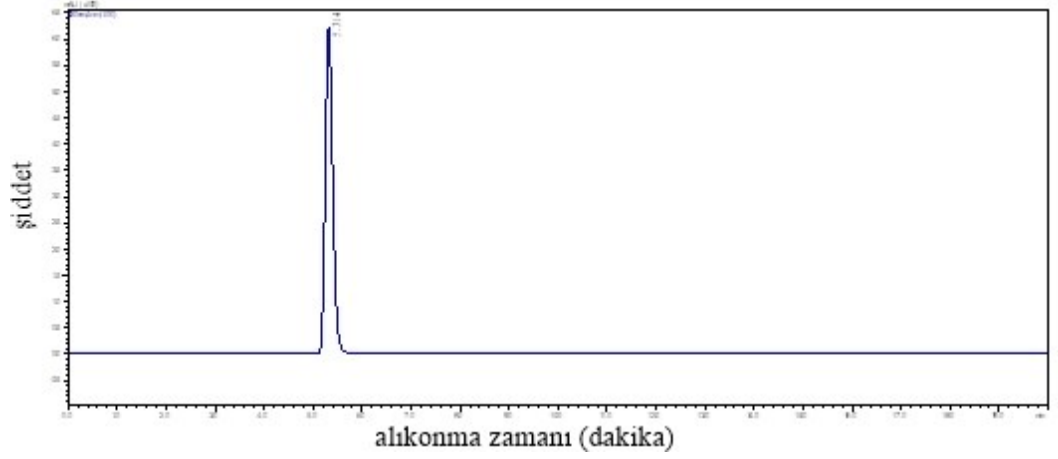
Sentezi yapılan heksahidrolupulon (HLP), asetolupufenon (ALP) ve silikalı ve silanlı $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıkların ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si}$) HPLC kromatogramları şekil 4.22, şekil 4.23 ve şekil 4.24'te gösterilmektedir. Analizler sonucunda örneklerin alıkonma zamanları yeterince ayrıldıklarını ve yeterli saflıkta olduklarını göstermektedir.



Şekil 4.22 Heksahidrolupulon sentezi HPLC kromatogramı

Çizelge 4.6 Heksahidrolupulon sentezi alıkonma zamanları ve % alan değerleri

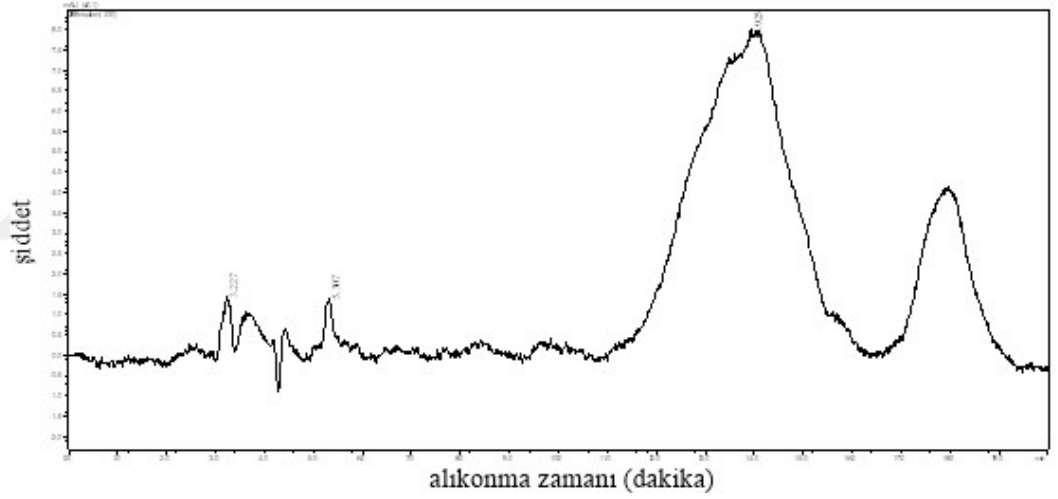
RT	% Area
4.024	85.2425
13.970	14.7575



Şekil 4.23 Asetolupufenon sentezi HPLC kromatogramı

Çizelge 4.7 Asetolupufenon sentezi alıkonma zamanları ve % alan değerleri

RT	% Area
5.314	100

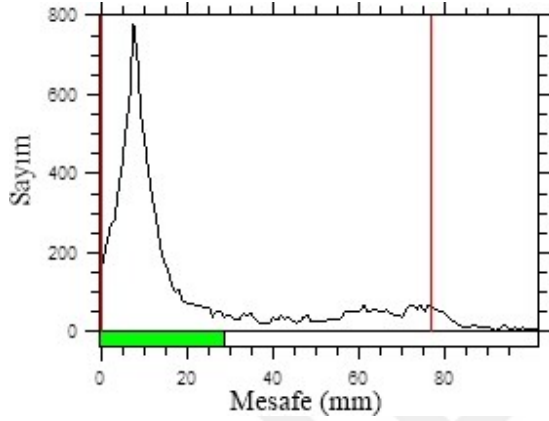
Şekil 4.24 Fe₃O₄@TiO₂-Si sentezi HPLC sonucuÇizelge 4.8 Fe₃O₄@TiO₂-Si sentezi alıkonma zamanları ve % alan değerleri

RT	% Area
3.227	1.4895
5.307	0.8869
13.925	97.6236

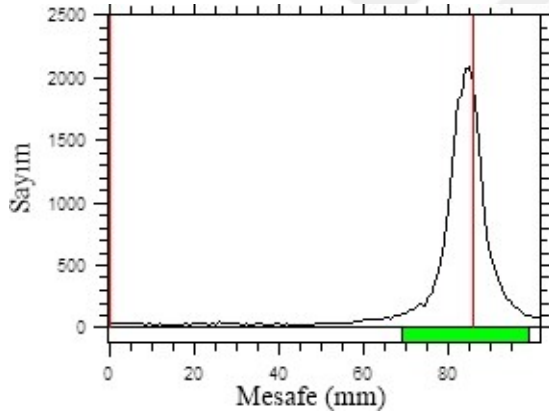
4.3 Radyoışaretleli Örneklerin TLRC Analiz Sonuçları

İşaretlenen ^{99m}Tc-DTPA-Fe₃O₄@TiO₂-Si-HLP örneğinin kalite kontrolü TLRC yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Gerçekleştirilen bu analizde mobil faz olarak SF ve PAS (3:5:1.5) banyoları denenmiş olup en iyi ayırım SF banyosunda

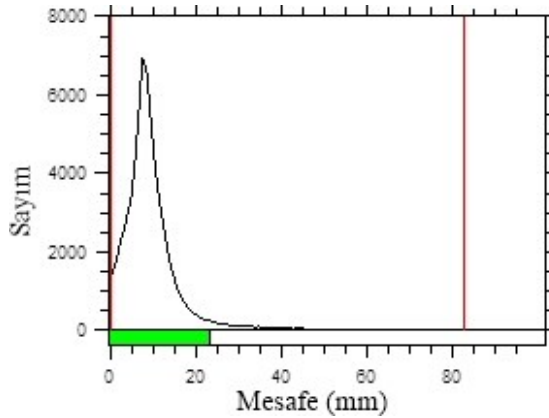
gözlenmiştir. Sabit faz için ise selüloz kaplı TLRC şeriti kullanılmıştır. ^{99m}Tc - $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$, indirgenmiş ^{99m}Tc ve ^{99m}Tc örneklerinin SF banyosunda, Rf değerleri Çizelge 4.9 'da verilmiştir. TLRC grafikleri DTPA'nın ^{99m}Tc 'i $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ 'ye bağlamak için iyi bir bağlayıcı olduğunu ve işaretleme için %100 gerçekleştiği görülmektedir.



Şekil 4.25 ^{99m}Tc -DTPA- $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ örneğinin SF banyosundaki TLRC kromotogramı



Şekil 4.26 ^{99m}Tc örneğinin SF banyosundaki TLRC kromotogramı



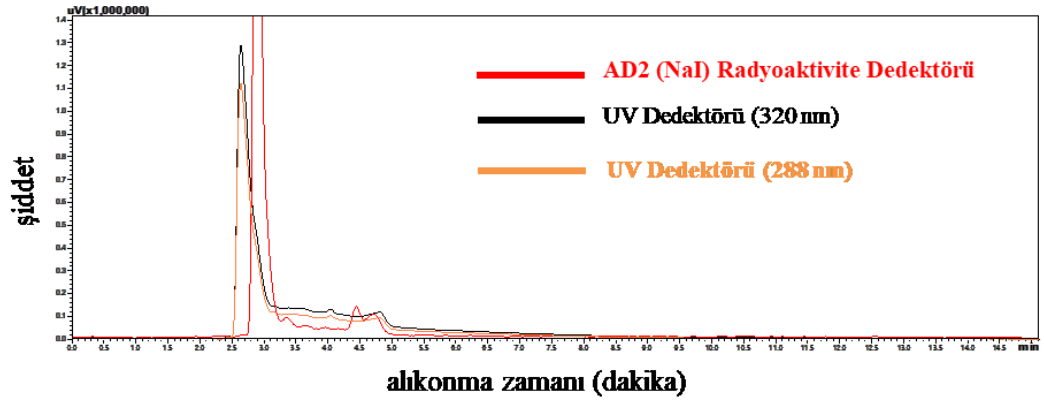
Şekil 4.27 İndirgenmiş ^{99m}Tc örneğinin SF banyosundaki TLRC kromotogramı

Çizelge 4.9 $^{99m}\text{Tc-Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$, indirgenmiş ^{99m}Tc ve ^{99m}Tc örneklerinin TLRC yöntemiyle hesaplanan SF banyosundaki işaretleme verimleri ve Rf değerleri

	SF Banyosu		
	$^{99m}\text{Tc-DTPA-Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-HLP}$	İndirgenmiş ^{99m}Tc	$[\text{}^{99m}\text{TcO}_4]^-$
Verim (%)	100	100	100
Rf	0.68 ± 0.08	0.37 ± 0.09	0.94 ± 0.07

4.4 Radyoişaretleli Örneklerin HPLC Analizi Sonuçları

$^{99m}\text{Tc-DTPA-Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ nanoparçacıkların HPLRC sonucunda heksahidrolupulon konjuge edilen $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıkların % 86 verimle işaretlendiğini göstermektedir. UV dedektörü ile alınan kromatogramlar da radyoaktivite dedektörü ile uyum içindedir.

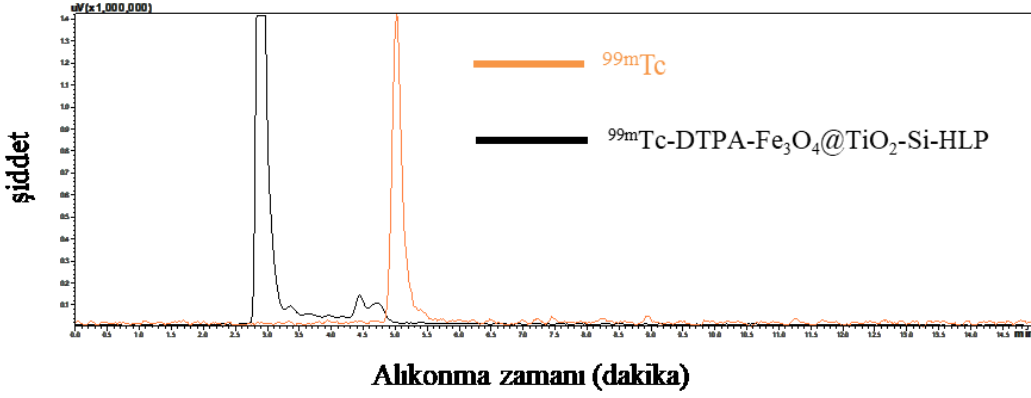


Şekil 4.28 $^{99m}\text{Tc-DTPA-Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ nanoparçacıkların HPLRC kromatogramı

Çizelge 4.10 $^{99m}\text{Tc-DTPA-Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ nanoparçacıkların alınma zamanları ve % alan değerleri

RT	%Area
2.833	86.016
4.438	6.411
4.720	7.572
2.635	81.1614
4.041	6.4946
4.802	12.3440
2.633	80.536
4.042	6.593
4.796	12.870

Şekil 4.29 ^{99m}Tc ile birlikte $^{99m}\text{Tc-DTPA-Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ nanoparçacıkların HPLRC kromatogramını vermektedir. $^{99m}\text{Tc-DTPA-Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ 'unun bağlanmamış ^{99m}Tc içermediği, nanoparçacıkların içerdiği safsızlıkların da radyoişaretlenmesinden kaynaklandığı kromatogramlarda görülmektedir.

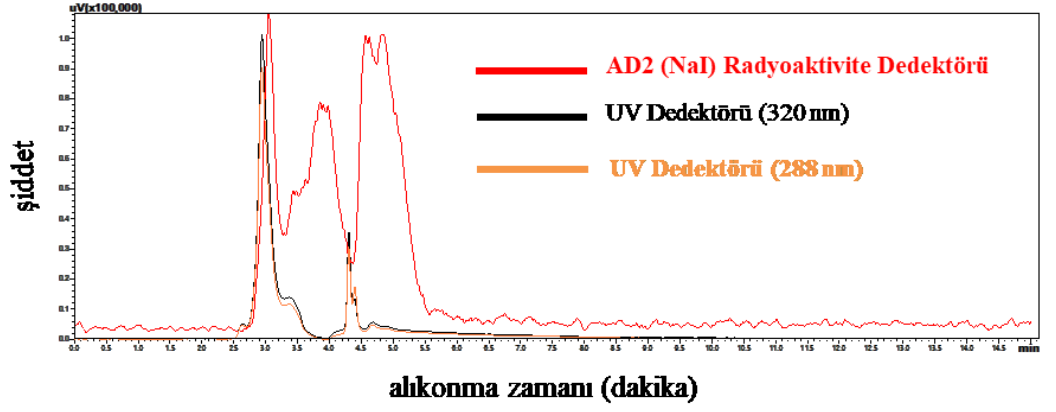


Şekil 4.29 ^{99m}Tc ve $^{99m}\text{Tc-DTPA-Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ nanoparçacıkların HPLRC kromatogramı

Çizelge 4.11 ^{99m}Tc ve $^{99m}\text{Tc-DTPA-Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ nanoparçacıkların alıkonma zamanları ve % alan değerleri

RT	%Area
5.020	100
2.833	86.016
4.438	6.411
4.720	7.572

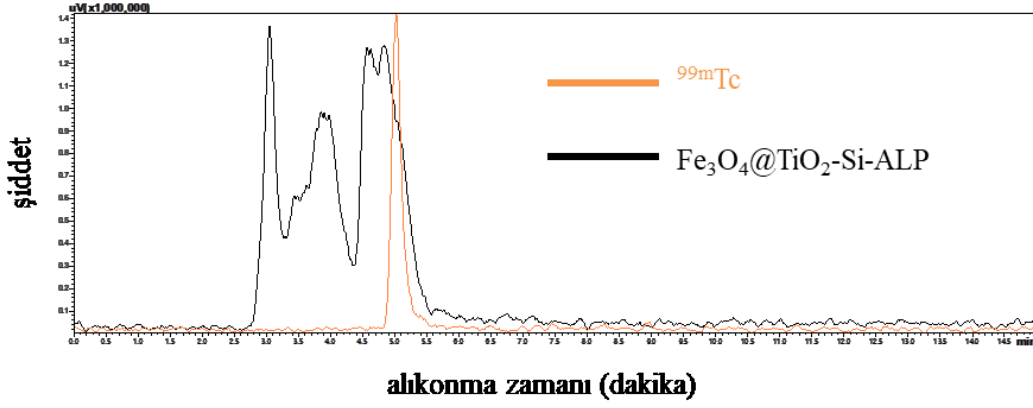
Şekil 4.30 $^{99m}\text{Tc-DTPA-Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-ALP}$ nanoparçacıkların HPLRC kromatogramını UV dedektöründe alınan kromatogram ile çakışmış halini göstermektedir. Asetolupufenon konjuge $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıkların HPLC kromatogramında UV dedektöründe görülen daha küçük piklerin daha büyük oranda işaretlendiği görülmektedir. ^{99m}Tc ile çakışmış olan şekil 4.31'de ise radyoişaretli örneklerin serbest perteknetat içermediği içindeki tüm fraksiyonların işaretlenmesinden kaynaklanmış olabildiği görülmektedir.



Şekil 4.30 ^{99m}Tc -DTPA- $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-ALP}$ nanoparçacıkların HPLRC Kromatogramı

Çizelge 4.12 ^{99m}Tc -DTPA- $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-ALP}$ nanoparçacıkların alıkonma zamanları ve % alan değerleri

RT	%Area
3.042	16.4486
3.428	7.7515
3.675	4.5513
3.848	23.8775
4.565	18.5916
4.834	28.7793
2.629	2.7836
2.937	67.3915
3.365	13.2195
4.301	8.3905
4.392	3.5829
4.673	4.6320
2.629	2.9016
2.935	66.2115
3.362	14.1874
4.298	7.4653
4.394	5.7121
4.671	3.5221



Şekil 4.31 ^{99m}Tc -DTPA- $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-ALP}$ nanoparçacıkların ^{99m}Tc ile birlikte karşılaştırmalı olarak radyoaktivite dedektöründe alınan HPLRC kromatogramı

Çizelge 4.13 ^{99m}Tc ve ^{99m}Tc -DTPA- $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-ALP}$ nanoparçacıkların alınma zamanları ve % alan değerleri

RT	%Area
5.020	100
3.042	16.4486
3.428	7.7515
3.675	4.5513
3.848	23.8775
4.565	18.5916
4.834	28.7793

4.5 Lipofilite Sonuçları

$^{99m}\text{Tc-Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ ve $^{99m}\text{Tc-Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-ALP}$ örneklerinin lipofilite deneyi için 3 deneme yapılmıştır. Bunun sonucunda, her iki örnek için de deneysel lipofilite (logP) değerleri -0.75 ± 0.02 olarak bulunmuştur. Bu değer örneklerin hidrofilik yapısını kanıtlamıştır.

4.6 Stabilité Sonuçları

$^{99m}\text{Tc-Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ ve $^{99m}\text{Tc-Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-ALP}$ örneklerinin 6 saat boyunca, oda sıcaklığında ve serum fizyolojik (SF) banyosunda kararlılıkları gözlenmiştir. Çizelge 4.14'te $^{99m}\text{Tc-Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$, $^{99m}\text{Tc-Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-ALP}$, indirgenmiş ^{99m}Tc ve ^{99m}Tc örneklerinin zamana göre davranışları verilmiştir. Bu çizelgeden de görüldüğü üzere işaretli örnekler 6 saat boyunca kararlılığını korumuştur.

Çizelge 4.14 İşaretleme verilerinin ortalama değeri ve standart sapmaları

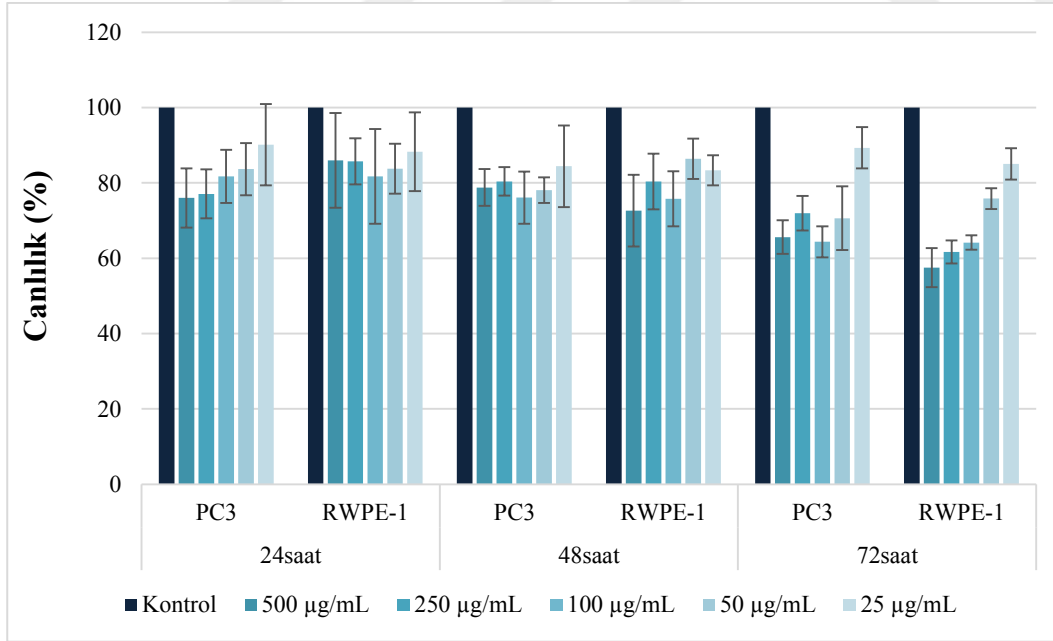
Zaman (saat)	^{99m}Tc ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$)	^{99m}Tc ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-ALP}$)	indirgenmiş ^{99m}Tc	^{99m}Tc
0	94.71±0.61	100	100	100
1	100	95.25±0.31	99.40±0.27	100
2	94.03±0.62	100	99.67±0.48	98.65±0.78
4	95.62±0.74	100	99.52±0.69	98.97±0.55
6	96.51±0.88	100	99.40±0.86	97.88±1.27

4.7 Hücre Kültürü Sonuçları

4.7.1 Sitotoksosite Sonuçları

Son yıllarda, metabolik aktivite bazlı WST-1 (4-[3-(4-iyodofenil)-2-(4-nitrofenil)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzen disülfonat) metodu hücreler üzerindeki sitotoksosite testleri için kullanılmaya başlanmıştır (Dietrich et al., 1999, Kau et al., 2002, Scobie et al., 2003, Moravek et al., 2006). Prensip olarak WST-1, formazan boyasını oluşturan mitokondriyal süksinat tetrazolyum redüktaz ile reaksiyona girerek MTT'ye benzer şekilde çalışır. WST-1 reaktifi, MTT testinin suda çözünmeyen ürününden ziyade suda çözünür bir formazan üretir. WST-1 reaksiyon ürünü, ilave bir çözünme aşaması olmadan 0.5 ila 4 saat içinde ölçülebilir.

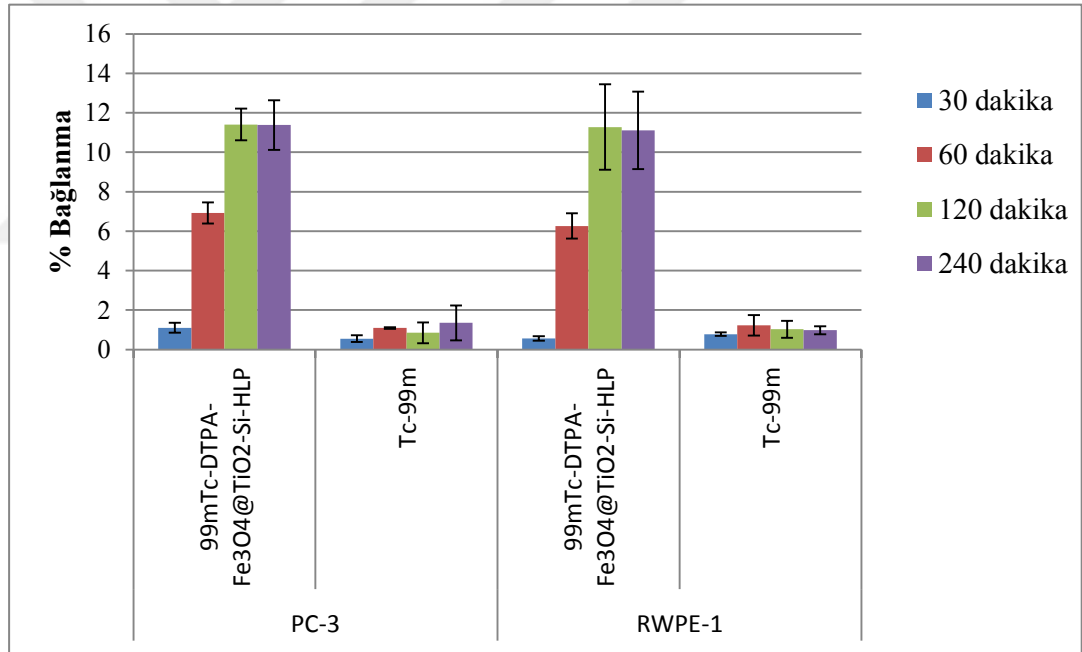
Şekil 4.32'de PC-3 ve RWPE-1 hücrelerinde $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ nanoparçacıklar için 25 $\mu\text{L/mL}$ -500 $\mu\text{L/mL}$ doz aralığında 24-72 saat zaman aralığında PC-3 ve RWPE-1 hücreleri üzerindeki canlılık değerleri görülmektedir. İlk 24 saat içinde sağlıklı prostat epitel hücrelerine karşılık gelen RWPE-1 hücrelerinde çalışılan dozlarda anlamlı bir toksik etki görülmez iken PC-3 prostat kanser hcrelerinde özellikle artan dozlarda (>250-500 $\mu\text{L/mL}$) toksik etki görülmektedir. 72 saatte ise artan dozda her iki hücre serisinde de toksik etki görülürken artan dozlarda RWPE-1 hücrelerinde daha fazla hasar görülmektedir.



Şekil 4.32 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ nanoparçacıkların 25 $\mu\text{L/mL}$ -500 $\mu\text{L/mL}$ doz aralığında 24-72 saat zaman aralığında PC-3 ve RWPE-1 hücreleri üzerindeki sitotoksosite değerleri

4.7.2 İnkorporasyon Sonuçları

Şekil 4.33 ^{99m}Tc bağlı ^{99m}Tc -DTPA- $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ nanoparçacıkların PC-3 ve RWPE-1 hücrelerine bağlanma etkinliğini göstermektedir. 2 saat içinde maksimum bağlanmaya ulaşmakta ve 4 saatte hücreden ayrılma görülmektedir. ^{99m}Tc 'nin kısa yarı ömrünü ve radyofarmasötiklerden beklenen kısa görüntüleme zamanı gibi özellikler düşünüldüğünde 2 saatte maksimum bağlanmaya ulaşılması ^{99m}Tc işaretli örnekler için iyi bir zamandır. Ancak normal hücrelerle kanser hücrelerin benzer bağlanma profili göstermesi istenen bir özellik değildir. Bu nedenle ileriki uygulamalarda seçiciliği arttıracak başka modifikasyonlar yapılması uygun olacaktır. Bu çalışmada kanser hücrelerine daha yüksek oranda afine olduğu düşünülen lupulonların farkı görülememiştir. İleriki çalışmalarda farklı doz oranlarında ve kontrol olarak sadece lupulon içeren işaretli örneklerde hücre afinitelerinde bir fark olup olmadığı da incelenmelidir.



Şekil 4.33 ^{99m}Tc -DTPA- $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2\text{-Si-HLP}$ nanoparçacıkların PC-3 ve RWPE-1 hücrelerine bağlanma grafiği

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, fotodinamik terapi ve MRI (Manyetik Rezonans (MR) görüntüleme) kontrast ile görüntüleme özelliklerini bir arada taşıyan yeni bir teranostik ajan sentezlenmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıklar sentezlenmiş ve yapının yüzey modifikasyonu 3-aminopropil trietoksisilan (APTES) ile kaplanarak fonksiyonlanmış $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıklar antikanser potansiyeli arttırmak için lupulon türevleri (heksahidrolupulon ve asetolupufenon) ile konjuge edilmiştir. DTPA şelatlayıcı kullanılarak da $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ile radyoışaretlenmiştir. $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıkların FTIR ile belirlenmiştir. Nanoparçacıkların boyut dağılımı için dinamik ışık saçılımı, optik özellikleri ve floresans şiddetleri için floresans spektroskopisi ve yüzey özellikleri ve boyut analizleri için taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılmıştır. Sentezlenen $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ nanoparçacıkların yaklaşık 40 nm çapında olduğu gözlenmiştir. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ile radyoışaretlenen nanoparçacıkların kalite kontrolü, HPLRC ve TLRC yöntemleri kullanılarak yapılmış ve % verim hesaplanmıştır. $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ -Si-HLP nanoparçacıkların biyolojik davranışlarının *in vitro* yöntemle belirlenmesi amacıyla prostat sağlıklı (RWPE-1 normal insan prostat epitel hücre hattı) ve kanser hücre hatları (PC-3 insan prostat kanser hücre hattı) üzerinde çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA- $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ -Si-HLP nanoparçacıkların her iki hücre türüne de benzer inkorporasyon profili gösterdiği görülmüştür. 2 saat içinde maksimum bağlanmaya ulaşılmakta ve inkorporasyonun sürdürüldüğü 4 saat boyunca hücreden ayrılma görülmemektedir. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 'nin kısa yarı ömrünü ve radyofarmasötiklerden beklenen kısa görüntüleme zamanı gibi özellikler düşünüldüğünde 2 saatte maksimum bağlanmaya ulaşılması $^{99\text{m}}\text{Tc}$ işaretli örnekler için iyi bir zamandır. Ancak normal hücrelerle kanser hücrelerin benzer bağlanma profili göstermesi istenen bir özellik değildir. Bu nedenle ileriki uygulamalarda seçiciliği arttıracak başka modifikasyonlar yapılması uygun olacaktır. Bu çalışmada kanser hücrelerine daha yüksek oranda afine olduğu düşünülen lupulonların farkı görülemedi. İleriki çalışmalarda farklı doz oranlarında ve kontrol olarak sadece lupulon içeren işaretli örneklerde hücre afinitelerinde bir fark olup olmadığı da incelenmelidir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Alfi, K., Ericag, W., Moses, S. and Robert, V.,** 2010, Isolation of individual hop iso-a-acids stereoisomers by b-cyclodextrin, *Food Chem.*, 119 (1), 354-357p.
- American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH):** Threshold limit values and biological exposure indices for 1992–1993., 1992 Cincinnati: Ohio: American Conference of Governmental industrial hygienists.
- Arimotokobayashi, S., Sugiyama, C., Harada, N., Takeuchi, M., Takemura, A. M. and Hayatsu, H.,** 1999, Inhibitory effects of beer and other alcoholic beverages on mutagenesis and DNA adduct formation induced by several carcinogens, *J. Agric. Food Chem.*, 47 (1), 221-230p.
- Blasiak, B., Veggel, Van, F. C. J. M. and Tomanek, B.,** 2013, Applications of Nanoparticles for MRI Cancer Diagnosis and Therapy, *Journal of Nanomaterials*, 1-13p.
- Brigger, I., Dubernet, C. and Couvreur, P.,** 2002, Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54(5), 631-651p.
- Burton, B. B., Kang, S. W., Rhee, S. W. and George, S. M.,** 2009, SiO₂ atomic layer deposition using tris (dimethylamino) silane and hydrogen peroxide studied by in situ transmission FTIR spectroscopy, *The Journal of Physical Chemistry*, 113(19), 8249-8257p.
- Campo, A., Sen, T., Lellouche, J. P. and Bruce, I. J.,** 2005, Multifunctional Magnetite and Silica–Magnetite Nanoparticles: Synthesis, Surface Activation and Applications in Life Sciences, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 293, 33–40p.
- Cargnello, M., Gordon, T.R. and Murray, C.B.,** 2014, Solution-Phase Synthesis of Titanium Dioxide Nanoparticles and Nanocrystals, *Chemical Reviews*, 114, 9319-9345p.
- Chirita, M. and Grozescu, I.,** 2009, Fe₂O₃ – Nanoparticles, Physical Properties and Their Photochemical And Photoelectrochemical Applications, *Chem. Bull. "POLITEHNICA" Univ. (Timisoara)*, Volume 54(68), 8p.
- Dawson, G., Chen, W. and Zhang, T.,** 2010, A study on the effect of starting material phase on the production of trititanate nanotubes, *Solid State Sci*, 12, 2170–2176p.
- Dietrich, R., Fella, C., Strich, S. and Märklbauer, E.,** 1999, Production and characterization of monoclonal antibodies against the hemolysin BL enterotoxin complex produced by *Bacillus cereus*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 65 (10), 4470-4474p.
- Dresel, M., Vogt, C., Dunkel, A. and Hofmann, T.,** 2016, The bitter chemodiversity of hops (*humulus lupulus* L.), *J. Agric. Food Chem.*, 64 (41), 7789-7799p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Du, G. H., Liu, Z. L., Xia, X., Chu, Q. and Zhang, S. M.,** 2006, Characterization and application of $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ nanoparticles, *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 39(3), 285-291p.
- Ferrari, M.,** 2005, Cancer nanotechnology: opportunities and challenges, *Nature Reviews Cancer*, 5(3), 161-171p.
- Foster, B.C., Arnason, J.T., Saleem, A., Tam, T.W., Liu, R., Mao, J. and Desjardins, S.,** 2009, Comparative study of hops-containing products on human cytochrome P450- mediated metabolism, *J. Agric. Food Chem.*, 57 (11), 5100-5105p.
- Ghasemivarnamkhasti, M., Mohtasebi, S.S., Rodriguezmende, M.L., Lozano, J., Razavi, S.H. and Ahmadi, H.,** 2011, Potential application of electronic nose technology in brewery, *Trends Food Sci. Technol.*, 22 (4), 165-174p.
- Glaus, C., Rossin, R., Welch, M. J. and Bao, G.,** 2010, In vivo evaluation of ^{64}Cu -labeled magnetic nanoparticles as a dual-modality PET/MR imaging agent, *Bioconjugate Chemistry*, 21(4), 715-722p.
- Gobbo, O. L., Sjaastad, K., Radomski, M. W., Volkov, Y. and Prina-Mello, A.,** 2015, Magnetic nanoparticles in cancer theranostics, *Theranostics*, 5(11), 1249p.
- Gubin, S. P.,** 2009, *Magnetic Nanoparticles*, John Wiley & Sons., 466p.
- Gupta, A.K. and Gupta, M.,** 2005, Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Biomaterials*, 26, 3995–4021p.
- Gupta, S.M. and Tripathi, M.,** 2011, A review of TiO_2 nanoparticles, *Chinese science Bulletin*, Vol.56, No.16, 1639–1657p.
- Hayashi, K., Nakamura, M., Sakamoto, W., Yogo, T., Miki, H. and Ozaki, S.,** 2013, Super paramagnetic nanoparticle clusters for cancer theranostics combining magnetic resonance imaging and hyperthermia treatment, *Theranostics*, 3(6), 366-376p.
- Hein, W., Pollach, G. and Rosner, G.,** 2002, Studies of microbiological activities during thick juice storage, *Zuckerindustrie*, 127 (4), 243-257p.
- Huang, G., Chen, H., Dong, Y., Luo, X., Yu, H., Moore, Z. and Gao, J.,** 2013, Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: amplifying ROS stress to improve anticancer drug efficacy, *Theranostics*, 3(2), 116-126p.
- Jaskula, B., Aerts, G. and Cooman, L.D.,** 2010, Potential impact of medium characteristics on the isomerisation of hop α -acids in wort and buffer model systems, *Food Chem.*, 123 (4), 1219-1226p.
- Jemal, A., Bray, F., Center, M. M., Ferlay, J., Ward E. and Forman, D.,** 2011, *Global Cancer Statistics*, *CA Cancer Journal for Clinicians*, Vol.61, No.2, 69p.
- Joeng, B., Choi, Y. K., Bae, Y. H., Zentner, G. and Kim, S. W.,** 1999, New biodegradable polymers for injectable drug delivery systems, *Journal of Controlled Release*, 62(1-2), 109-114p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Jurisson S., Berning D., Jia W. and Ma O.**, 1992, Coordination Compounds in Nuclear Medicine, Chem Rev., 93, 1137–1156p.
- Jurisson, S., Berning, D., Jia, W., Ma, D.**, 1993, Coordination Compounds in Nuclear Medicine, Chem. Rev., 93, 1137-1156p.
- Kau, J. H., Lin, C. G., Huang, H. H., Hsu, H. L., Chen, K. C., Wu, Y. P. And Lin, H. C.**, 2002, Calyculin a sensitive protein phosphatase is required for *Bacillus anthracis* lethal toxin induced cytotoxicity, Curr. Microbiol., 44, 106-111p.
- Killeen, D. P., Andersen, D. H., Beatson, R. A., Gordon, K. C. and Perry, N.B.**, 2014, Vibrational spectroscopy and chemometrics for rapid, quantitative analysis of bitter acids in hops (*Humulus lupulus*), J. Agric. Food Chem., 62 (52), 12521p.
- Kisin, E. R., Murray, A. R., Keane, M. J., Shi, X. C., Schwegler-Berry, D., Gorelik, O., Arepalli, S., Castranova, V., Wallace, W. E., Kagan, V. E. and Shvedova, A. A.**, 2007, Single-walled carbon nanotubes: geno- and cytotoxic effects in lung fibroblast V79 cells, J Toxicol Environ Health A, 70, 2071–2079p.
- Kretzschmar, G., Vollmer, G., Schwab, P., Tischer, S., Metz, P. and Zierau, O.**, 2007, Effects of the chemically synthesized flavanone 7-(O-prenyl)naringenin-40-acetate on the estrogen signaling pathway in vivo and in vitro, J. Steroid Biochem. Mol. Biol., 107 (1e2) 114.
- Lee, C., Huang, K., Wei, P. and Yao, Y.**, 2006, Conjugation of γ -Fe₂O₃ nanoparticles with single strand oligonucleotides, Journal of Magn. and Magn. Mater, 304, 412p. doi:10.1016/j.jmmm.2006.01.213
- Lee, H. J., Jang, K. S., Jang, S., Kim, J. W., Yang, H. M., Jeong, Y. Y. and Kim, J. D.**, 2010, Poly (amino acid) s micelle-mediated assembly of magnetite nanoparticles for ultra-sensitive long-term MR imaging of tumors, Chemical Communications, 46(20), 3559-3561p.
- Li, K. C., Pandit, S. D., Guccione, S. and Bednarski, M. D.**, 2004, Molecular imaging applications in nanomedicine, Biomedical Microdevices, 6(2), 113-116p.
- Liu, C. B., Chen, L. H., Cheng, A. C., Chen, W. J., Tsai, M. L., Liu, Y., Ho, C. T. and Pan, M. H.**, 2011, Hexahydro-b-acids induce apoptosis through mitochondrial pathway, GADD153 expression, and caspase activation in human leukemia cells, Food Chem. Toxicol., 49 (4) ,1033-1042p.
- Liu, J., Qiao, S. Z., Qiu Hong Hu, Q. H. and Lu, G. Q.**, 2011, Magnetic Nanoparticles with Mesoporous Structures: Synthesis and Applications, Magnetic Nanoparticles Review, 4, 425–443p.
- Liu, Y., Lu, N. and Tang, J.**, 2019, Synthesis, characterization, crystal structure, and antioxidant activity of hexahydro- β -acids, Journal of Molecular Structure, 1175,721-727p.
- Maeng, J. H., Lee, D. H., Jung, K. H., Bae, Y. H., Park, I. S., Jeong, S. and Lee, J.**, 2010, Multifunctional doxorubicin loaded superparamagnetic iron

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- oxide nanoparticles for chemotherapy and magnetic resonance imaging in liver cancer, *Biomaterials*, 31(18), 4995-5006p.
- Malviya, R., Bansal, V., Pal, O. P. and Sharma, P. K.**, 2010, High Performance Liquid Chromatography: A Short Review, *Journal of Global Pharma Technology*, 2(5), 22-26p.
- Medine, E. I., Ünak, P., Sakarya, S. and Özkaya, F.**, 2011, Investigation of in vitro efficiency of magnetic nanoparticle-conjugated ¹²⁵I-uracil glucuronides in adenocarcinoma cells, *Journal of Nanoparticle Research*, 13(10), 4703-4715p.
- Mohamed, M.A., Jaafar, J., Ismail, A.F., Othman, M.H.D. and Rahman, M.A.**, 2017, Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy, Elsevier, Membrane Characterization, 29p.
- Moravek, M., Dietrich, R., Buerk, C., Broussolle, V., Guinebretiere, M.H., Gramm, P.E., Nguyen-the C. and Martlbauer E.**, 2006, Determination of the toxic potential of *Bacillus cereus* isolates by quantitative enterotoxin analyses, *FEMS Microbiol. Lett.*, 257, 293-298p.
- Mouratidis, P. X. E., Colston, K. W., Tucknott, M. L., E. Tyrrell, E. and Grisha Pirianov G.**, 2013, An Investigation into the Anticancer Effects and Mechanism of Action of Hop β -Acid Lupulone and Its Natural and Synthetic Derivatives in Prostate Cancer Cells, *Nutrition and Cancer*, 65(7), 1086-1092p.
- Müller, C. E., Schumacher, B., Brattstrom, A., Abourashed, E. A. and Koetter, U.**, 2002, Interactions of valerian extracts and a fixed valerianhop extract combination with adenosine receptors, *Life Sci.*, 71 (16), 19-39p.
- Nemeth, K., Plumb, G. W., Berrin, J. G., Juge, N., Jacob, R., Naim, H. Y., Williamson, G., Swallow, D. M. and Kroon, P.A.**, 2003, Deglycosylation by small intestinal epithelial cell β -glucosidases is a critical step in the absorption and metabolism of dietary flavonoid glycosides in humans, *Eur. J. Nutr.*, 42 (1), 29-42p.
- Niu, H., Wang, Q., Liang, H., Chen, M., Mao, C., Song, J., Zhang, S., Gao, Y. and Chen, C.**, 2014, Visible-Light Active and Magnetically Recyclable Nanoparticles for the Degradation of Organic Dye, *Materials*, 7, 4034-4044p.
- Ozkaya, F., Ünak, P., Medine, E. I., Sakarya, S., Ünak, G. and Timur, S.**, 2013, ¹⁸FDG conjugated magnetic nanoparticle probes: synthesis and in vitro investigations on MCF-7 breast cancer cells, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 295(3), 1789-1796p.
- Participants IRSIW**: The relevance of the rat lung response to particle overload for human risk assessment: a workshop consensus report, *Inhal Toxicol*, 2000, 12 (1-2), 1-17p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Quy, D. V., Hieu, N. M., Tra, P. T., Nam, N.H., Hai, N. H., Son, N. T., Nghia, P. T., Anh, N. T. V., Hong, T. T. and Luong, N. H.,** 2013, Synthesis of Silica-Coated Magnetic Nanoparticles and Application in the Detection of Pathogenic Viruses, *Journal of Nanomaterials*, Volume 2013, Article ID 603940, 6 p.
- Schaefer, O., Bohlmann, R., Schleuning, W.D., Schulze-Forster, K. and Hampel, M.,** 2005, Development of a radioimmunoassay for the quantitative determination of 8- prenylnaringenin in biological matrices, *J. Agric. Food Chem.*, 53 (8), 2881-2889p.
- Scobie, H. M., Rainey, G. J., Bradley, K. A. And Young, J. A.,** 2003, Human capillary morphogenesis protein 2 functions as an anthrax toxin receptor, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 100, 5170-5174p.
- Subramanian, M., Pearce, G., Guldu, O. K., Tekin, V., Miaskowski, A. and Aras, O., Unak, P.,** 2016, A Pilot Study Into the Use of FDG-mNP as an Alternative Approach in Neuroblastoma Cell Hyperthermia, *IEEE Transactions On Nanobioscience*, 15(6), 517-525p.
- Takan, G.,** 2014, Siklin Bağımlı Kinaz (Cdk) İnhibitörü Olomoucine'in ^{131}I İle İşaretlenmesi Ve Terapötik Etkinliğinin İn Vitro Olarak Adenokarsinoma Hücreler Üzerinde İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, E.Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, 95s.
- Tan, L., Zhang, X., Liu, Q., Jing, X., Liu, J., Song, D., Hu, S., Liu, L. and Wang, J.,** 2015, Synthesis of $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ core-shell magnetic composites for highly efficient sorption of uranium (VI), *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 469, 279–286p.
- Thakor, A. S. and Gambhir, S. S.,** 2013, Nanooncology: the future of cancer diagnosis and therapy, *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 63(6), 395-418p.
- Thomas, R. G., Moon, M., Lee, S. and Jeong, Y. Y.,** 2015, Paclitaxel loaded hyaluronic acid nanoparticles for targeted cancer therapy: In vitro and in vivo analysis, *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 510-518p.
- Toksöz, F., Ünak, P., Medine, E. İ., Sakarya, S., Ünak, G., Timur, S.,** 2013, ^{18}F FDG Conjugated Magnetic Nanoparticle Probes: Synthesis and In Vitro Investigation on MCF7 Breast Cancer Cells, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 295(3) 1789-1796p.
- Tran, P. A., Zhang, L. and Webster, T.J.,** 2009, Carbon nanofibers and carbon nanotubes in regenerative medicine, *Advanced drug delivery reviews*, 61(12), 1097-114p.
- Tyrrell, E., Archer, R., Tucknott, M., Colston, K., Pirianov, G., Ramanathan, D., Dhillon, R., Sinclair, A. and Skinner, G.A.,** 2012, The synthesis and anticancer effects of a range of natural and unnatural hop b-acids on breast cancer cells, *Phytochemistry Letters*, 5, 144–149p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Unak, P., Tekin, V. and Guldu, O. K.,** 2018, ^{89}Zr Labeled $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ Nanoparticles, 4th International Symposium on Composite Materials (KOMPEGE 2018), proceeding Book 822-833p, Sözlü Bildiri No O-199, 6-8 Eylül 2018, İzmir-Türkiye.
- Ünak, P., İnce, İ., Aras, Ö.,** 2016, TUBITAK Proje No 2140025, Zr-89 Tabanlı PET/CT, PET/MR VE LENF NODU Görüntüleme Ajanları (Zr-89 Nanocomplex), 2015-2016.
- Vinosel, V. M., Janifer, M. A., Anand, S. and Pauline, S.,** 2017, Structural and Functional Group Characterization of Nanocomposite $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TiO}_2$ and Its Magnetic Property, Mechanics, Materials Science & Engineering, April 2017 – ISSN 2412-5954).
- Wang, X., Yang, L., Chen, Z. G. and Shin, D. M.,** 2008, Application of nanotechnology in cancer therapy and imaging, CA: A Cancer Journal for Clinicians, 58(2), 97-110p.
- World Health Organization, 2019,** Cancer <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer> (Erişim tarihi: 12 Mayıs 2019)
- Wu, J., Ma, X. and Wang, Y.,** 2013, Hyperthermia Cancer Therapy by Magnetic Nanoparticles, <https://pdfs.semanticscholar.org/ac83/006dd392266084e29ad0a0c4a74f486b053b.pdf> (Erişim tarihi: 12 Mayıs 2019).
- Wydra, R. J., Oliver, C. E., Anderson, K. W., Dziubla, T. D. and Hilt, J. Z.,** 2015, Accelerated generation of free radicals by iron oxide nanoparticles in the presence of an alternating magnetic field, Royal Society of Chemistry Advances, 5(24), 18888-18893p.
- Xiong, F., Zhu, Z. Y., Xiong, C., Hua, X. Q., Shan, X. H. and Zhang, Y.,** 2012, Preparation, characterization of 2-deoxyD-glucose functionalized dimercaptosuccinic acid-coated maghemite nanoparticles for targeting tumor cells, Pharmaceutical Research, 29(4), 1087–1097p.
- Yallapu, M. M., Othman, S. F., Curtis, E. T., Gupta, B. K., Jaggi, M. and Chauhan, S. C.,** 2011, Multi-functional magnetic nanoparticles for magnetic resonance imaging and cancer therapy, Biomaterials, 32(7), 1890-1905p.
- Yasakçı V.,** 2017, FDG-Konjuge Manyetik Nanoparçacıkların Biyodağılım Mekanizmasının In vitro/Ex vivo İncelenmesi, Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimler Anabilim Dalı, Bilim Dalı Kodu: 622.01.01., 106 s.
- Zanoli, P. and Zavatti, M.,** 2008, Pharmacognostic and pharmacological profile of *Humulus lupulus* L, J. Ethnopharmacol, 116 (3), 383-396p.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans sürecimde öncelikle gerek değerli fikirleri, gerek tecrübesiyle derslerde ve laboratuvar çalışmalarında her daim yanımda olan, teşvik ve desteğiyle beni yönlendiren saygıdeğer hocam Prof. Dr. Perihan ÜNAK'a teşekkür ederim. Tez çalışmamda bana her türlü olanağı sunarak çalışma kolaylığı sağlayan Nükleer Bilimler Enstitüsü Müdürü Sayın Prof. Dr. Fatma Yurt ONARAN'a ve Nükleer Uygulamalar Ana Bilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Serap TEKSÖZ'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım süresince tecrübesini ve güler yüzünü ve değerli fikirlerini benden esirgemeyen Sayın Arş. Gör. Özge KOZGUŞ GÜLDÜ'ye, FT-IR analizlerini özveriyle gerçekleştiren Sayın Doç. Dr. Süleyman İNAN'a ve hücre kültürü analizlerini yapan Sayın Doç. Dr. Emin İlker MEDİNE'ye , bana destek veren değerli aileme ve her aşamada yardımını esirgemeyen doktora öğrencisi Sayın Volkan TEKİN'e, Sayın Volkan YASAKÇI'ya, Sayın Buğra Gökhan BULDUK'a ve Nükleer Uygulamalar Ana Bilim Dalında yüksek lisans/doktora tez çalışmalarını yapan tüm arkadaşlarıma manevi destekleri için teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Elif TUTUN

Doğum Yeri: Konak / İZMİR

Doğum Yılı: 09.05.1994

Öğrenim Durumu:

Lise: Menderes Anadolu Lisesi (2008 - 2012)

Lisans: Erciyes Üniversitesi, Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Bölümü
(2012 - 2017)

Yüksek Lisans: Ege Üniversitesi, Malzeme Bilimi ve Mühendisliği (2017-
)

Denevimler:

- Kardemir Haddecilik Sanayi ve Ticaret A.Ş./ Üretim Stajı / Haziran 2016
- Erciyes Üniversitesi Nanoteknoloji Merkezi / Laboratuvar Stajı / Temmuz 2017
- Hpt Hartner Teknik Parça A.Ş. / Kalite Kontrol Mühendisi / Kasım 2017

Sertifikalar:

- İş Sağlığı ve Güvenliği Uzmanlığı Eğitim Sertifikası
- Autodesk AutoCAD 2D ve 3D Eğitimi
- SolidWorks Eğitimi
- AutoCAD Eğitimi