

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**BİBERİYE(ROSEMARY) EKSTRAKTININ BİR
RADYOFARMASÖTİĞİN BİYODAĞILIMI VE RADYOİŞARETLİ
KAN BİLEŞENLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Eser UÇAR

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Serap TEKSÖZ

Nükleer Bilimler Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu : 622.02.01

Sunuş Tarihi : 28.12.2010

Bornova, İZMİR

2010

Sayın Eser UÇAR tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak sunulan “Biberiye(Rosemary) Ekstraktının Bir Radyofarmasötüğün Biyodağılımı ve Radyoişaretli Kan Bileşenleri Üzerine Etkisi” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 28.12.2010 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı	: Prof.Dr.Perihan ÜNAK
Raportör Üye	: Doç.Dr.Serap TEKSÖZ
Üye	: Doç.Dr.Uğur AVCIBAŞI

ÖZET**BİBERİYE(ROSEMARY) EKSTRAKTININ BİR
RADYOFARMASÖTİĞİN BİYODAĞILIMI VE RADYOİŞARETLİ
KAN BİLEŞENLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

UÇAR, Eser

Yüksek Lisans Tezi, Nükleer Bilimler Anabilim Dalı

Tez Yöneticisi: Doç. Dr. Serap TEKSÖZ

Aralık 2010, 35 sayfa

Bitkilerin ilaç olarak kullanımı çok eski zamanlara dayanmaktadır. Bununla birlikte ilaç ve radyofarmasötik arasındaki etkileşimler birçok çalışmada rapor edilmiştir. Tıbbi bitkilerden biri olan biberiye, Lamiaceae familyasındaki en yüksek antioksidan özelliğe sahip bitki olmasına bağlı olarak çok geniş biyolojik aktiviteye sahiptir. ^{99m}Tc-SC (Sülfür Kolloid) ise nükleer tıp uygulamalarında özellikle karaciğer görüntülemesinde bir radyofarmasötiktir.

Bu çalışmada biberiye ekstraktının kan bileşenlerindeki radyoaktivite tutulumu ile radyofarmasötiğin biyodağılımına etkileri incelenmiştir. Bu amaçla öncelikle 5 gün boyunca deney hayvanları (wistar sıçanlar, 130-140 g) gavaj tekniğiyle biberiye ekstraktı (750 mg/kg vücut ağırlığı, N=9) ve suyla (kontrol, N=9) beslenmiştir. Sülfür kolloidle uygun koşullarda %99 verimle radyoışaretlenmesi sağlanan ^{99m}Tc için kalite kontrol İnce Tabaka Radyo Kromatografi (TLRC) ile gerçekleştirilmiştir. Her bir sıçanın kalbinden alınan kan örneklerine 1 mCi ^{99m}Tc-SC eklenerek 30 dk inkübasyon sağlandıktan sonra santrifüj edilmiş ve kan örnekleri bileşenlerine ayrılmıştır. Ayrılan kan bileşenlerinin Cd(Te) dedektöründe radyoaktiviteleri ölçülerek aktivite yüzdeleri hesaplanmıştır. Biberiye ekstraktı radyofarmasötik etkileşimi ise erkek Wistar Albino sıçanlar ile yapılan biyodağılım çalışması ile belirlenmiştir. Kalplerinden kan alınan hayvanlara bir gün sonra ^{99m}Tc-SC intravenöz enjeksiyon yoluyla uygulanmıştır. Cd(Te) dedektöründen alınan aktivite ölçümleri ile her bir organ

için gram başına düşen doz değerleri (%ID/g) hesaplanmıştır. Denek ve kontrol gruplarından alınan sonuçlardan biberiye ekstratı ile beslenen sıçanlarda $^{99m}\text{Tc-SC}$ ' in karaciğerdeki tutulumunda önemli bir artış ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Anahtar sözcükler: Biberiye, Rosmarinus Officinalis, $^{99m}\text{Tc-SC}$

ABSTRACT**EFFECT OF ROSEMARY EXTRACT ON THE
BIODISTRIBUTION OF A RADIOPHARMACEUTICAL AND
ON THE RADIOLABELED BLOOD CONTITUENTS**

UÇAR, Eser

Master Thesis in Nuclear Sciences

Supervisor: Doç. Dr. Serap TEKSÖZ

December 2010, 35 pages

The use of plant preparations as medicine is as old as mankind. There have been many reported influences between drugs and different radiobiocomplexes. One of the medicinal herbs Rosemary (*Rosmarinus Officinalis*) owes wide range of biological activities due to the highest antioxidant properties it has in Lamiaceae family. In diagnostic nuclear medicine applications ^{99m}Tc -SC is a liver specific radiopharmaceutical.

In this study we wanted to evaluate effects of the herb Rosemary (*Rosmarinus Officinalis*) extract on the labelling of blood constituents with technetium-99m (^{99m}Tc) labeled sulphur colloid (SC) and on the biodistribution of ^{99m}Tc -SC in Wistar Albino rats. For this purpose, the animals (male wistar rats, 130-140 g) were treated (1 mL) with Rosemary extract (750 mg/kg body wt., N=9) or water (control, N=9) by gavage for 5 days. Sulfur colloid was labeled with technetium-99m under optimum conditions with an efficiency of 99%. Quality controls were made by using Thin Layer Radio-Chromatography (TLRC) method. 1 mCi ^{99m}Tc -SC was added to blood samples withdrawn from animals 24 hours after last treatment. After 30 min incubation, samples were centrifuged and plasma (P) and blood cells (BC) were isolated. The radioactivity was counted to calculate the percentage of activity (%ATI) in BC and P. Interactions between rosemary and radiopharmaceutical was determined by biodistribution assay. ^{99m}Tc -SC was administrated by intravenous injection; organs/tissues were withdrawn and weighted. The radioactivity was counted to calculate the percentages of activity per gram (%ATI/g) for each organ/tissue. A significant increase ($p < 0.05$) in the uptake of ^{99m}Tc -SC in the liver after the treatment with rosemary extract was observed (%ID/g).

Keywords: *Rosmarinus Officinalis*, ^{99m}Tc -SC, rosemary

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans çalışmalarım süresince beni her zaman destekleyen, güvenen, bilgi ve tecrübesiyle beni yönlendiren Tez Danışmanım Sayın Doç. Dr. Serap TEKSÖZ' e, Ege Üniversitesi Nükleer Bilimler Enstitüsü Müdürü ve Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Perihan ÜNAK' a, destek ve yardımları için Sayın Doç. Dr. F. Zümrüt Biber MÜFTÜLER' e, büyük bir özveriyle bana değerli zamanını ayırıp her konuda yardımını esirgemeyen Araş. Gör. Dr. Çiğdem ACAR İÇHEDEF' e, tüm yardımseverliğiyle deneylerimde yanımda olan Araş. Gör. Ayfer YURT KILÇAR' a ve her zaman beni yüreklendirerek yanımda olan aileme ve arkadaşlarıma en içten teşekkürlerimi sunarım.

Eser UÇAR

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
TEŞEKKÜR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Biberiye	3
2.2 Bitkisel Drog Ekstraktlarının Eldesi	5
2.3 Radyofarmasötik.....	7
2.4 Teknesyum-99m (^{99m} Tc) Kimyası	7
2.5 ^{99m} Tc-Sülfür Kolloid.....	9
2.6 Teknesyum Radyofarmasötiklerinde Kullanılan Kalite Kontrol Yöntemleri. 10	
2.6.1 İnce Tabaka Kromatografisi(TLC).....	10
2.7 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC).....	11
2.8 Lipofilite	11

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.9 Serum Stabilite.....	12
2.10 Tc-99m ile Kan Bileşenlerinin İşaretlenmesi.....	12
3. MATERYAL VE METOD	13
3.1 Kullanılan Cihaz ve Kimyaallar.....	13
3.1.1 Kullanılan Kimyasallar	13
3.1.2 Kullanılan Cihazlar	13
3.2 Bitkisel Drog Ekstraktlarının Eldesi	14
3.3 ^{99m} Tc ile Sülfür Kolloid İşaretlenmesi	15
3.4 Kalite Kontrol Çalışmaları	15
3.4.1 İnce Tabaka Radyokromatografi Yöntemi(TLRC).....	15
3.4.2 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi Yöntemi(HPLC).....	16
3.5 Lipofilite Analizi.....	16
3.6 Serumda Stabilite	17
3.7 Kan Bileşenlerinin İşaretlenmesi	17
3.8 Biyodağılım Çalışmaları	17
3.9 İstatistiksel Analizler.....	18
4.BULGULAR VE TARTIŞMA	19

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
4.1 Kalite Kontrol Sonuçları.....	19
4.1.1 HPLC Yöntemi ile Elde Edilen Sonuçlar	19
4.1.2 TLRC Yöntemi ile Elde Edilen Sonuçlar	20
4.2 Lipofilite (n-oktanol/su oranı) Sonuçları.....	21
4.3 Serum Stabilite Sonuçları	22
4.4 Kan Bileşenleri İşaretleme Sonuçları	22
4.5 Biyodağılım Sonuçları.....	23
4.6 İstatistiksel Analiz Sonuçları	24
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	27
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	28
ÖZGEÇMİŞ.....	35

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Biberiye bitkisi.....	3
2.2 Biberiye yaprakları.....	4
2.3 Biberiye bitkisindeki önemli bileşenler ve biberiye ekstraktına ait HPLC kromatogramı.....	5
3.1 Ekstraksiyon düzeneği.....	15
4.1 Distilasyon yöntemiyle elde edilen biberiye ekstraktına ait HPLC kromatogramı.....	19
4.2 Ultrasonik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen biberiye ekstraktına ait HPLC kromatogramı.....	19
4.3 Metanol banyosunda $^{99m}\text{Tc-SC}$ bileşiğine ait TLRC kromatogramı.....	21
4.4 Metanol banyosunda $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 'a ait TLRC kromatogramı ...	21
4.5 $^{99m}\text{Tc-SC}$ ' in kan serumundaki stabilitesine ait grafik.....	22
4.6 Erkek Wistar Albino sıçanlarda $^{99m}\text{Tc-SC}$ ' in bazı organlardaki %ID/g oranlarına göre biyodağılım grafiği.....	33

ÇİZELGE DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Bazı ^{99m} Tc radyofarmasötikleri ve kullanıldıkları hedef 8 organlar.....	
3.1 HPLC çalışmasında kullanılan parametreler.....	16
4.1 ^{99m} Tc-SC için TLRC R _f değerleri.....	20
4.2 Kan bileşenleri üzerinde radyoaktivitenin dağılımı.....	22
4.3 Varyans analizi sonucuna göre erkek sıçanlar ile yapılan biyodağılım çalışmalarında bazı organlara ait P ve r (korelasyon katsayısı) değerleri.....	25
4.4 Pearson korelasyonuna göre erkek sıçanlar ile yapılan biyodağılım çalışmalarında bazı organlara ait P değerleri.....	26

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
$^{99m}\text{Tc-DTPA}$	Teknesyum dietilentriamin pentaasetik asit
$^{99m}\text{Tc-MDP}$	Teknesyum sodyum metilen difosfonat
$^{99m}\text{Tc-HMPAO}$	Teknesyum heksametilen propilen aminoksim
$^{99m}\text{Tc-SC}$	Teknesyum sülfür kolloid
$^{99m}\text{Tc-MIBI}$	Teknesyum metoksiizobütilizonitril
R_f	İlerleme mesafesi (Relative Front)
R_t	Alıkonma zamanı (Retention time)
TLRC	İnce tabaka radyokromatografisi
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
$[\text{}^{99m}\text{TcO}_4]^-$	Perteknetat
Tc_2S_7	Teknesyum heptasülfit
%ID/g	Gram başına düşen aktivite
rpm	dakikadaki devir sayısı (revolution per minute)

1.GİRİŞ

Son yıllarda kansere neden olan etkenlerin artması, kanser hastalarının ve kanser çeşitlerinin sayısını artırmaktadır. Bu durum kanser teşhis ve tedavisinde sürekli olarak yeni yöntemlerin geliştirilmesi çabasının itici gücü olmuştur. Bununla birlikte halk arasında tıbbi bitkilerin kullanımı bu hastalığın tedavisi sırasında alternatif çözüm olarak görülmektedir.

Radyofarmasötikler, nükleer tıpta kanserin teşhis ve tedavisinde kullanılan, radyonüklitlerle işaretlenmiş ilaçlardır. Teknesyum-99m uygun yarı ömür ve gama enerjisine sahip olması nedeniyle görüntüleme amacıyla tercih edilen bir radyonüklitdir. Günümüzde Tc-99m radyofarmasötikleri birçok hedef organın görüntülenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Nükleer tıpta doğal ya da sentetik ilaçların radyofarmasötiklerin işaretlenmesini ve biyodağılımını etkilediği bulgularla belirtilmiştir. Bununla birlikte ilaçların yanı sıra çeşitli bitkiler de birçok hastalığın tedavisinde alternatif olarak yıllardır kullanılmaktadır. Ancak çoğu tıbbi bitkinin biyolojik etkileri ve ilaç etkileşimi tam olarak anlaşılmamaktadır. Bir görüntüleme radyofarmasötığının bitki etkileşimlerinin bilinmesi, daha sağlıklı görüntüleme alınmasına ve daha doğru teşhis konulmasına olanak sağlar. İstenmeyen sonuçlar doğuran etkileşimlerin sebepleri; i) radyofarmasötik modifikasyonu, ii) işaretleme verimindeki değişiklikler iii) hedef doku modifikasyonu iv) hedef olmayan doku modifikasyonu v) radyofarmasötiklerin kan proteinlerine bağlanmasındaki değişikliklerdir (Gomes et al., 2002).

Bitki kökenli ilaç-radyofarmasötik etkileşimine dayalı olarak bitkisel ilaçların, radyofarmasötiklerin bazı organlar tarafından tutulumunu değiştirdiği ve bu doğal ürünleri kullanan hastalara ait Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT) görüntülerindeki değişikliklerin incelendiği birçok çalışma mevcuttur (Abreu et al., 2006; Oliveira et al., 2002; Diré et al., 2003; Santos-Filho et al., 2004; Moreno et al., 2004; Benarroz et al., 2007; Diniz et al., 2008). Ayrıca bazı araştırma grupları tarafından *Thuya Occidentalis* (Oliveira et al., 1996), *chayotte* (Dire et al., 2001), *Maytenus ilicifolia* (Oliveira et al., 2000) ve *Paullinia cupana* (Oliveira et al., 2002) bitki ekstraktlarının ^{99m}Tc' un kan bileşenlerine bağlanmasında değişikliklere neden olabildiği belirtilmiştir.

Enstitümüzde bitkisel kökenli bir ilaç olan Passiflora şurubu ile bir böbrek görüntüleme radyofarmasötiği olan $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ ' nın etkileşimi incelenmiştir. Bu doğrultuda denek ve kontrol gurubu sıçanlar üzerinde gerçekleştiren biyodağılım ve kan hücrelerinin işaretlenmesi çalışmaları sonucunda $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ ' nın böbrekteki tutulumunda fark edilir bir azalmaya neden olduğu sonucuna varmışlardır (Zora, 2010).

Bu çalışmanın temel amacı, kanser önleyici aktiviteye sahip Lamiaceae familyasından olan biberiye yaprak ekstraktının bir görüntüleme radyofarmasötiği olan $^{99m}\text{Tc-SC}$ ' in ($^{99m}\text{Tc-sülfür}$ kolloid) biyodağılımına ve radyoışaretili kan bileşenlerindeki aktivite miktarına etkisini incelemektir.

Bu kapsamda, aktardan temin edilen kurutulmuş biberiye yaprak ekstraktları hem distilasyon, hem de ultrasonik ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilmiştir. Radyo işaretleme için pH, sıcaklık gibi koşullar belirlenerek sülfür kolloidin ^{99m}Tc ile işaretlenmesi sağlanmıştır. Erkek Wistar Albino sıçanlarla oluşturulan denek grubu, 5 gün süresince gavaj tekniğiyle oral yoldan düzenli olarak aynı miktarda biberiye (rosemary) ekstraktı ile aynı şekilde kontrol grubu ise su ile doyurulmuştur. Bu çalışmanın sonucunda deney hayvanlarından alınan kan örneklerine $^{99m}\text{Tc-SC}$ eklenip inkübe edildikten sonra serum ve kan hücreleri ayrılmıştır. Tek kanallı Cd(Te) yarı iletken dedektöründe örneklerin radyoaktiviteleri ölçülmüş ve radyoaktivite yüzdeleri hesaplanmıştır. Biyodağılım çalışmaları aynı şekilde denek ve kontrol gruplarıyla gerçekleştirilmiştir. Her bir organ için gram başına düşen doz değerleri hesaplanmıştır. Denek ve kontrol gruplarından alınan sonuçlar karşılaştırılarak $^{99m}\text{Tc-SC}$ radyofarmasötiği ile biberiye ekstraktı etkileşiminin biyodağılım ve kan bileşenlerindeki aktivite sonuçları değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Biberiye

Biberiye (*Rosmarinus Officinalis L.*), Lamiaceae familyasının en yüksek antioksidan özelliğe sahip türüdür. Ülkemizde park ve bahçelerde süs bitkisi olarak kullanılan, küçük ve lineer yapraklara sahip, aromatik, her mevsim yeşil olan bir çalıdır. Güney Avrupa, özellikle Akdeniz Bölgesinin kuru sıcak iklime sahip kayalık tepelerine özgü bir bitkidir. Ortalama 1.5 m' ye kadar büyüeyebilen biberiye bitkisi, Mart – Kasım ayları arasında çiçeklidir. Tohumlar ise Ağustos – Kasım ayları arasında olgunlaşır. Küçük, açık mavi renkteki kokulu çiçekleri erseliktir. Şekil 2.1' de biberiye bitkisinin genel görünüşü görülmektedir.



Şekil 2.1. Biberiye bitkisi.

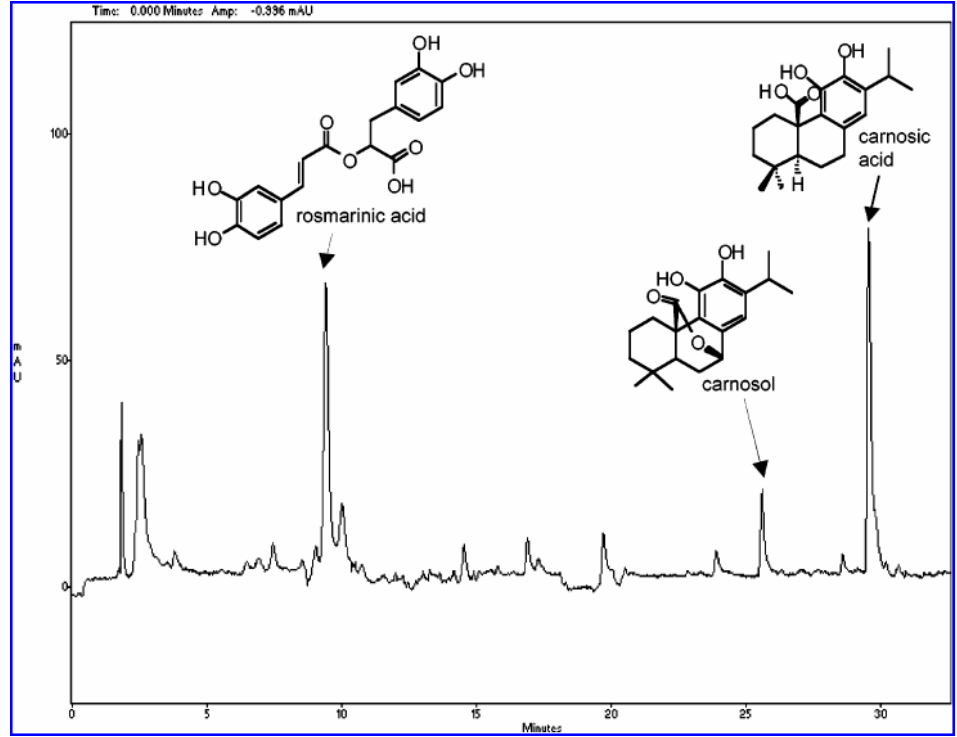
Şekil 2.2' de görülen biberiye yaprakları %1.0-2.5 uçucu yağ içermektedir. Önemli bileşenler, α -pinen (%25), 1.8-sineol (%12-50), kafur (%10-25), kamfen (%5-10), borneol (%1-6), bornil asetat (%1-5) ve α -terpineoldür (%12-24).



Şekil 2.2 Biberiye yaprakları.

Biberiyenin antioksidan özellikte bileşikler içerdiği bilinmektedir. Biberiyenin içerdiği önemli bileşenler ve biberiye ekstraktına ait tipik bir HPLC kromatogramı Şekil 2.3' te görülmektedir (Wellwood, 2004). Karnosik asit ve rozmarinik asit gibi bileşiklerin en aktif antioksidanlar olduğu ve bunların bozunma ürünleri rozmanol, galdosol ve karnosolün de antioksidan aktivite gösterdiği belirtilmiştir.

Biberiye antioksidan içeriğine bağlı olarak çok geniş biyolojik aktiviteye sahiptir. Çok eski zamanlardan beri dünyanın her yerinde birçok rahatsızlığın tedavisinde bu bitkiden yararlanılmıştır. Ortaçağa ait birçok incelemede ve literatürde tıbbi bitki ve mucize ilaç olarak geçmektedir. En çok sindirimi kolaylaştırıcı, kan basıncını yükseltici, yara iyileştirici, spazm önleyici, ağrı kesici, solunum bozukluklarını rahatlatıcı, adet hızlandırıcı olarak kullanılmaktadır. Çin' de baş ağrısı, uykusuzluk ve zihin yorgunluklarında önerilir. Hindistan' da antimigren ve gaz giderici özellikleri için kullanılır. Ekvator' da ise biberiye çiçekleri romatizmal ağrılarda bitkisel yağ içerisinde pişirilip sürülerek kullanılmaktadır.



Şekil 2.3 Biberiye bitkisindeki önemli bileşenler ve biberiye ekstraktına ait HPLC kromatogramı (Wellwood, 2004)

Biberiye yaprakları, likör yapımında ve etleri marine etmek amacıyla kullanılır. Ayrıca antioksidan özelliği nedeniyle sosislerin hazırlanmasında kullanılır. Hayvanlarla yapılan toksisite çalışmalarında antioksidan olarak gıdalara katıldığında zararsız olduğu belirtilmiştir.

Biberiye yağı, hoş kokulu içeriğinden dolayı temizlik ürünlerinde, deterjanlarda ve böcek öldürücülerde kullanılır (Garima and Goyal, 2007; Çelikaş, 2005; Seçmen ve ark, 1995; Grieve, 1971; S. Albu et al., 2004; Hanafy and Hassan, 2010).

2.2 Bitkisel Drog Ekstraktlarının Eldesi

Bitkisel drog ekstraktları distilasyon ve ultrasonik ekstraksiyon gibi yöntemler kullanılarak elde edilmektedirler.

Distilasyon, su ile temas ederek kaynamakla bozunmayan bitkiler için tercih edilen bir ayırma yöntemidir.

Ekstraksiyon, bitkisel droglardan istenilen bileşenleri elde etmek için çeşitli çözümler kullanılarak gerçekleştirilen diğer bir ayırma yöntemidir. Genel olarak sıvı-sıvı ve katı-sıvı ekstraksiyon olarak sınıflandırılmaktadır. Katı-sıvı ekstraksiyonu, bir katıdaki bir ya da birden fazla maddenin uygun bir sıvı çözücü tarafından seçici olarak çözülerek ayrılmasıdır. Bitkisel droglar hücreli yapıya sahip olmaları nedeniyle diğer inorganik maddelerin ekstraksiyonundan farklılık gösterirler.

Bitkisel ürünlerin ekstraksiyonu sonucu elde edilen ekstraktlar, yağları, fitokimyasalları, biyoaktif bileşikler, aromatik ve renk verici bileşenleri içermektedir. Bununla birlikte antioksidan içeriği ispatlanmış bitkiler insan sağlığı üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle önemlidirler. Antioksidan içerikli bitkisel ürünlerin ekstraksiyonu genellikle çözücü karışımları kullanılarak yapılır. Ultrason destekli sistemlerin ekstraksiyonda kullanımı konusundaki çalışmalar son yıllarda giderek artmaktadır.

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi, ekonomik olması, antioksidan bileşenlerin bitkilerden ekstraksiyonunda uygulama süresinin kısa olması ve daha az miktarda çözücü kullanılması açısından geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine göre daha etkilidir. Ayrıca bu yöntem, düşük sıcaklıklarda da etkin olarak uygulanabildiğinden sıcaklığa duyarlı maddelerin ekstrakte edilmesini mümkün kılmaktadır.

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemindeki temel prensip ultrason etkisidir. Bu etki basınç dalgalarının elastik özelliklere sahip fiziksel bir ortamdan yayılması sonucu oluşur. Mekanik titreşimler, mekanik basınç dalgalarına dönüşerek enerjiyi ortama ve ortam da dalgayla temas eden maddeye aktarır. Ultrasona maruz kalan bitkisel dokularda fiziksel değişimler meydana gelmektedir. Böylece bu yöntemde bitkilerde hücre duvarları ultrason etkisiyle hasar görerek doku içindeki ekstrakte edilebilir bileşenlerin ortaya çıkması kolaylaşmaktadır. Ultrason destekli ekstraksiyon, yağ ve esansiyel yağlar, antioksidantlar gibi maddelerin ekstraksiyonunda kullanılmaktadır. (Şenol, 2003; Yavuz ve Aksoy, 2006; Tavman, 2008; Mason, 1998; Vinatoru et al., 1999; Çelikleş, 2005)

2.3 Radyofarmasötik

Radyofarmasötikler, nükleer tıpta teşhis veya tedavi amacıyla çeşitli yollarla hastaya verilen farmakolojik etkisi bulunmayan iz miktardaki radyoaktif ilaçlardır.

Radyofarmasötikler, radyonüklid ve farmasötik olmak üzere iki bileşenden meydana gelir. Radyonüklid, yayınladığı radyasyonla vücut dışından izlenebilen veya içinde bulunduğu dokuyu tedavi eden bileşendir. Farmasötik ise radyonüklidi vücut içerisinde belirlenen organ, doku veya bölgeye yönlendiren etken maddedir. Bir radyofarmasötik tasarlamak için öncelikle bir doku veya organa spesifik farmasötik seçilir. Daha sonra amaca uygun bir radyonüklid, seçilen farmasötiğe takılır. Bu işleme radyoişaretleme denir. Radyofarmasötiklerin % 95' i teşhis, % 5' i ise tedavi amacıyla kullanılır. Hastaya verilen radyofarmasötikten yayınlanan radyasyon bir dedektör ile ölçülür. İdeal bir radyofarmasötik hastanın en düşük radyasyon dozunu alacağı şekilde tasarlanmalıdır. Teşhis amaçlı kullanılacak radyofarmasötiğin sahip olası gereken özellikler;

- Kolay bulunabilmeli,
- Kısa etkin yarı ömrü olmalı,
- Parçacık radyasyonu yaymamalı (α ve β gibi),
- γ enerjisi 100-250 keV arasında olmalı,
- Hastaya minimum radyasyon dozu verirken, hastalıkların teşhisinde maksimum etkinlikte olmalı,
- Hazırlama sırasında ve kullanılırken kimyasal olarak kararlı olmalıdır (Enginar, 2002; Ünak, 2003; Çiçek, 2005).

2.4 Teknesyum-99m (^{99m}Tc) Kimyası

Periyodik cetvelin VIIB grubunda yer alan 43 atom numaralı teknesyum, 1937 yılında Perrier ve Segre tarafından siklotronda molibdenin döteryum ile bombardıman edilmesi sonucu keşfedilmiş ilk sentetik elementtir. Tüm izotopları radyoaktiftir. Molibdenin (Mo), döteryum ile bombardımanı sonucunda oluşan 65 saat yarı ömürlü izotopunun negatif beta bozunması yapması ile 6.02 saat yarı ömürlü metastabil teknesyum-99 (^{99m}Tc) elde edilir.

1965 yılında Richards ve arkadaşları tarafından Brookhaven Ulusal Laboratuvarları' nda klinik uygulamalar için $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ jeneratörü teknesyum- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ i araştırmalarda kullanılabilir duruma getirmiştir. Böylelikle bu tarihten başlayarak nükleer tıpta büyük öneme sahip ilk radyoişaretli bileşikler geliştirilmeye başlanmıştır. İlerleyen yıllarda $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ' un dünyanın her yerinde jeneratörden elde edilebilir olması ve geliştirilen işaretleme teknikleri sonucunda, teşhis amaçlı $^{99\text{m}}\text{Tc}$ radyofarmasötiklerine dayanan ilaç prosedürleri çok hızlı bir artış göstermiştir.

$^{99\text{m}}\text{Tc}$, sodyum perteknetat ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$) formunda $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ jeneratöründen kolaylıkla elde edilmektedir. Bu radyonüklid, düşük maliyeti, 140 keV' lik gama enerjisi ve 6.02 saatlik yarı ömrü gibi özelliklerinden dolayı nükleer tıpta teşhis amaçlı geniş bir kullanım alanına sahiptir. Tc-bileşiklerinin +7' den -1' e kadar 8 yükseltgenme basamağından +4 ve +7 düzeyleri en kararlı olanlarıdır. +7 yükseltgenme basamağında donör ligandlarla veya şelatlarla kompleks oluşturamayan sodyum perteknetatın daha düşük oksidasyon basamaklarına indirgenmesi için kalay klorür, kalay sitrat, kalay tartarat, konsantre HCl, ditionit, demir sülfat gibi ajanlar kullanılır.

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ herhangi bir farmasötiğe bağlanmadan serum fizyolojik içinde sodyum perteknetat formunda kullanıldığında tiroid, tükrük bezleri, mide mukozası ve testislerde tutulur. Böylelikle perteknetat ($^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$) doğrudan bu organları görüntüleme amaçlı kullanılmaktadır. Çizelge 2.1 de farklı organları görüntülemek için $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ile işaretlenerek oluşturulan önemli radyofarmasötiklerden bazıları verilmiştir (Ünak, 2003; Dilworth and Parrott, 1998; Steigman and Eckelman, 1992).

Çizelge 2.1 Bazı $^{99\text{m}}\text{Tc}$ radyofarmasötikleri ve kullanıldıkları hedef organlar

Hedef Organ	Radyofarmasötik
Kemik görüntülenmesinde	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MDP
Böbrek görüntülenmesinde	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA
Karaciğer, dalak ve kemik iliği görüntülenmesinde	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -SC
Beyin perfüzyonunun görüntülenmesinde	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HMPAO
Miyokard perfüzyon görüntülenmesinde	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBI

2.5 ^{99m}Tc - Sülfür Kolloid

Retiküloendotelyal sistem (RES) organlarının (karaciğer, dalak, kemik iliği) görüntülenmesinde kullanılan teknesyum ajanları olan kolloid yapıdaki materyaller ilk geliştirilen radyoışaretili bileşiklerdendir. Tutulumun %80-85' inin karaciğerde olması, burada bulunan ve RES' in bir bölümünü oluşturan Kupffer hücrelerinin kolloid yapıdaki bu tür materyalleri fagositoz yolu ile kandan çok etkin biçimde ekstrakte etmesine dayanır (Dilworth and Parrott, 1998). RES hücrelerinin %80-90' ı karaciğerde, %5-10' u dalakta ve geri kalanı kemik iliğinde bulunur.

Her ne kadar hazırlanışı sırasında teknesyum heptasülfid olduğu düşünülse de kimyasal olarak yapısında sülfür partikülleri bulundurur. Jelatin ya da başka ajanlar partiküllerin büyümesini bir mikrometre ya da daha küçük boyutlarda sınırlarlar (Welch and Redvanly, 2003). Kolloid çapı 100 nm' den büyük olduğunda partiküllerin %80-85' i karaciğerde tutulur. Her ne kadar çok düşük dozlarda kemik iliği görüntülemesinde kullanılsa da 20 nm' den küçük partiküller istenmeyen şekilde kemik iliğinde tutulur.

Perteknetat dışında +7 oksidasyon basamağında kullanılan tek teknesyum radyofarmasötiği teknesyum heptasülfittir (Tc_2S_7). Hazırlanışı asidik pH' ta, 100 °C suda gerçekleştirilir ve reaksiyon teknesyum heptasülfid (Tc_2S_7) ile sülfür kolloid oluşumuna dayanır. 10 mg sodyum tiosülfat pentahidrat, 2 mg sülfür kolloid oluşmasını sağlar. ^{99m}Tc çözelti hacmi 5mL' den, aktivitesi ise 10 mCi' den az olmamalıdır.

$^{99m}\text{Tc-SC}$ ' in partikül boyutu ortalama 0.3 ile 0.8 μm arasında dağılım gösterir.

Düşük kolloid oluşumuna neden olan etkenler; pH, düşük sıcaklıkta ısıtma, yetersiz ısıtma süresi, büyük çözelti hacmi, çözelti hazırlanırken yapılan hata ve kit formülasyonundaki bozuklukla ilişkilidir.

$^{99m}\text{Tc-SC}$ hastaya gastroduodenal motor aktivitenin incelenmesi ve sindirim geçişi görüntülenmesi için oral yoldan, karaciğer, dalak ve kemik iliği görüntülenmesi için intravenöz enjeksiyon yoluyla uygulanır (Zolle, 2006).

2.6 Teknesyum Radyofarmasötiklerinde Kullanılan Kalite Kontrol Yöntemleri

Teknesyum radyofarmasötiklerinde kalite kontrol, kromatografik ve organik çözüme dağılım ile belirlenebilmektedir.

Genel anlamda kromatografi karışımlardaki kimyasal bileşiklerin ayrılması, tanınması ve tayini için kullanılan analitik bir yöntemdir. Radyofarmasötiklerde, özellikle Tc-99m ile işaretli radyofarmasötiklerde işaretlenme verimi ince tabaka kromatografisi (TLC) ile belirlenir. Aynı şekilde diğer bir kalite kontrol yöntemi olan yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile bağlanma verimi, radyokimyasal saflık, bileşenleri ayırma gibi nitel ve nicel analizler yapılabilmektedir.

2.6.1 İnce Tabaka Kromatografisi (TLC)

Bu yöntemde sabit faz, destek maddesi (alüminyum, plastik, cam gibi) üzerine bir adsorbanın (selüloz, silikajel ve alüminyum oksit gibi maddeler) kaplanmasıyla oluşturulmuş 20x20 cm boyutlarında TLC plakalarıdır. Hareketli faz ise hekzan, kloroform, n-bütanol, aseton, dietil eter, izopropil alkol gibi organik maddelerdir. İnce tabaka kromatografisinde 1.5x10 cm boyutlarında kesilen plakaların 0.5 cm' deki uygulama noktasına mikrolitre (μL) düzeyinde örnek damlatılır ve içerisinde uygun çözüme bulunan banyoya daldırılır. Çözgen, TLC plakasında istenilen mesafeye ulaştığında plaka alınır ve oda sıcaklığında kurutulur. Başlangıç noktası ile çözücünün son seviyesi arasındaki mesafe ölçülür.

Her bir radyokimyasal bileşenin taşınım mesafesi R_f (relative front) değeriyle ifade edilir. Bu değer; her madde için adsorban, destek madde ve çözüme bağlı olarak ayırt edici bir özelliktir (Theobald, 1989).

$$R_f = \frac{\text{Radyokimyasal bileşenin ilerlediği uzaklık}}{\text{Çözgenin ilerlediği uzaklık}}$$

Sayımlar sonucunda tespit edilen R_f değerleri radyofarmasötüğün radyokimyasal saflığının hesaplanmasında önem taşırlar. İnce tabaka kromatografisi, kimyasal bileşiklerin sınıflandırılmasında diğer kromatografi yöntemlerine göre cihaz maliyetinin düşük olması ve küçük miktarlarda çözüme ve örnek kullanılması nedeniyle ekonomik bir yöntemdir. Kısa analiz süresi ve aynı anda 20 örneği ayırabilme kabiliyeti gibi avantajları sebebiyle, bio-medikal ve

farmasötik alanda yaygın olarak kullanılmaktadır (Soponar et al., 2008; Johnson et al., 2007).

2.7 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile saflık, bileşen ayırma, tanımlama ve derişim tayini yapılabilir. HPLC yöntemi, içleri durgun fazı oluşturan katı parçacıklarla dolu kolonlara basınç uygulanması ile örnek maddenin bileşenlerinin kolonda alıkonma sürelerinin (R_t) belirlenmesine dayanır. Alıkonma süresi her madde için özeldir ve bileşenlerin tespitinde esas dikkate alınan parametredir. HPLC cihazları başlıca; hareketli faz kapları, pompa sistemleri, numune enjeksiyon sistemi, yüksek sıvı kromatografi kolonları ve dedektör kısımlarından oluşur (Gündüz 1999, Yılmaz, 2002; Ahuja 2006). Radyoşaretli moleküller için radyoaktivite ölçümleri cihaza haricen bağlanan Cd(Te) katı hal dedektörü ile yapılmaktadır.

2.8 Lipofilite

Lipofilite maddenin yağda çözünme eğiliminin ölçüsüdür. Lipid / su oranı şeklinde ifade edilen dağılım katsayısı ne kadar büyükse, lipid membrandan madde absorpsiyonu o kadar fazla olur (Özyazgan, 2002).

Dağılım katsayısı, seyreltik çözeltilerde denge halindeki iki faz içerisindeki örneğin molar konsantrasyonu olarak tanımlanır. Dağılım katsayısının logaritmasının n-oktanol/su sisteminde ($\log P_{o/su}$) hidrofobilité / lipofilite ölçüsü olarak sıkça kullanılmasıyla önemli bir fizikokimyasal parametre haline gelmiştir. Bugün $\log P_{o/su}$ ilaç kimyasında kullanılan en aydınlatıcı ve başarılı fizikokimyasal özellik gösterimlerinden biridir. İlaç-reseptör ve ilaç-biyolojik membran etkileşimlerini anlamaya geniş ölçüde olanak sağlamaktadır. Farmasötik, çevresel, biyokimyasal ya da ilaç tasarımı uygulamaları için geliştirilmiş nicel yapı-aktivite ilişkisi için önemli bir parametre olmuştur (Buchwald and Bodor, 1998).

Radyoşaretli bileşiklerin organik çözümlerde dağılımı alt ve üst faz oluşturulduktan sonra bu fazlardan alınan örneklerin aktiviteleri Cd(Te) dedektörü ile sayılarak deneysel lipofilite $\log P$ değeri olarak hesaplanır. Teorik lipofilitelere ise ACD (Advanced Chemistry Development) programı yardımıyla bulunabilmektedir.

2.9 Serum Stabilite

Serumda stabilite çalışmaları bileşiğin in vivo kararlılığının tahmin edilmesi amacıyla yapılan bir çalışmadır. Çalışma serum kullanılarak gerçekleştirilir. Farklı zaman dilimlerinde örneklemeler yapılarak 24 saatte sonlandırılır. Bu 24 saatlik süre boyunca serum ve kararlılığı araştırılan örnek karışımı 36-37 °C de tutulur.

2.10 Tc-99m ile Kan Bileşenlerinin İşaretlenmesi

^{99m}Tc ile işaretli kan bileşenleri nükleer tıpta kardiyovasküler sistemin görüntülenmesi, gastrointestinal iç kanama dedeksiyonu, intramasküler hemanjiyom lokalizasyonunun belirlenmesi gibi önemli uygulamalarda çok geniş kullanım alanına sahiptir. ^{99m}Tc ile kan bileşenlerinin işaretlenmesi, in vivo, in vitro ya da her ikisinin kombinasyonu halinde yapılabilir. İşaretlemede kalay(II) iyonları indirgeyici ajan olarak kullanılmaktadır. Kalay(II) iyonu konsantrasyonunun kırmızı kan hücrelerinin işaretlenmesinde bariz bir etkisi vardır. Bir mililitre kan başına 0.03-0.15 mg iyon konsantrasyonunda optimum işaretleme verimi alınmaktadır. Bu konsantrasyon aralığından her hangi bir sapma işaretleme veriminin %20'lere kadar inmesine sebep olmaktadır. Ayrıca bu yöntemde etki edebilecek durumlar aşağıda verilmiştir.

- İlgili iyonların doğrudan engellenmesi,
- Morfolojik ve morfometrik değişikliklerle kan bileşenlerinde hasar başlaması,
- Fiziksel değişikliklerle kan bileşenlerinde hasar oluşması,
- Kan bileşenlerinin bağlanma yerlerine iyonların birbirleriyle yarışması,
- Plazma proteinleri bağlanma yerlerine iyonların birbirleriyle yarışması,
- Kalay iyonunun yükseltgenmesiyle radikal oluşumu,
- Kalay iyonunun doğrudan yükseltgenmesi (Gomes et al., 2002).

3. MATERYAL VE METOD

3.1 Kullanılan Cihaz ve Kimyasallar

3.1.1 Kullanılan kimyasallar

- * Sodyum Perteknetat, $\text{Na}[\text{}^{99\text{m}}\text{TcO}_4]$, (Monrol A.Ş.),
- * Serum Fizyolojik (SF) (%0.9 NaCl)
- * Metanol (CH_3OH) (Merck),
- * ITLC-SG (Merck-5554),
- * Asetonitril (Merck)
- * 125mm Filtre Kağıdı (Whatman Int. Ltd.)
- * Sodyum tiyosülfat pentahidrat (Fluka)
- * Asetik Asit (CH_3COOH) (Merck)
- * Amonyak (Merck)
- * N-oktanol (Merck)
- * pH 7 tamponu (Merck)

3.1.2 Kullanılan cihazlar

* RAD-501 Cd(Te) tek kanallı gama sayım sistemi (E.Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı),

* RadyoTLC (Bioscan AR2000, E.Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı),

* HPLC Shimadzu (LC-10Atpv quaterner pompalı, SPD-10AV UV dedektörlü, FRC-10A fraksiyonlama kollektörü) (E.Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı),

* Ultrasantrifüj cihazı (Hettich Rotina 38R Soğutmalı Santrifüj) (E.Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı).

* Liyofilizasyon Cihazı (E.Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Bilimler Anabilim Dalı)

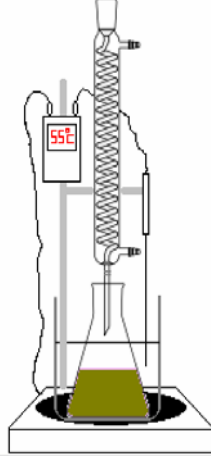
* Heidolph Manyetik Karıştırıcı Isıtıcı (E.Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Bilimler Anabilim Dalı)

* Ultrasonik Banyo CEIA CP104 (E.Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Bilimler Anabilim Dalı)

3.2 Bitkisel Drog Ekstraktlarının Eldesi

Ekstraksiyon çalışmalarında distilasyon ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemleri denenmiştir.

Bu aşamada öncelikle distilasyon yöntemi ile biberiye ekstraktları elde edilmiştir. Distilasyon yönteminde, öğütülüp pudra haline getirilen biberiye yaprakları (30 g), cam balon içerisine konup üzerine 200 mL su ilave edilmiştir. Daha sonra Şekil 3.1' deki düzenek kurulup 36 saat boyunca, 55 °C sabit sıcaklıkta manyetik karıştırıcıda distilasyon gerçekleştirilmiştir. Soğuk su sirkülasyonu ile sistemin sürekli soğutulması sağlanmıştır. Elde edilen örnek, 125 mm Whatman filtre kağıdı ile süzülüp buzdolabında -20 °C' de dondurulduktan sonra liyofilizatörde kurutulmuştur.



Şekil 3.1 Ekstraksiyon düzeneği

Ultrason destekli ekstraksiyon yönteminde ise öğütülüp pudra haline getirilen biberiyeden üç erlen içerisinde 5'er gram tartılıp her birine 100 mL etanol ilave edilmiştir. Daha sonra 30, 60 ve 120 dakika ultrasonik banyoda sıcaklık buz ilavesi ile 50 °C'de sabit tutularak bekletilmiş, 47 mm selüloz asetat 0.2 µm membran kullanılarak vakum altında filtre edilmiştir. Örneklerden 5'er mL ayrılıp cam tüplere konup etiketlenerek buzdolabında +4 °C' de saklanmıştır.

3.3 ^{99m}Tc ile Sülfür Kolloid' in İşaretlenmesi

^{99m}Tc-SC' in hazırlanışı Bölüm 2.5' te açıklandığı gibi asidik pH' ta ve 100 °C suda gerçekleştirildi. Bunun için öncelikle 8 mCi/500 µL ^{99m}TcO₄⁻ üzerine 300 µL 1M H₂SO₄ ilave edilip pH kontrolü yapılmıştır (pH=1). 4 mg sodyum tiyosülfat pentahidrat (Na₂O₃S₂5H₂O) üzerine bu çözülden 400 µL ilave edilip serum fizyolojik ile 1 mL' ye tamamlanmıştır. Oluşan çözelti, 10 dk 100 °C sıcaklıktaki suda bekletildikten hemen sonra buz banyosunda soğumaya bırakılmış ve son olarak pH 6' ya ayarlanmıştır.

3.4 Kalite Kontrol Çalışmaları

3.4.1 İnce tabaka radyokromatografi yöntemi (TLRC)

İnce tabaka radyokromatografisi için sabit faz olarak 0.1 mm kalınlıkta 20x20 cm boyutlarında ITLC-SG (Merck – 5554) silikajel kaplı alüminyum plakalar 1.5x10 cm' lik şeritler halinde kesilmiştir. Hazırlanan şeritlerin 0.5 cm' deki uygulama noktasına mikrolitre düzeyinde örnekler damlatılıp bu kısım sıvı üzerinde kalacak şekilde içerisinde uygun çözügen olarak %85 metanol bulunan

TLC tankına yerleştirilmiştir. Çözgenin yaklaşık 8-9 cm ilerlemesinden sonra şeritler çıkarılıp yürüme mesafeleri işaretlenmiş ve oda sıcaklığında kurutulmuştur. Daha sonra olası kontaminasyonları önlemek amacıyla TLC kâğıtlarının her iki yüzeyi şeffaf bantla kaplanmış ve Bioscan – AR2000 cihazı ile kromatogramlar alınmıştır. Kromatogramlardan yararlanarak $^{99m}\text{Tc-SC}$ ' in taşındığı R_f değerleri ve işaretleme verimleri belirlenmiştir. TLRC kromatogramları 4. bölümde ayrıntılı olarak verilmiştir.

3.4.2 Yüksek performanslı sıvı kromatografi yöntemi (HPLC)

HPLC çalışmaları Nucleodur 100-5 C18 RP-C18 (250 x 4,6 mm I.D.) (Macharey - Nagel) kolonu kullanılarak üzerinde Cd(Te) katı hal dedektörlü RAD 501 tek kanallı analizör ve (SPD-10AV)UV-VIS dedektörü bulunan Shimadzu LC-10Atpv sisteminde gerçekleştirilmiştir. Mobil faz (solvent A) metanol, (solvent B) 850 mL 10 mM asetik asit + 150 mL asetonitril olacak şekilde ayarlanmıştır. Örneklere ilişkin alınan kromatogramlar 4. bölümde, çalışmada kullanılan parametreler ise Çizelge 3.1' de verilmiştir.

Çizelge 3.1 HPLC çalışmasında kullanılan parametreler

Yöntem Parametreler	Ultrasonik Ekstraksiyon Yöntemi	Distilasyon Yöntemi
Sıcaklık	30°C	30°C
Enjeksiyon Hacmi	20µl	20µl
Akış Hızı	1.5ml / dk	1ml / dk
Dalgaboyu	285nm	254nm

3.5 Lipofilite Analizi

$^{99m}\text{Tc-SC}$ kompleksinin lipofilitesinin bulunması amacıyla n-oktanol ve pH 7 tamponu kullanılmıştır. Santrifüj tüpüne, eşit miktarda (0.3mL) n-oktanol ve pH 7 tamponu üzerine 0.1 mL $^{99m}\text{Tc-SC}$ kompleksinden eklendikten sonra 1 dakika vortekslenmiş, ardından dakikada devir sayısı 2500 rpm olacak şekilde 30 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrası karışımda iki ayrı faz oluşmuştur. Hem alt fazdan hem de üst fazdan 100' er µL alınarak Cd(Te) dedektörü ile aktiviteleri sayılmıştır. Aynı işlemler üç kez tekrarlanmıştır. Sonuçlar 4. bölümde verilmiştir.

3.6 Serumda Stabilite

Bu aşamada işaretli bileşiğin serumda davranışı izlenmiştir. Bu amaçla $^{99m}\text{Tc-SC}$ ' den 100 μL (10 μg) alınıp 300 μL kan serumuna eklenmiş ve 24 saat 37 °C' de inkübe edilmiştir. Belirli zaman aralıkları ile örnekler alınmış ve TLRC yöntemi ile işaretli bileşiğin kan serumundaki davranışı izlenmiştir. Bu bölüme ait deneysel çalışma üç kez tekrarlanmıştır. Bu çalışmaya ait bulgular Bölüm 4' te verilmiştir.

3.7 Kan Bileşenlerinin İşaretlenmesi

Kan hücrelerini teknesyum-99m ile işaretleme yöntemi ilaçların biyolojik etkilerini değerlendirmede sık kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde biberiye ekstraktının radyoişaretli kan bileşenleri üzerine etkileri incelenmiştir. 5 gün boyunca 9' ar adet biberiye ekstraktı ile doyurulan denek grubu ve su ile doyurulan kontrol grubundan her bir erkek Wistar Albino sıçanın kalbinden 0.5' er mL kan alınmıştır. Örnekler 1 mCi $^{99m}\text{Tc-SC}$ eklenerek 30 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra örnek devir sayısı dakikada 2500 rpm olacak şekilde 5 dakika santrifüj edilip Serum (S) ve kan hücreleri (BC) ayrılmıştır. Cd(Te) dedektöründe örneklerin radyoaktivitelerine bakılmış ve radyoaktivite yüzdeleri hesaplanmıştır. Sonuçlara ilişkin değerler Bölüm 4' te verilmiştir.

3.8 Biyodağılım Çalışmaları

Biyodağılım çalışması Ege Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulundan alınan 2010-63 sayılı onay belgesi doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Bölüm 3.7' de açıklandığı gibi kalplerinden kan alındıktan bir gün sonra biyodağılım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Oral yoldan gavaj tekniği ile kontrollü çevre ve oda koşullarında beslenen 18 adet Wistar Albino sıçandan 9 tanesi ağırlığına göre hesaplanan miktarlarda 5 gün boyunca biberiye ekstraktı (750 mg/kg), diğer 9 tanesi ise kontrol grubu olarak su ile doyurulmuştur. Kan bileşenlerinde aktivite miktarının tayini çalışmalarının sonrasında gün 1 mCi ^{99m}Tc ile işaretli 10 μg sülfür kolloid her bir hayvana kuyruk veninden enjekte edilmiştir. Enjeksiyon öncesi ve sonrası enjektör aktiviteleri Cd(Te) dedektörü ile sayılmıştır. Daha sonra sıçanlar sodyum pentobarbital ile sakrifiye edilerek organları önceden daraları alınmış küçük kaplar içerisine alınmıştır. Her organa ait tartım değerleri belirlenerek aktiviteleri Cd(Te) dedektörü ile ikişer kez alınmıştır. Her bir organ için gram başına düşen doz değerleri (%ID/g) hesaplanmıştır. Bu

verilere dayanarak Excel programında aktiviteye karşı biyodağılım grafiği elde edilmiştir. Biyodağılım alışması sonuçlarına ilişkin grafik Bölüm 4.4' te verilmiştir.

3.9 İstatistiksel Analizler

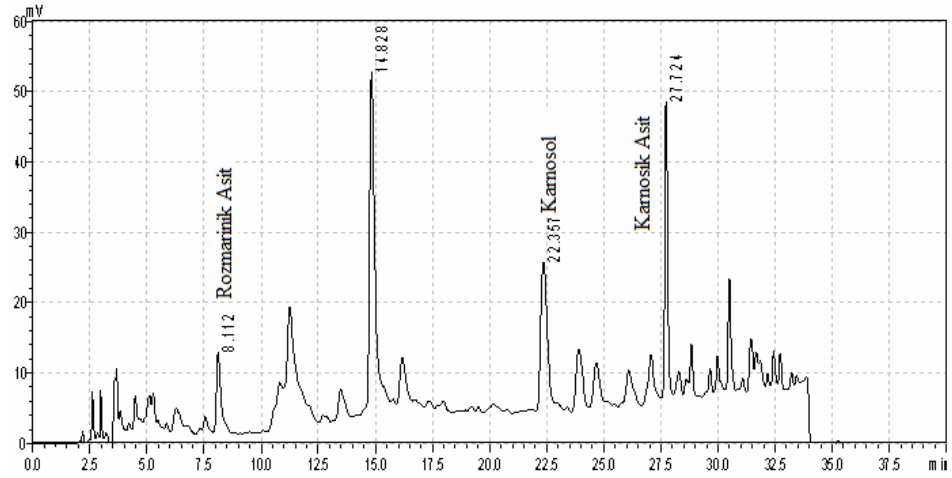
Biyodağılım alışmaları sonucunda elde edilen veriler istatistiksel olarak SPSS 16 programında değerlendirilmeye çalışılmıştır. Tüm verilerin varyans analizleri (Univariate Variance Analyses) yapılarak değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme sonuçları Bölüm 4' te bulunmaktadır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

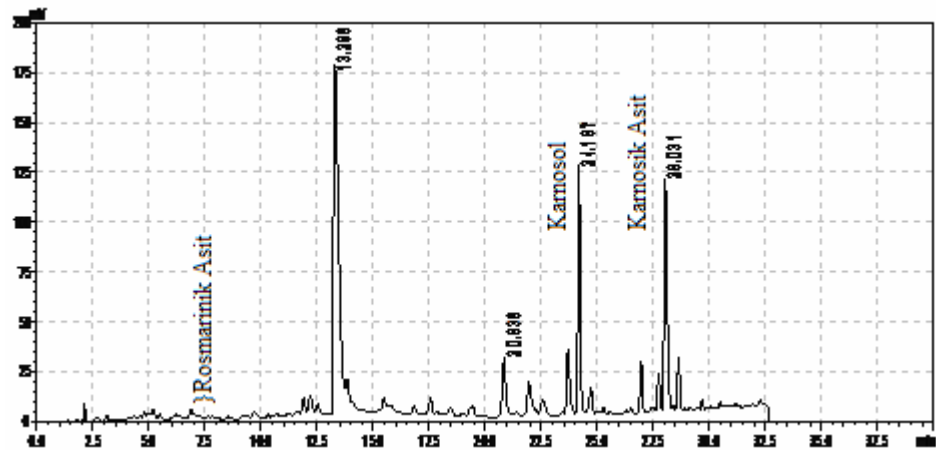
4.1 Kalite Kontrol Sonuçları

4.1.1 HPLC yöntemi ile elde edilen sonuçlar

Bölüm 3.4.2’ de verilen koşullarda gerçekleştirilen HPLC analizlerinden, distilasyon yöntemi ve ultrasonik destekli yöntem ile elde edilen biberiye ekstraktlarına ait kromatogramlar Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’ de görülmektedir.



Şekil 4.1 Distilasyon yöntemiyle elde edilen biberiye ekstraktına ait HPLC kromatogramı



Şekil 4.2 Ultrasonik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen biberiye ekstraktına ait HPLC kromatogramı

Distilasyon yöntemine göre elde edilen ekstraktlarda (Şekil 4.1) rosmarinik asitin R_f değeri 8.1 dakika, karnosolün R_f değeri 22.3 dakika, karnosik asite ait R_f değeri ise 27.7 dakika şeklinde. Literatürle karşılaştırıldığında distilasyon yöntemi ile gerçekleştirilen biberiye ektraktı için verilen kromatogram bu çalışmada aynı yöntemle elde edilen biberiye ektraktı kromatogramı ile uyum içerisindedir (Çeliktaş, 2005). Ultrasonik ekstraksiyon yöntemine göre elde edilen ekstraktlarda ise benzer olarak karnosik asit ve karnosolün R_f değerleri sırasıyla 28.0 ve 24.1 olarak görülmektedir (Şekil 4.2). Bu nedenle bundan sonraki deneysel aşamalarda distilasyon yöntemiyle elde edilen biberiye ekstraktları kullanılmıştır.

4.1.2 TLRC yöntemi ile elde edilen sonuçlar

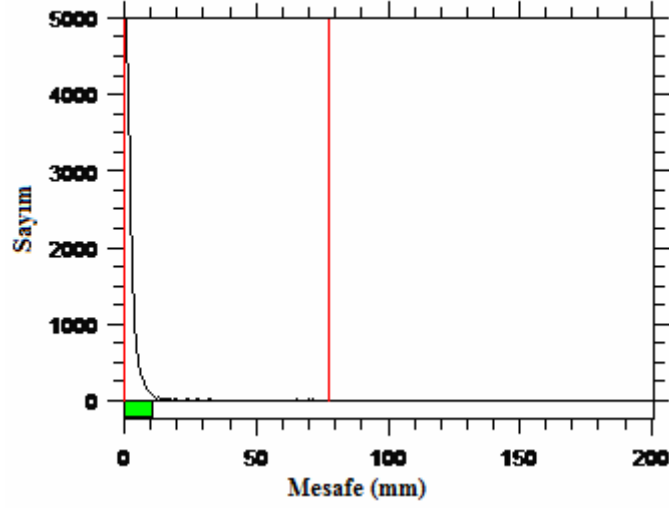
Bölüm 3.3' te gerçekleştirilen sülfür kolloidi ile teknesyum-99m radyoışaretleme kalite kontrolü TLRC yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

Bu aşamada aseton ve metanol banyo çözeltilerinde hem selüloz hem de silikajel TLRC plakaları kullanılmıştır. Kromatogramlardan yararlanarak $^{99m}\text{Tc-SC}$ ' in taşındığı R_f değerleri ve işaretleme verimleri belirlenmiştir. Aseton ve metanol banyoları için R_f değerleri Çizelge 4.1' de kromatogramlar ise sırayla Şekil 4.3 ve Şekil 4.4' te görülmektedir.

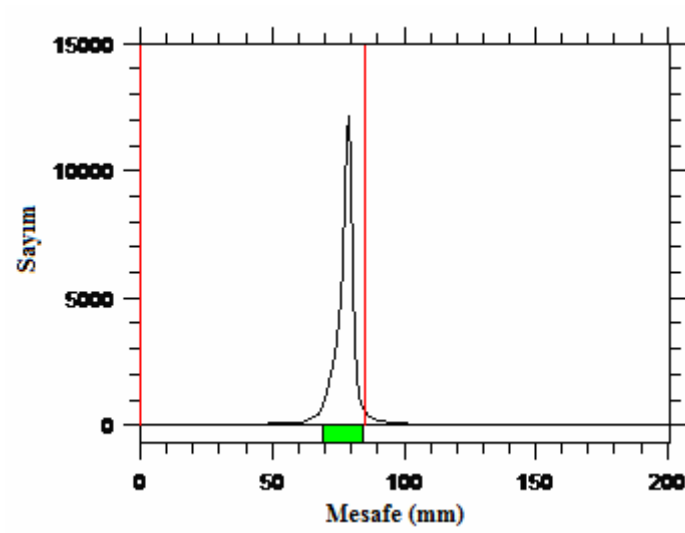
Çizelge 4.1 $^{99m}\text{Tc-SC}$ için TLRC R_f değerleri

TLC Banyo	Selüloz	Silikajel
Metanol	0.013-0.962	0.020
Aseton	0.013-0.980	0.015-0.953

TLRC kromatogramlarından yararlanarak işaretli bileşiğe ilişkin pikin toplam alanına karşıt gelen sayımlar, toplam sayıma bölünerek işaretli bileşiğin bağlanma verimi bulunmuştur. Alınan sonuçlardan en yüksek verim metanol banyosunda silikajel TLRC plakası ile elde edilmiştir. Bu koşullarda hesaplanan verim $\%99\pm 1$ ' dur ($n=10$).



Şekil 4.3 Metanol banyosunda $^{99m}\text{Tc-SC}$ bileşiğine ait TLRC kromatogramı.



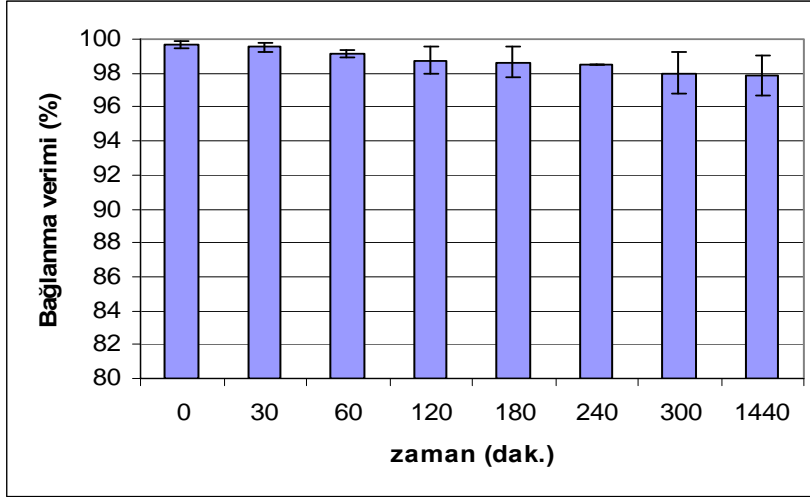
Şekil 4.4 Metanol banyosunda $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 'a ait TLRC kromatogramı.

4.2 Lipofilite (n-octanol / su oranı) Sonuçları

Lipofilite çalışmaları sonucunda radyoişaretli bileşiğin deneysel log P değeri -0.317 ± 0.07 olarak bulunmuştur ($n=3$). Bileşiğin yapısının $(\text{Tc}_2\text{S}_7) \cdot n(\text{SC})$ olduğu düşünülmektedir. n sayısının pH, sıcaklık gibi etkenlere bağlı olarak değişmesinden dolayı teorik log P değeri ACD ile hesaplanamamıştır.

4.3 Serum Stabilite Sonuçları

$^{99m}\text{Tc-SC}$ ' in insan kan serumundaki davranışına ait grafik Şekil 4.5' te gösterilmiştir. İşaretli bileşiğin birinci saat sonunda kararlılığının %98' in üzerinde olduğu ve 24 saat boyunca %98 oranında kararlılığını koruduğu gözlenmiştir (n=3).



Şekil 4.5 $^{99m}\text{Tc-SC}$ ' in kan serumundaki stabilitesine ait grafik

4.4 Kan Bileşenlerini İşaretleme Sonuçları

Günlük beslenmesinin yanı sıra biberiye ekstraktı ile doyurulan denek grubun su ile doyurulan kontrol grubuna göre kan bileşenlerindeki radyoaktivite dağılımları Çizelge 4.2' de verilmiştir. Alınan sonuçlardan görüldüğü gibi denek grupta kontrol grubuna göre kan hücrelerindeki aktivite miktarında artış olurken serumda ise azalma olmuştur.

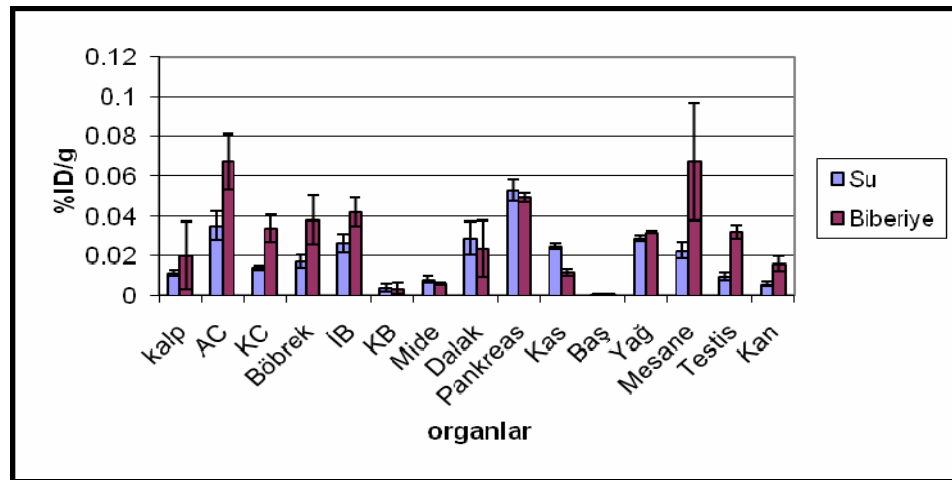
Çizelge 4.2 Kan bileşenleri üzerinde radyoaktivitenin dağılımı

% Radyoaktivite dağılımı		
(n=9)	Serum	Kan Hücreleri
Kontrol grubu	32.80 ± 7.66	67.19 ± 7.66
Denek grup	1.97 ± 0.85	98.02 ± 0.85

Genel olarak farklı bitki ekstraktlarının teknesyum ile etkileşimi incelendiği çalışmalarda kan hücrelerindeki tutulumun azaldığı, serumdaki tutulumun ise arttığı görülmektedir. Santos-Filho ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada biberiye ile aynı familyadan olan *Mentha crispera* bitki ekstraktları ile teknesyum-99m etkileşimi incelenmiş ve kan hücrelerinde radyoaktivite dağılımında azalma görülürken serumda ise yükselme olduğu rapor edilmiştir (Santos-Filho et al., 2004). Sonuç olarak bizim çalışmamızdan alınan bu farklı sonucun teknesyuma bağlanan sülfür kolloidinden kaynaklandığı düşünülebilir. Oliveira ve arkadaşları tarafından *Maytenus ilicifolia* bitkisinin farklı konsantrasyonlarda (30, 50, 100, 200 mg/mL) ekstraktları ile yapılan araştırmada bitkinin ^{99m}Tc ile işaretli kan bileşenlerinde değişikliğe yol açtığı belirtilmiştir. Sağlıklı gönüllülerden alınan örnekler üzerinde yapılan deneylerde kan bileşenlerindeki aktivite miktarında azalma gözlenmiş ve bunun bitki içeriğindeki oksidan özellikteki bileşenlerden kaynaklandığı düşünülmüştür (Oliveira et al., 2000). *Sechium edule* bitkisi ekstraktı ile yapılmış benzer bir çalışmada 6.25%' ten 100%' e kadar artan konsantrasyonlarda serumda radyoaktivite yüzdesinin 92.62 ± 4.88 ' den 89.14 ± 3.56 ' ya düştüğü belirtilmiştir (Feliciano et al., 2004).

4.5 Biyodağılım Sonuçları

Şekil 4.6' da erkek Wistar Albino sıçanlarda $^{99m}\text{Tc-SC}$ ' in bazı organlardaki %ID/g oranlarına göre biyodağılım grafikleri yer almaktadır.



Şekil 4.6 Erkek Wistar Albino sıçanlarda $^{99m}\text{Tc-SC}$ ' in bazı organlardaki %ID/g oranlarına göre biyodağılım grafiği.

Bu sonuçlara göre denek grupta akciğer, karaciğer, böbrek, ince bağırsak, mesane ve testislerde kontrol grubuna göre teknesyum sülfür kolloid tutulumunda fark edilir bir artış gözlenmektedir. Sülfür kolloidin karaciğer, dalak ve kemik iliği görüntüleme ajanı olduğu bilindiğine göre karaciğerdeki artış beklenen bir sonuçtur. Santos-Filho ve arkadaşlarının sadece sodyum perteknetat ve Mentha crispa ekstraktı ile gerçekleştirdiği çalışmada karaciğer, böbrek ve pankreasta tutulumun arttığı rapor edilmiştir (Santos-Filho, 2007). Biberiyenin Mentha crispa bitkisi ile aynı familyadan olduğu düşünüldüğünde bu sonuç çalışmamızdaki ile uyum içerisinde. Antioksidan özelliği olduğu bilinen Ginkgo biloba bitkisinin ekstraktı ile sodyum perteknetatın biyodağılımına etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada dişi Wistar sıçanlar 6 gün boyunca bu bitkinin ekstraktı ile beslenmiştir. Sodyum perteknetatın enjeksiyonu sonrasında yapılan biyodağılım sonucunda ekstraktın böbrek ve karaciğerdeki tutulumunda artışa neden olduğu belirlenmiştir (Moreno et al., 2004). Moreno ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada ise Uncaria tomentosa (kedi pençesi) bitkisi ekstraktının sodyum perteknetatın sıçanlardaki biyodağılımına etkisi araştırılmıştır. Bu bitki ekstresinin sodyum perteknetatın tutulumunu kalpte, pankreasta, mide ve kasta önemli ölçüde düşürdüğü rapor edilmiştir (Moreno et al., 2007).

Yapılan çalışma sonuçları incelendiğinde, tıbbi bitki olarak bilinen biberiyenin kullanımı sırasındaki teşhis amaçlı radyofarmasötik uygulamalarında, sintigrafik görüntülerin güvenilirliği, hastanın tekrarlayan radyasyon dozlarına maruz kalması ve yanlış teşhis koyulması gibi risklerin ortaya çıkmayacağı görülmektedir.

4.6 İstatistik Analiz Sonuçları

Biyodağılım çalışması sonucunda elde edilen verilerin istatistiksel analizleri (Univariate Variance Analyses) SPSS 16 programı kullanılarak yapılmış, organlar arasında Pearson korelasyonu uygulanmıştır. Anlamlılık düzeyi (P) değeri ile ifade edilecek olursa $P < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir. Buna göre $^{99m}\text{Tc-SC}$ ' in tutulumu ile organlar arasında bir ilişki tanımlanmaktadır. Çizelge 4.3' te Varyans analizi sonucuna göre erkek sıçanlar ile yapılan biyodağılım çalışmalarında bazı organlara ait P ve r (korelasyon katsayısı) değerleri, Çizelge 4.4' te ise Pearson korelasyonuna göre erkek sıçanlar ile yapılan biyodağılım çalışmalarında bazı organlara ait P değerleri verilmiştir.

- ✓ İB ile böbrek, kas, testis, prostat ve kan arasında;
- ✓ testis ile KC, AC, böbrek, İB, ve mide arasında;
- ✓ KC ile AC, mide ve kan arasında;
- ✓ böbrek ile kan,
- ✓ kalp ile KB,
- ✓ kas ile mide ve yağ arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur.

Her bir organ için yapılan varyans analizinde biberiye ekstraktının organ üzerindeki etkisi incelendiğinde akciğer, karaciğer, böbrek, ince bağırsak, kas, testis, prostat arasında mevcut istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık söz konusudur ($P < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir).

Çizelge 4.3 Varyans analizi sonucuna göre erkek sıçanlar ile yapılan biyodağılım çalışmalarında bazı organlara ait P ve r (korelasyon katsayısı) değerleri.

Organ	P Değeri	r Değeri
Akciğer	0.022	0.707
Karaciğer	0.033	0.766
Böbrek	0.024	0.700
İ. Bağırsak	0.005	0.662
Kas	0.017	0.948
Testis	0.000	0.953
Prostat	0.049	0.700

Çizelge 4.4 Pearson korelasyonuna göre erkek sıçanlar ile yapılan biyodağılım çalışmalarında bazı organlara ait P değerleri.

Organ	P Değeri
Akciğer – Karaciğer	0.050
Akciğer – Testis	0.049
Karaciğer – Mide	0.041
Karaciğer – Testis	0.033
Karaciğer – Kan	0.014
Böbrek – İ. Bağırsak	0.020
Böbrek – Testis	0.016
Böbrek – Kan	0.043
İ. Bağırsak – Kas	0.032
İ. Bağırsak – Testis	0.011
İ. Bağırsak – Prostat	0.009
İ. Bağırsak – Kan	0.016
Mide – Kas	0.029
Mide – Testis	0.043

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada sonuç olarak;

- %16 verimle biberiye ekstraktları elde edilmiştir.
- %99±1' in üzerinde verimle ^{99m}Tc-SC işaretlenmesi sağlanmıştır.
- Erkek Wistar Albino sıçanlardan denek grubu 5 gün boyunca biberiye ekstraktı ile, kontrol grubu ise su ile beslenmiştir.
- Denek grubunda kan hücrelerindeki aktivite yüzdesi artarken, serumda azalma gözlenmiştir.
- Denek ve kontrol gruplarıyla intravenöz enjeksiyon sonrasında biyodağılım gerçekleştirilmiştir
- Biyodağılım sonucunda organlarda ölçülen aktivite, denek grupta farklılık göstermiştir.

Son yıllarda gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde tıbbi bitkilerin kullanımı ve satışı giderek yaygınlaşmaktadır. Bu doğrultuda özellikle kanserin teşhis ve tedavisi süresince kullanılan bu bitkilerin radyofarmasötiklerle etkileşiminin bilinmesi doğru teşhis konulması açısından önemlidir. Eğer bu etkileşim bilinmiyorsa hastaya konulan teşhis ve bu teşhis sonrasında uygulanacak tedavi istenmeyen sonuçlar doğurabilmektedir.

Bu düşünceden yola çıkılarak bu çalışmada alternatif tıpta yaygın olarak kullanılan bir bitkinin, bir görüntüleme radyofarmasötüğünü nasıl etkilediği incelenmiştir.

Bu çalışmada halk arasında şifalı olarak bilinen biberiye ile karaciğer, dalak ve kemik iliği görüntülemesinde kullanılan ^{99m}Tc-SC ile etkileşimi, biyodağılım ve kan hücrelerinin işaretlenmesi çalışmaları ile belirlenmiştir. Yapılan deneylerden alınan bulgular bize ^{99m}Tc-SC' in tutulumunun, denek grubunda fark edilir bir artış şeklinde değiştiğini göstermiştir.

Sonuç olarak özellikle hastalar tarafından tüketilen çeşitli bitki ve bitkisel ilaçların kanserin teşhis ve tedavisi amacıyla kullanılan radyofarmasötiklerin seyrini değiştirdiği bilinmektedir. Bu doğrultuda bitki radyofarmasötik etkileşimlerinin bilinmesi açısından farklı bitkilerle bu yönde yapılacak çalışmaların artırılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abreu, P. R. C., Almeida, M. C., Bernardo, R. M., Bernardo, L. C., Brito, L. C., Garcia, E. A. C., Fonseca, A. S., Bernardo-Filho, M.,** 2006, Guava extract (*Psidium guajava*) alters the labeling of blood constituents with technetium-99m, *J. Zhejiang Univ. Science B.*, 7:429-435pp.
- Ahuja, S.,** 2006, High-pressure liquid chromatography, *Comprehensive Analytical Chemistry*, 47(15):485 – 559pp.
- Albu, S., Joyce, E., Paniwnyk, L., Lorimer, J.P., Mason, T.J.** 2004, Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. *Ultrasonics Sonochemistry*, 11:261-265pp.
- Al-Sereitia M. R., K M Abu-Amerb & P Sena,** 1999, *Pharmacology of rosemary (Rosmarinus officinalis Linn.) and its therapeutic potentials* Indian Journal of Experimental Biology, 37:124-131pp.
- Armengol R. and Betés C.,** 1995, *Antioxidant Action of a natural Extract.* Cosmetic Uses. SÖFW-Journal 1995, 14-18pp.
- Baytop T.,** 1984, Türkiye' de Bitkiler ile Tedavi. *İstanbul Üniversitesi Yayınları*, Eczacılık Fakültesi, No: 40, İstanbul.
- Benarroz, M.O., Fonseca, A.S., Rocha, G.S., Frydman, J.N.G., Rocha, V.C., Pereira, M.O., Bernardo-Filho, M.,** 2007, Cinnamomum zeylanicum extract on the radiolabeling of blood constituents and the morphometry of red blood cells: in vitro assay, *Appl. Rad. Isot.* 66:139–149pp.
- Bernardo-Filho, M., Santos-Filho, S.D., Moura, E.G., Maiworn, A.I., Orlando, M.M.C., Penas, M.E., Cardoso, V.N., Bernardo, L.C., Brito, L.C.,** 2005, Drug interaction with radiopharmaceuticals: a review, *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 48:13–27pp.
- Buchwald, P., Bodor, N.,** 1998, Octanol-Water Partition: Searching for Predictive Models, *Current Medicinal Chemistry*, 5:353-380pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Çeliksaş Ö. Y.**, 2005, Antioksidan Ekstrelerin Biberiye (*Rosmarinus Officinalis* L.) Bitkisinden ve Kallus Kültüründen Eldesi ve Karşılaştırılması, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi, Bornova-İzmir
- Çiçek, E.**, 2005, Nükleer Tıp Uygulamalarının Hastalardaki Serbest Radikaller Üzerine Etkileri, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fizik Anabilim Dalı Doktora Tezi, Isparta
- De vos, F. J., De Deckerb, Dierck, M. and R. A.**, 2005, The good laboratory practice and good clinical practice requirements for the production of radiopharmaceuticals in clinical research , *Nuclear Medicine Communications*, 26(7): 575-579pp.
- Dilworth, J.R., Parrott S.J.**, 1998, The Biomedical Chemistry of Technetium and Rhenium, *Chemical Society Reviews*, 27: 43-55pp.
- Diniz C. L., Fernanda Santos do Carmo, Danielle Santos de Almeida, Sebastião David Santos-Filho, Sotiris Missailidis, Adenilson de Souza da Fonseca and M. B. Filho.**, 2008, Effect of an Extract of *Centella asiatica* on the Biodistribution of Sodium Pertechnetate ($Na^{99m}TcO_4$) and on the Fixation of Radioactivity on Blood Constituents, *Braz. arch. biol. technol*,(51): 215-219pp.
- Diré, G., Lima E., Gomes, M., Bernardo-Filho, M.**, 2003, The Effect of a Chayotte (*Sechium edule*) Extracts (Decoct and Macerated) on the Labeling of Blood Elements with Technetium-99m and on the Biodistribution of the Radiopharmaceutical Sodium Pertechnetate in Mice: an *In vitro* and *In vivo* Analysis, *Pakistan Journal of Nutrition* 2 (4):221-227pp.
- Enginar, H.**, 2002, ^{99m}Tc ile İşaretli Estradiol Türevi Radyofarmasötiklerin Sentezi ve Radyofarmasötik Potansiyelinin İncelenmesi, *Doktora Tezi, E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü*, 126s.
- Ertürk Ö.**, 2010, Antibacterial and antifungal effects of alcoholic extracts of 41 medicinal plants growing in Turkey. *Czech J. Food Sci.*, 28, 53–60s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Feliciano, G.D., Gomes, M.L., Lima, E.A.C., Jales, R.L., Faria, M.C., Bernardo-Filho, M.,** 2004, Assessment of a fruit extract (*Sechium edule*) on the labeling of blood elements with technetium-99m, *African journal of Biotechnology*, 3(9): 484-488pp.
- Gomes, M.L., Oliveira, M.B.N., Bernardo-Filho, M.,** 2002, Drug interaction with radiopharmaceuticals: Effect on the labeling of the red blood cell with technetium-99m and on the bioavailability of radiopharmaceuticals, *Braz. Arch. Biol. Technol.* 45:143–149pp.
- Goyal, P.K., Garima, S.,** 2007, Prevention of Radiation Induced Hematological Alterations by Medicinal Plant *Rosmarinus Officinalis*, In *Mice, Afr. J. Trad.*, 4 (2):165-172pp.
- Grieve, M.,** 1971, *A Modern Herbal: The Medicinal, Culinary, Cosmetic and Economic Properties, Cultivation and Folk-Lore of Herbs, Grasses, Fungi, Shrubs and Trees With Their Modern Scientific Uses.* Dover Publications, Inc. New York.
- Gündüz, T.,** 1999, *Instrümental Analiz*, Gazi Kitapevi, 5. Baskı, 1115 – 1273s.
- Hanafy, Z.E., Hassan S.A.,** 2010, Rosemary Extract Protect Against γ -Irradiation Induced Clastogenicity, *Global Veterinaria* 4 (3):230-236pp.
- IAEA,** Nuclear Technology Review 2007, Vienna
- Johnson, R., Traff, G., Sunden, M. and Ellervik, U.,** 2007, Evaluation Of Quantitative Thin Layer Chromatography Using Staining Reagents, *Journal of Chromatography A*, 1164:298–305pp.
- Mason. T.J.,** 1998, Power ultrasound in food processing. The way forward. In *Ultrasound in Food Processing*, MJW Povey and TJ Mason (eds), 105-126pp., Chapman & Hall, London.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Moreno S. R. F., J. J. Carvalho, A. L. R. Nascimento , R. S. Freitas, G.F. Diré, E.A. Lima, G.L. Lima-Filho, E.K. Rocha and M. Bernardo-Filho.,** 2004, Biodistribution of Sodium Pertechnetate and Light Microscopy of Organs Isolated from the Rats: Study of the Effects of a Ginkgo biloba Extract, *Pakistan Journal of Nutrition* 3 (1):64-67pp.
- Moreno, S.R.F., Silva, A.L.C., Dire, G., Honeycut, H., Carvalho, J.J., Nascimento, A.L., Pereira, M., Rocha, E.K., Oliveira-Timoteo, M., Arnobio, A., Olej, B., Bernardo-Filho, M., Caldas, L.Q.A.,** 2007, Effect of oral ingestion of an extract of the herb *Uncaria tomentosa* on the biodistribution of sodium pertechnetate in rats, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 40:77-80pp.
- Oliveira, J.F., Braga, A.C.S., Oliveira, M.B.N., Ávila, A.S., Araujo A.C., Cardoso, V.N., Bezerra, R.J.A.C., Bernardo-Filho, M.,** 2000, Assesment of the effect of Maytenus ilicifolia (espinheira santa) extract on the labeling of red blood cells and plasma proteins with technetium-99m, *Journal of Ethnopharmacology*, 72:179-184pp.
- Oliveira, J.F., Braga, A.C.S., Ávila, A. S., Fonseca, L.M.B., Gutfilen, B., Bernardo-Filho, M.,** 1996, effect of Thuya occidentalis on the Labeling of Red Blood Cells and Plasma Proteins with Technetium-99m, *Yale Journal of Biology and Medicine*, 69:489-494pp.
- Oliveira, J. F., Ávila, A. S., Braga, A. C. S., Oliveira, M. B. N., Boasquevisque, E. M., Jales, R. L., Cardoso, V. N., Bernardo-Filho, M.,** 2002, Effect of extract of medicinal plants on the labeling of blood elements with technetium-99m and on the morphology of red blood cells: I – a study with Paulínia cupana, *Fitoterapia*, 73:305-312pp.
- Özyazgan S.,** 2002, Toksikokinetik, İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Sempozyum Dizisi No:37, 9-19s.
- Raimondas Raudonis, Valdas Jakstas, Deividas Burdulis,** 2009, Medicina (Kaunas); 45 (5).

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Santos-Filho, S. D., Diré, G., Lima, E., Oliveira, M. N., Bernardo-Filho, M.,** 2004, Effect of *Mentha crispa* (mint) extract on the labeling of blood elements with technetium-99m: a possible evaluation of free radicals, *J. Biol. Sci.*, 4:266-270pp.
- Santos-Filho, S.D., Maiworm, A.I., Presta, G. A., Paoli, S., Giani, T.S., Bernardo-Filho, M.,** 2007, Aqueous extract of the medicinal plant *Mentha crispa* alters the biodistribution of the radiopharmaceutical sodium pertechnetate in Wistar rats, *Med Chem Res*, 16:230–237pp.
- Santos-Oliveira, R., Smith, S. W., Carneiro-Leao, A. A. M.,** 2008, Radiopharmaceuticals Drug Interactions: a critical review, 80(4):665-675pp.
- Sarışen, Ö., Çalışkan, D.,** 2005, Fitoterapi: Bitkilerle Tedaviye Dikkat (!), *Sted*, 14(8): 182-187s.
- Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L., Leblebici, E.,** 1995, Tohumlu Bitkiler Sistematığı. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi No: 116, İzmir.
- Soponar, F., Catalin A.M., and Sarbu, C.,** 2008, Quantitative Determination Of Some Food Dyes Using Digital Processing Of Images Obtained By Thin-Layer Chromatography, *Journal of Chromatography* , 1188, 295–300pp.
- Steigman J., Eckelman W. C.,** 1992, The Chemistry of Technetium In Medicine, National Academy Press, Washington D.C.
- Şenol, A.,** 2003, Batarya Tipi Katı-Sıvı Ekstraksiyon Sisteminde Sıcak Su ile Çay Artıklarından Kafein Ekstraksiyonu: Proses Optimizasyonu ve Modellenmesi, Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Fen ve Mühendislik Dergisi, 5(3): 1-10s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Tavman, Ş., Kumcuoğlu S., Akkaya Z.,** 2009, Bitkisel Ürünlerin Atıklarından Antioksidan Maddelerin Ultrason Destekli Ekstraksiyonu. Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bornova İzmir. *GIDA*, 34 (3):175-182s.
- Theobald, A. E.,** 1989, Radiopharmaceuticals using radioactive compounds in pharmaceutics and medicine, Ellis Horwood Edition.
- Ünak P.** 2003, Temel Radyofarmasi Kursu Ders Notları, Bölüm 3, Radyofarmasötikler.
- Vinatoru, M., Toma. M., Mason. T.J.,** 1999, Ultrasound-assisted extraction of bioactive principles from plants and their constituents. In *Advances in Sonochemistry*, Mason TJ (ed), JAI Press, UK, 5: 209-248pp.
- Welch M. J., Redvanly C. S.,** 2003, Handbook of Radiopharmaceuticals: Radiochemistry and Applications, John Wiley and Sons, 331p.
- Wellwood, C.R.L., Cole R.A.,** 2004, Relevance of Carnosic Acid Concentrations to the Selection of Rosemary, *Rosmarinus Officinalis (L.)*, Accessions for Optimization of Antioxidant Yield, *J. Agric.Food Chem.*, 52:6101-6107pp.
- Yavuz, O., Aksoy, A.,** 2006, Örnek Hazırlamada Katı Faz Ekstraksiyonu Metodu, F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi 20(3):259-269s.
- Yılmaz, M.,** 2002, Meyve Sularında Patulinin Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi ile Tayini, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Isparta
- Zimmermann, V.,** 1980, Rosemary as a medicinal plant and wonder-drug. A report on the medieval drug monographs. *Sudhoffs Arch.*, 64:351-370pp.
- Zolle I.,** 2006, *Technetium-99m Pharmaceuticals: Preparation And Quality Control In Nuclear Medicine*, 207-209pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

Zora, H., 2010, Passiflora'nın ^{99m}Tc -DTPA'nın Biyodağılımı ve Kan Hücrelerinin Tutulumu Üzerine Etkisi, Ege Üniversitesi Nükleer Bilimler Enstitüsü Nükleer Uygulamalar Anabilimdalı Yüksek Lisans Tezi, Bornova-İzmir.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Eser UÇAR

Doğum Yeri : Adana / TÜRKİYE

Doğum Yılı : 20-01-1982

Öğrenim Durumu :

Lisans : Gazi Üniversitesi Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Öğretmenliği

Yüksek Lisans : Ege Üniversitesi Nükleer Bilimler Enstitüsü