

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**POLİMERİZASYONLA İNDÜKLENMİŞ KENDİLİĞİNDEN BİRLEŞME
(PISA) YÖNTEMİ İLE TÜMÖR HEDEFLİ POLİMERİK MİSELLERİN
HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Esra KARA
(185309003)**

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Biyoteknoloji Tezli Yüksek Lisans Programı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Binnur TEMEL

ŞUBAT 2021

Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün 185309003 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi Esra KARA, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "POLİMERİZASYONLA İNDÜKLENMİŞ KENDİLİĞİNDEN BİRLEŞME (PISA) YÖNTEMİ İLE TÜMÖR HEDEFLİ POLİMERİK MİSELLERİN HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU" başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Doç. Dr. Binnur TEMEL**
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Doç. Dr. Aydan DAĞ**
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi S. Manolya HATİPOĞLU
Yeditepe Üniversitesi

Teslim Tarihi : 22 Şubat 2021
Savunma Tarihi : 2 Şubat 2021



Kendiliğinden birleşebilenlere,

ÖNSÖZ

Zaman bir lokomotif gibi hayat rayları üzerinde kayarken, durduraksız devam etmekte olan mekanlarda aradığımızı bulma yolundan ayrılmamamız, bulmamız gerekeni pes etmeden aramamız gerektiğini öğrendiğim bu süreçte aynası olduğu güzellikleri yansıtan her Can için içtenlikle şükürler ederim.

Özellikle her canlının yaşaması için gerekli olan hava, su, toprak unsurları gibi olan yüksek lisans sürecince bilgi ve birikimiyle toprak, tecrübe ve fikirleriyle su, sabır, ilgi ve alakasıyla hava gibi her daim yanında ve yakınında güvende değerli ve ferah hissettiğimiz çok sevgili hocamız Doç. Dr. Binur TEMEL'e teşekkür ediyorum.

Tez çalışmama 20200213 numaralı proje ile maddi destek sağlayan Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimine teşekkür ederim.

Yüksek lisans tez süresince laboratuvarında bilgilerini paylaşmaktan çekinmeyen, uyum sağlama sürecimi ışık hızına çıkararak değerli sevimli Merve KEKLİK, çok renkli Hatice Kübra KURT'a ve Fatih GENÇ'e teşekkür etmeyi borç biliyorum.

Sekiz senenin neredeyse her dakikasında varlığıyla güven veren ve hiç değişmeyeceğini düşündüğüm çevrelerimizce Esra olabilen Esma SAMUK'a sevgilerimi iletiyorum. Ve Meleğim'e ...

Manevi olarak hep yanımda olan çok sevdiğim borçlarını ödeyemeyeceğim Aileme sadece acimle rızaları için dua ediyor tüm kalbimle seviyorum.

Ocak 2021

Esra Kara
(Moleküler Biyolog)

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Esra Kara

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	iv
BEYAN	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR	viii
SEMBOLLER	ix
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
ÖZET	xiv
SUMMARY	xv
1. GİRİŞ	1
2. TEORİK BİLGİ	3
2.1 Polimerizasyon	3
2.1.1 Basamaklı polimerizasyon	4
2.1.2 Katılma polimerizasyonu	5
2.1.3 Kontrollü/yaşayan polimerizasyon teknikleri	6
2.1.3.1 Tersinir katılma-ayırışma zincir transfer (RAFT) polimerizasyonu	7
Mekanizması	7
Monomerler ve başlatıcılar	8
2.2 Amfifilik Kopolimerler	9
2.2.1 Yapısal özellikleri	10
2.2.2 Çeşitleri	10
2.2.3 Uygulamaları	12
2.3 Polimerizasyonla indüklenmiş kendiliğinden birleşme (PISA)	13
2.3.1 Mekanizması	15
2.3.2 Emülsiyon polimerizasyonu	16
2.3.3 Dispersiyon polimerizasyonu	16
2.3.4 Kullanılan polimerizasyon çeşitleri	17
2.4 Polimerik İlaç Taşıyıcı Sistemler	18
2.4.1 Polimerik miseller	19
2.4.2 Kontrollü ilaç taşıyıcı sistemler	20
2.4.3 Hedefli ilaç taşıyıcı sistemler	21
2.4.3.1 Folat	23
3. MATERYAL VE METOD	25
3.1 Malzemeler	25
3.2 Kullanılan Cihazlar	25
3.3 Deneysel Kısım	26
3.3.1 Poli(hidroksietil metakrilat- <i>r</i> -glisidil metakrilat) (P(HEMA- <i>r</i> -GMA)) sentezi	26
3.3.2 GMA ünitelerinin azit ile fonksiyonlandırılması	26

3.3.3 Polimerizasyonla indüklenmiş kendiliğinden birleşme (PISA) yöntemi ile P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)- <i>b</i> -PMMA sentezi	27
3.3.4 FA molekülünün propargil amin ile fonksiyonlandırılması.....	27
3.3.5 FA'in klik reaksiyonuyla kopolimere takılması.....	27
3.3.6 PISA yöntemi ile P(HEMA- <i>r</i> -GMA-FA)- <i>b</i> -P(MMA) sentezi.....	28
3.3.7 İlaç yüklü misellerin PISA yöntemiyle hazırlanması.....	28
3.3.8 İlaç yükleme (DL) ve enkapsülasyon veriminin (EE) belirlenmesi.....	28
3.3.9 İlaç yüklü misellerin in-vitro salım çalışması	29
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	30
4.1 P(HEMA- <i>r</i> -GMA) Sentezi ve Karakterizasyonu.....	30
4.2 Azit Fonksiyonlu Polimerlerin Sentezi ve Karakterizasyonu	34
4.3 PISA Yöntemi ile P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)- <i>b</i> -PMMA Sentezi ve Karakterizasyonu.....	38
4.4 Folik Asit Molekülünün Propargil Amin ile Fonksiyonlandırılması ve Karakterizasyonu.....	43
4.5 Klik Reaksiyonu ile P(HEMA- <i>r</i> -GMA-FA) Polimerinin Sentezi ve Karakterizasyonu.....	46
4.6 PISA yöntemi ile P(HEMA- <i>r</i> -GMA-FA)- <i>b</i> -PMMA Sentezi ve Karakterizasyonu.....	49
4.7 PISA Yöntemiyle İlaç Yüklü Misellerin Hazırlanması ve Karakterizasyonu .	51
4.8 İlaç yükleme (DL) ve enkapsülasyon veriminin (EE) belirlenmesi.....	53
4.9 İlaç yüklü misellerin in-vitro salım çalışması	54
5. SONUÇ	56
EKLER	57
KAYNAKLAR	74
ÖZGEÇMİŞ.....	78

KISALTMALAR

ATRP	: Atom transfer radikal polimerizasyonu
DOKS	: Doksorubisin
EPR	: Geliştirilmiş geçirgenlik ve tutma
FA	: Folik asit
FR	: Folik asit reseptörü
GMA	: Glisidil metakrilat
HEMA	: 2-Hidroksietil metakrilat
HPMA	: 2-hidroksipropil metakrilat
KRP	: Kontrollü/canlı radikal polimerizasyon
M-CTA	: Makro başlatıcı
LAP	: Canlı anyonik polimerizasyon
NMP	: Nitroksi aracılı polimerizasyon
PEG	: Polietilen glikol
PISA	: Polimerizasyonla indüklenmiş kendiliğinden birleşme
RAFT	: Tersinir katılma-ayırışma zincir transfer
RDRP	: Tersinir deaktivasyon radikal polimerizasyonu
ROP	: Halka açılması polimerizasyonu
T_g	: Camı geçiş sıcaklığı
T_m	: Erime sıcaklığı

SEMBOLLER

°C : Derece santigrat
Å : Angstrom
t : Saat



TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 4.1 : RAFT polimerizasyonu ile sentezlen ^{a,b} farklı HEMA:GMA oranlarına . sahip polimerlerin dönüşüm, molekül ağırlığı ve polidispersite	31
Tablo 4.2 : Farklı HEMA:GMA besleme oranlarıyla sentezlenen kopolimerlerin ¹ H NMR sonucunda elde edilen monomer oranları ve molekül ağırlıkları. ..	33
Tablo 4.3 : P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-2 makroRAFT ajanı kullanılarak PISA	39
yöntemiyle MMA polimerizasyonu ^a sonucunda elde edilen partiküllerin boyutlarında seyreltme etkisi.	39
Tablo 4.4 : P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃) makroRAFT ajanları kullanılarak MMA'nın	40
PISA yöntemiyle polimerizasyonu.	40
Tablo 4.5 : P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-2 ve P(HEMA- <i>r</i> -GMA-FA) makroRAFT	52
ajanları ile oluşturulan misellerin partikül boyutları.....	52

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1	: Monomerlerden çeşitli polimer yapılarının oluşumunun şematik gösterimi.	3
Şekil 2.2	: Basamaklı, katılma ve yaşayan radikal polimerizasyonlarının molekül .. ağırlığı-dönüşüm grafiği.	4
Şekil 2.3	: Katılma polimerizasyonu mekanizması.	5
Şekil 2.4	: ATRP, NMP ve RAFT polimerizasyonları.	7
Şekil 2.5	: Tersinir katılma-ayırışma zincir transfer (RAFT) polimerizasyon .. mekanizması.	8
Şekil 2.6	: Çeşitli kopolimer yapıları.	11
Şekil 2.7	: Amfifilik kopolimer türleri.	11
Şekil 2.8	: Blok hacim oranının morfoloji üzerine etkisi.	13
Şekil 2.9	: PISA ile oluşturulan küre, veziküli solucan ve ahtapot yapıları.	14
Şekil 2.10	: Emülsiyon polimerizasyonu sistemi.	16
Şekil 2.11	: Dispersiyon polimerizasyonu sistemi.	17
Şekil 2.12	: Geliştirilmiş geçirgenlik ve tutma (EPR) etkisi.	22
Şekil 2.13	: Folat reseptörü hedefli ilaç taşıyıcı sistemlerin salım mekanizması.	24
Şekil 4.1	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA) rasgele kopolimerinin RAFT polimerizasyonu.	30
Şekil 4.2	: Farklı monomer oranlarında hazırlanan P(HEMA- <i>r</i> -GMA) .. polimerlerinin THF içerisinde çekilmiş GPC kromatogramları.	32
Şekil 4.3	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA)-2 polimerinin DMSO- d_6 'da çekilen 1H NMR .. spektrumu.	32
Şekil 4.4	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA)-2 polimerinin DSC termogramı.	34
Şekil 4.5	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA- N_3) polimerinin sentezi.	35
Şekil 4.6	: a) P(HEMA- <i>r</i> -GMA)-2 ve b) P(HEMA- <i>r</i> -GMA- N_3)-2 polimerlerinin ... FT-IR spektrumları.	36
Şekil 4.7	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA- N_3)-2 polimerinin DMSO- d_6 'da çekilen 1H NMR .. spektrumu.	37
Şekil 4.8	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA- N_3)-2 polimerinin DSC termogramı.	37
Şekil 4.9	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA- N_3) makroRAFT ajanı kullanılarak MMA'nın PISA .. yöntemiyle polimerizasyonu.	38
Şekil 4.10	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA- N_3)-2 kullanılarak elde edilmiş P(HEMA- <i>r</i> -GMA-.... N_3)- <i>b</i> -PMMA polimerine ait a) %0, b) %50 ve c) %75 seyreltilmiş .. misellerin DLS ile ölçülmüş boyut dağılım grafikleri.	39
Şekil 4.11	: a) P(HEMA- <i>r</i> -GMA- N_3)-1, b) P(HEMA- <i>r</i> -GMA- N_3)-2 ve c) P(HEMA- <i>r</i> - GMA- N_3)-3 kullanılarak elde edilmiş P(HEMA- <i>r</i> -GMA- N_3)- <i>b</i> -..... PMMA polimerlerine ait misellerin %75 seyreltilerek DLS ile ölçülmüş boyut dağılım grafikleri.	41
Şekil 4.12	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA- N_3)-2 kullanılarak a) 10, b) 7 ve c) 5 saatte elde .. edilmiş P(HEMA- <i>r</i> -GMA- N_3)- <i>b</i> -PMMA polimerlerine ait misellerin ... %75 seyreltilerek DLS ile ölçülmüş boyut dağılım grafikleri.	41

Şekil 4.13	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-2 kullanılarak ağırlıkça a) %10, b) %15 ve c) ... %20 olacak şekilde metanol içerisinde elde edilmiş P(HEMA- <i>r</i> -GMA- N ₃)- <i>b</i> -PMMA polimerlerine ait misellerin %75 seyreltilerek DLS ile ölçülmüş boyut dağılım grafikleri.....	42
Şekil 4.14	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-2 kullanılarak [MMA]:[makroRAFT] oranı a) ... 50, b) 100 ve c) 200 olarak elde edilmiş P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)- <i>b</i> - PMMA polimerlerine ait misellerin %75 seyreltilerek DLS ile ölçülmüş boyut dağılım grafikleri.	42
Şekil 4.15	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-2 makro RAFT ajanı ile sentezlenen P(HEMA- <i>r</i> - GMA-N ₃)- <i>b</i> -PMMA polimerinin DMSO-d ₆ 'da çekilen ¹ H NMR	43
Şekil 4.16	: Alkin fonksiyonlu folik asit (FA-PA) sentezi.....	44
Şekil 4.17	: a) Folik asit (FA) ve b) FA-PA'nın FT-IR spektrumları.	44
Şekil 4.18	: FA-PA'nın DMSO-d ₆ içerisinde çekilen ¹ H NMR spektrumu.	45
Şekil 4.19	: FA-PA molekülünün DMF içerisinde (2.5x10 ⁻² mg/mL) çekilmiş UV ... spekturumu.....	45
Şekil 4.20	: Klık reaksiyonu ile P(HEMA- <i>r</i> -GMA-FA) sentezi.	46
Şekil 4.21	: a) P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-2 ve b) P(HEMA- <i>r</i> -GMA-FA) polimerlerinin FT-IR spektrumları.	47
Şekil 4.22	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA-FA)-2 polimerinin DMSO-d ₆ 'da çekilen ¹ H NMR spektrumunu.....	47
Şekil 4.23	: a) P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-2 polimerinin (0.5 mg/mL), b) FA-PA'nın (2.5x10 ⁻² mg/mL), c) P(HEMA- <i>r</i> -GMA-FA) polimerinin (0.5 mg/mL) DMF içerisinde çekilmiş UV spektrumları.....	48
Şekil 4.24	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA-FA) polimerinin DSC termogramı.....	49
Şekil 4.25	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA-FA) makroRAFT ajanı kullanılarak PISA yöntemiyle MMA polimerizasyonu.....	50
Şekil 4.26	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA-FA)- <i>b</i> -PMMA polimerinin DMSO-d ₆ 'da çekilen ¹ H NMR spektrumu.	50
Şekil 4.27	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA-FA) makro başlatıcısı kullanılarak PISA yöntemiyle DOKS yüklü misellerin oluşumu.....	51
Şekil 4.28	: a) P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)- <i>b</i> -PMMA, b) P(HEMA- <i>r</i> -GMA-FA)- <i>b</i> - PMMA ve c) P(HEMA- <i>r</i> -GMA-FA)- <i>b</i> -PMMA + DOKS polimerlerine ait misellerin %75 seyreltilerek DLS ile ölçülmüş boyut dağılım	52
Şekil 4.29	: a) P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-2, b) P(HEMA- <i>r</i> -GMA-FA) ve c) P(HEMA- <i>r</i> - GMA-FA) + DOKS makroRAFT ajanları kullanılan sistemlerin	53
Şekil 4.30	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA-FA) makroRAFT ajanı kullanılarak oluşturulan DOKS yüklü misellerin a) diyaliz öncesi (metanol içerisinde %75 seyreltilmiş) ve b) diyaliz sonrası (su içerisinde) DLS ile ölçülmüş boyut dağılım grafikleri.	53
Şekil 4.31	: DOKS'un DMSO içerisinde kalibrasyon eğrisi.....	54
Şekil 4.32	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA-FA)- <i>b</i> -PMMA ile oluşturulan ilaç yüklü miselin 37 . °C'de PBS solüsyonunda (pH=7.4) in vitro DOKS salım grafiği.....	55
Şekil A.1	: Farklı monomer oranlarında hazırlanan P(HEMA- <i>r</i> -GMA)	58
Şekil A.2	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA)-1 polimerinin DMSO-d ₆ 'da çekilen ¹ H NMR	59

Şekil A.3	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA)-3 polimerinin DMSO-d ₆ 'da çekilen ¹ H NMR spektrumu.....	60
Şekil A.4	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-1 polimerinin DMSO-d ₆ 'da çekilen ¹ H NMR spektrumu.....	61
Şekil A.5	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-3 polimerinin DMSO-d ₆ 'da çekilen ¹ H NMR spektrumu.....	62
Şekil A.6	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-1 makroRAFT ajanı ile sentezlenen P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)- <i>b</i> -PMMA polimerinin DMSO-d ₆ 'da çekilen ¹ H NMR spektrumu.....	63
Şekil A.7	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-3 makroRAFT ajanı ile sentezlenen P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)- <i>b</i> -PMMA polimerinin DMSO-d ₆ 'da çekilen ¹ H NMR spektrumu.....	64
Şekil A.8	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-2 makroRAFT ajanı ile 5 saatte sentezlenen P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)- <i>b</i> -PMMA polimerinin DMSO-d ₆ 'da çekilen ¹ H NMR spektrumu.	65
Şekil A.9	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-2 makroRAFT ajanı ile 7 saatte sentezlenen P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)- <i>b</i> -PMMA polimerinin DMSO-d ₆ 'da çekilen ¹ H NMR spektrumu.	66
Şekil A.10	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-2 makroRAFT ajanı ile ağırlıkça %15 olacak şekilde metanol içerisinde sentezlenen P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)- <i>b</i> -PMMA polimerinin DMSO-d ₆ 'da çekilen ¹ H NMR spektrumu.....	67
Şekil A.11	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-2 makroRAFT ajanı ile ağırlıkça %20 olacak şekilde metanol içerisinde sentezlenen P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)- <i>b</i> -PMMA polimerinin DMSO-d ₆ 'da çekilen ¹ H NMR spektrumu.....	68
Şekil A.12	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-2 makroRAFT ajanı ile [MMA]:[M-CTA] oranı 50 olacak şekilde sentezlenen P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)- <i>b</i> -PMMA polimerinin DMSO-d ₆ 'da çekilen ¹ H NMR spektrumu.....	69
Şekil A.13	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-2 makroRAFT ajanı ile [MMA]:[M-CTA] oranı 200 olacak şekilde sentezlenen P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)- <i>b</i> -PMMA polimerinin DMSO-d ₆ 'da çekilen ¹ H NMR spektrumu.....	70
Şekil A.14	: a) P(HEMA- <i>r</i> -GMA)-1 ve b) P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-1 polimerlerinin FT-IR spekturumları.	71
Şekil A.15	: a) P(HEMA- <i>r</i> -GMA)-3 ve b) P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-3 polimerlerinin FT-IR spekturumları.	71
Şekil A.16	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-2 makroRAFT ajanı kullanılarak 10 saatlik polimerizasyon öncesi ve sonrası fotoğraflar.	72
Şekil A.17	: a) P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-1, b) P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-2 ve c) P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-3 makroRAFT ajanları kullanılan sistemlerin polimerizasyon öncesi ve sonrası fotoğrafları.	72
Şekil A.18	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-2 makroRAFT ajanı kullanılarak a) 5, b) 7 ve c) 10 saatlik polimerizasyonlar öncesi ve sonrası fotoğraflar.....	72
Şekil A.19	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-2 makroRAFT ajanı kullanılarak ağırlıkça (%w/w) a) %10, b) %15 ve c) %20 olacak şekilde metanol içerisinde gerçekleştirilen polimerizasyonların öncesi ve sonrası fotoğrafları.	73
Şekil A.20	: P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-2 makroRAFT ajanı kullanılarak [MMA]:[M-CTA] oranı a) 50, b) 100 ve c) 200 olacak şekilde polimerizasyon öncesi ve sonrası fotoğraflar.	73

POLİMERİZASYONLA İNDÜKLENMİŞ KENDİLİĞİNDEN BİRLEŞME (PISA) YÖNTEMİ İLE TÜMÖR HEDEFLİ POLİMERİK MİSELLERİN HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU

ÖZET

Polimerik ilaç taşıyıcı sistemler ilaçların geleneksel kullanımına alternatif olarak dikkat çekmektedir. Özellikle polimerik miseller küçük partikül büyüklüğü, yapısal stabilite, yüksek ilaç yükleme kapasitesi, suda çözünürlük, düşük toksisite gibi özelliklere sahip olduğu için yaygın olarak çalışılmaktadır. Stabilite ya da işlevselleştirme için elverişli olan miseller hedefleme özelliğine sahip ilaç taşıyıcı sistemler için idealdir. Miseller hidrofilik ve hidrofobik monomerlerle sentezlenen amfifilik blok kopolimerlerin kendiliğinden birleşmesi sonucu elde edilir. Kopolimer, bloklardan biri için seçici çözücü içerisinde agregat oluşturur. Bu oluşum kendiliğinden birleşmeyi meydana getirir.

Polimerlerin alışılmış yöntemlerle kendiliğinden birleşmesi, oluşacak polimerik morfolojileri genellikle sınırlayan seyreltik çözelti (<1%) içinde gerçekleştirilir. Etkili bir yöntem olarak polimerizasyonla indüklenmiş kendiliğinden birleşme (PISA) ise bu sınırlamayı ortadan kaldırır. PISA metodunda başlatıcı polimer için seçici bir çözücü içerisinde dağılan ya da çözünen monomerden çözünmeyen bloğun polimerize edilmesine dayanır. Zincir uzaması başlayan çözünmeyen bloğun polimerizasyon derecesi kendiliğinden birleşme sürecini kontrol eder. Kendiliğinden birleşme ve yeniden düzenlenmeler ile küreler, çubuklar, veziküller, lamel yapılar gibi çok çeşitli morfolojide polimerik yapılar oluşum sürecine gözlenir.

Bu çalışmada tersinir katılma-ayırışma zincir transfer (RAFT) polimerizasyonu ile hidroksietil metakrilat (HEMA) ve glisidil metakrilat (GMA) monomerleri kullanılarak hidrofilik bloğu oluşturacak random kopolimerler sentezlenmiştir. HEMA ve fonksiyonlandırılabilir GMA üniteleri farkı oranlarda polimerize edilmiştir. İlk olarak fonksiyonlandırma için polimerler GMA ünitelerinden azitlenmiştir. Ardından propargil ile fonksiyonlandırılan folik asit (FA) azitlenen ünitelere “click” reaksiyonuyla takılmıştır. Elde edilen azit fonksiyonlu makro başlatıcılar (M-CTA) ile hidrofobik bloğu oluşturacak metil metakrilat monomerinin polimerizasyonu RAFT-PISA yöntemi ile sağlanmıştır. Farklı değişkenlere sahip PISA reaksiyonları denenmiştir. En stabil sonuç veren parametreler ile aynı yöntem uygulanarak doksorubisin (doks) yüklü miseller hazırlanmıştır.

Çalışmada elde edilen polimerler FT-IR, ¹H NMR, UV-Vis ve DSC ile karakterize edilmiştir. PISA ile elde edilen misellerin ortalama partikül boyutları DLS ile ölçülmüştür. Sonuçlar karşılaştırılarak değişkenlerin misel boyutları üzerindeki etkisi incelenmiştir.

Anahtar kelimeler: Amfifilik kopolimer, tersinir katılma-ayırışma zincir transfer (RAFT) polimerizasyonu, polimerizasyonla indüklenmiş kendiliğinden birleşme (PISA), folik asit.

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF TUMOR TARGETED POLYMER MICELLES VIA POLYMERIZATION INDUCED SELF-ASSEMBLY (PISA) METHOD

SUMMARY

Polymeric drug delivery systems attract attention as an alternative to traditional use of drugs. Especially polymeric micelles are widely studied because they have properties such as small particle size, structural stability, high drug loading capacity, water solubility, low toxicity. Micelles that are suitable for stability or functionalization are ideal for drug delivery systems with targeting capability. Micelles are obtained by self-assembly of amphiphilic block copolymers synthesized with hydrophilic and hydrophobic monomers. The copolymer forms aggregates in selective solvent for one of the blocks. This formation creates self-assembly.

Self-assembly of the polymers by conventional methods is carried out in dilute solution (<1%) which generally limits the polymeric morphologies to occur. Polymerization-induced self-assembly (PISA) as an effective method removes this limitation. The PISA method is based on the polymerization of the insoluble block from the monomer dispersed or dissolved in a solvent selective for the initiator polymer. The polymerization degree of the insoluble block where chain elongation begins controls the spontaneous assembly process. The process of formation of polymeric structures in a wide variety of morphologies such as spheres, rods, vesicles, lamellar structures by self-assembly and rearrangements is observed.

In this study, random copolymers were synthesized to form a hydrophilic block by using hydroxyethyl methacrylate (HEMA) and glycidyl methacrylate (GMA) monomers by reversible addition-fragmentation chain transfer (RAFT) polymerization. HEMA and functionalizable GMA units are polymerized in different proportions. First, for functionalization, polymers were azided from GMA units. Then, folic acid (FA) functionalized with propargyl was attached to the azidated units by "click" reaction. Polymerization of methyl methacrylate monomer that will form the hydrophobic block with the azide functional macro initiators (M-CTA) obtained was achieved by RAFT-PISA method. PISA reactions with different variables have been tried. Doxorubicin (dox) loaded micelles were prepared using the same method with the most stable parameters.

The polymers obtained in the study were characterized by FT-IR, ¹H NMR, UV-Vis and DSC. The average particle size of micelles obtained by PISA was measured by DLS. By comparing the results, the effects of the variables on the micelle sizes were examined.

Keywords: Amphiphilic copolymer, reversible addition-fragmentation chain transfer (RAFT) polymerization, polymerization-induced self-assembly (PISA), folic acid.

1. GİRİŞ

Polimerler birçok araştırma alanına sahip, kullanım alanına uygun birimler içeren ve farklı mimarilerde üretilen makromoleküllerdir. Geçmişten günümüze hala çeşitlenmekte olan sentez yöntemleri ve oluşacak yapının kontrolü üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Kendiliğinden birleşme özelliğine sahip blok kopolimerler özellikle dikkat çekmektedir. Amfifilik kopolimerler, bloklardan biri için seçici olan çözücü içindeki sistemlerde kendiliğinden birleşme özelliğine sahiptir. Bu özellikleri sayesinde küreler, solucanlar, silindirler ve veziküller dahil olmak üzere çok çeşitli polimerik morfolojiler oluşturulabilir.

Blok kopolimerlerin kendiliğinden birleşme süreci tipik olarak polimerizasyon sonrası bloklardan biri için seçici seyreltik çözelti içerisinde sağlanır. Bu işlemler süreci birçok basamağa sahiptir. Polimerizasyonla indüklenmiş kendiliğinden birleşme (PISA) yöntemi uygulama sırasında zorlayacak olan bu sınırlamalara çözüm sunar. PISA, blok kopolimerden ayarlanabilir morfoloji ve yüzey işlevselliğine sahip çeşitli nano yapıların hazırlanması için güçlü bir tekniktir.

Kontrollü/yaşayan radikal polimerizasyon kullanılan PISA yöntemi amfifilik blok kopolimerlerin sentezi, başlatıcı polimer ve monomerlerin karışımıyla kürelerden veziküllere gelişen morfolojiler oluşturmak için ortaya çıkan etkili bir yaklaşımdır. Bu yöntem çözünmüş bir polimer başlatıcıya, aynı çözücüyle çözünebilen ya da karışabilen monomer eklenip polimerleştirilmesiyle çözünmeyen blok oluşturmasına dayanır. Polimerizasyon sonucu oluşan amfifilik blok kopolimerler zincir büyümesiyle birlikte kendiliğinden birleşmeyi kontrol eder.

Tüm kontrollü/yaşayan polimerizasyon (KRP) teknikleri PISA yöntemiyle çalışılmıştır. Sistem olarak emülsiyon ve dispersiyon polimerizasyonları kullanılır. Bu sistemler polimerizasyon çeşidine, monomere ve başlatıcıya göre seçilir. Birçok polimerizasyon yöntemiyle uygulanabilir olmasına rağmen tersinir katılma-ayırışma zincir transfer (RAFT) polimerizasyonu yöntemi çeşitli avantajlarından dolayı daha kullanışlıdır. Nitroksit aracılı polimerizasyon (NMP) gibi polimerizasyon kontrolü

sağlayabilmesi için yüksek sıcaklık, atomik transfer radikal polimerizasyonu (ATRP) gibi uzaklaştırılması gereken metal grupları gerektirmez.

Polimerik ilaç taşıyıcı sistemler, uzun süreli in vivo dolaşım süresi, bölgeye özgü ilaç dağıtımı ve kontrollü ilaç salımı gibi çeşitli avantajlara sahiptir. Terapötik ilaçların doğrudan kullanımıyla kıyaslandığında daha düşük doz ile tedaviyi sağlar. Özellikle kanser tedavisi için kullanılan kemoterapik ilaçların kanser dokusunu küçülmeye ve yok etmeye yönelik etkisi sağlıklı dokulara da ciddi zarar verir. Kanser hücrelerinin yüzeyinde aşırı eksprese edilen folik asit reseptörü (FR) hedefli taşıyıcılar için avantajlıdır. Folik asit (FA) molekülünün polimerik taşıyıcılarla konjugasyonu, terapötik ajanların FR aracılı hedeflemesini sağlaması açısından dikkat çekmektedir.

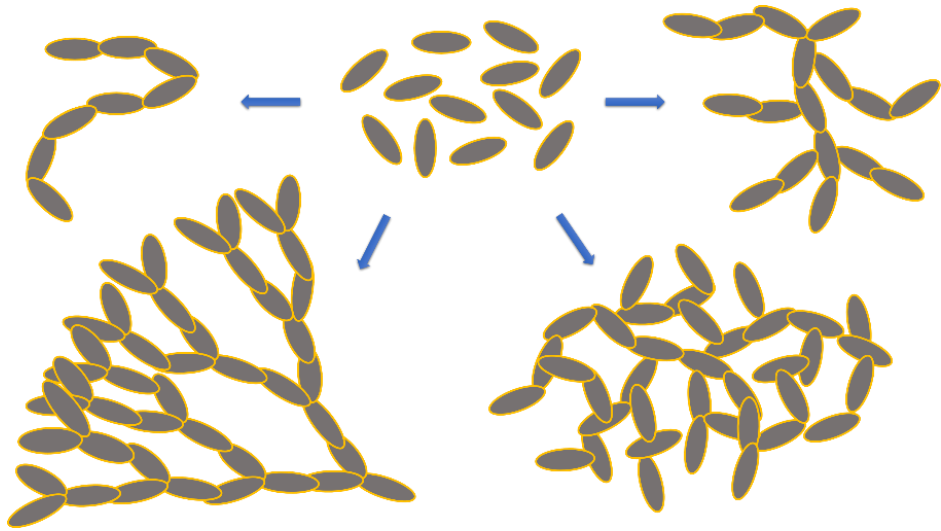


2. TEORİK BİLGİ

2.1 Polimerizasyon

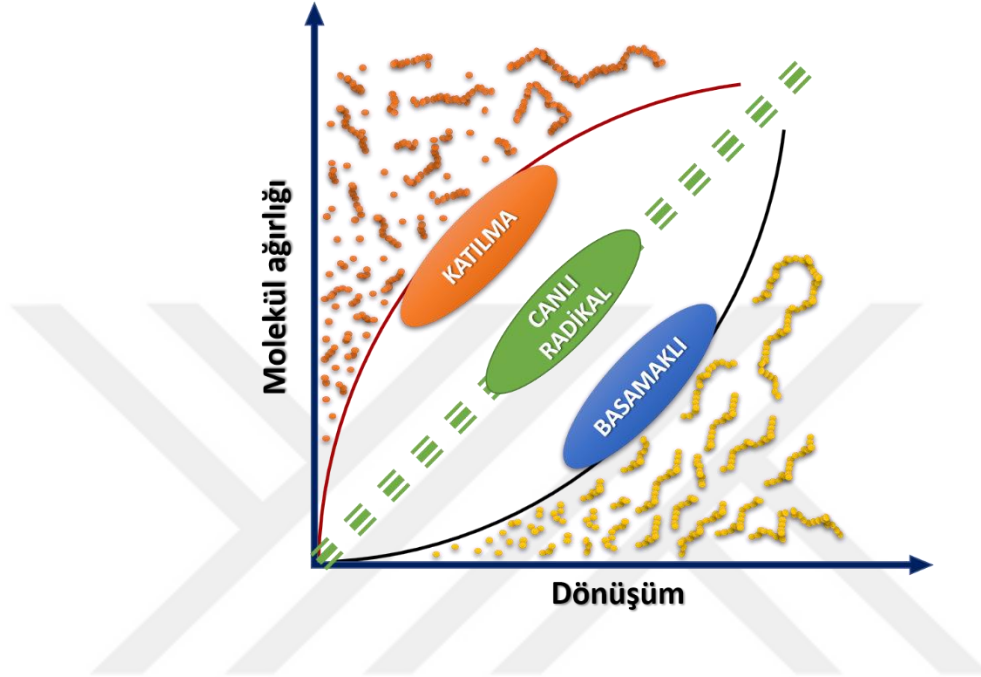
Polimerler, yüz yıllardır pek çok alanda hayatı kolaylaştırmak için kullanılmıştır. Gelişen teknolojiyle birlikte enerji, elektronik, kozmetik, tarım, sanayi, sağlık, ilaç vb. gibi geniş bir araştırma alanına yayılmıştır. Kullanım alanına göre çeşitli şekillerde tasarlanma imkânı olması en büyük avantajlarından biridir. Özellikle sentetik polimerler geniş monomer çeşitliliği sayesinde pek çok işlev kazandırılabilen malzeme sentezini sağlar [1].

Genel olarak polimerler, tekrar eden birimleri oluşturan yüzlerce, binlerce veya daha fazla monomerlerin birbirine kovalent bağlanmasıyla oluşan makromoleküllerdir (Şekil 2.1). Oluşturuldukları kimyasal reaksiyona ise polimerizasyon denir [2]. Polimer zincirinin uzunluğu, ana zincirlerdeki tekrar birimlerinin sayısı ile belirlenir ve bu sayıya polimerizasyon derecesi (X_n) denir. Polimerler monomer türü, kaynağı, yapısı, polimerizasyon mekanizması gibi farklı özelliklere göre sınıflandırılabilir [3].



Şekil 2.1 : Monomerlerden çeşitli polimer yapılarının oluşumunun şematik gösterimi.

Polimerizasyon mekanizmasına göre temel olarak basamaklı polimerizasyon ve katılma polimerizasyonu olarak sınıflandırılır. Bu iki polimerizasyonu birbirinden ayıran en belirgin özellik, reaksiyon sırasında monomerlerin zincire ve oluşan zincirlerin birbirine eklenme şeklidir (Şekil 2.2). Bu yüzden polimer molekül ağırlığı ve monomer dönüşüm yüzdesi arasındaki ilişki önemli ölçüde farklılık gösterir [4].



Şekil 2.2 : Basamaklı, katılma ve yaşayan radikal polimerizasyonlarının molekül ağırlığı-dönüşüm grafiği.

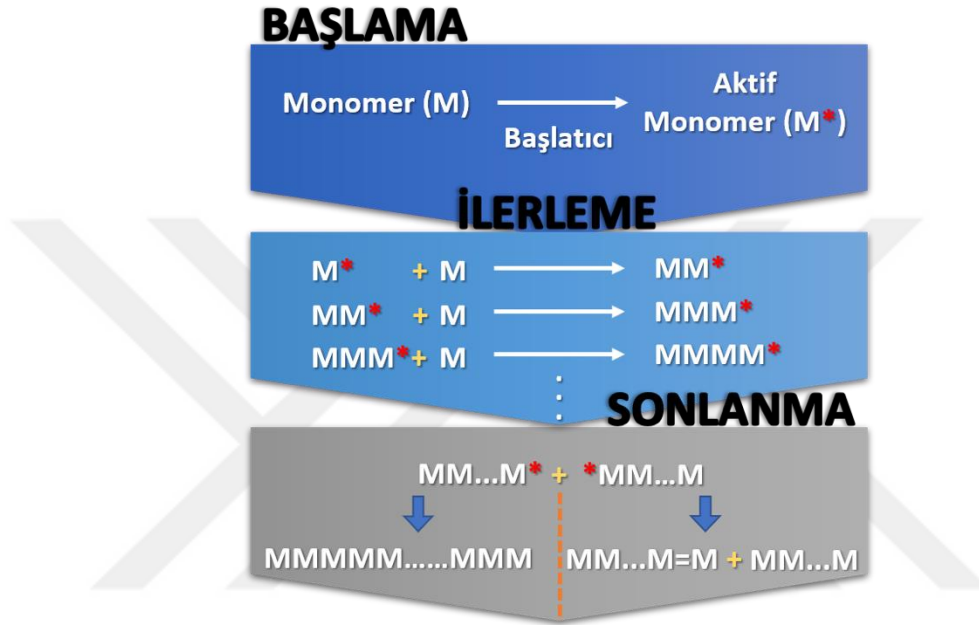
2.1.1 Basamaklı polimerizasyon

Basamaklı polimerizasyon, esterleşme, amitleşme, üretan oluşumu, aromatik eklenme gibi farklı kimyasal reaksiyonlarla iki veya daha fazla fonksiyonel gruba sahip monomer veya monomer çifti kullanılan aşamalı polimerizasyon yöntemidir. Monomerler genellikle su veya başka kondenzasyon ürünün çıkışıyla birleşir.

Kullanılan monomer, çift işlevli ise doğrusal polimer; monomerlerden en az biri üç veya dört işlevli ise çapraz bağlı polimer oluşur. Monomerler reaktif olduğu için polimerizasyonun daha sonraki bir aşamasında uzun polimer zincirleriyle birleşen kısa zincirler (oligomerler) oluşturmak için polimerizasyonun erken safhalarında tüketilir. Polimer moleküllerinin boyutu yavaş bir hızda artar [2, 5].

2.1.2 Katılma polimerizasyonu

Zincir polimerizasyonu olarak da adlandırılan katılma polimerizasyonu, monomer üzerinde reaktif bir merkez oluşturulup ortamdaki diğer monomerlerin bu merkeze art arda eklenmesine dayalı polimerizasyon şeklidir. Monomerin atomları doğrudan zincire eklendiği için polimerdeki tekrar birimi monomerle aynı sayıda atom taşır. Bu mekanizma aşamaları başlama, ilerleme ve sonlanma olarak adlandırılır (Şekil 2.3).



Şekil 2.3 : Katılma polimerizasyonu mekanizması.

Başlatıcı ışık, ısı veya kimyasal reaksiyonun bir sonucunda parçalanarak reaktif bir ürün oluşturur. Bu ürün, kation, anyon, serbest radikal veya koordinasyon kompleksi denilen metal organik kompleksler olabilir. Bu reaktif ürünlerle aktive edilmiş monomer, başlama adımıdaki mekanizmayla diğer vinil monomerlerin çift bağına saldırarak zincir uzamasını gerçekleştirir, sonuç olarak her monomer eklenmesinde aynı kimliğe sahip yeni radikal uç oluşur [2].

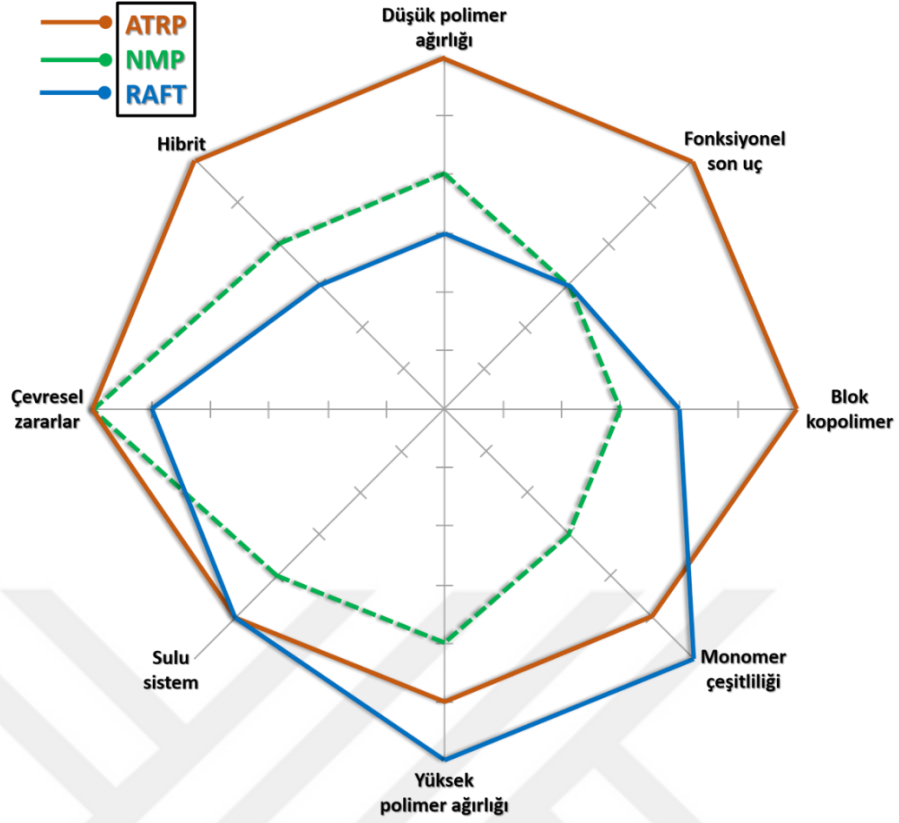
Zincir büyümesi başka bir büyüyen zincirle reaksiyona girerek tükendiğinde veya radikal uca bir hidrojen aktarılıp aktivasyonun durdurulmasıyla sonlanma gerçekleşir. Birleşme yoluyla doymuş, orantısız sonlanmayla doymamış polimerler oluşur. Uzamanın durduğu yani radikalın sonlandığı zincirlere ölü polimer denir. Uzama aşaması, sonlandırmaya yönelik bir eğilim yoksa monomer tükenene kadar devam eder [6].

2.1.3 Kontrollü/yaşayan polimerizasyon teknikleri

KRP, serbest radikal polimerizasyonundaki molekül ağırlığı, polidispersite, bileşim, zincir mimarisi ve bölgeye özgü işlevsellik kontrolünün sınırlamalarına bir çözüm olarak geliştirilmiştir. Bu sınırlamaları aşmasının yanında, biyo-konjugatlar, organik/inorganik kompozitler ve yüzeye bağlı kopolimerler hazırlama gibi çeşitli üstün tasarlama imkanı sağlar [7, 8]. Polimerizasyon, benzer kemo-, rejyo- ve steryo-seçicilik sergileyen radikal mekanizmayla ilerler. Benzer aralıkta monomer polimerize edebilmesine rağmen büyüyen zincirlerin ömrü, ölü zincir miktarı, başlama ve polimerizasyon hızı açısından farklılık gösterir [9].

KRP sistemlerinde aktivasyon/deaktivasyon dönüşüm oranları dengelenerek hareketsiz ve aktif türler arasında sabit bir radikal konsantrasyona ulaşılır. Bu dönüşümler genel olarak iki yaklaşıma dayanır. Bunlar tersine çevrilebilir "sonlandırma" (devre dışı bırakma) ve tersine çevrilebilir "transfer" (dejeneratif değişim) yaklaşımıdır. Zincirler reaksiyonun erken aşamalarında kısadır, yavaş uzama hızları sayesinde sonlanma oranı önemli ölçüde azalır [9]. Hızlı başlatma sonrası yavaş uzama hızı, molekül ağırlığı ve dağılımının kısmi kontrolünü sağlar. Yavaş uzama, aktif ve aktif olmayan grupların dönüşüm hızlarına bağlıdır. Dönüşüm hızlandıkça daha az monomer ekleneceğinden polidispersite daha düşük olur. Bu polimerizasyon sistemlerinde reaksiyon herhangi bir zamanda durdurulabilir ve yeniden başlatılabilir. Daha fazla veya farklı monomer eklenmesiyle devam ettirilebilir. Bu özellik blok kopolimerler oluşturma imkanı sunar [8, 10].

KRP sistemi için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir (Şekil 2.4). Kararlı serbest radikal etkiyle sürdürülen nitroksit aracılı polimerizasyon (NMP); geçiş metali ile katalize edilen atom transfer radikal polimerizasyonu (ATRP); ditiyoesterlerle dejeneratif transfer yöntemi olan tersinir katılma-ayırışma zincir transfer (RAFT) polimerizasyonu öne çıkmaktadır [7]. Dejenaratif transfere dayalı RAFT polimerizasyonu, kalıcı radikal etkiye dayalı olan ATRP ve NMP yöntemlerinden kinetik olarak farklılık gösterir. Tüm yöntemlerde zincirin bir koruma grubu ile kapatılması esastır. Hareketsiz zincirleri oluşturan gruplar içerisinde en stabil ve en uygun olan ATRP'de kullanılan alkil halojenürlerdir. Fakat bu gruplar polimerizasyon sonrası uzaklaştırılmaları gereken geçiş metal kompleksleri gerektirir. Hareketsiz zincirler NMP'de yarı karardır. RAFT polimerizasyonunda ise ışığa veya başka etkenlere duyarlı olabilir [9].



Şekil 2.4 : ATRP, NMP ve RAFT polimerizasyonları.

2.1.3.1 Tersinir katılma-ayırma zincir transfer (RAFT) polimerizasyonu

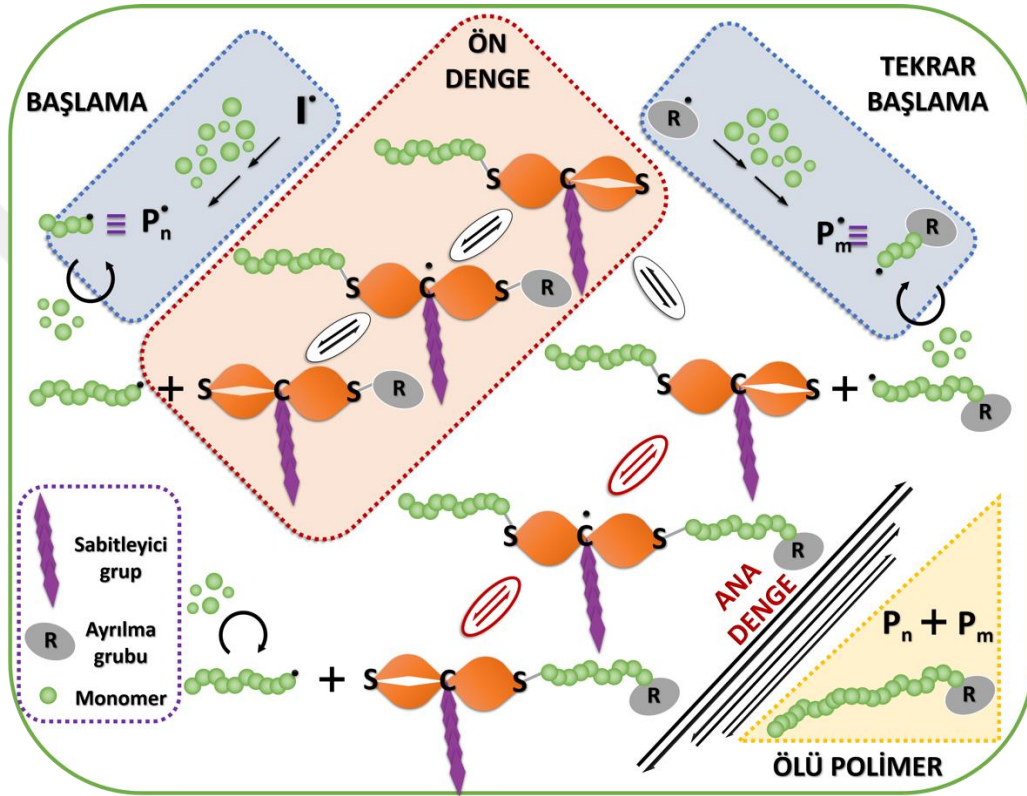
RAFT, KRP yöntemleri arasında geniş bir monomer yelpazesine uygulanabilir olmasıyla dikkat çekmektedir. Polimerizasyon sırasındaki değişim reaksiyonları çok hızlıdır, bu da kontrolün sağlanmasına katkı sağlar. RAFT işleminin başarılı bir şekilde uygulanması, çeşitli etmenlere bağlıdır. Bunlar belirli monomere uygun RAFT ajanının seçilmesi, uygun başlatıcı seçilmesi, başlatıcının RAFT ajanına olan oranı, sıcaklık, sistemin çözücülü ya da çözücsüz olması gibi etmenlerdir [8, 9, 11].

RAFT polimerizasyonundaki parametreler diğer değişkenlere göre ayarlanır. Polimerleştirilecek monomere bağlı olarak RAFT ajanı seçilir. Radikal başlatıcı ise RAFT ajanına göre seçilip oranlanır. Polimerizasyon, reaksiyon sırasında düşük radikal akış sağlayacak şekilde ayarlanmalıdır [8].

Mekanizması

RAFT mekanizması, zincir transfer ajanı (CTA) olarak adlandırılan moleküllerin, monomer ve başlatıcı varlığında oluşan makro radikallerin ($P_n \cdot$ veya $P_m \cdot$) tekrar

CTA üzerinden geri dönüşümlü olarak eklenmesine dayanır (Şekil 2.5). Uyku halindeki zincirler ve aktif türler arasında değişim kontrolü sağlar. Genel olarak polimerizasyon, ilerleme zincirlerinin oluşumuyla ilerleyen serbest radikal başlatıcının ayrışmasıyla başlatılır. Bunu, oluşan makro radikalın CTA'na eklenmesi takip eder. Ara radikalın parçalanması meydana gelir CTA'nında yeni bir radikal oluşturur. Bu geri dönüşümlü eklenme adımları klasik bir serbest radikal polimerizasyonu ile aynı başlama, ilerleme ve sonlanma adımlarını takip eder [12].



Şekil 2.5 : Tersinir katılma-ayrışma zincir transfer (RAFT) polimerizasyon mekanizması.

Monomerler ve başlatıcılar

RAFT için kullanılan monomerler stiren, akrilatlar, akrilamidler, matakrlatlar, metakrilamidler, vinil esterler, vinil amitler gibi geniş bir yelpazededir. Monomer ve başlatıcının uyumu oluşacak polimerin polidispersitesi üzerinde etkilidir.

Ditiyobenzoatlar: çok yüksek transfer sabitleri, hidrolize yatkın, yüksek konsantrasyonlarda gecikmeye neden olabilir. Metakrilat, metilakrilamidler için çok uyumludur. Stiren için uyumludur.

Tritiyokarbonatlar: yüksek transfer sabitleri, hidrolitik olarak ditiyobenzoatlara göre daha kararlı, daha az gecikmeye neden olur. Metakrilat, metakrilamit, stiren için çok uyumludur. Akrilat ve akrilamit monomerleri için de uyumludur.

Ditiyokarbamatlar: N üzerinden belirlenen aktivite, elektron açısından zengin monomerlerle daha etkilidir. Yanlızca vinil ester ve vinil amitler için çok uyumludur [8].

2.2 Amfifilik Kopolimerler

Kopolimerler, iki veya daha fazla çeşit monomer içeren polimer zincirleri olarak tanımlanır. Bu monomer grupları arasındaki yapısal farklılıklar zincire hibrit özellikler kazandırır. Çözünürlük/karışabilirlik, hareketlilik, gelişmiş mekanik özellikler gibi kapsamlı fiziksel etkilerle çeşitli avantajlar sağlar. İki veya daha fazla monomer içeren zincirler monomer özellikleri karışımlarının sonucu olarak bir etkileşim parametresi sergiler ve bu parametreler faz davranışını belirler [13, 14].

Kopolimerler, içerdikleri monomerlerin zincirde bulunma yoğunluğu ve dizilme farklılıklara göre sınıflandırılabilir. Alternatif, rasgele, blok, yıldız şekilli ve aşırı kopolimerleri iyi tanımlanmış polimer mimarileri arasındadır [15, 16]. Polimer zincirindeki birimlerin düzenlenmesine bağlı olarak gösterdikleri farklı davranışlar, birçok uygulama için etkili olan farklı yapıları oluşturmayı sağlar. Tasarlanan yapıların işlevselleştirilip genişlemeyi sağlayacak şekilde değiştirilmesi, farklı kopolimerlerle bileşimsel modifikasyon olasılıklarını neredeyse sınırsız kılar [17, 18].

İyi tanımlanmış morfolojiler ve nanometre ölçekli yapılar oluşturmak için uygun koşullarda kendiliğinden birleşme özelliği olan küçük (yüzey aktif maddeler) veya büyük (blok kopolimerler) amfifilik moleküller içeren sistemler kullanılır [19].

Kontrollü polimerizasyon reaksiyonlarının gelişmesiyle iyi tanımlanmış polimer mimarilerinin tasarımı ve sentezi ileriye taşınmıştır. KRP'lerinin tüm çeşitleri (NMP, ATRP, RAFT gibi) uygun oldukları monomerler ölçüsünde polimerik yapıların tasarım imkanını artırır. Bu imkanlar molekül ağırlığı kontrolü, polidispersitenin düşük olması ve fonsiyonel birim ekleme gibi özelliklerdir [18].

2.2.1 Yapısal özellikleri

Kopolimerlerin çeşitli şekillerde üretilebildiği birçok çalışmadan bilinmektedir. Bunlar arasında en basit kopolimer türü olan iki ya da daha fazla monomerin aynı anda polimerleştirildiği rasgele kopolimerler yöntemidir. Her monomerin nispi katılım oranı, çok sayıda monomerin radikal polimerizasyonu için belirlenen reaktivite oranlarına bağlı olarak değişmektedir. Bu teknik, birçok polimerin mekanik ve fiziksel özelliklerini değiştirmek, iyileştirmek için yaygın olarak kullanılır [18].

Kopolimerlerden en yaygın olarak kullanılan blok kopolimerler, homojen rasgele kopolimerlerin ve basit fiziksel karışımlardaki gibi sahip oldukları özelliklerin zenginleşmesi bakımından benzersizdir. Blok kopolimerler, bileşenlerin her birinin karakteristik özelliği olan camsı geçişler (T_g) ve / veya kristalin erime noktaları (T_m) çoklu termal geçişler sergiler. Bu çok yönlülük, blok kopolimerleri birçok farklı uygulama için uygun hale getirir. Özellikle amfifilik yapıya sahip blok kopolimerleri moleküller arası etkileşimlerle faz oluşturup paketlenme davranışıyla kullanışlı nano yapılar oluşumunu sağlar. Bu davranış pek çok etkileşim parametresine bağlıdır. Bunlar polimerlerin molekül ağırlığı, geometrisi ve çözücünün etkisi şeklindedir [20].

Blok kopolimerlerin sentezi monomerlerin canlı polimer zincirlerine sırayla eklenmesine izin veren, sonlandırmasız anyonik polimerizasyonun keşfi ile kolaylaşmıştır. Doğrusal, aşı ve yıldız şekilli kopolimerler gibi kopolimerlerin hazırlanmasında kontrollü radikal polimerizasyonun kullanımı avantaj sağlar. Bu avantajlar yanında bazı sınırlamaları da vardır [21]. NMP, sınırlı monomerlerin polimerizasyonu için kullanılır ve yüksek sıcaklık gerektirir. Metakrilatlarla uygulamaları kısıtlıdır. ATRP, halojen değişimini kullanarak birçok monomeri polimerleştirmek için kullanılır. Özellikle metakrilatlar için çok verimli çapraz çoğalma sağlar, bunun başka yöntemlerle elde edilmesi imkansız olduğu düşünülmektedir. RAFT ise polimerleştirilebilir monomer aralığı en geniş olan yöntemdir. Ancak kontrol için ditiyoester yapısının iyi ayarlanması gerekir ve düşük molekül ağırlıklara sahip polimerleri hedeflerken gecikme eşlik edebilir[18].

2.2.2 Çeşitleri

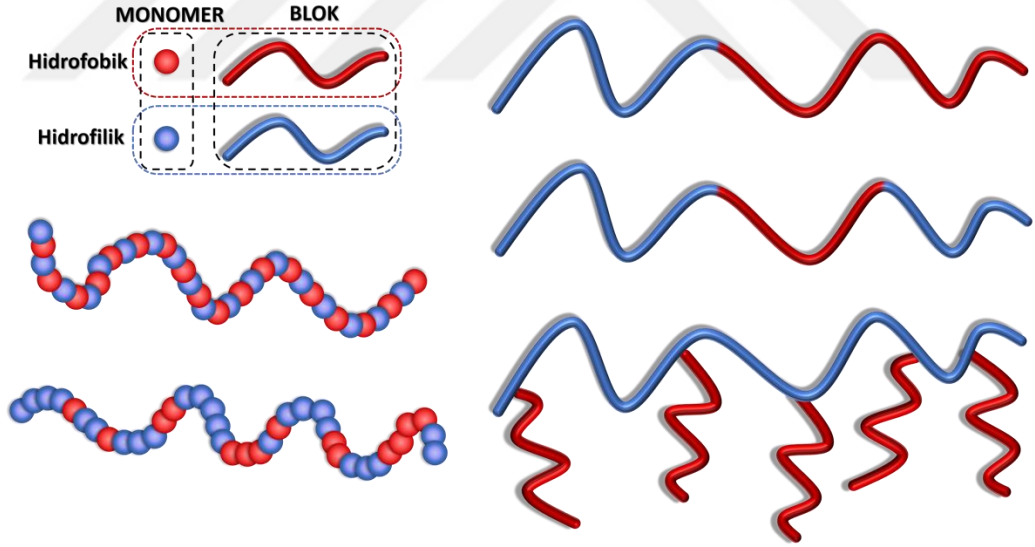
Kopolimerler yapısal olarak doğrusal, dallı, yıldız şekilli, çapraz bağlı hatta halkalı olarak farklı şekillerde sentezlenirler (Şekil 2.6). Bu farklılıklar uygulama olarak geniş

alana yayılmasını sağlarlar. Ayrıca içerdikleri A ve B ile ifade edilen tekrar eden birimlerin farklı düzenlemeleriyle de sınıflandırılırlar [15, 17, 18].



Şekil 2.6 : Çeşitli kopolimer yapıları.

A ve B monomerlerinin dönüşümlü düzenlendiği polimere alternatif kopolimer denir. Belirli bir sırayı takip etmediklerinde ise rasgele kopolimerler adını alır. Monomerlerin kendi içlerinde grup halinde olduğu kopolimelere ise blok kopolimerler denir. Bir birine bağlı iki veya daha fazla homopolimer olarak da ifade edilen blok kopolimerler geniş kullanım alanına sahiptirler. Bu A ve B homopolimerlerinin birbirine AB , ABA veya BAB olarak doğrusal, aşı ya da halkalı şekilde bağlanmasına göre hem yapı, hem uygulama olarak çeşitlilik sağlanır [15].



Şekil 2.7 : Amfifilik kopolimer türleri.

Birbirlerinden kimyasal olarak farklılıklara sahip iki veya daha fazla polimer bloğunun birleştirilmesi faz ayrımına sebep olur. Blokların faz ayrımı, polimerin doğasına ve blokların hacmine bağlı olan düzenlenmelerle periyodik yapılara yol açar. Kendiliğinden birleşme ile açıklanan bu düzenlenmeler temel olarak polimer blokların uyumsuzluğundan kaynaklanmaktadır. Kopolimerlerdeki bloklar, kendi aralarında ve

çözücü molekülleri ile polimer bölgelerinin etkileşim gücü arasındaki denge tarafından yönlendirilen düzenlenmeyle faz oluşturur. AB ve ABA kopolimerleri tipik olarak lameller, çift giroid, silindirler ve küreler olmak üzere dört farklı mikrofaz yapısına yol açar. Bu faz davranışları, benzer olmayan bloklar arasındaki etkileşim parametreleri sayesinde daha iyi anlaşılır [13, 17, 21].

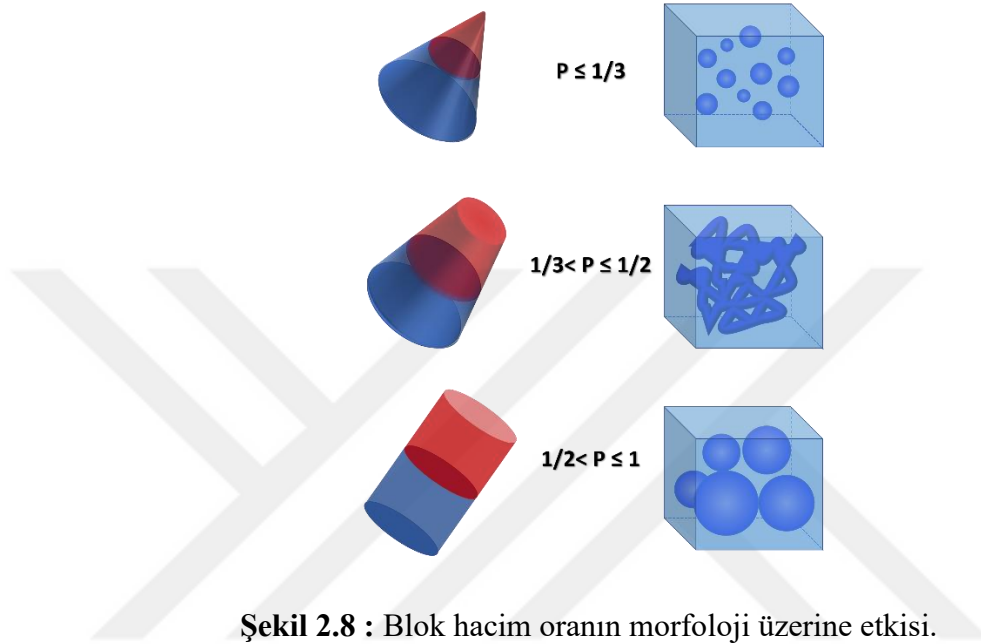
2.2.3 Uygulamaları

Kopolimerlerle ilgili yapılan ilk araştırmalar homopolimerlerin özelliklerinin gelişmesine yöneliktir. Örneğin, polipropilenin etilen bağlantılarına sahip rastgele kopolimeri, düşük erime noktası, sızdırmazlık, şeffaflık ve parlaklık gibi özellikler kazanır [17]. Ancak monomer özelliklerin tam olarak tanımlanmasının zor olması ve sentezdeki kontrol eksiklikleri özel uygulamalar için başarıyı engellemektedir. Sentez ve karakterizasyon tekniklerinin gelişmesiyle yapı-özellik korelasyonu aydınlatılarak iyi tanımlanmış zincir topolojisine sahip polimerler ve öngörülebilir yapılar tasarlama imkanı sağlamıştır [18].

Hidrofobik ve hidrofilik bileşenden oluşan amfifilik blok kopolimerlerin, içerisinde bulunduğu çözücüde miktarı arttıkça değişen davranışı ilgi çekmiştir. İlk başta düşük yüzey gerilimine sahipken bileşen miktarı arttıkça, sistemin yüzeyi kalabalıklaşır ve füzyona uğrayan yapılar mikro yüzey aktif madde gibi davranır. Sonra miselleşme davranışı sergilemeye başlar. Çözelti içinde amfifilik kopolimerler için ayrılma davranışı baskın olsa da, kompleksleşmenin etkisi dallanma ile artırılabilir. Temel olarak amfifilik blokların karşıt hareketi monomerlere uygun sistem içerisinde birçok uygulama için istenilen yapı ve davranışa sahip misel, tüp, lamel ve vezikül gibi yapılar oluşturur [14, 22].

Amfifilik kopolimerlerle çeşitli yapıların oluşumu, zincirlerin sahip olduğu özelliklere bağlı olduğu pek çok çalışmayla gösterilmiştir. Üretilecek partikülün boyutu ve yapısını etkileyecek faktörler blokların düzenlenmesini ve oluşacak olan yapının şeklini büyük ölçüde değişmesini yönlendirir. Paketlenme parametresi ise çözücü içerisinde kendiliğinden birleşme davranışını etkiler. Oluşacak yapıyı tahmin etme üzerine önemli bilgi sunar. Çözücünün rolü ise bloklar arasındaki uyumsuzluk derecesine göre konformasyonu etkiler. Örneğin su-THF karışımı içerisinde poli(akrilik asit) bazlı amfifilik kopolimerler faz ayrılmasıyla misel oluşturulmuş, sistemde THF miktarının artması misellerin disk benzeri nanoyapılara dönüşümüne

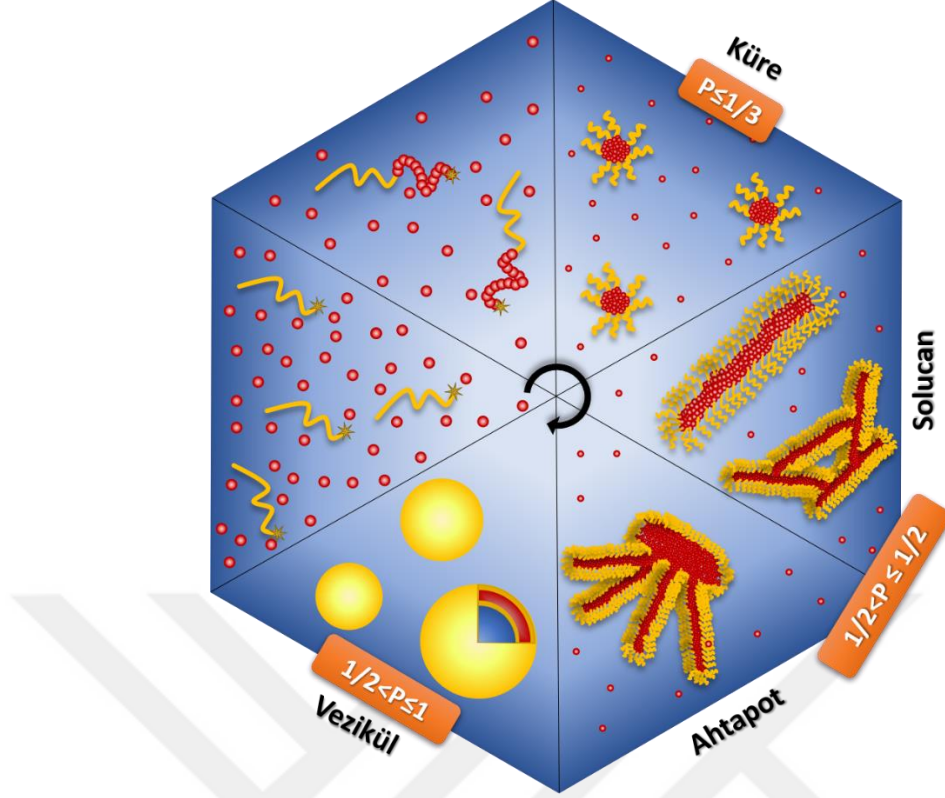
sebepler olur. Polimerin molekül ağırlığı ve polimerlerin geometrisinin etkisi blok hacim oranlarına bağlıdır ve doğrudan oluşacak yapıyı etkiler (Şekil 2.8). Farklı blokların hacimsel oranının 1 olması polimerin membranlar, tabakalar veya diskler halinde birleşmesini sağlarken, blok hacim oranı azaldıkça bu şekiller silindirleri ve daha hareketli olan küreleri oluşturur [20].



2.3 Polimerizasyonla indüklenmiş kendiliğinden birleşme (PISA)

Polimerlerin alışılmış yöntemlerle kendiliğinden birleşmesi, genellikle polimerik yapıların üretimini sınırlayabilen seyreltik çözelti (<1%) içinde gerçekleştirilir. Bu sınırlama polimerizasyonla indüklenen kendiliğinden birleşme (PISA) yöntemiyle yapılan çalışmalarla aşılmıştır [23]. KRP'ye dayanan PISA yöntemi, başlatıcı polimer ve monomerlerin karışımından amfifilik blok kopolimerlerin sentezi üzerine kuruludur. Sentez sırasında kürelerden veziküllere gelişen yapı oluşumu amaçlanır (Şekil 2.9). Bu yönüyle etkili bir yaklaşım olduğu düşünülmektedir [24].

PISA herhangi tersinir deaktivasyon radikal polimerizasyonu (RDRP) ile gerçekleştirilebilmesine rağmen, çoğu durumda RAFT polimerizasyonu kullanılır. Bu yaklaşım, nispeten yüksek konsantrasyon (%25-50 w/w) sistemlerde dahi kolayca ayarlanabilen boyut ve şekiller için kendiliğinden birleşmeye geniş ölçekte olanak sağlar (Şekil 2.9) [25].



Şekil 2.9 : PISA ile oluşturulan küre, veziküli solucan ve ahtapot yapıları.

Yöntemin genel işleyişi, makromoleküler zincir transfer ajanından (makro-CTA) oluşan çözünür bir homopolimerin (A), ikinci bir monomer (B) (uygun bir çözücü içinde) kullanılarak zincir uzatılmasına dayanır. Art arda büyüyen ikinci blok (B) kademeli olarak çözünmez hale gelir ve AB diblok kopolimer nano nesnelere oluşturmak için kendiliğinden birleşmeyi (*in situ*) kontrol eder [25]. Böylece zincir büyümesi sırasında kendiliğinden birleşmeyi kontrol eden amfifilik blok kopolimerler oluşturulur [26]. Sterik stabilizatör görevi gören A bloğu, genellikle alışılmış polimerizasyon yöntemleriyle hazırlanırken, çözünmeyen B bloğu, dispersiyon veya sulu emülsiyon polimerizasyonu yoluyla hazırlanır.

Bu yaklaşımın ilk araştırmaları metil metakrilat, n-bütül akrilat veya stiren gibi suyla karışmayan monomerlerin kullanıldığı RAFT sulu emülsiyon polimerizasyonuna dayanıyordu. Bu formülasyonu çok verimli olduğu düşünülse bile çoğu durumda kopolimer bütün yapılar yerine sadece kinetik olarak hapsolmuş kürelerin oluşumuyla sınırlıdır. Bunun aksine, küreler, solucanlar ve veziküller gibi bütün yapıları verebilen birçok RAFT dispersiyon polimerizasyon çalışması vardır [26].

2.3.1 Mekanizması

PISA, çözünebilen polimer ve sistemde karışabilen monomerin polimerizasyonu sonucu kopolimerlerin oluşumuna dayanır. Yeni oluşan çözünemeyen blok kendiliğinden birleşmeyi indükler. Birinci bloğun seçici çözücüsü faz ayrımını mümkün kılar [27, 28].

PISA için ana parametreler şunlardır.

Blokların kimyasal yapısı: PISA yönteminde blok oluşumu ve kendiliğinden birleşme aşamaları aynı çözücü içinde gerçekleştirildiğinden sistemdeki kimyasal uyum iyi tasarlanmalıdır. Çekirdeklenmeyi başlatacak bloğun monomeri makro başlatıcının doğasına göre seçilmelidir. Çözünmeyen monomer ve çözünen makro başlatıcının stratejik seçimi, ajanın polimerizasyondaki bloke etme etkinliğini yani kontrolü etkiler. Dolayısıyla blok kopolimerin kararlılığını, partikül boyutu dağılımını ve oluşan yapıların homojenliğini destekleyen bir faktördür [12].

Sistemdeki çözücü(ler): PISA yönteminde, monomer çeşidinin ve oranının etkisi kadar çözücünün çeşidi, miktarı, varsa yardımcı çözücü ve miktarı da yapısal faz diyagramı üzerinde çok etkilidir. Çözücü ile yardımcı çözücü miktarı ve oranları yapı geçişleri ve daha yüksek dereceli yapıların oluşumu için ayarlama imkanı sunar. Özellikle yardımcı çözücünün özellikleri yapıyı büyük ölçüde etkiler. Örneğin, 1,4-dioksanın büyük morfolojik değişikliklere izin verdiği, etanolün ise morfolojiyi ayarlamak için çok daha yüksek oranlara çıkılması gerektiğini gösteren araştırmalar bulunmaktadır [29].

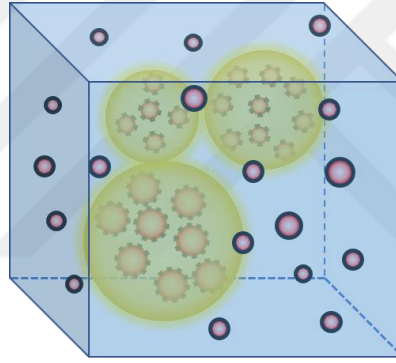
RAFT-PISA için makro RAFT ajanı türü: Polimerizasyon işlemi (emülsiyon, dispersiyon) ne olursa olsun, kullanılan solvofilik makroRAFT'ın büyük çoğunluğu ditiyoesterlere veya tritiyokarbonatlara dayanmaktadır. Dispersiyon fazı olarak su kullanıldığında, bu bileşiklerin hidrolize daha az duyarlı olduğu gösterildiğinden, tritiyokarbonatlar daha az tercih edilir.

Başlatıcı: NMP veya ATRP gibi diğer (geri dönüşümlü radikal polimerizasyonu) RDRP tekniklerinin aksine, RAFT genellikle termal-, redoks- veya foto-aktivasyon altında organik moleküllerin ayrışması yoluyla sağlanan harici bir radikal kaynağı gerektirir. Kontrol, başlatıcı ve zincir transfer ajanının nispi miktarlarına karşı aşırı duyarlıdır. Bu durum aslında, diğer tekniklerle karşılaştırıldığında, blok kopolimer sentezi için ve özellikle PISA yöntemi için düşünüldüğünde dezavantajdır [30].

2.3.2 Emülsiyon polimerizasyonu

Öncesinde de değinildiği gibi PISA, KRP ile elde edilen çözünür bir polimerin çözücüsünde çözünür olmayan ya da çözünen bir monomerin zincir uzatması yoluyla ortamda çözünmeyen polimerik yapıların sentezlendiği bir süreçtir. İşlem temel olarak emülsiyon, dispersiyon polimerizasyonları yoluyla ilerler [31].

Emülsiyon polimerizasyonunun ana bileşenleri su, suda çözünür bir polimerik başlatıcı, yüzey aktif madde ve mikrometrik damlacıklar ya da nanometrik yüzey aktif maddeyle uyumlu, aynı zamanda suda çözünürlüğü de çok az olan monomerdır. Emülsiyon koşullarında, monomer çözünmeyip ayrı bir toplanma fazında bulunur (Şekil 2.10). Oluşturulan iki bloklu kopolimer partikülleri eklenen monomer tarafından büyür. Yüksek polimerizasyon derecesine sahip olması ve yüksek monomer dönüşümü en büyük avantajlarından [32].



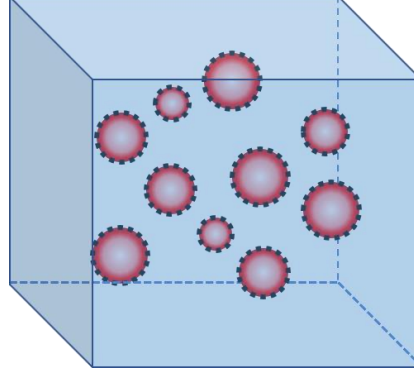
Şekil 2.10 : Emülsiyon polimerizasyonu sistemi.

Genel olarak, polimerizasyon başlatıcının suda ayrışarak radikal oluşturmasıyla başlar. Sulu faz ile temasta olan monomere radikal eklenmesiyle suda çözünür oligoradikaller üretilir. Büyüyen oligomerik türler kritik polimerizasyon derecesine gelerek çözünmez hale gelir. Daha sonra polimerizasyonun devam ettiği çekirdekli parçacıklara dönüşen monomerler büyümüş yüzey aktif misellere geç eder. Buna misel çekirdeklenmesi denir. Misellerin yokluğunda ise yüzey aktif maddelerin kararlılığı sağladığı oligomerilerin çökmesiyle oluşan homojen çekirdeklenme gerçekleşir [12].

2.3.3 Dispersiyon polimerizasyonu

Dispersiyon polimerizasyonunda sistemdeki monomerler polar veya polar olmayan çözücüler içinde çözünürken bu monomerlerin oluşturacağı blok çözünür değildir (Şekil 2.11). Yapılan çalışmaların çoğunda küresel olmayan morfolojilerin dispersiyon

polimerizasyonu yoluyla elde edilmişken aynı süreç emülsiyon polimerizasyonu ile gerçekleşebilmesine rağmen, kinetik olarak sıkıştırılmış kürelerden başka morfoloji elde edilmemiştir [26, 33].



Şekil 2.11 : Dispersiyon polimerizasyonu sistemi.

Dispersiyon polimerizasyonu ise üst düzey morfolojiler oluşturmak için başarıyla kullanılmıştır. Hem stabilizatör görevi gören hem de çekirdek oluşturan ikinci blok için çeşitli monomerler kullanılmıştır. Ancak sulu dispersiyon için uygun solvofobik monomer sayısı çok sınırlıdır [34]. Monomerin çözünürlüğünü sağlamak için yardımcı çözücüler ya da yardımcı çözücüler yerine katkı maddeleri de kullanılmıştır. Örneğin, suyla karışmayan stiren monomerinin çözünmesine yardımcı olmak için siklodekstrin (CD) eklendiğinde, konak-konuk kompleksi oluşumu sağlanarak sulu dispersiyon polimerizasyonu gerçekleştirilebilmiştir [35].

2.3.4 Kullanılan polimerizasyon çeşitleri

Bütün KRP teknikleri PISA yöntemi için uygulanabilmektedir. Günümüze kadar PISA için yaşayan anyonik polimerizasyon (LAP), RAFT polimerizasyonu, ATRP, NMP, ve halka açılma metatez polimerizasyonu (ROMP) yöntemleri kullanılmıştır [32]. Bu yöntemlerle dispersiyon polimerizasyonu ve sulu emülsiyon polimerizasyonu olarak gerçekleştirilen işlemler PISA için çok geniş kullanım çeşitliliği sağlar.

PISA için RAFT polimerizasyonu geniş reaksiyon koşullarına uygunluğu ve geniş monomer aralığı açısından en öncelikli ve ağırlıklı olarak çalışılan yöntemdir. Ayrıca hem su hem organik çözücülerle uygulanabilir olması nedeniyle tercih edilmektedir. RAFT polimerizasyonu başlatılma çeşitlerine göre ısıyla, ışıkla ve enzimle başlatılma olarak sınıflandırılır. Isıya bağlı sistemlerde sıcaklığın 60 °C ve üzerine çıkması, polimer içeriğinde ısıya duyarlı protein, antikor gibi biyolojik moleküllerin

bozulmasına sebep olur. Işığa bağlı sistemler bu dezavantaj için en uygun sistemlerdir. Oda sıcaklığında görünür ışıkla yapılan foto-başlatıcılı RAFT dispersiyon polimerizasyonu başarı sağlanmıştır [36]. Enzime bağlı RAFT polimerizasyon sistemleri ise yine hafif koşullarda gerçekleştirilmesi açısından avantajlıdır. Bu yöntemlerin çeşitli kombinasyonlarda denenmeye açık olması çok geniş uygulama alanı sağlar [32].

Çözücü olarak ise organik çözücü ya da su kullanımına uygundur. RAFT dispersiyon polimerizasyonlarının çoğu alkan ya da alkol içeren organik sistemler içerisinde yapılır. Organik çözücülerin tersine su PISA için daha ekonomik ve ulaşılabilir. RAFT dispersiyon polimerizasyonu için suda çözünen monomerin polimerleştiğinde suda çözünmeyen bloğu oluşturması özelliği aranır. 2-Hidroksipropil metakrilat (HPMA) ve GMA ile yapılan RAFT sulu dispersiyon polimerizasyonu ilk misellerin oluşumu ardından tekrar düzenlenmeye solucan ve diğer morfolojilerin oluştuğu gösterilmiştir [32, 36].

En yaygın olarak kullanılan polimerizasyon çeşitlerinden olan ATRP'nin PISA için kullanımı pek yaygın olmasa da vardır. Polimerizasyon sonrası uzaklaştırılması gereken bakır katalizör veya geçiş metalleri kullanım için engel oluşturmaktadır. Bunu aşmak için daha az katalizör içeren çeşitli yöntemler denenmiştir. Diğer bir geleneksel KRP çeşitlerinden olan halka açılması polimerizasyonu (ROP) da PISA için uygulanmış ve başarılı olmuştur. Sulu ortam yerine organik ortamın daha uygun olduğu düşünülen ROP PISA için sulu yöntemler de denenmiştir. NMP için PISA çalışmaları emülsiyon ve dispersiyon sistemleri için de uygundur. Yapılan bir NMP PISA çalışmasında pH'a bağı olarak nano yapıların değiştiği gösterilerek yüksek yapıların çeşitliliği kaydedilmiştir. PISA yönteminin yaygınlaşmasından önce yapılan LAP sırasında blok kopolimerlerin kendiliğinden birleşmesine dikkat çekilmiştir. Pek çok yolla çeşitlendirilebilen bu sistem günümüze dek gelişerek gelmiştir ve hala ilgi çekiciliğini korumaktadır [32, 36, 37].

2.4 Polimerik İlaç Taşıyıcı Sistemler

İlaçların geleneksel kullanımında vücutta etki göstereceği miktar ve bulunma süresiyle ilgili kısıtlamalar vardır. Pek çok ilacın yarı ömrü kısadır ve hedeflerine giderken diğer dokularda veya organlarda bazı yan etkilere neden olur. Günümüzde ilaçların farmakolojik ve terapötik özelliklerinin iyileştirilmesine yönelik ilaç moleküllerinin

dağıtılmasını sağlayan nanotaşıyıcılar tasarlanmaktadır. Bu nanotaşıyıcılar, aktif bileşiklerin daha iyi biyo-dağılımını ve bozulmalara karşı korunmasını sağlar. İlaç moleküllerinin bağlanması, geçişi, hedeflenmesi, biyolojik engelleri aşması gibi çeşitli avantajlar sunması bu konuda araştırmaları arttırmıştır [38, 39].

Nanotaşıyıcılar kısaca, ilaç etkinliğini yükseltmek ve yan etkileri en aza indirmek için kullanılmakta ve geliştirilmeye devam edilmektedir [40]. Ayrıca taşıyıcılar, sistemde suda çözünmeyen ilaçların biyoyararlanımını artırır, biyoaktif makromoleküllerden DNA ve siRNA gibi yapıların taşınmasına yardımcı olur [38].

Nanomalzemelerin bazıları biyolojik olarak parçalanabilirken, bazılarının parçalanamıyor olması insanlarda ilaç taşıyıcı şeklinde kullanılmasının güvenliği konusunda endişeler ortaya çıkarmıştır. Yan ürünlerin olumsuz etkileri bu endişelerin büyümesinin temel kaynağıdır. Makro ölçekte güvenli olan malzemelerin nano ölçekte fizikokimyasal özelliklerindeki değişikliklerden dolayı vücuttan tamamen temizlenememesi, doku ve organlarda istenmeyen birikmeler gibi olumsuzluklara sebep olabilmektedir [41]. Bu yüzden özellikle tıbbi uygulamalar için kullanılan nanotaşıyıcılar biyolojik olarak uyumlu ve toksik olmayan özellikte olmalıdır. İlaç dağıtımını için uygun bir taşıyıcı tasarlanırken, stabilitesi, raf ömrü, biyouyumluluğu, biyodağılımı, hedeflemesi, işlevselliği, ilaç taşıma kapasitesi ve salımı gibi çeşitli parametrelerin doğrulanması gerekir [38]. Yapılabilecek çeşitli fonksiyonlandırmalar ile biyouyumluluk, yükleme hızı, kontrollü salım ve biyodağılım gibi özellikler geliştirilerek farmakokinetik olarak yararlı hale getirilebilirler [42].

Polimerik nanotaşıyıcılar, boyutları 10 nm – 1 µm arasında değişen ve doğası gereği katı olan kolloidal partiküllerdir. Sentetik polimerler ile hazırlama yöntemine bağlı olarak, nanokapsüller ve nanosferler, polimerik miseller, veziküller, ilaç-polimer konjugatları, dendrimerler gibi çeşitli yapılar oluşturulur. Nanosferler, ilacın homojen olarak dağıldığı matris sisteminden oluşurken, nanokapsüller ilacın bir boşluğa gömüldüğü ve boşluğun polimerik bir zarla çevrildiği sistemlerdir [42, 43]. Polimerik miseller hidrofobik çekirdek hidrofilik kabuk kısmına sahip yapılardır. Suda çözünürlüğü çok az olan ilaç vb. molekülleri taşımada çok avantaj sağlarlar [44].

2.4.1 Polimerik miseller

Polimerik miseller, çekirdek kısmında hidrofobik ilaçları ve dış kabuğunda DNA veya siRNA gibi hidrofilik biyoaktif molekülleri tutabilen, amfifilik kopolimerin su

içerisinde kendiliğinden birleştirilmesiyle oluşturulan nano boyutlu çekirdek-kabuk yapılarıdır. Boyutları genellikle 100 nm'nin altındadır ve hidrofobik ilaçların sistemik dağıtımını için yaygın olarak kullanılır. Hidrofilik yüzeyleri, onları retiküloendotelyal sistem tarafından spesifik olmayan alımdan korur. Polimerik misellerin, üstün kontrollü salım özellikleri ve doku penetrasyon kabiliyetleri yanında fizyolojik koşullarda stabiliteleri, yüksek ve çok yönlü yükleme kapasitesi, hedef bölgede ilaç iletimi ve hedefleme ligandlarının konjugasyonu için son grubun işlevselleştirme imkanları sayesinde mükemmel ilaç verme sistemi oldukları kanıtlanmıştır [41].

Miseller, genel olarak amfifilik makromoleküllerin sulu bir çözelti içinde sistematik kendiliğinden birleşmesiyle oluşur. Amfifilik çok bloklü kopolimerlerin hidrofilik ve hidrofobik birimleri, çekirdek-kabuk nano yapı oluşumunu sağlar. Hidrofobik birimler, hidrofilik birimlerden oluşan dış korona ile çevrelenmiş iç çekirdeği oluşturmak için birleşirler. Misel boyutları ve formu, hidrofobik ve hidrofilik kısımların oranına bağlı olarak değişim göstermektedir. Polimerik misellere taşınması istenen moleküllerin yüklenmesi kovalent konjugasyon veya misellerin iç kısmına fiziksel olarak kapsülleme yoluyla sağlanır [45]. Miseller, genellikle uzun dolaşım sağlaması ve hedefe özgü aktif veya pasif ilaç teslimi için kullanımı açısından dikkat çekmektedir [39].

2.4.2 Kontrollü ilaç taşıyıcı sistemler

İlaç taşıma sistemleri etken maddenin zamanında (anında, gecikmeli veya sürekli) salınmasını sağlayan nano boyutlu yapılarıdır. Sistem kendi başına farmasötik olarak aktif değildir, ancak taşıdığı aktif bileşiklerin etkinliğini ve güvenliğini artırır [40]. Kontrollü ilaç dağıtımını, artırılmış etkinlik, azaltılmış toksisite, iyileştirilmiş uyum ve duyarlılık sağladığı için avantajlıdır. Ek olarak, kontrollü ilaç taşıma sistemi, ilacı hızlı bozunma veya temizlenmeden korur ve hedeflenen dokulardaki ilaç konsantrasyonunu artırır, bu sayede daha düşük dozlarda ilaç kullanımını kolaylaştırır [38].

İlaç uygun bir taşıma sistemi ile verildiğinde etkinliği korur, yan etkilerden kurtulur ve metabolizmanın ilk geçişinden kaçabilir. İlaç taşıyıcı sistemler, ilaçların kontrollü ve sürekli salımını sağladıkları için farmasötik reformülasyonların bir parçası haline gelmiştir [39].

Taşıyıcı sistemlerin ilaç iletimini etkileyen parametreler vardır. Bular şu şekilde sıralanabilir:

Parçacık boyutu: Nanopartiküllerin ilaç yüklemesini, stabilitesini büyük ölçüde etkiler. İlaç salımı da partikül boyutundan etkilenir. Daha küçük partiküllerin daha çok yüzey alanına sahip olması ilgili ilacın çoğu partikül yüzeyinde veya yakınında olmasına sebep olur. Bu durum ilacın hızlı salımına yol açar. Oysa boyut olarak daha büyük partiküller, daha fazla miktarda ilacın paketlenmesine ve yavaşça yayılmasına izin veren büyük çekirdeklere sahiptir.

Taşıyıcıların yüzey özellikleri: Taşıyıcılar intravenöz olarak uygulandıklarında, vücut bağışıklık sistemleri tarafından yabancı partiküller olarak muamele görürler ve dolaşımdan fagositozlanırlar. Taşıyıcıların yüzey hidrofobikliği, kandan emilen bileşenlerinin miktarını etkiler. Bu durum, kandaki opsonin olarak bilinen proteinlerin yabancı kabul edilen nanopartiküllerin *in vivo* olarak kalıcılığını etkilemesiyle gerçekleşir. Opsoninlerin nanopartiküllerin yüzeyine bağlanmasına opsonizasyon adı verilir, bu bağlanma nanopartiküller ve fagositler arasında bir köprü görevi görür. Yüzeyi modifiye edilmemiş nanopartiküller hızla opsonize olur ve hızlı bir şekilde makrofajlar tarafından kan dolaşımından temizlenir. Nanopartiküllerin ilaç hedeflemede başarılı olma olasılığını artırmak için, opsonizasyonun azaltılması ve nanopartiküllerin *in vivo* dolaşımının uzatılması önemlidir. Bu nanopartiküllerin yüzeyinin hidrofilik polimerler ile kaplanması polietilen glikol (PEG), poli(etilen oksit), polioksamer, poloksamin ve Tween 80 gibi hidrofilik bölümlere sahip biyolojik olarak parçalanabilir kopolimerler kullanılarak sağlanabilir.

Partiküllerin elektrik potansiyelini yansıtan zeta potansiyeli, nanopartiküllerin yüzey yük özelliğini karakterize etmek için yaygın olarak kullanılır. Parçacığın bileşiminden ve içinde çözündüğü ortamdan etkilenir. (+/-) 30 mV'nin üzerinde zeta potansiyeline sahip nanopartiküllerin süspansiyonda stabiliteye sahip olduğu gösterilmiştir. Çünkü yüzeydeki yük partiküllerin toplanmasını engeller. Zeta potansiyeli, yüklü bir aktif malzemenin nanokapsülün merkezinde mi kapsülleneceğini yoksa yüzeyde mi adsorbe edileceğini düzenlemek için de kullanılabilir [45].

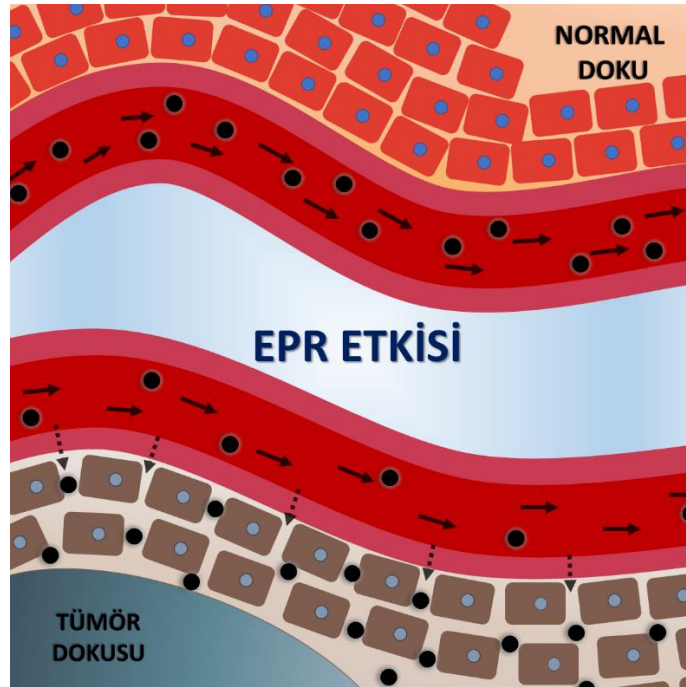
2.4.3 Hedefli ilaç taşıyıcı sistemler

İlaç taşıyıcı sistemler olarak nanopartiküllerin kullanımı, hem aktif hem de pasif ilaç hedeflemesini sağlamak için partikül boyutunun ve yüzey özelliklerinin kolay manipülasyonu; ilacın hem taşıma sırasında hem de hedef bölgede kontrollü ve sürekli boşaltılması ilacın terapötik etkinliğinin artırılması ve yan etkilerin azaltılması; yüksek

ilaç yükleme kapasitesi; parenteral, göz içi, oral, nazal vb. dahil olmak üzere çeşitli uygulama yolları; artan stabiliteye yol açan birleşmeden kaçınma; ilaç sızıntısını azaltmak için uygulanan ilaç moleküllerinin azaltılmış hareketliliği gibi öne çıkan özellikler içerir [38, 45].

Terapötik olarak en uygun hızla bölgeye özgü ilaç iletimi için partiküllerin boyutunun ve yüzey özelliklerinin iyi kontrol edilmesi gerekir. Nanopartiküllere ilaç verilen bölgeyi görselleştiren veya ilacın *in vivo* etkinliğini izleyen bazı görüntüleme ajanları da dahil edilebilmektedir [38].

1986'da Dr. Hirosh Maeda tarafından ortaya atılan geliştirilmiş geçirgenlik ve tutma (EPR) etkisi, kanser nanotıpta en çok araştırılan konu olmuştur (Şekil 2.12). Çoğu kanser araştırması EPR ve/veya hedeflemenin uygulanabilirliğini kanıtlamıştır [40]. Tümör tedavisi ve benzer hastalık problemleri için çeşitli polimerik sistemler daha detaylı incelenmiştir [46]. Bu EPR etkileri, yani pasif uygulama yaklaşımı kullanılarak kanser hücrelerinde ilaç tutulmasını kolaylaştırmak için polimerik taşıyıcılar tasarlanmıştır [41]. Geliştirilen bazı kanser ilaç taşıyıcılarının tedavide kullanımı onaylanmıştır [42]. Taşıyıcıları vücudun belirli bölgelerine hedefleme yöntemi, karaciğer ve dalak gibi organlar tarafından yakalanmasının engellenmesi, ele alınması gereken başlıca zorluklardır.



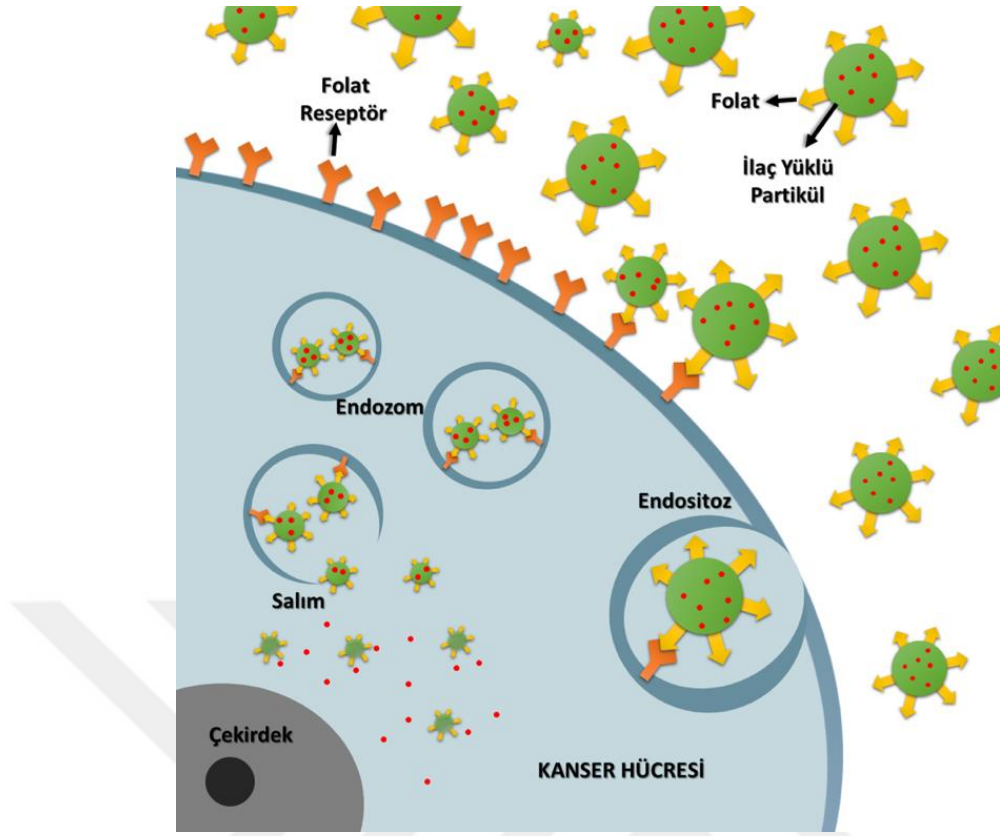
Şekil 2.12 : Geliştirilmiş geçirgenlik ve tutma (EPR) etkisi.

Hedefli ilaç taşıyıcı sistemler kanser tedavisinde kullanılmış, antikanser ilaçlarını daha etkili hale getirmiş ve kanser tedavisinde en iyi sonuçları vermiştir. Etken maddelerin, vücutta bulunan bariyerler tarafından bloke edilmeden ve etken maddelerin hacmini kaybetmeden veya kan dolaşımını etkilemeden tümör dokularının tam konumuna ulaşmasını sağlamıştır. İlaç, hedeflenen hücreyi diğer tümör dışı hücrelere zarar vermeden öldürmelidir. İlacın doğru bölgeye ulaşması için ya pasif ilaç hedefleme ya da aktif ilaç hedefleme kullanılır. Bu süreçteki en önemli iki husus hastalıklı dokunun nanomalzemeler ile spesifik hedeflenmesi ve ilacın zamanlanmış salımı çok önemlidir [38].

Hidrofobik ilaçların kapsüllenmesi, ilaçların tümörler boyunca geçirgenliğini artırmasından dolayı antikanser alanında kullanımı yoğunlaşmıştır. Polimerik miseller, antikorlar, epidermal büyüme faktörleri ve diğerleri gibi ligandlara bağlanarak kanser dokularının hedeflenmesi üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Amfifilik diblok ve triblok kopolimerler ile aşı kopolimerleri genellikle bu tür amaçlar için çalışılmaktadır. Literatürde paklitakseli (PTX) kapsüllemek için poli(laktit-*b*-PEG) polimerinin kullanıldığı kaydedilmiştir [39].

2.4.3.1 Folat

EPR etkilerine ek olarak, tümör hücresi aktif hedeflemesi, kemoterapötik ajanların etkinliğinin artırılması açısından umut verici bir stratejidir. Hedefli ilaç taşıyıcılar geliştirilirken yüzey modifiye edilebilirliği ve spesifik hedefleme için ajan olarak antikorlar, aptamerler ve peptitler gibi hastalığa özgü ligandlarla uyumluluğu önemlidir. En çok kullanılan hedefleme ajanlarından biri olan FA genellikle meme, böbrek, yumurtalık, uterus, kolon ve akciğer gibi birçok malign tümörlere aşırı duyarlıdır. Çünkü normal dokularda folik asit reseptörü (FR), düşük veya tespit edilemeyen miktarlarda veya kan akışı ile erişilemeyen alanlarda bulunurken kanserli dokuda aşırı ekprese edilir (Şekil 2.13). Bu özellikler, tümör teşhisi ve tedavisi için FR hedefli stratejilerin geliştirilmesini teşvik etmiştir. Lipozomal taşıyıcılarla yapılan prelinik çalışmalarda bir dizi FA konjuge terapötik ilaçlar ve görüntüleme ajanı ile değerlendirilmiş ve cesaret verici sonuçlar alınmıştır. Bu nedenle FR, hedeflenen özgünleştirilmiş tümör terapisi için etkili bir seçenek sağlayabilen terapötik bir hedef olarak görülmektedir [47, 48].



Şekil 2.13 : Folat reseptörü hedefli ilaç taşıyıcı sistemlerin salım mekanizması.

3. MATERYAL VE METOD

3.1 Malzemeler

4-Siyano-4[(dodesilsülfaniltiyokarbonil)sülfanil]pentanoik asit (CDTP, min. % 97, Strem Chemicals), sodyum azit (NaN_3 , Merck), folik asit (FA, %97, Sigma), propargil amin (PA, %98, Sigma), *N*-hidroksisüksinimit (NHS, Aldrich), 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilkarbodiimit hidroklorit (EDC, %98, Alfa easer), bakır (II) sülfat pentahidrat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Merck), *L*-sodyum askorbat (NaAsk, %99, Acros Organics), doksorubisin (DOKS, Eczacıbaşı Özgün Kimyasal Ürünler San. ve Tic. A.Ş.), metanol (Merck), dietil eter (Chem-Lab), dimetilsülfoksit (DMSO, Carlo Erba), aseton (Merck) satın alındığı gibi kullanılmıştır. *N,N*-Dimetilformamit (DMF, %99.8, Alfa Aesar) 4 Å moleküler sieve ile kurutulmuş kullanılmıştır. 2,2'-Azobis(2-metilpropiyonitril) (AIBN, Aldrich) metanolden kristallendirildikten sonra kullanılmıştır. 2-Hidroksietil metakrilat (HEMA, %97, Aldrich), glisidil metakrilat (GMA, %97 Aldrich) ve metil metakrilat (MMA, %99, Aldrich) monomerleri bazik alümina kolonundan geçirilip inhibitörden uzaklaştırıldıktan sonra kullanılmıştır.

3.2 Kullanılan Cihazlar

Fourier dönüşümlü infrared (FT-IR) spektrumları platin-ATR aksesuarı ile (ZnSe kristali) ALPHA Bruker spektrometresinde kaydedilmiştir. ^1H NMR ölçümleri, 500 MHz'lik Bruker NMR cihazında DMSO- D_6 çözücüsü kullanılarak alınmıştır. UV-Vis absorpsiyon spektrumları Hitachi marka U-2900 UV-Vis spektrofotometresi ile ölçülmüştür. Jel geçirgenlik kromatografisi (GPC) ölçümleri, bir pompa ve Viscotek VE 3580 refraktif indeks (RI) dedektöründen oluşan Viscotek GPCmax VE 2001 Autosampler sistemi kullanılarak yapılmıştır. Seri olarak bağlanmış üç Viscotek GPC kolonu (T3000, LT4000L ve LT5000L) (iç çap 7.8 mm, 300 mm uzunluk) ve bir Viscotek guard kolonu (CLM3008, iç çap 4.6 mm, 10 mm uzunluk) kullanılmıştır. Ölçümler 35 °C'de 1.0 mL/dakika akış hızında yapılmıştır ve çözücü olarak THF kullanılmıştır. Dedektör, dar molekül ağırlığı dağılımına sahip PS standartlarıyla kalibre edilmiş ve veriler Viscotek OmniSEC 4.7.0 yazılımı kullanılarak analiz

edilmiştir. DSC ölçümleri, TA marka Discovery DSC 250 cihazında 25°C ile 250°C aralığında, 10°C/dk ısıtma hızında ve azot atmosferi altında yapılmıştır. Misellerin ortalama partikül boyutu ve partikül boyutu dağılımları, 633 nm dalga boyunda ve 25°C’de bir Malvern NanoZSP dinamik ışık saçılım (DLS) spektrometresi cihazı kullanılarak metanol içerisinde 173°’lik ölçüm açısı ile belirlenmiştir. Diyaliz işlemi gerektiren miseller diyalizden sonra kurutulmak için -90°C’ye düşen LaboGene marka CoolSafe 9 L liyofilizatörü kullanılmıştır.

3.3 Deneysel Kısım

3.3.1 Poli(hidroksietil metakrilat-*r*-glisidil metakrilat) (P(HEMA-*r*-GMA)) sentezi

Hidroksietil metakrilat (HEMA)/glisidil metakrilat (GMA) oranı 95/5 olan polimer sentezi: bir schlenk tüp içerisine sırasıyla HEMA (4.332 mL, 0.03572 mol), GMA (0.256 mL, 1.88×10^{-3} mol), 4-siyano-4[(dodesilsülfaniltiyokarbonil)sülfanil] pentanoik asit (CDTP, 0.152 g, 3.76×10^{-4} mol), AIBN (20.4 mg, 1.24×10^{-4} mol) ve kuru DMF (4.59 mL) konuldu. Vakum altında dondur-çek-çöz işlemi 3 kere yapıldı ve polimerizasyon 70°C’deki yağ banyosunda 4 saatte gerçekleştirildi. Yağ banyosundan çıkarılan schlenk tüp soğutularak polimerizasyon durduruldu. Elde edilen polimer DMF ile seyreltilerek soğuk dietil eter içerisinde çöktürüldü. Vakum etüvünde 24 saat kurutulan polimer metanolde çözülerek soğuk dietil eterde ikinci kez çöktürüldü. Nuçe erleni vasıtasıyla gooch krozeden (por. 4) süzülen polimer 24 saat vakum etüvünde kurutuldu.

3.3.2 GMA ünitelerinin azit ile fonksiyonlandırılması

P(HEMA-*r*-GMA)-2 (4 g, 5.6×10^{-4} mol) ve kuru DMF (50 mL) 100 mL’lik bir balon içerisine eklenerek manyetik karıştırıcı üzerinde çözünene kadar karıştırıldı. Çözeltiye sodyum azit (NaN₃, 1.46 g, 2.24×10^{-2} mol) eklenerek 22 saat oda sıcaklığında karışmaya bırakıldı. Reaksiyon sonunda, karışım soğuk dietil eterde çöktürüldü ve nuçe erleni vasıtasıyla gooch krozeden (por. 4) süzülerek vakup etüvünde 1 gün kurutuldu.

P(HEMA-*r*-GMA)-1 (93/7) ve P(HEMA-*r*-GMA)-3 (97/3) polimerlerinin GMA üniteleri aynı şekilde azitlendi.

3.3.3 Polimerizasyonla indüklenmiş kendiliğinden birleşme (PISA) yöntemi ile P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-*b*-PMMA sentezi

P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 (0.2 g, 2.18×10^{-5} mol) ağırlıkça %10 (%w/w) olacak şekilde metanol (5.3 mL) içerisinde çözüldü. [Monomer]:[M-CTA]:[I] oranı 100:1:0.5 olacak şekilde hesaplanarak AIBN (1.8 mg, 1.09×10^{-3} mol) ve metil metakrilat (MMA, 0.233 mL, 2.18×10^{-3} mol) eklendi. Çözeltiden 5 dk azot geçirildi ve 70°C'deki yağ banyosunda (360 rpm) 5 saat, 7 saat, 10 saat olacak şekilde 3 ayrı polimerizasyon gerçekleştirildi. Değişim gözlenip fotoğraflandı. Belirlenen sürelerde polimerizasyon durdurulup seyreltmeden, %50 ve %25 seyrelterek olmak üzere 3 DLS ölçümü yapıldı. Polimer soğuk dietil eterde çöktürüldü. Vakum etüvünde kurutuldu (5-7-10 saat sırayla %dönüşüm = %65; %48; %67).

97:3 ve 93:7 oranlı makro başlatıcılar için aynı işlem 10 saat olarak gerçekleştirildi (Sırayla %dönüşüm = %63; %59).

95:5 oranlı makro başlatıcı ile ağırlıkça yüzde aynı, [Monomer]:[M-CTA]:[I] oranı 50:1:0.5 ve 200:1:0.5 olan 10 saatlik olacak şekilde polimerizasyonlar gerçekleştirildi (Sırayla %dönüşüm = %71; %56).

Yine 95:5 oranlı makro başlatıcı ile [Monomer]:[M-CTA]:[I] oranı 100:1:0.5 olacak şekilde ağırlıkça yüzde 15 ve 20 olacak şekilde 10 saatlik polimerizasyonlar gerçekleştirildi (Sırayla %dönüşüm = %78; %51).

3.3.4 FA molekülünün propargil amin ile fonksiyonlandırılması

Folik asit (1.5 g, 0.0034 mol) kuru DMF (40 mL) ile balon içerisinde çözüldü. Buz banyosunda soğutuldu. 1-(3-dimeitl-aminopropil)-3-etilkarboimit (EDC, 0.590 g, 0.0038 mol), *N*-hidroksisüksinimit (NHS, 0.437 g, 0.0038 mol) eklenerek 1 saat karıştırıldı. Propargil amin (PA, 0.2037 mL, 0.0037 mol) 5 mL DMF içerisinde karıştırıldı, 0 °C'de eklendi. Reaksiyon 24 saat oda sıcaklığında karışmaya bırakıldı. Reaksiyon durdurularak suyun içerisine döküldü. 45 dakika manyetik karıştırıcıda hızlıca karıştırılarak çökmesi sağlandı. Çökelti süzüldükten sonra asetonla yıkandı. Vakum etüvüne kaldırıldı (Dönüşüm = %84).

3.3.5 FA-PA'nın klik reaksiyonuyla kopolimere takılması

P(HEMA-*r*-GMA)-2 (1 g, 0.14 mmol), FA-PA (0.2758 g, 0.56 mmol), bakır (II) sülfat (CuSO₄, 0.210 g, 0.56 mmol), sodyum askorbat (NaAsk, 0.333 g, 0.84 mmol), 5 mL

DMF içerisinde çözüldü. 2 kez dondur-çek-çöz işlemi yapıldı. 70°C’de yağ banyosunda 48 saat karıştırıldı. Oda sıcaklığına getirildikten sonra polimer, soğuk dietileterde çöktürüldü. Vakum etüvünde 1 gün kurutuldu. Metanolda çözünerek 6000-8000 kDa membrana koyuldu. Suyu karşı diyaliz yapıldı. Liyofilizatörde kurutuldu (Verim = %69).

3.3.6 PISA yöntemi ile P(HEMA-*r*-GMA-FA)-*b*-P(MMA) sentezi

P(HEMA-*r*-GMA-FA) (0.2 g, 2.07×10^{-3} mol) ağırlıkça %10 (%w/w) olacak şekilde metanol (5.160 mL) içerisinde çözüldü. AIBN (1.7 mg, 1.035×10^{-5} mol) ve metil metakrilat (MMA, 0.221 mL, 2.07×10^{-3} mol) eklendi. Çözeltiden 5 dk azot geçirildi ve 70°C’deki yağ banyosunda (360 rpm) 10 saat polimerizasyon gerçekleştirildi. Değişim gözlenip fotoğraflandı. 10 saat sonra polimerizasyon durdurulup seyreltmeden, %50 ve %25 seyrelterek DLS ölçümü yapıldı. Polimer soğuk dietileterde çöktürüldü ve vakum etüvünde kurutuldu (Dönüşüm = %56).

3.3.7 İlaç yüklü misellerin PISA yöntemiyle hazırlanması

P(HEMA-*r*-GMA)-2 polimeri ile hazırlanan folik asit fonksiyonlu makroRAFT ajanı (P(HEMA-*r*-GMA-FA)), (0.2 g, 2.07×10^{-3} mol), ağırlıkça yüzde (%w/w) 10 metanol (5.186 mL) içerisinde çözüldü. Monomer, makroRAFT ajanı ve başlatıcının toplam ağırlığının %5’i olacak şekilde DOKS (20.4 mg) eklendi, çözünmesi sağlandı. AIBN (1.7 mg, 1.035×10^{-5} mol) ve metil metakrilat (MMA, 0.221 mL, 2.07×10^{-3} mol) eklendi. Çözeltiden 5 dk azot geçirildi ve 70 °C’deki yağ banyosunda (360 rpm) 10 saat olacak şekilde polimerizasyonu gerçekleştirildi. Değişim gözlenip fotoğraflandı. 10 saat sonra polimerizasyon durdurulup seyreltmeden, %50 ve %25 seyrelterek DLS ölçümü yapıldı. 6000-8000 kDa diyaliz membran içerisinde konulup distile suya karşı diyaliz yapıldı. Elde edilen miseller liyofilizatörde kurutuldu (Dönüşüm = %49).

3.3.8 İlaç yükleme (DL) ve enkapsülasyon veriminin (EE) belirlenmesi

Liyofilizatörde kurutulan DOKS yüklü misellerden 4 mg tartılarak 1 mL DMSO içerisinde 1 gün bekletildi. DOKS’un DMSO içerisinde 7 farklı konsantrasyonda çözeltisi hazırlanarak 485 nm’deki absorbans değerleri ölçüldü. Bir kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. DMSO içerisinde bekletilen misellerin 485 nm’de absorbansı ölçülerek kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak yüklenen DOKS için mg/mL değeri bulundu. Bu değer ile verilen denklemler (3.1 ve 3.2) kullanılarak DL ve EE hesaplandı.

$$\%DL = \frac{\text{Misele yüklenen ilaç ağırlığı}}{\text{Misel ağırlığı}} \times 100 \quad 3.1$$

$$\%EE = \frac{\text{Misele yüklenen ilaç ağırlığı}}{\text{Beslenen ilaç ağırlığı}} \times 100 \quad 3.2$$

$$\%TDL = \frac{\text{Beslenen ilaç ağırlığı}}{\text{Toplam ağırlık}} \times 100 \quad 3.3$$

3.3.9 İlaç yüklü misellerin in-vitro salım çalışması

Liyafilizatörde kurutulmuş DOKS yüklü misellerden 10 mg tartıldı. 2 mL PBS (pH 7.4) içerisinde çözüldü. 1 mL alınarak diyaliz membrana (MWCO=3500 kDa) koyuldu. Membran Tween® 80 (%1 v/v) içeren 20 mL PBS çözeltisinde 37 °C'deki inkübatöre yerleştirilerek 80 rpm de karışmaya bırakıldı. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 24, 48, 72 ve 96 saat olarak belirlenen sürelerde durdurularak 2 mL medyundan alınarak tekrar 2 mL PBS eklendi. DOKS salım değerleri 96'lık well plate kullanılarak ELISA cihazında, 3'er kuyucuğa 200'er µL kullanılarak ölçüldü. Örnekler 480 nm'de uyarılarak 590 nm'deki intensite değerleri elde edildi. Ortalama intensite değerleri ile %ilaç salım miktarları denklemdaki gibi (3.4) hesaplandı. (V: medyum hacmi; df: seyreltme faktörü; eğim PBS içerisinde çeşitli konsantrasyonlardaki DOKS-PBS çözeltisi ile ölçülen intensite değerleriyle oluşturulan kalibrasyon eğrisinden elde edilmiştir.) İlaç salım grafiği zaman ve kümülatif olarak %ilaç salım değerleriyle oluşturuldu.

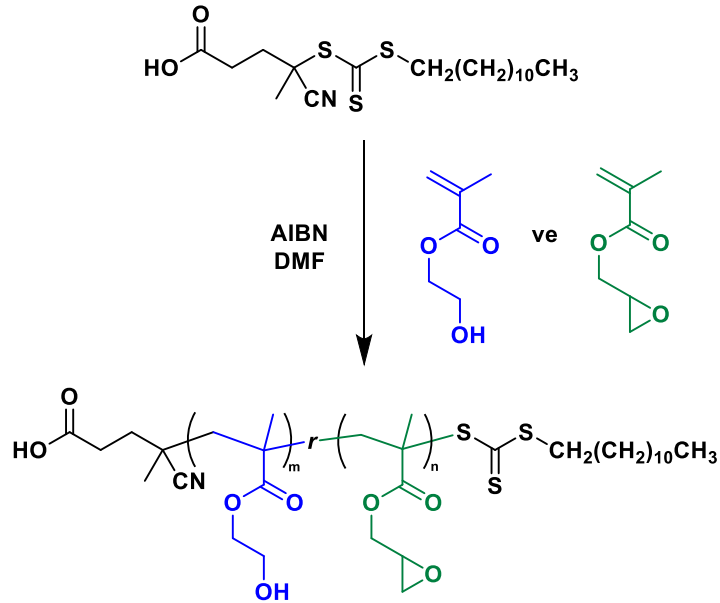
$$\%ilaç\ salım = \frac{\text{İntensite} \times V \times df}{\text{Eğim} \times \text{Yüklenen ilaç miktarı}} \times 100 \quad 3.4$$

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada HEMA ve GMA monomerlerinin RAFT polimerizasyonu ile rasgele kopolimeri sentezlenerek RAFT-PISA yöntemiyle MMA monomerinin polimerizasyonunda makroRAFT ajanı olarak kullanılması incelenmiştir. Sentezlenen rasgele kopolimerlerden biri seçilerek polimerin GMA üniteleri kanser hedefleme özelliği olan folik asit ile fonksiyonlandırılmıştır. Elde edilen polimer RAFT-PISA yöntemiyle MMA monomerinin polimerizasyonunda kullanılmış ve kanser hedefli miseller oluşturulmuştur. Polimerizasyon ile aynı anda oluşan hedefli taşıyıcıların boyutları DLS ile karakterize edilmiş, eş zamanlı ilaç yüklemesi yapılarak ilaç taşıma potansiyelleri incelenmiştir.

4.1 P(HEMA-*r*-GMA) Sentezi ve Karakterizasyonu

HEMA ve GMA monomerlerinin RAFT polimerizasyonu ile rasgele kopolimerlerinin sentezlenmesi amacıyla farklı monomer oranlarında polimerizasyonları sağlandı (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 : P(HEMA-*r*-GMA) rasgele kopolimerinin RAFT polimerizasyonu.

Polimerizasyon koşulları ile sonuç polimerlerin dönüşüm, molekül ağırlığı ve polidispersite değerleri Tablo 4.1’de ayrıntılı olarak verilmiştir. GMA oranı arttıkça dispersitenin arttığı gözlenmiştir. Elde edilen polimerler THF içerisinde çözünebildikleri için molekül ağırlıkları THF GPC ile ölçülmüştür (Şekil A.1). Ancak, %10 ve üzerinde GMA içeren polimerlerin zamanla (3 hafta sonra) çözünmeyen jelimsi yapılara dönüştüğü tespit edilmiştir. Bu durum göz önünde bulundurularak GMA ünite sayısının %10’un altında olduğu polimerler ile çalışmalara devam edilmiştir.

Tablo 4.1 : RAFT polimerizasyonu ile sentezlenen^{a,b} farklı HEMA:GMA oranlarına sahip polimerlerin dönüşüm, molekül ağırlığı ve polidispersite değerleri.

Polimer	HEMA/GMA	Dönüşüm (%)	$M_{n,th}$ (g/mol)	$M_{n,GPC}$ (g/mol)	PDI
P(HEMA- <i>r</i> -GMA)-1	97:3	85	13714	6250	1.136
P(HEMA- <i>r</i> -GMA)-2	95:5	83.4	11307	7153	1.149
P(HEMA- <i>r</i> -GMA)-3	93:7	89.7	12153	7123	1.150
P(HEMA- <i>r</i> -GMA)-4	90:10	85	11515	5432	1.172
P(HEMA- <i>r</i> -GMA)-5	85:15	93	12714	6965	1.240
P(HEMA- <i>r</i> -GMA)-6	80:20	86	11802	7439	1.287

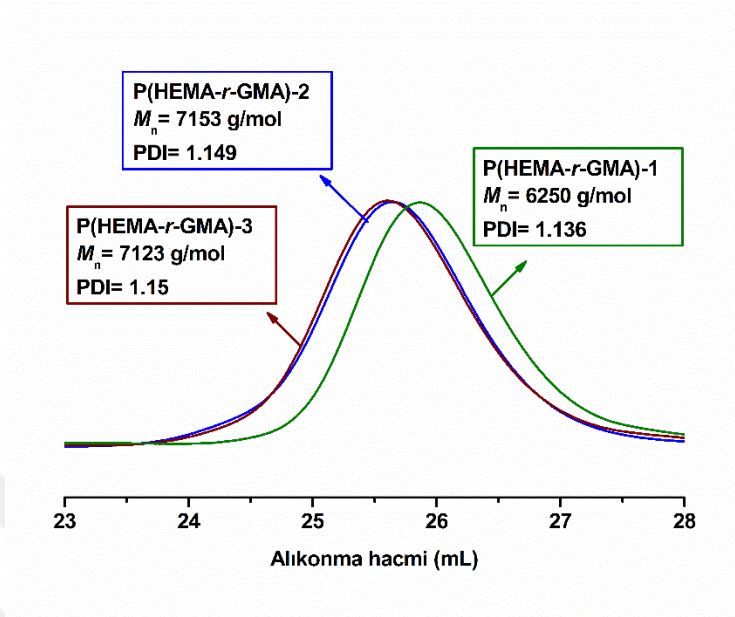
^a[M]:[CDTP]:[AIBN] oranı 100:1:0.33

^bPolimerizasyon sıcaklığı= 70°C, polimerizasyon süresi= 4 saat

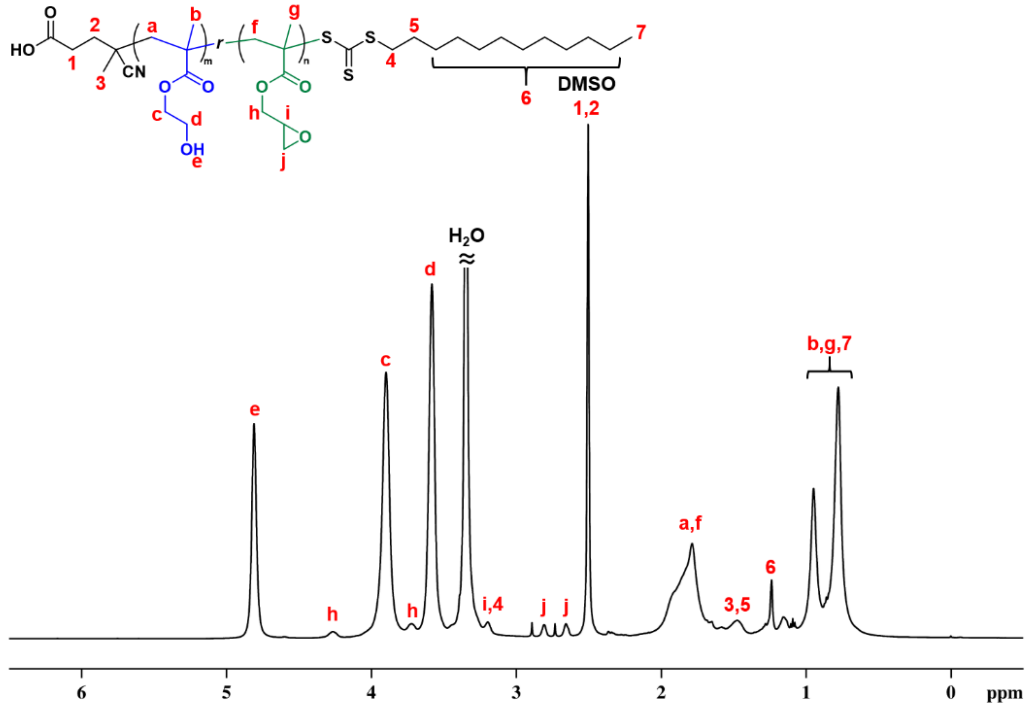
Tablo 4.1’de gösterilen polimerlerin THF içerisinde çekilmiş olan GPC kromatogramları Şekil 4.2’de karşılaştırılmıştır. Hesaplanan teorik moleküler ağırlıkları ile ölçülen ortalama molekül ağırlık değerleri arasında gözlenen fark GPC ölçümlerinin refraktif indeks dedektörü ile yapılmasından ve polistiren standartları kullanılmasından kaynaklanmaktadır.

Elde edilen polimerlerin yapıları ¹H NMR ile karakterize edilmiş ve P(HEMA-*r*-GMA)-2 polimerine ait ¹H NMR spektrumu Şekil 4.3’te verilmiştir. HEMA ünitelerinden gelen **e**, **c** ve **d** protonları sırasıyla 4.8, 3.9 ve 3.6 ppm’de gözlenmiştir. GMA ünitelerinden gelen **h** protonları 4.3 ve 3.7 ppm’de, **i** protonları 3.2 ppm’de ve **j** protonları 2.6 ve 2.8 ppm’de görülmektedir. RAFT ajanına ait protonlar da Şekil 4.3’te ayrıntılı olarak verilmiştir. Aynı şekilde P(HEMA-*r*-GMA)-1 ve P(HEMA-*r*-GMA)-3

polimerlerine ait ^1H NMR spektrumu Şekil A.2 ve A.3’de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.



Şekil 4.2 : Farklı monomer oranlarında hazırlanan P(HEMA-*r*-GMA) polimerlerinin THF içerisinde çekilmiş GPC kromatogramları.



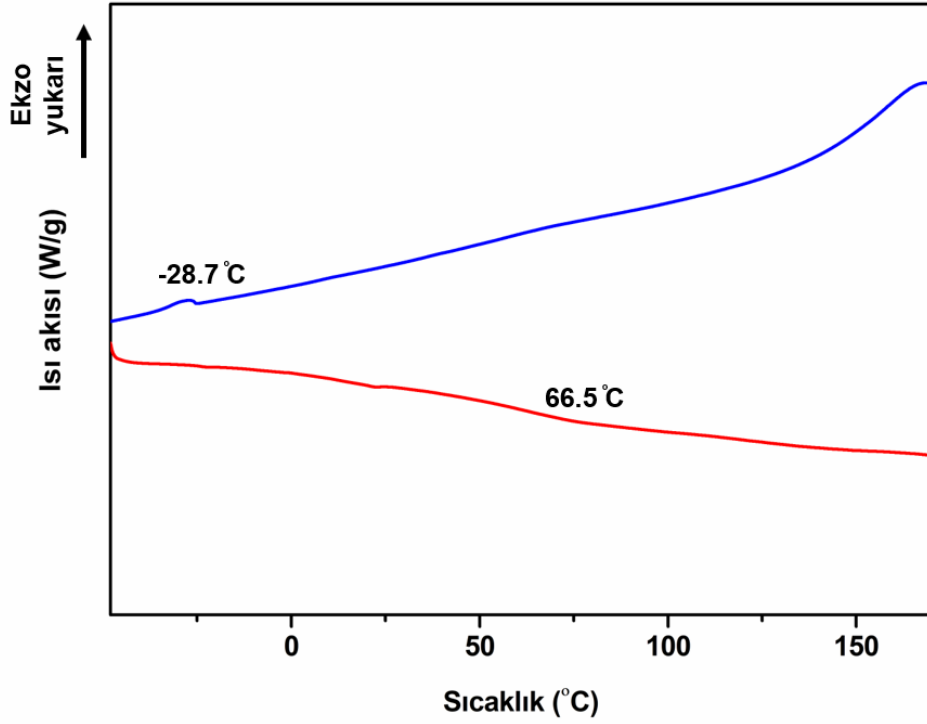
Şekil 4.3 : P(HEMA-*r*-GMA)-2 polimerinin DMSO- d_6 'da çekilen ^1H NMR spektrumu.

RAFT ajanına ait olan **6** protonları ile HEMA ünitelerinden gelen **c** protonlarının integrallerinin oranlanmasıyla HEMA ünite sayısı hesaplanmıştır. Ardından GMA'dan gelen **h** protonlarının HEMA'dan gelen **c** protonlarının integralleri ile oranlanmasıyla GMA ünite sayısı hesaplanmıştır. İlgili ünite sayıları kullanılarak hesaplanan molekül ağırlıkları Tablo 4.2'de verilmiştir. Aynı hesaplamalar diğer oranlarla sentezlenen polimerler için de yapılmıştır. ¹H NMR spektrumlarından yapılan hesaplamalar sonucunda elde edilen kopolimerlerdeki monomer oranlarının besleme oranlarına yakın olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.2 : Farklı HEMA:GMA besleme oranlarıyla sentezlenen kopolimerlerin ¹H NMR sonucunda elde edilen monomer oranları ve molekül ağırlıkları.

Polimer	GMA Besleme Oranı (%)	GMA Oranı (%)	Kopolimer Kompozisyonu	$M_{n,NMR}$ (g/mol)
P(HEMA- <i>r</i> -GMA)-1	3	4	P(HEMA ₈₆ -GMA ₃)	12022
P(HEMA- <i>r</i> -GMA)-2	5	6	P(HEMA ₆₃ -GMA ₄)	9171
P(HEMA- <i>r</i> -GMA)-3	7	8	P(HEMA ₇₁ -GMA ₆)	10496
P(HEMA- <i>r</i> -GMA)-4	10	10	P(HEMA ₆₀ -GMA ₇)	9210
P(HEMA- <i>r</i> -GMA)-5	15	17	P(HEMA ₅₈ -GMA ₁₂)	9650
P(HEMA- <i>r</i> -GMA)-6	20	25	P(HEMA ₆₀ -GMA ₂₀)	11055

Elde edilen polimerlerin termal davranışı DSC ile takip edilmiştir. Şekil 4.4'te P(HEMA-*r*-GMA)-2 polimerinin termal davranışı görülmektedir. Polimerin -28.7°C'de bir kristallenme (T_c) gösterdiği ve camsı geçiş sıcaklığının (T_g) 66.5°C olduğu belirlenmiştir.

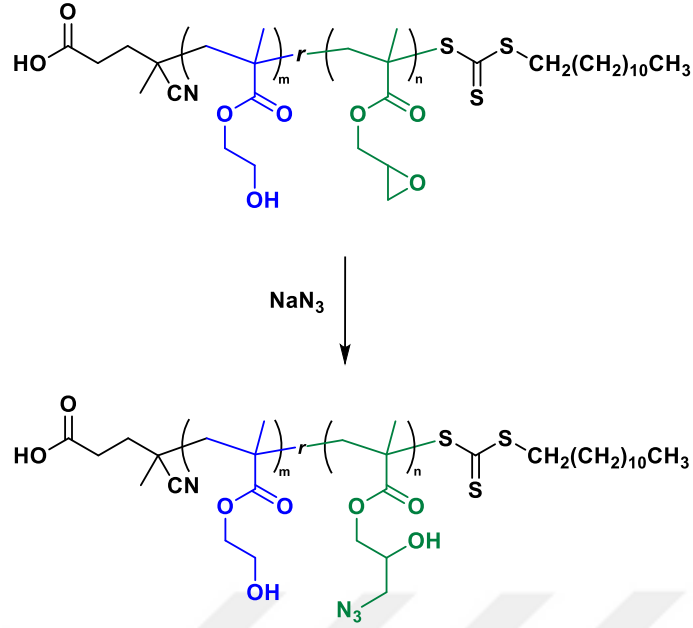


Şekil 4.4 : P(HEMA-*r*-GMA)-2 polimerinin DSC termogramı.

4.2 Azit Fonksiyonlu Polimerlerin Sentezi ve Karakterizasyonu

Farklı oranlarda sentezlenen P(HEMA-*r*-GMA) polimerlerinin GMA üniteleri sodyum azit (NaN₃) ile oda sıcaklığında reaksiyona sokularak azit fonksiyonlu polimerler oluşturuldu (Şekil 4.5). Elde edilen P(HEMA-*r*-GMA-N₃) polimerleri FT-IR, ¹H NMR ve UV ile karakterize edildi.

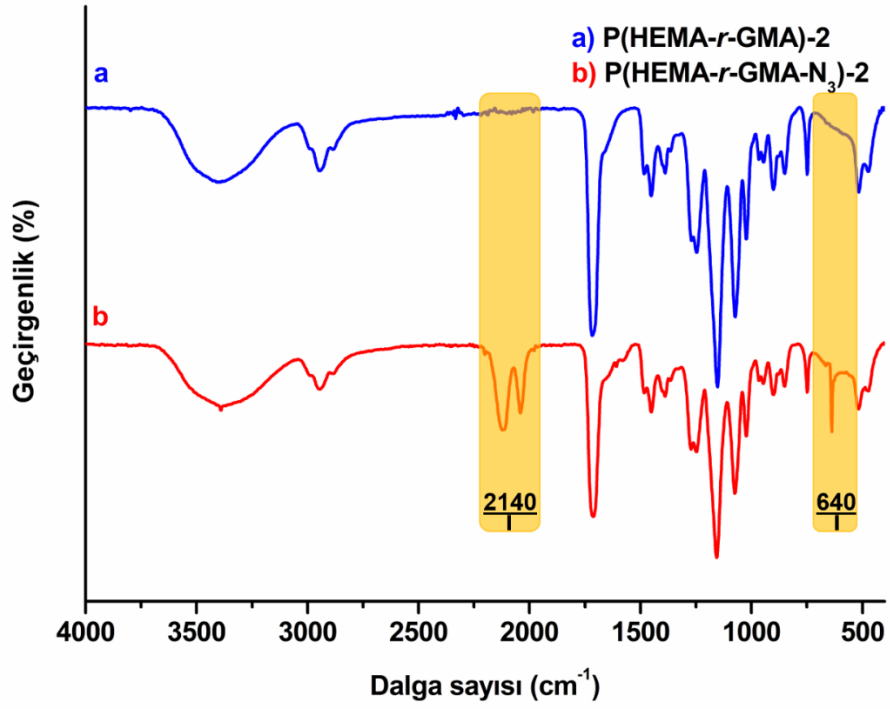
Azitleme reaksiyonu sırasında %10 ve üzerinde GMA ünitesi içeren polimerlerin jelleştiği gözlemlendi. İlk elde edilen deneysel veriler sonucunda bu polimerlerin zamanla jelleşme gösterdiği belirlenmişti. Azitleme reaksiyonu sonrasında benzer sonuçlar elde edilmesiyle %10'un altında GMA içeriğine sahip polimerler ile çalışmaya devam edilmesi kesinleştirilmiş oldu.



Şekil 4.5 : P(HEMA-*r*-GMA-N₃) polimerinin sentezi.

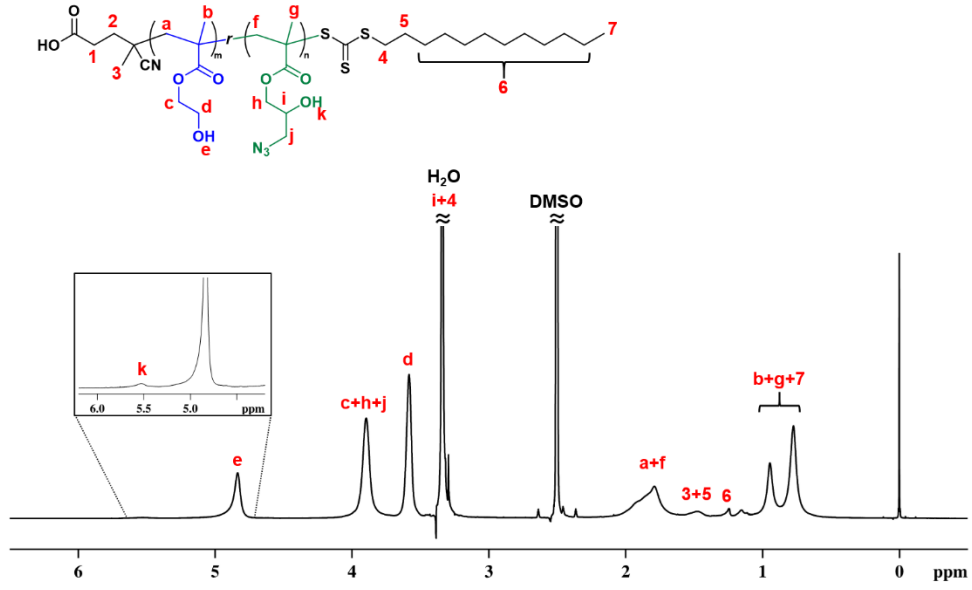
Şekil 4.6’da verilen FT-IR spektrumunda görüldüğü gibi 2140 cm^{-1} ve 640 cm^{-1} ’de gözlenen -N_3 titreşim bantları P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 polimerinin başarılı bir şekilde sentezlendiğini kanıtlamaktadır. Aynı titreşim bantları P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-1 ve P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-3 içinde gösterilerek azitlemenin başarılı olduğu kanıtlanmıştır (Şekil A.14 ve A.15).

Ayrıca, azitleme reaksiyonunun başarılı bir şekilde gerçekleştirildiği ^1H NMR ölçümü ile de gösterildi (Şekil 4.7). Şekil 4.7’deki P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 polimerinin ^1H NMR spektrumunda azitleme sonrası GMA ünitelerindeki epoksi gruplarının açılmasıyla oluşan -OH protonlarının 5.5 ppm ’de olduğu görülmektedir.



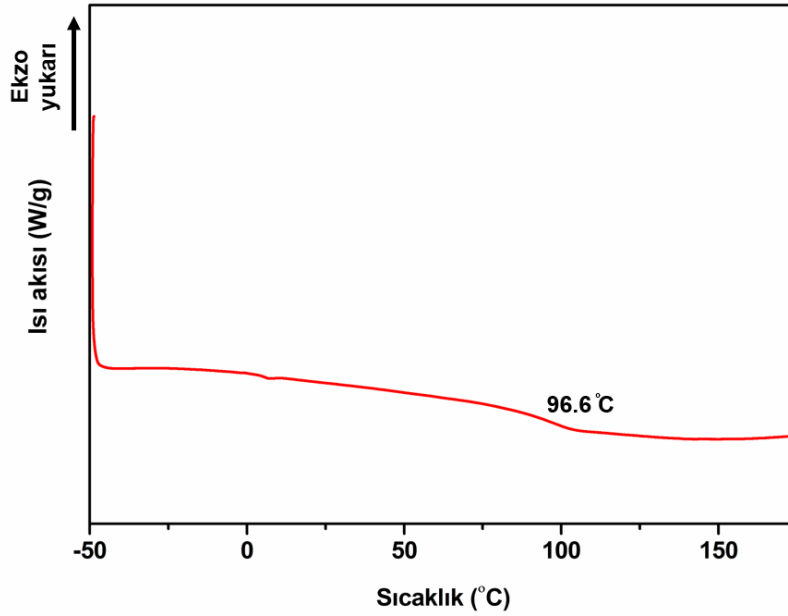
Şekil 4.6 : a) P(HEMA-*r*-GMA)-2 ve b) P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 polimerlerinin FT-IR spektrumları.

Glisidil metakrilat ünitelerine ait olan **h**, **i** ve **j** protonlarının azitleme sonrasında 3.8 ve 3.3 ppm'e kaydığı gözlenmiştir. 3.8 ppm'de gözlenen **c**, **h** ve **j** protonlarının integrallerinin 3.6 ppm'de çıkan ve HEMA'dan gelen **d** protonlarının integrali ile oranlanarak azitleme öncesinde hesaplanan GMA oranıyla karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırma sonucunda azitlemenin başarıyla gerçekleştiği tespit edilmiştir. Aynı hesaplamalar P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-1 ve P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-3 polimerleri için de Şekil A.4 ve A.5'de gösterilen ¹H NMR ölçümü ile yapılmıştır.



Şekil 4.7 : P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 polimerinin DMSO-d₆'da çekilen ¹H NMR spektrumu.

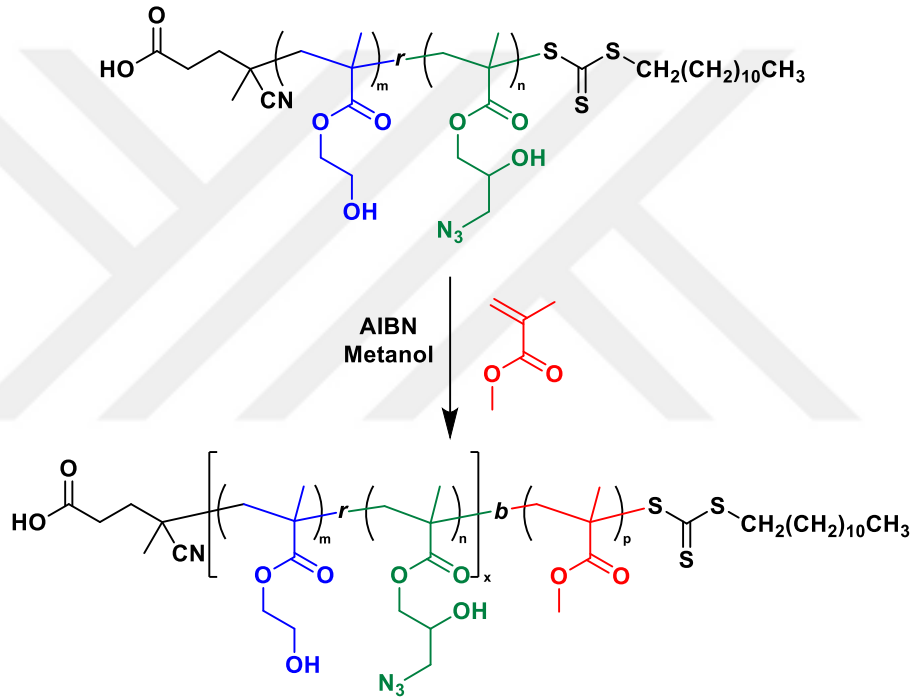
P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 polimerinin termal davranışı DSC ile ölçüldüğünde azitleme sonrasında polimerin camısı geçiş sıcaklığının (T_g) 96.6°C'ye çıktığı gözlenmiş, -N₃ gruplarının polimerin esnekliğini azalttığı sonucuna varılmıştır (Şekil 4.8).



Şekil 4.8 : P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 polimerinin DSC termogramı.

4.3 PISA Yöntemi ile P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-*b*-PMMA Sentezi ve Karakterizasyonu

P(HEMA-*r*-GMA-N₃) makroRAFT ajanları ile RAFT-PISA yöntemi kullanılarak MMA monomerinin polimerizasyonu incelenmiştir (Şekil 4.9). Farklı GMA oranındaki makroRAFT ajanlarının, sürenin, metanol içerisinde ağırlıkça oranının (%w/w) ve [MMA]/[makroRAFT] oranının etkisini incelemek amacıyla gerçekleştirilen PISA reaksiyonları ile ilgili sonuçlar Tablo 4.3 ve 4.4'te verilmiştir. Bu reaksiyonlar sonucunda elde edilen partiküllerin DLS ile ortalama boyutları ölçülerek karşılaştırılmıştır.



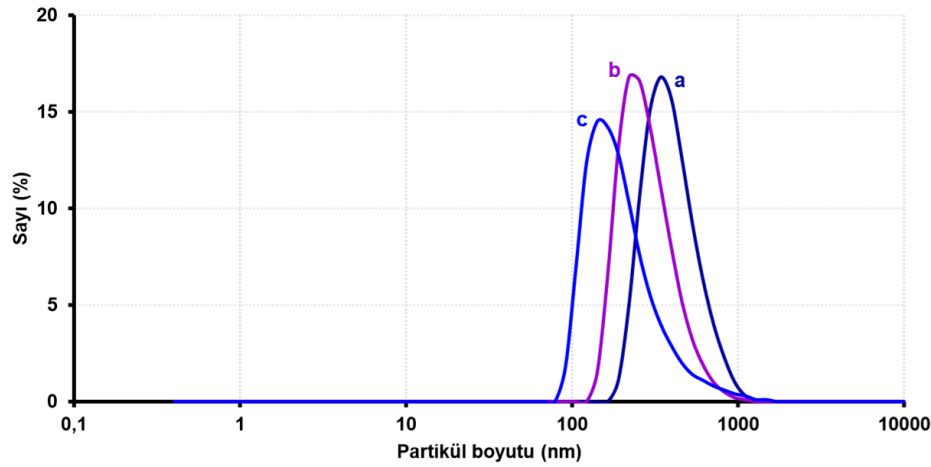
Şekil 4.9 : P(HEMA-*r*-GMA-N₃) makroRAFT ajanı kullanılarak MMA'nın PISA yöntemiyle polimerizasyonu.

P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 makroRAFT ajanı karşılaştırmaları yapmak amacıyla seçilmiştir. Bu polimer kullanılarak ilk PISA reaksiyonu 10 saatte gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon öncesi ve sonrası fotoğraflanarak değişim gösterilmiştir (Şekil A.16). Sonuçta oluşan partiküllerin boyutları ölçülmüştür (Tablo 4.3). Elde edilen bulanık misel çözeltisi %50 ve %75 oranlarında seyreltilerek partikül boyutlarındaki değişimler incelenmiştir (Şekil 4.10). Beklendiği gibi %75 seyreltme sonucunda elde edilen partikül boyutları daha düşük çıktığı için sonraki aşamada gerçekleştirilecek olan diğer PISA reaksiyonlarda da aynı seyreltmenin yapılması tercih edilmiştir.

Tablo 4.3 : P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 makroRAFT ajanı kullanılarak PISA yöntemiyle MMA polimerizasyonu^a sonucunda elde edilen partiküllerin boyutlarında seyreltme etkisi.

Seyreltme (%)	Boyut (d.nm)
0	412
50	297
75	221

^a[MMA]:[makroRAFT]= 100:1, polimerizasyon süresi= 10 saat, metanol %10 (w/w)



Şekil 4.10 : P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 kullanılarak elde edilmiş P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-*b*-PMMA polimerine ait a) %0, b) %50 ve c) %75 seyreltilmiş misellerin DLS ile ölçülmüş boyut dağılım grafikleri.

Farklı GMA oranına sahip makroRAFT ajanları (P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-1-2-3) kullanılarak gerçekleştirilen PISA reaksiyonları gerçekleştirildi. Öncesi ve sonrası fotoğraflanarak değişimleri karşılaştırılarak gösterildi (Şekil A.17). PISA sonucunda elde edilen partiküllerin boyutları (%75 seyreltme sonrası) sırasıyla 150, 92 ve 221 nm olarak ölçülmüştür (Tablo 4.4). Başlangıç polimerindeki GMA oranı ile sonuçta oluşan partiküllerin boyutları arasında belirgin bir korelasyon görülmemiştir (Şekil 4.11). Polimerizasyon süresinin oluşan partikül boyutu üzerine etkisini incelemek amacıyla P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 makroRAFT ajanı ile 10, 7 ve 5 saatlik PISA reaksiyonları gerçekleştirilmiştir ve fotoğraflanarak karşılaştırılmıştır (Şekil A.18). Polimerizasyon süresi azaldıkça oluşacak kopolimerdeki PMMA ünite sayısı daha az olacağından oluşan misellerin boyutlarının da azalması beklenmektedir. Elde edilen

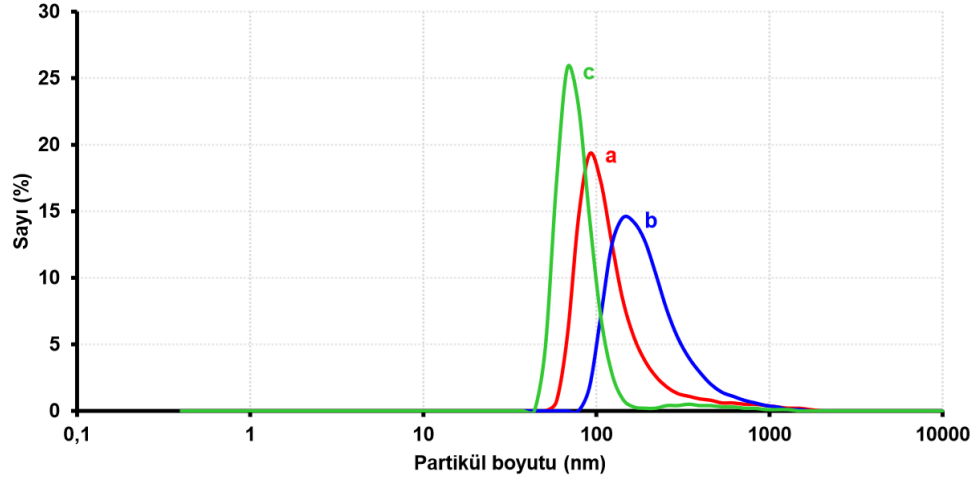
sonuçlar bu beklentileri doğrulamıştır ve 10, 7 ve 5 saatlik PISA reaksiyonları sonucunda oluşan partiküllerin boyutları sırasıyla 221, 134 ve 73 olarak ölçülmüştür (şekil 4.12). Çözücü miktarının etkisini incelemek amacıyla ağrılıka %10, 15 ve 20 olacak şekilde metanol içerisinde PISA reaksiyonları gerçekleştirilmiştir ve fotoğraflanıp değişimler karşılaştırılmıştır (şekil A.19) . Metanol miktarı ile orantılı bir artış veya azalış gözlenmemiştir (şekil 4.13). Bu parametrelere ek olarak [MMA]/[makroRAFT] oranının partikül boyutu üzerine etkisi de incelenmiştir. Aynı şekilde öncesi sonrası fotoğraflanarak karşılaştırma yapılmıştır (şekil A.20). Tablo 4.4'te ve şekil 4.14'te görüldüğü gibi oran azaldıkça partikül boyutu da azalmaktadır. Bu durum monomer miktarının azalması sonucunda hidrofobik zincir uzunluğunun da azalması ile açıklanabilir.

Tablo 4.4 : P(HEMA-*r*-GMA-N₃) makroRAFT ajanları kullanılarak MMA'nın PISA yöntemiyle polimerizasyonu.

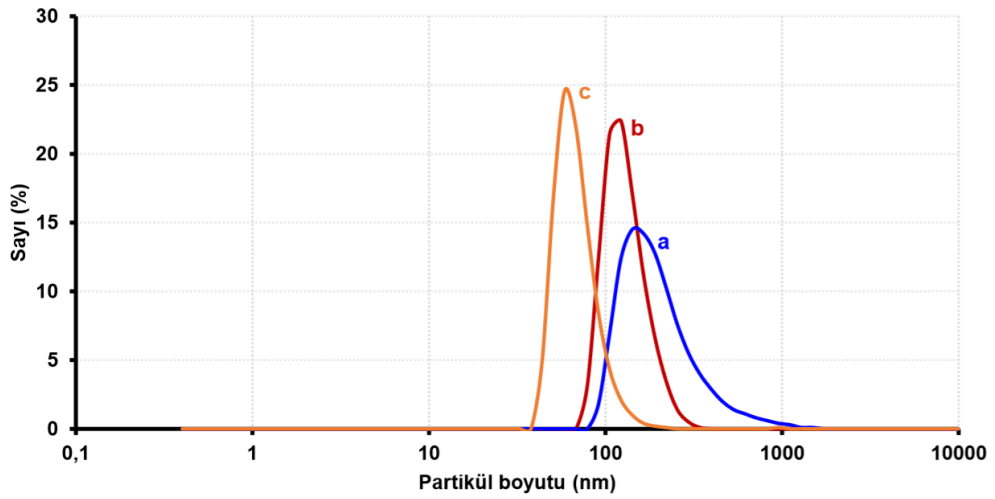
Polimer	[MMA]: [makroRAFT] T]	Katı madde (%w/w) ^a	t (saat)	Boyut (d.nm) ^b
P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-3	100:1	10	10	92
P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-1	100:1	10	10	150
P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-2	100:1	10	10	221
P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-2	100:1	10	7	134
P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-2	100:1	10	5	73
P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-2	100:1	15	10	342
P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-2	100:1	20	10	163
P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-2	50:1	10	10	53
P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)-2	200:1	10	10	291

^aMonomer ve makroRAFT ajanından oluşan toplam katı madde yüzdesi.

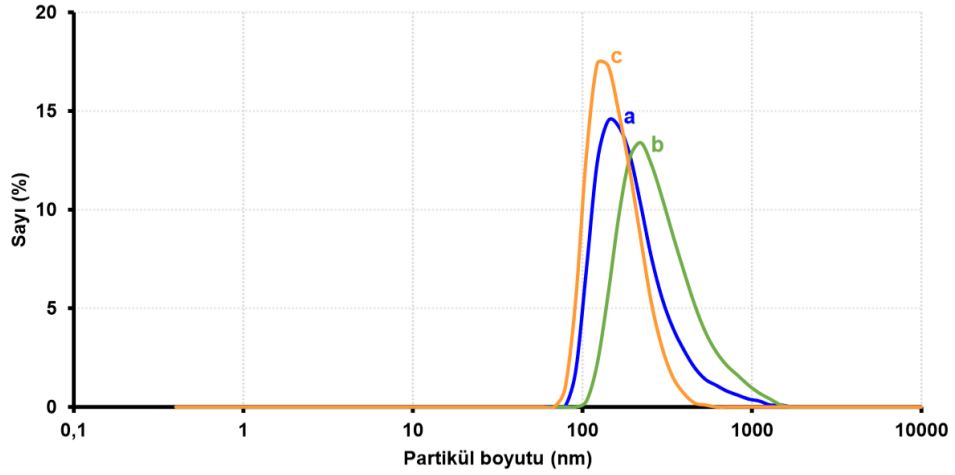
^b%75 seyreltme sonucunda ölçülmüştür.



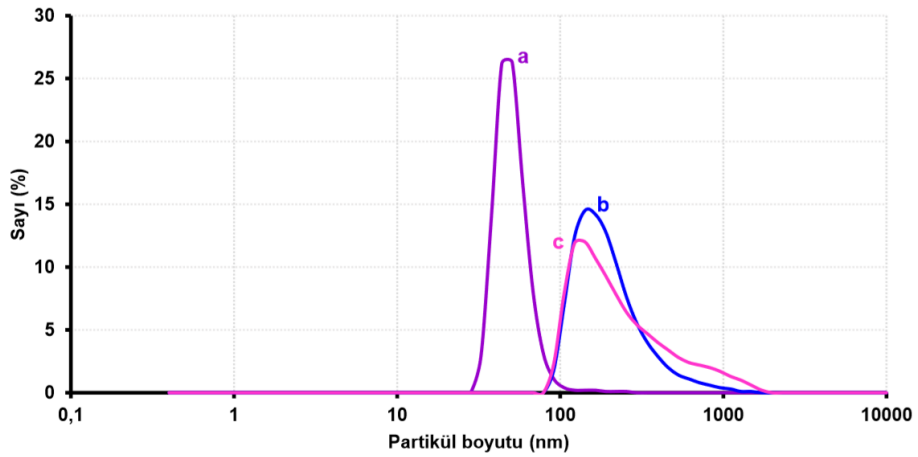
Şekil 4.11 : a) P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-1, b) P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 ve c) P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-3 kullanılarak elde edilmiş P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-*b*-PMMA polimerlerine ait misellerin %75 seyreltilerek DLS ile ölçülmüş boyut dağılım grafikleri.



Şekil 4.12 : P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 kullanılarak a) 10, b) 7 ve c) 5 saatte elde edilmiş P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-*b*-PMMA polimerlerine ait misellerin %75 seyreltilerek DLS ile ölçülmüş boyut dağılım grafikleri.

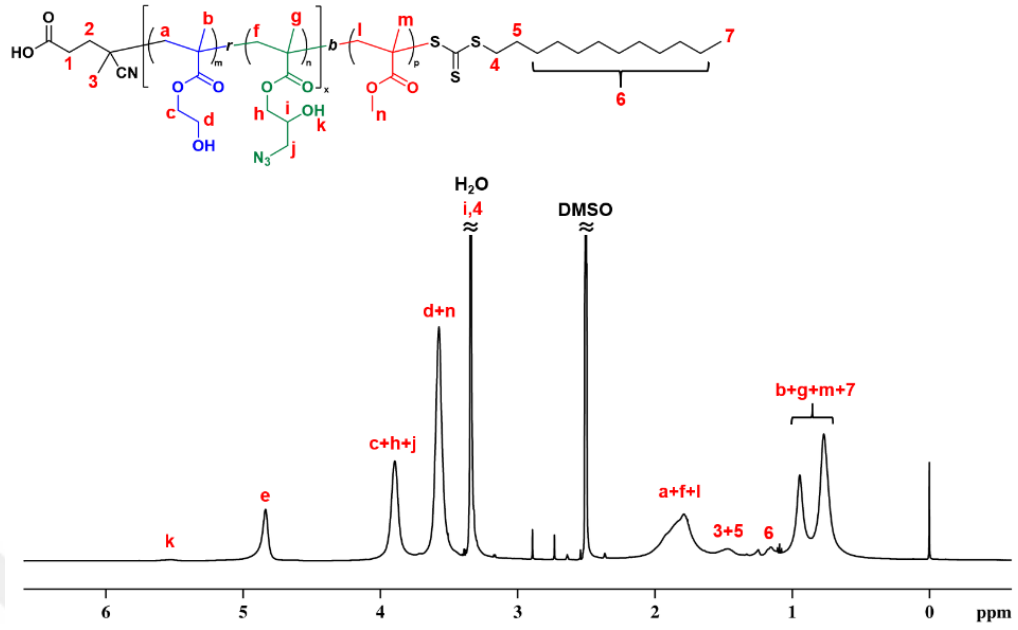


Şekil 4.13 : P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 kullanılarak ağırlıkça a) %10, b) %15 ve c) %20 olacak şekilde metanol içerisinde elde edilmiş P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-*b*-PMMA polimerlerine ait misellerin %75 seyreltilerek DLS ile ölçülmüş boyut dağılım grafikleri.



Şekil 4.14 : P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 kullanılarak [MMA]:[makroRAFT] oranı a) 50, b) 100 ve c) 200 olarak elde edilmiş P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-*b*-PMMA polimerlerine ait misellerin %75 seyreltilerek DLS ile ölçülmüş boyut dağılım grafikleri.

PISA sonucunda elde edilen polimerlerin ¹H NMR analizleri incelendiğinde MMA ünitelerinin yapıya katıldığı Şekil 4.15 ve A.6-A.13'deki gösterildiği gibi tespit edildi. Metil metakrilat ünitelerinin **n** protonları 3.6 ppm'de HEMA ünitelerinin **d** protonları ile bir arada çıkmaktadır. 3.6 ppm'deki protonların integrali 3.8 ppm'deki protonların integrali ile oranlanarak P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2'nin ¹H NMR'ından elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldı. Bu karşılaştırma sonucunda MMA ünitelerinin yapıya katıldığı belirlendi.

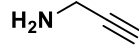
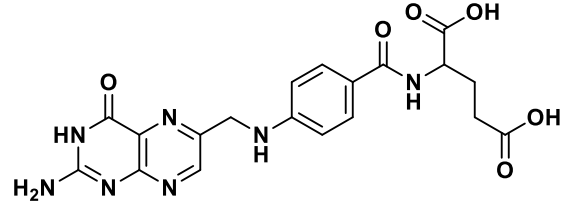


Şekil 4.15 : P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 makro RAFT ajanı ile sentezlenen P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-*b*-PMMA polimerinin DMSO-d₆'da çekilen ¹H NMR spektrumu.

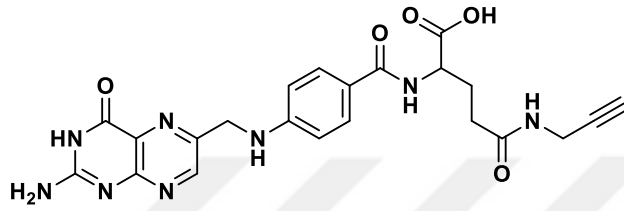
4.4 Folik Asit Molekülünün Propargil Amin ile Fonksiyonlandırılması ve Karakterizasyonu

Folik asit (FA) propargil amin ile literatürdeki gibi reaksiyona sokularak klik reaksiyonu için uygun hale getirildi (Şekil 4.16) [48]. Elde edilen alkin fonksiyonlu FA-PA FT-IR, ¹H NMR ve UV ile karakterize edildi.

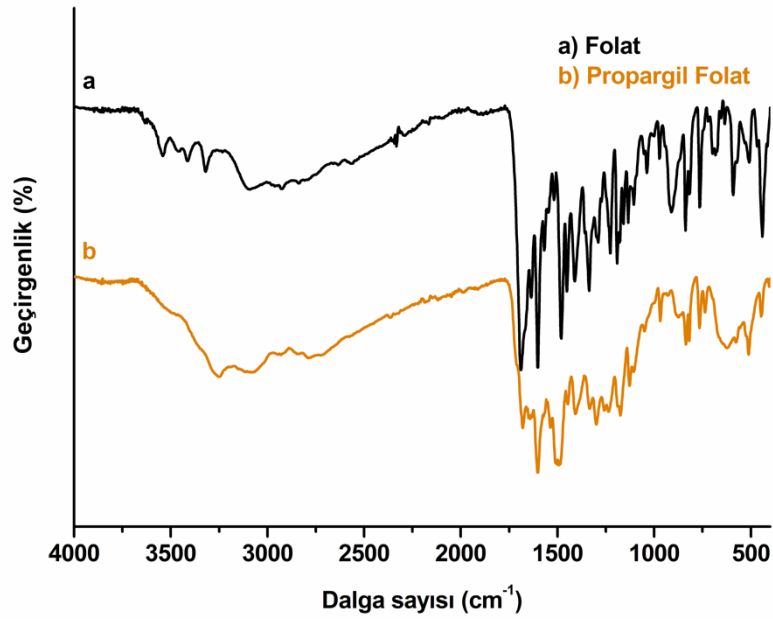
FT-IR spektrumunda (Şekil 4.17) belirgin bir fark gözlenememiş olsa da ¹H NMR spektrumunda (Şekil 4.18) fonksiyonlandırmanın başarılı bir şekilde gerçekleştiği gösterildi.



EDC/NHS
DMF

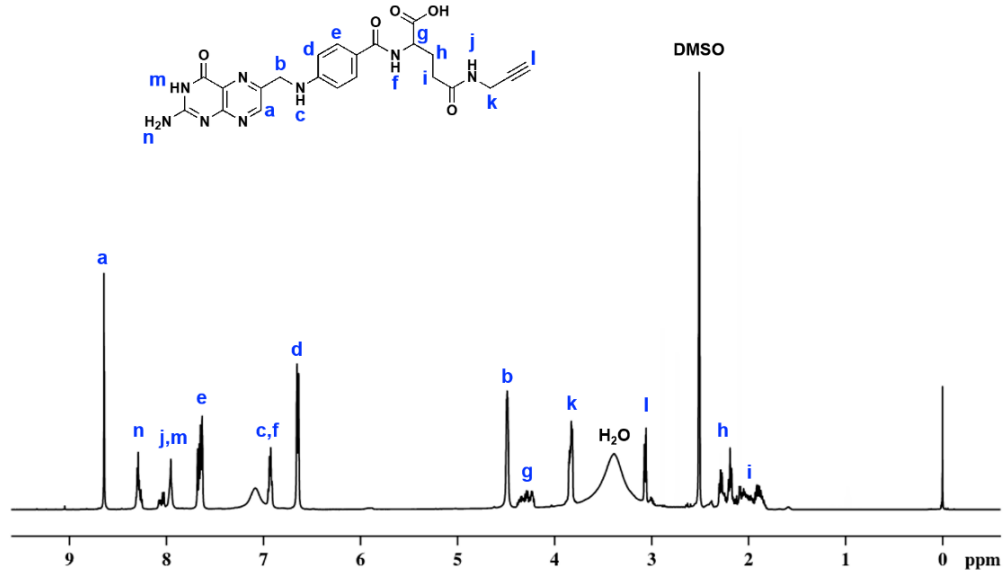


Şekil 4.16 : Alkin fonksiyonlu folik asit (FA-PA) sentezi.



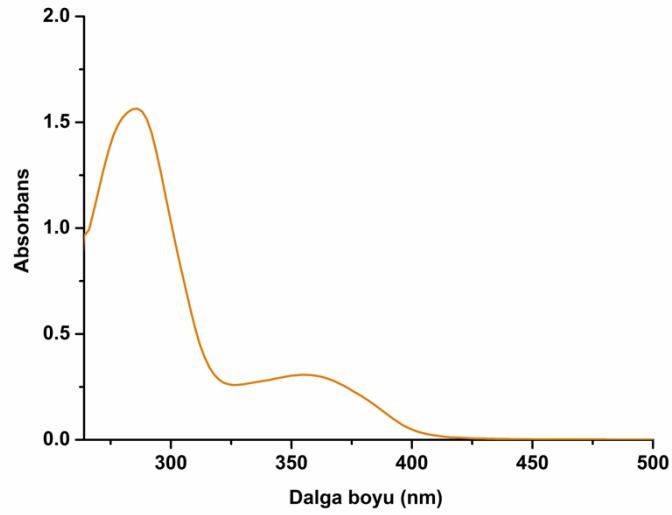
Şekil 4.17 : a) Folik asit (FA) ve b) FA-PA'nın FT-IR spektrumları.

Şekil 4.18'de görüldüğü gibi alkin grubundan gelen **l** protonu 3.1 ppm civarında ve **k** protonları 3.8 ppm'de tespit edildi. Oluşan amid grubunun NH protonu (**j**) ise 7.9 ppm'de gözlemlendi.



Şekil 4.18 : FA-PA'nın DMSO-d₆ içerisinde çekilen ¹H NMR spektrumu.

Polimere takıldıktan sonra karakterizasyonda kullanmak amacıyla FA-PA'nın absorpsiyon gösterip göstermediği DMF içerisinde çekilen UV spektrumu ile incelenmiştir (Şekil 4.19). Folik asitin 280 nm'de ve 360 nm'de maksimum absorbands gösterdiği belirlenmiştir.

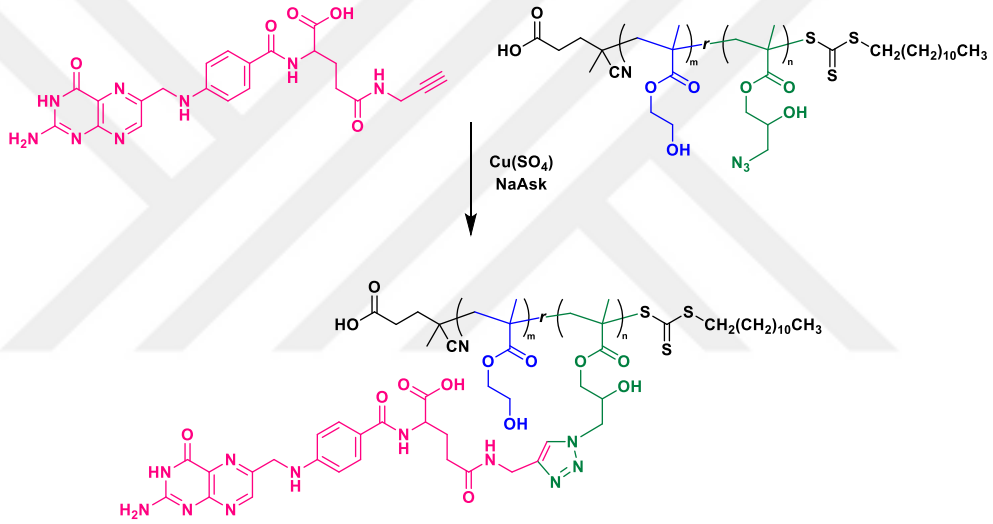


Şekil 4.19 : FA-PA molekülünün DMF içerisinde (2.5×10^{-2} mg/mL) çekilmiş UV spektrumu.

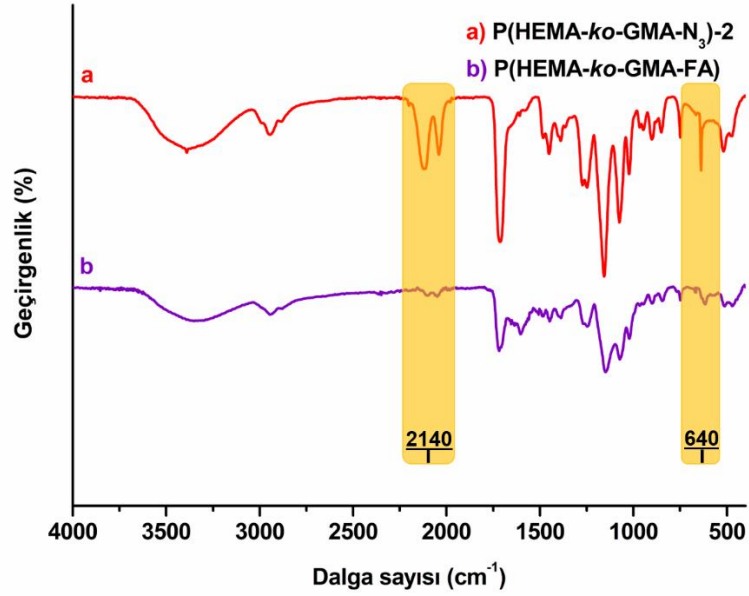
4.5 Klık Reaksiyonu ile P(HEMA-*r*-GMA-FA) Polimerinin Sentezi ve Karakterizasyonu

FA-PA molekülü ve P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 polimeri bakır (II) sülfat ve sodyum askorbat varlığında klık reaksiyonuna sokularak FA fonksiyonlu polimer elde edildi (Şekil 4.20). Elde edilen P(HEMA-*r*-GMA-FA) polimeri FT-IR, ¹H NMR, UV ve DSC ile karaktere edildi.

P(HEMA-*r*-GMA-N₃) polimerinin klık öncesi ve sonrası FT-IR spektrumları Şekil 4.21'de karşılaştırıldı. Polimerin -N₃ ait 2140 cm⁻¹ ve 640 cm⁻¹'de görülen titreşimlerinin klık reaksiyonu sonrasında kayda değer bir şekilde kaybolduğu gözlenmiş ve reaksiyonun başarılı olduğu gösterilmiştir.

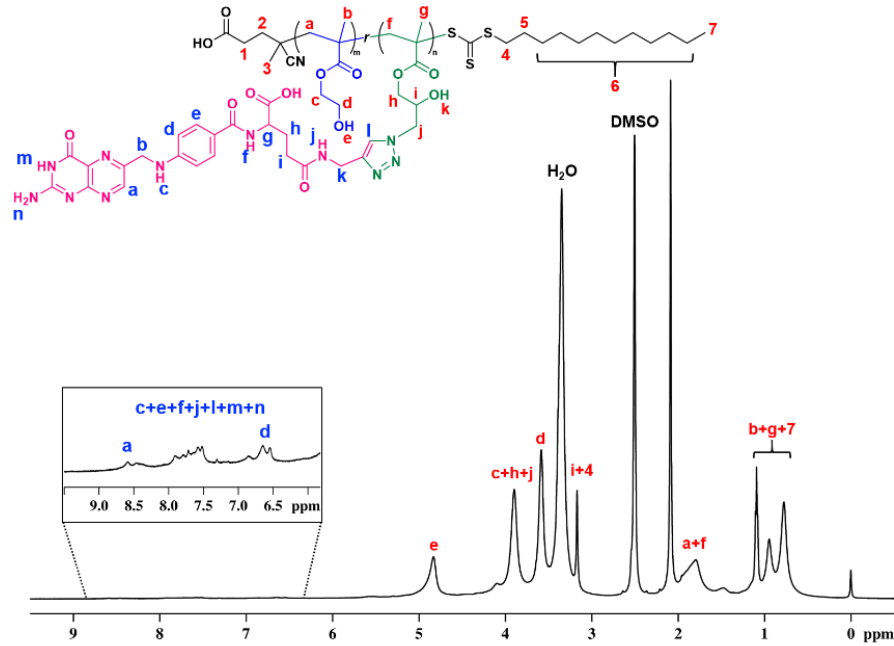


Şekil 4.20 : Klık reaksiyonu ile P(HEMA-*r*-GMA-FA) sentezi.



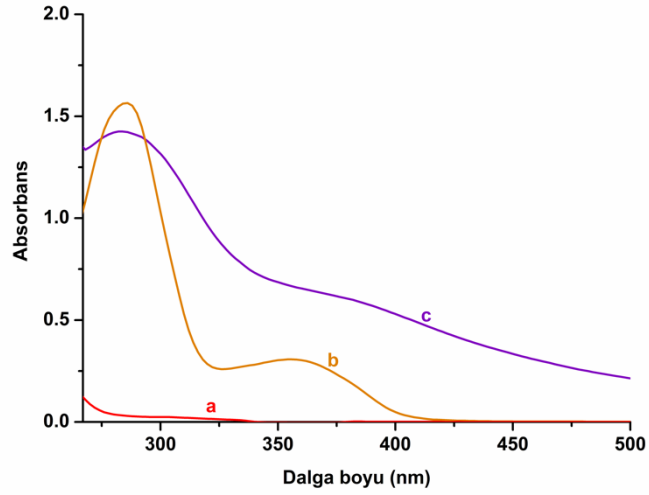
Şekil 4.21 : a) P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 ve b) P(HEMA-*r*-GMA-FA) polimerlerinin FT-IR spektrumları.

¹H NMR spektrumu incelendiğinde HEMA ve GMA ünitelerine ait protonlardan farklı olarak 6.0-9.0 ppm aralığında folik asitten gelen aromatik protonların olduğu görülmektedir (Şekil 4.22). Bu da klik reaksiyonunun başarılı bir şekilde gerçekleştirildiğini göstermektedir.



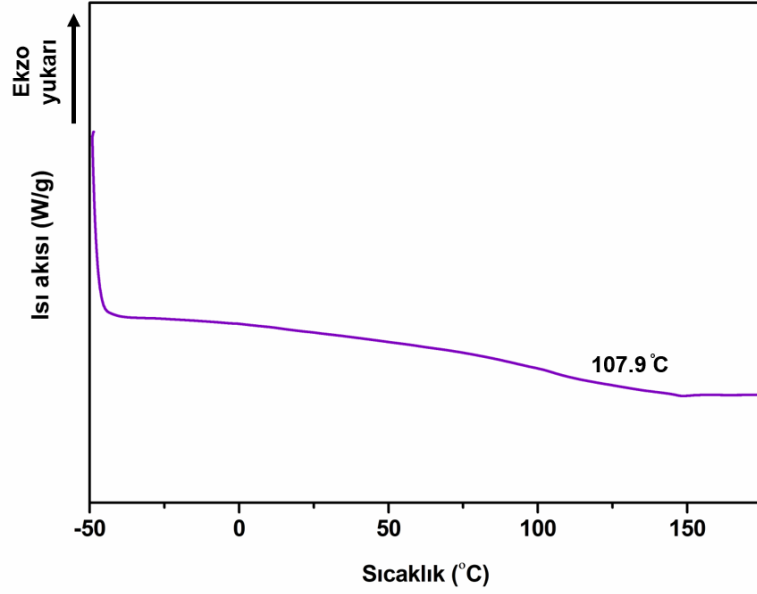
Şekil 4.22 : P(HEMA-*r*-GMA-FA)-2 polimerinin DMSO-*d*₆'da çekilen ¹H NMR spektrumunu.

FA-PA'nın polimer yapısına katıldığını göstermek amacıyla gerçekleştirilen diğer bir ölçüm de UV spektroskopisidir. Elde edilen P(HEMA-*r*-GMA-FA) polimerinin UV spektrumu P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 polimerinin ve FA-PA'nın UV spektrumları ile karşılaştırıldığında klik reaksiyonu sonucundan FA-PA'ya benzer bir spektrum gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.23).



Şekil 4.23 : a) P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 polimerinin (0.5 mg/mL), b) FA-PA'nın (2.5×10^{-2} mg/mL), c) P(HEMA-*r*-GMA-FA) polimerinin (0.5 mg/mL) DMF içerisinde çekilmiş UV spektrumları.

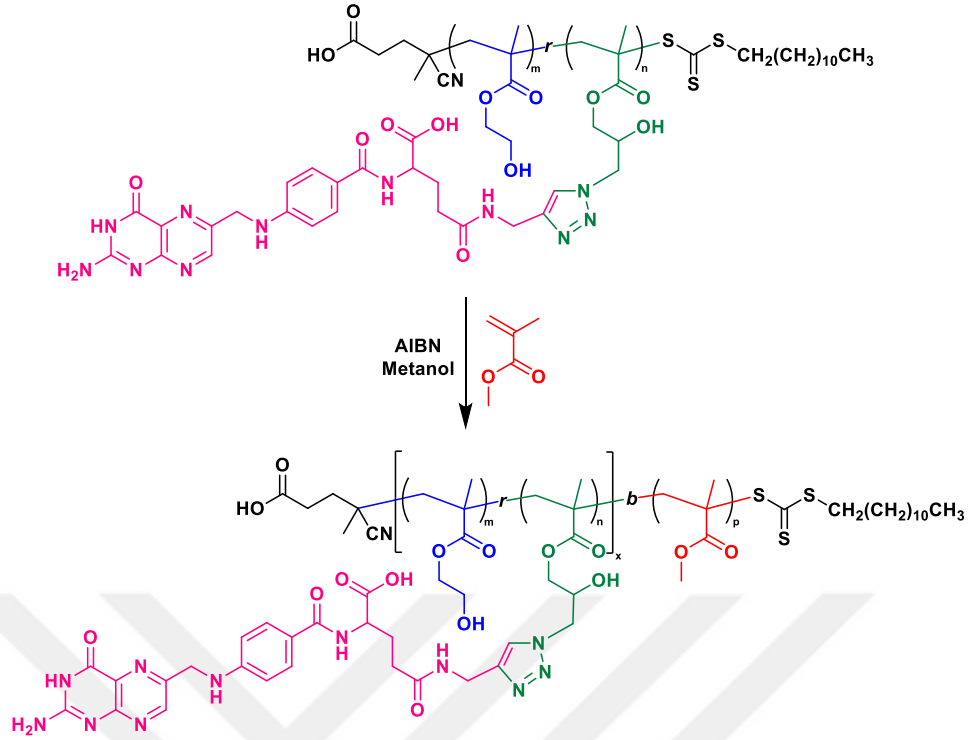
P(HEMA-*r*-GMA-FA) polimerinin termal davranışı DSC ile incelenmiş, polimerin T_g değerinin 107.9°C olduğu tespit edilmiştir. Klik reaksiyonu sonucunda FA-PA gibi hacimli ve aromatik gruplar içeren bir yapının katılmasıyla polimerin T_g değerinin arttığı belirlenmiştir (Şekil 4.24).



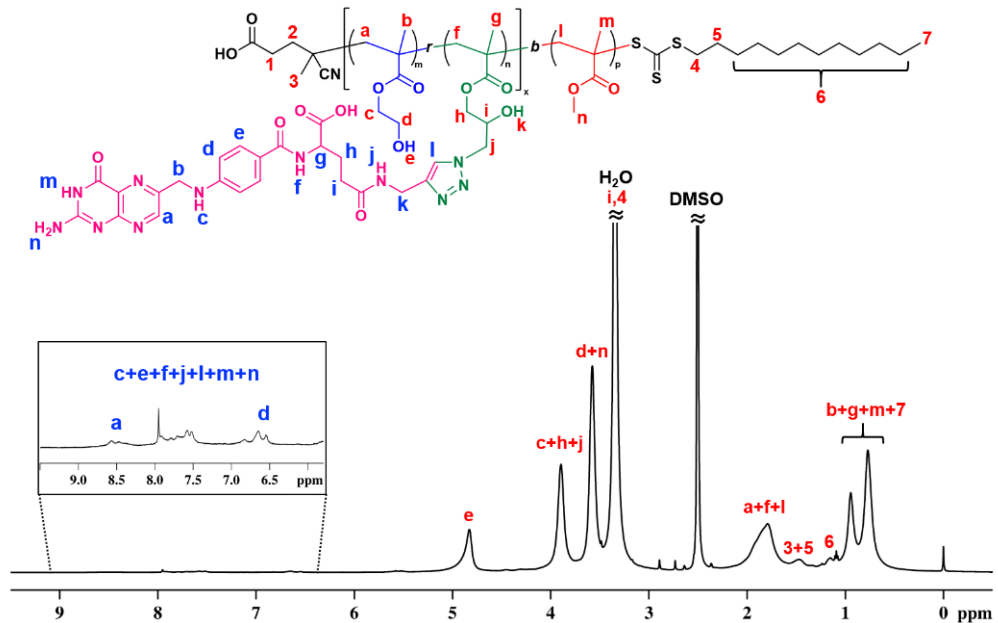
Şekil 4.24 : P(HEMA-*r*-GMA-FA) polimerinin DSC termogramı.

4.6 PISA yöntemi ile P(HEMA-*r*-GMA-FA)-*b*-PMMA Sentezi ve Karakterizasyonu

P(HEMA-*r*-GMA-FA) makroRAFT ajanı kullanılarak PISA yöntemiyle MMA monomerinin polimerizasyonu gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.25). Oluşan partiküllerin ortalama boyutu DLS ile ölçülmüş, ¹H NMR analiziyle MMA'nın yapıya katılıp katılmadığı belirlenmiştir. 3.6 ppm'deki **n** ve **d** protonlarının integrali 3.8 ppm'deki protonların integrali ile oranlanarak P(HEMA-*r*-GMA-FA)'nın ¹H NMR'ından elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldı (Şekil 4.26). Bu karşılaştırma sonucunda MMA ünitelerinin yapıya katıldığı belirlendi.



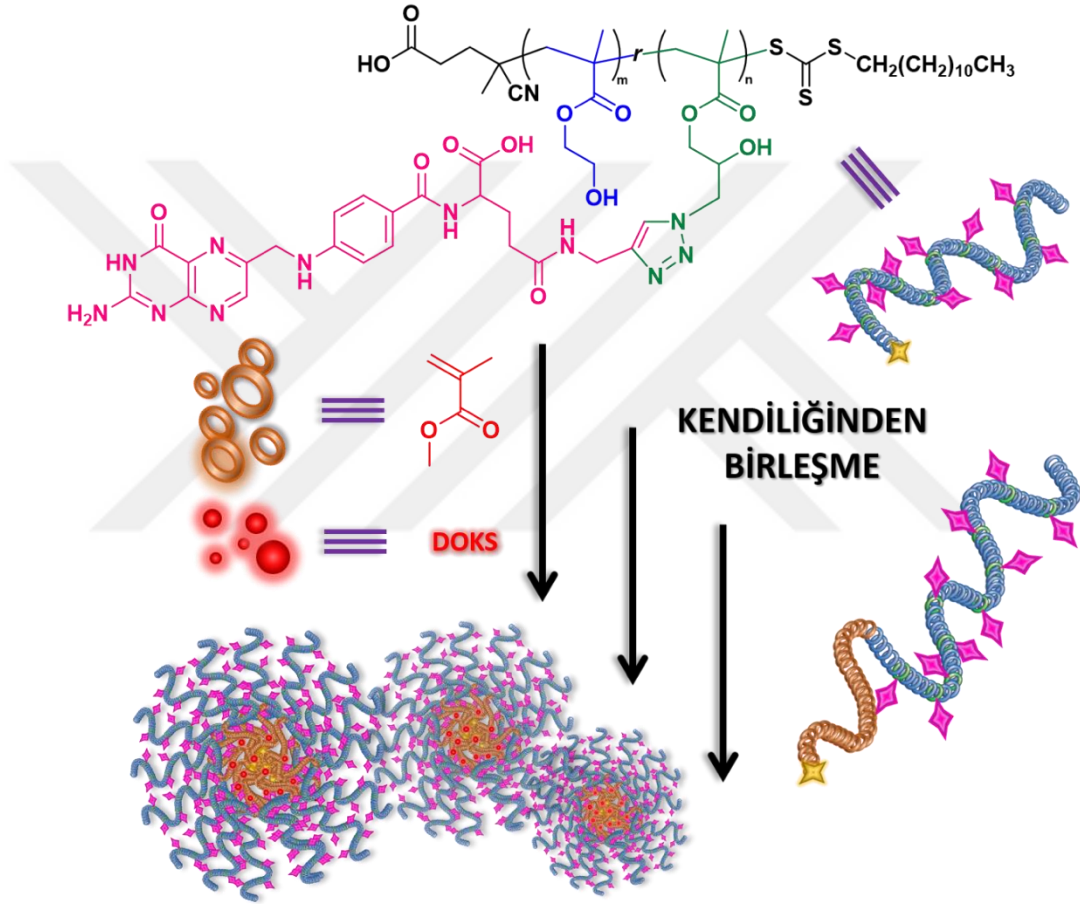
Şekil 4.25 : P(HEMA-*r*-GMA-FA) makroRAFT ajanı kullanılarak PISA yöntemiyle MMA polimerizasyonu.



Şekil 4.26 : P(HEMA-*r*-GMA-FA)-*b*-PMMA polimerinin DMSO-*d*₆'da çekilen ¹H NMR spektrumu.

4.7 PISA Yöntemiyle İlaç Yüklü Misellerin Hazırlanması ve Karakterizasyonu

İlaç yüklü miseller PISA ile literatürdeki gibi polimerizasyon yapılarak oluşturulmuştur (Şekil 4.27) [49]. Oluşan partiküllerin ortalama boyutu DLS ölçülmüş, diyaliz membran yöntemiyle serbest DOKS uzaklaştırılarak ortalama partikül boyutu DLS ile tekrar ölçülmüştür. Daha önce elde edilen P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-*b*-PMMA ve P(HEMA-*r*-GMA-FA)-*b*-PMMA partiküllerinin boyutları ile karşılaştırılmıştır (Tablo 4.5).

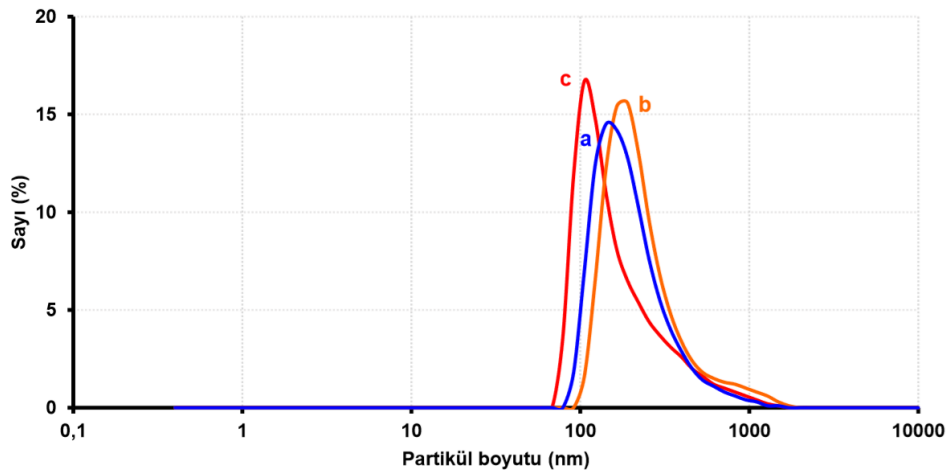


Şekil 4.27 : P(HEMA-*r*-GMA-FA) makro başlatıcısı kullanılarak PISA yöntemiyle DOKS yüklü misellerin oluşumu.

P(HEMA-*r*-GMA-FA) polimeri ile oluşturulan misellerin (P(HEMA-*r*-GMA-FA)-*b*-PMMA) boyutlarının folik asit içermeyen misellere göre daha büyük olduğu belirlenmiştir. Bu durum hacimli FA gruplarının varlığı ile açıklanabilir. İlaç yüklü olan ve olmayan miseller karşılaştırıldığında ise ilaç yüklü misellerin boyutunun daha düşük olduğu görülmektedir (201 nm) (Tablo 4.5). Partikül boyutundaki bu düşüşün DOKS'un FA ile π - π etkileşimi kurarak daha sıkı paketlenmiş bir yapı oluşturması nedeniyle olabileceği düşünülmüştür.

Tablo 4.5 : P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 ve P(HEMA-*r*-GMA-FA) makroRAFT ajanları ile oluşturulan misellerin partikül boyutları.

Polimer	Boyut (d.nm)
P(HEMA- <i>r</i> -GMA-N ₃)- <i>b</i> -PMMA	221
P(HEMA- <i>r</i> -GMA-FA)- <i>b</i> -PMMA	268
P(HEMA- <i>r</i> -GMA-FA)- <i>b</i> -PMMA + DOKS	201



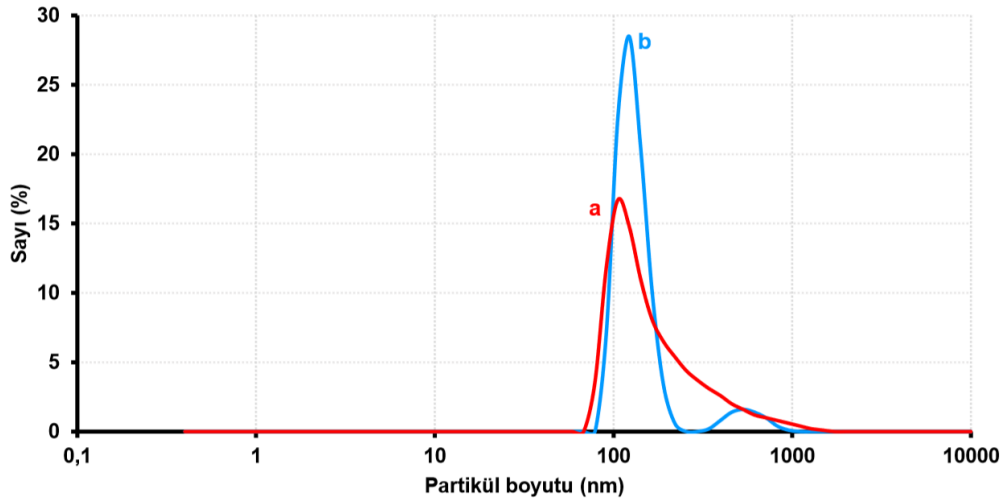
Şekil 4.28 : a) P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-*b*-PMMA, b) P(HEMA-*r*-GMA-FA)-*b*-PMMA ve c) P(HEMA-*r*-GMA-FA)-*b*-PMMA + DOKS polimerlerine ait misellerin %75 seyreltilerek DLS ile ölçülmüş boyut dağılım grafikleri.

PISA öncesi ve sonrası fotoğraflar incelendiğinde P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2'nin kullanıldığı sistemin polimerizasyon öncesinde tamamen şeffaf olduğu, polimerizasyon sonrasında ise misel oluşumu ile birlikte bulanıklaştığı açıkça görülmektedir (Şekil 4.29). P(HEMA-*r*-GMA-FA) kullanılarak gerçekleştirilen ilaç yüklü ve yüksüz polimerizasyonların fotoğrafları incelendiğinde polimerizasyon öncesinde bile FA'in yapıya katılması nedeniyle oldukça bulanık olduğu gözlenmiştir. Dolayısıyla polimerizasyon sonrasında gözle görülür bir değişikliğin belirlenmesinin zor olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.29b ve c).



Şekil 4.29 : a) P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2, b) P(HEMA-*r*-GMA-FA) ve c) P(HEMA-*r*-GMA-FA) + DOKS makroRAFT ajanları kullanılan sistemlerin polimerizasyon öncesi ve sonrası fotoğrafları.

İlaç yüklü ve boş miseller diyaliz membran içerisine alınarak serbest DOKS'un ortamdaki uzaklaştırılması sağlanmıştır. Diyaliz öncesi ve sonrasında partikül boyutları ölçüldüğünde 201 nm'den 158 nm'ye düştüğü tespit edilmiştir (Şekil 4.30).

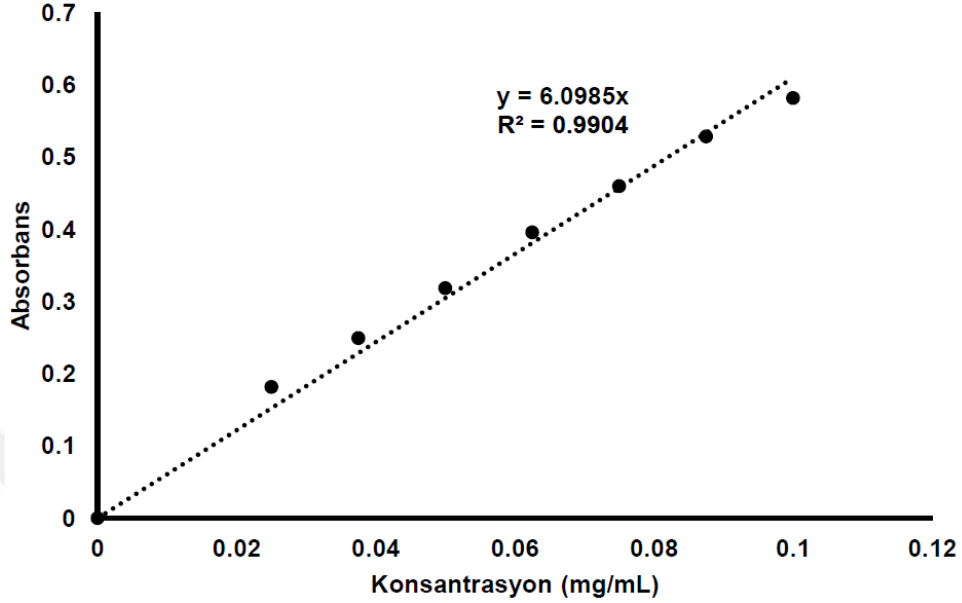


Şekil 4.30 : P(HEMA-*r*-GMA-FA) makroRAFT ajanı kullanılarak oluşturulan DOKS yüklü misellerin a) diyaliz öncesi (metanol içerisinde %75 seyreltilmiş) ve b) diyaliz sonrası (su içerisinde) DLS ile ölçülmüş boyut dağılım grafikleri.

4.8 İlaç yükleme (DL) ve enkapsülasyon veriminin (EE) belirlenmesi

Elde edilen misellerin DL ve EE yüzdeleri denklem 3.1 ve 3.2 kullanılarak hesaplandı. Bunun için öncelikle DOKS'un DMSO içerisinde 7 farklı konsantrasyonu ile 485 nm'de alınan absorban değerleriyle bir kalibrasyon eğrisi oluşturuldu (Şekil 4.31). İlaç yüklü P(HEMA-*r*-GMA-FA)-*b*-PMMA ile elde edilen ilaç yüklü misellerin 485 nm'deki absorbanı ile P(HEMA-*r*-GMA-FA) makro başkaticının absorbanı

birbirinden çıkarılarak kalibrasyon eğrisindeki mg/mL değeri hesaplandı. Bu çıkarma işlemi folik asitli makro başlatıcının bu dalga boyunda absorban değerine sahip olmasından dolayı DOKS miktar tayini için referans değeri olarak hesaba katılmıştır.



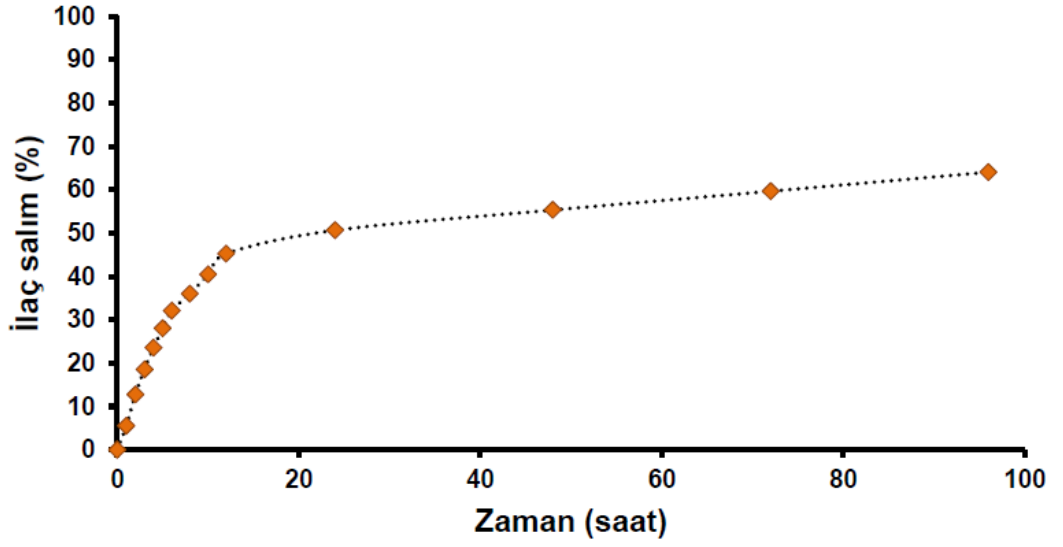
Şekil 4.31 : DOKS'un DMSO içerisinde kalibrasyon eğrisi.

20.4 mg DOKS kullanılarak P(HEMA-*r*-GMA-FA) makro başlatıcısı ile oluşturulan miseller 211 mg olarak elde edilmiştir. İlaç yüklü misellerden 4 mg tartılıp 1 mL DMSO içerisinde misel yapısının bozularak DOKS'un çıkışı sağlandı. 1 gün sonra 485 nm'de ölçülen absorban değeri ile makro başlatıcının absorbanından gelen referans değerinin farkı ile konsantrasyon (mg/mL) hesaplandı. Sonuçta elde edilen miktar ile 3.1 ve 3.2 denklemleri kullanılarak DL %5.2 ve EE %55.3 olarak hesaplandı. Denklem 3.3 ile TDL %9.04 olarak hesaplandı.

4.9 İlaç yüklü misellerin in-vitro salım çalışması

Hazırlanan ilaç yüklü misellerin PBS tampon çözeltisi (pH=7.4) içerisinde 37 °C'de inkübasyonu ile belirli saatlerde medyumdan alınan örneklerle ölçülen intensite değerleriyle DOKS miktarı hesaplandı. Bu hesap daha önce DOKS'un belirli konsantrasyonlarda ölçülerek hazırlanmış kalibrasyon eğrisinden elde edilen eğim ile yapılmıştır. Belirlenen saatlerde elde edilen ortalama intensite değerleri denklem 3.4 kullanılarak %ilaç salım değerleri bulundu. Bulunan değerler kümülatif olarak

birleştirilerek zamana bağlı ilaç salım grafiği oluşturuldu (şekil 4.32). İlk 12 saatte ilacın %45'ini hızlıca salan miselin 96 saat sonunda salım değerinin %64'e ulaştığı belirlendi.



şekil 4.32 : P(HEMA-*r*-GMA-FA)-*b*-PMMA ile oluşturulan ilaç yüklü miselin 37 °C'de PBS solüsyonunda (pH=7.4) in vitro DOKS salım grafiği.

5. SONUÇ

Yapılan çalışmaların sonucunda oluşturulması hedeflenen misel yapılarının hidrofilik bloğunu oluşturacak P(HEMA-*r*-GMA) rasgele kopolimerleri RAFT polimerizasyonu ile başarılı bir şekilde elde edilmiştir. MakroRAFT ajanlarının GPC, FT-IR, UV, ¹H NMR ve DSC ile karakterizasyonları yapılmıştır. Çeşitli monomer oranları çalışılmış ve en ideal polimer yapıları tespit edilmiştir. GMA ünite içeriğinin %10'un üzerine çıkmasıyla çözünmeyen yapıların oluştuğu, dolayısıyla %10'un altındaki GMA oranlarında çalışılması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır. GMA üniteleri kük reaksiyonu için azit ile fonksiyonlandırılarak FT-IR ve ¹H NMR ile karakterize edilmiştir.

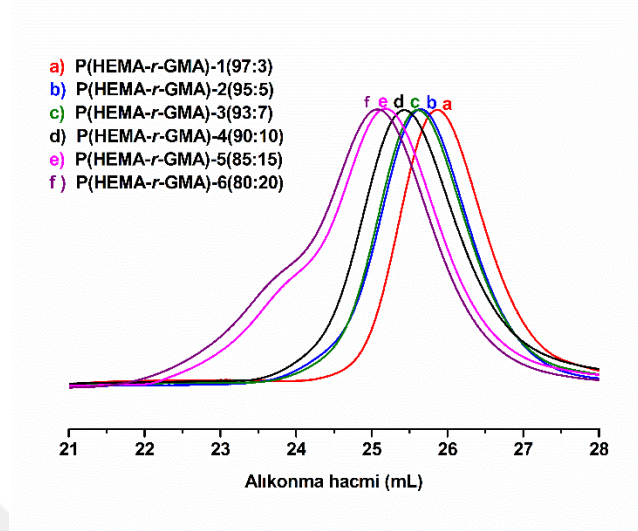
P(HEMA-*r*-GMA-N₃) makroRAFT ajanı seçilerek PISA yönteminin optimizasyonunu sağlamak için farklı değişkenlerle hidrofobik bloğu oluşturacak MMA monomerinin polimerizasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen polimerik misellerin karakterizasyonu DLS ve ¹H NMR ile yapılmıştır. Sonrasında, aynı makroRAFT ajanı hedefli polimerik miseller oluşturmak amacıyla folik asit ile fonksiyonlandırılmıştır. P(HEMA-*r*-GMA-FA) makroRAFT ajanı kullanılarak PISA yöntemiyle boş ve DOKS yüklü miseller oluşturulmuş, DLS ile ölçülen partikül boyutları karşılaştırılmıştır. FA içeren makroRAFT ajanı ile oluşturulan misellerin boyutlarının daha büyük olduğu, ilaç yüklü misellerin boyutlarının ise azaldığı tespit edilmiştir. Misellerin ilaç yükleme ve enkapsülasyon verimleri hesaplanmış, invitro ilaç salım çalışması yapılmıştır.

Elde edilen verilerin özellikle HEMA ve GMA monomerlerinin RAFT polimerizasyonu açısından literatüre katkı sağladığı düşünülmektedir. Hedefli miseller ile ilgili çalışmaların devam ettirilmesi ve hücre çalışmaları ile desteklenerek daha kapsamlı sonuçların elde edilmesi planlanmaktadır.

EKLER

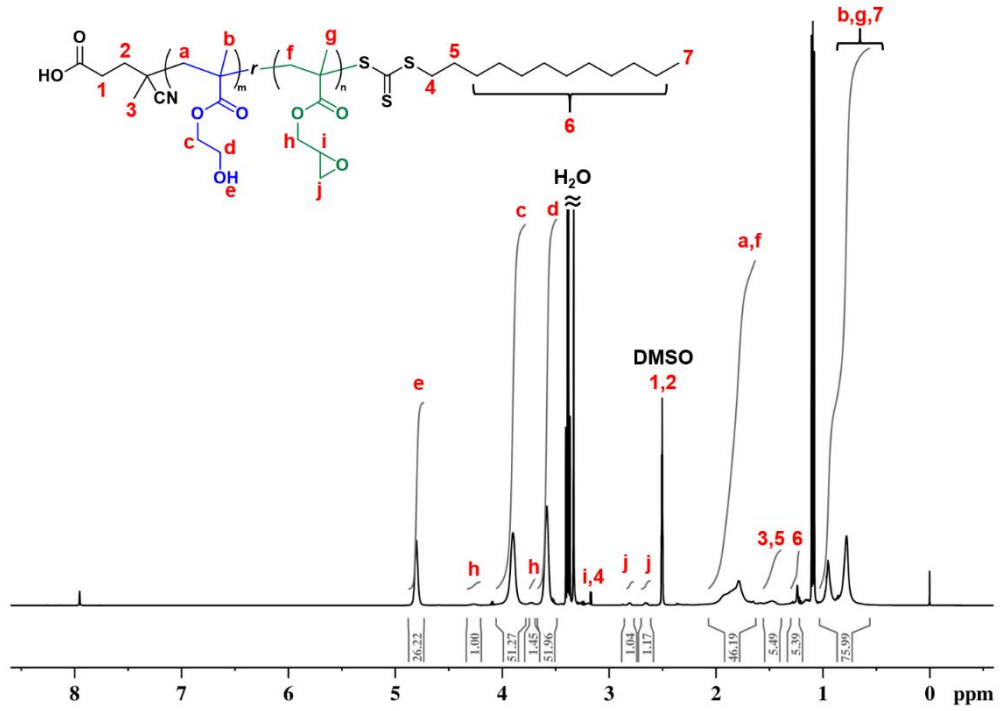
- EK A** : P(HEMA-*r*-GMA) polimerlerinin GPC kromatogramları.
- EK B** : P(HEMA-*r*-GMA), P(HEMA-*r*-GMA-N₃), P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-*b*-PMMA polimerlerinin DMSO-d₆'da çekilen ¹H NMR spektrumları.
- EK C** : P(HEMA-*r*-GMA) ve P(HEMA-*r*-GMA-N₃) polimerlerinin FT-IR spektrumları.
- EK D** : PISA öncesi ve sonrası çekilen fotoğraflar.

EK A

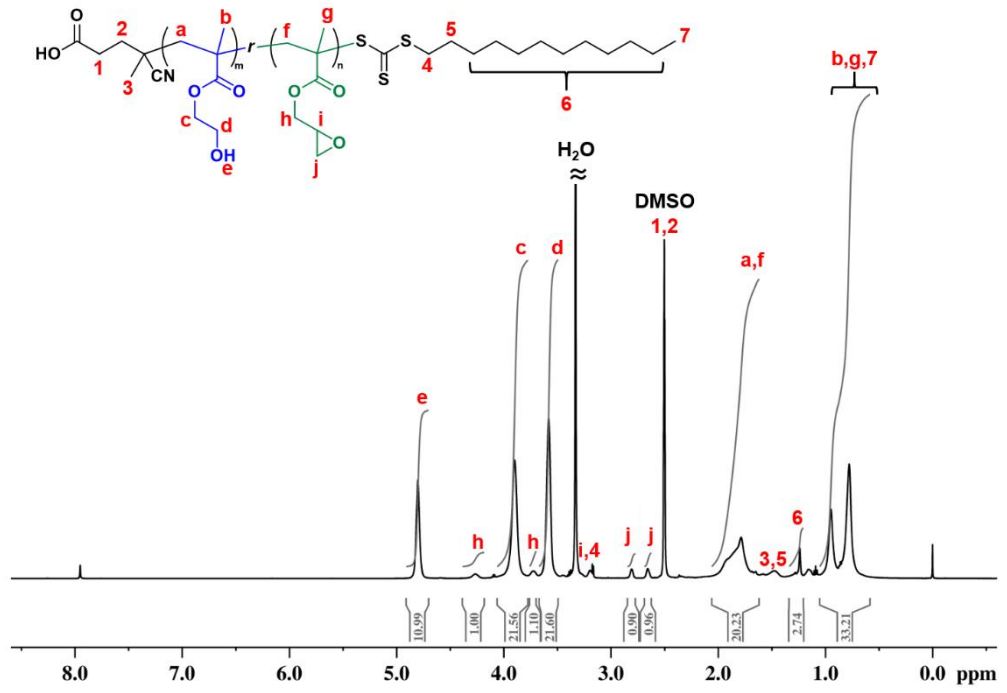


Şekil A.1 : Farklı monomer oranlarında hazırlanan P(HEMA-*r*-GMA) polimerlerinin THF içerisinde çekilmiş GPC kromatogramları.

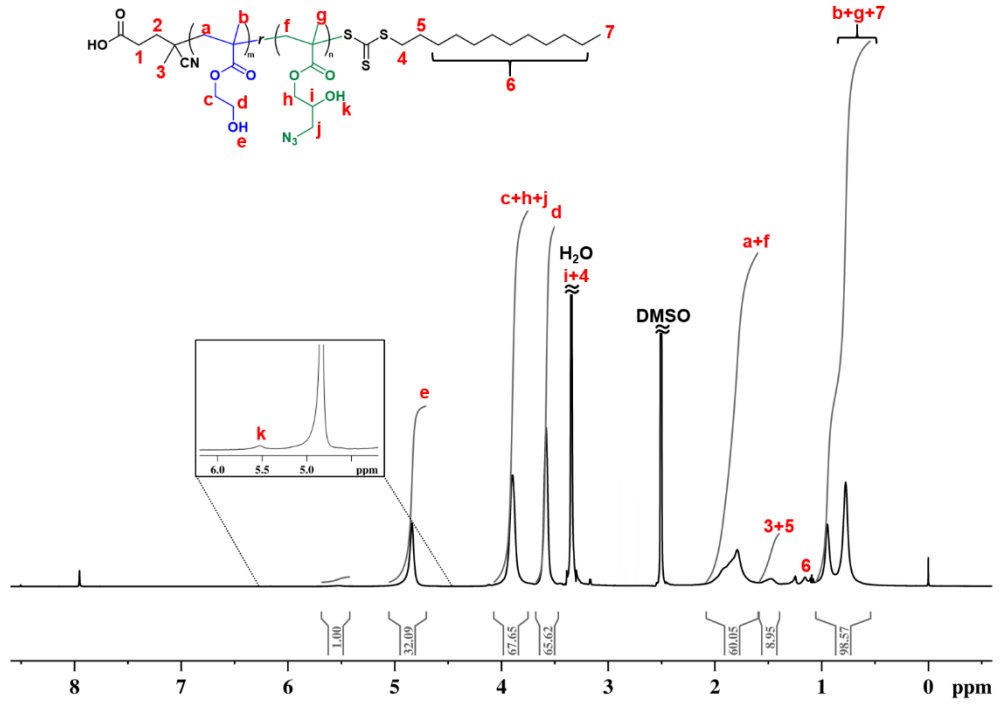
EK B



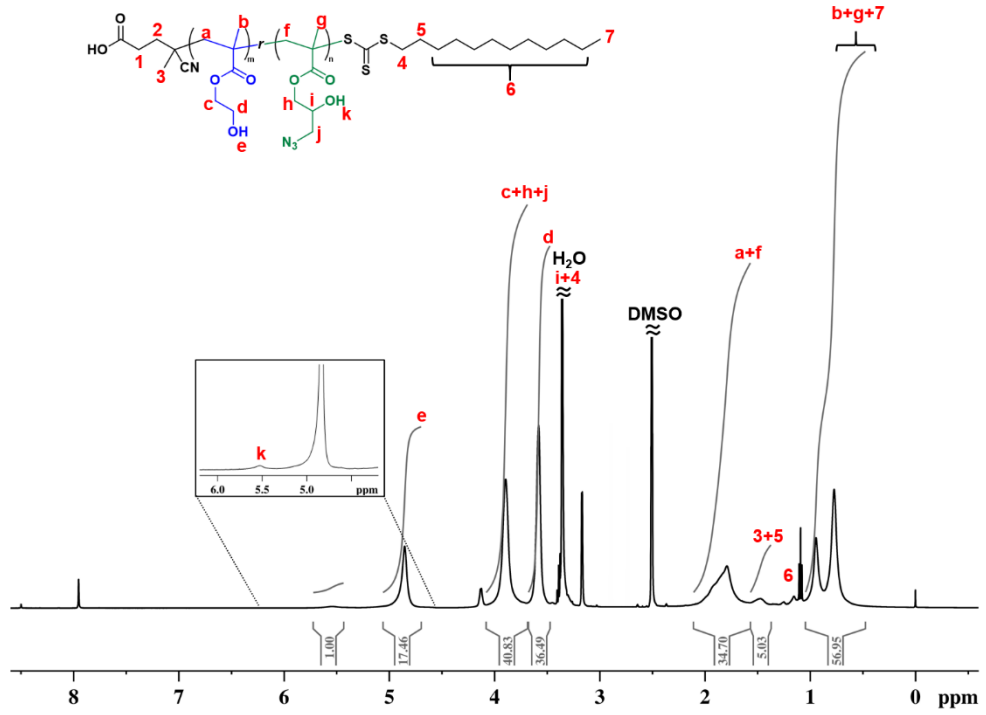
Şekil A.2 : P(HEMA-*r*-GMA)-1 polimerinin DMSO-d₆'da çekilen ¹H NMR spektrumu.



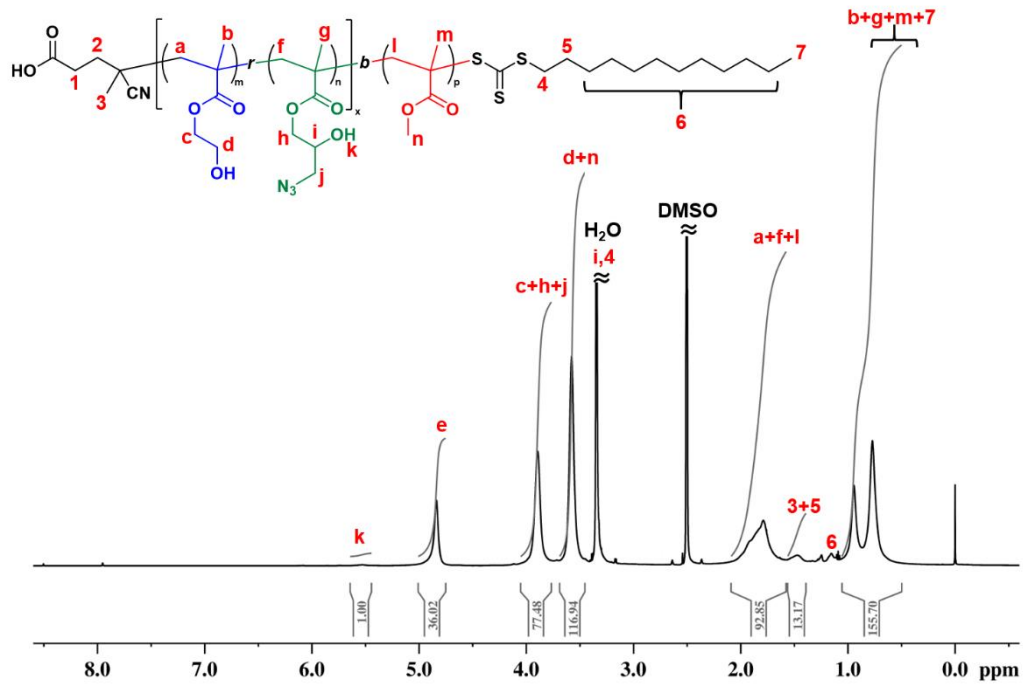
Şekil A.3 : P(HEMA-*r*-GMA)-3 polimerinin DMSO-*d*₆'da çekilen ¹H NMR spektrumu.



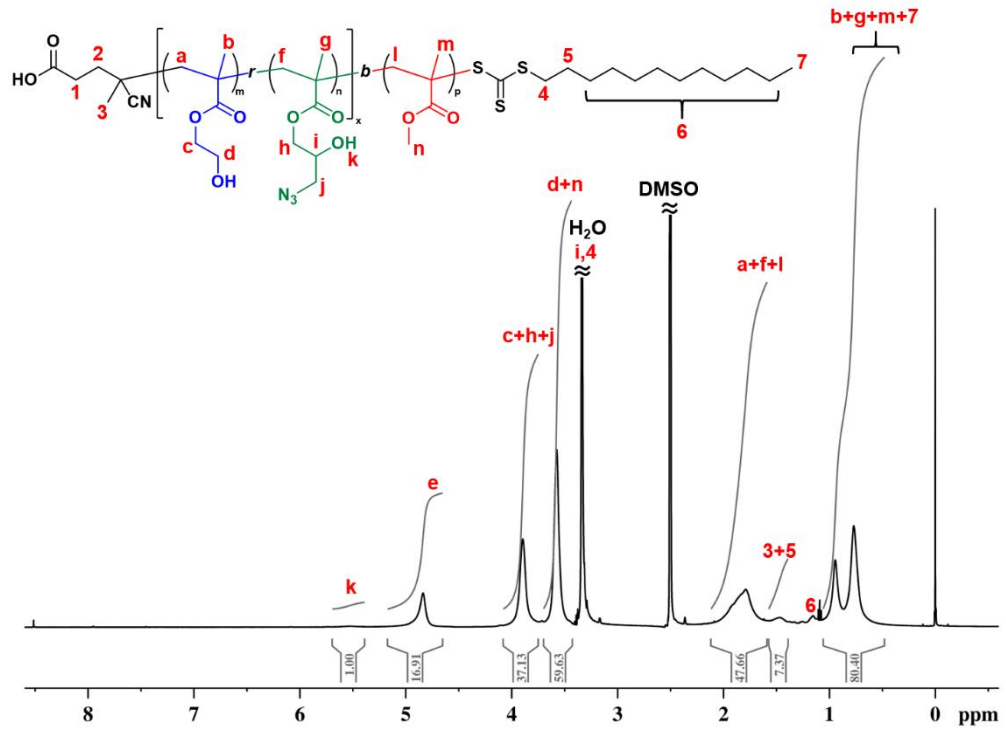
Şekil A.4 : P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-1 polimerinin DMSO-d₆'da çekilen ¹H NMR spektrumu.



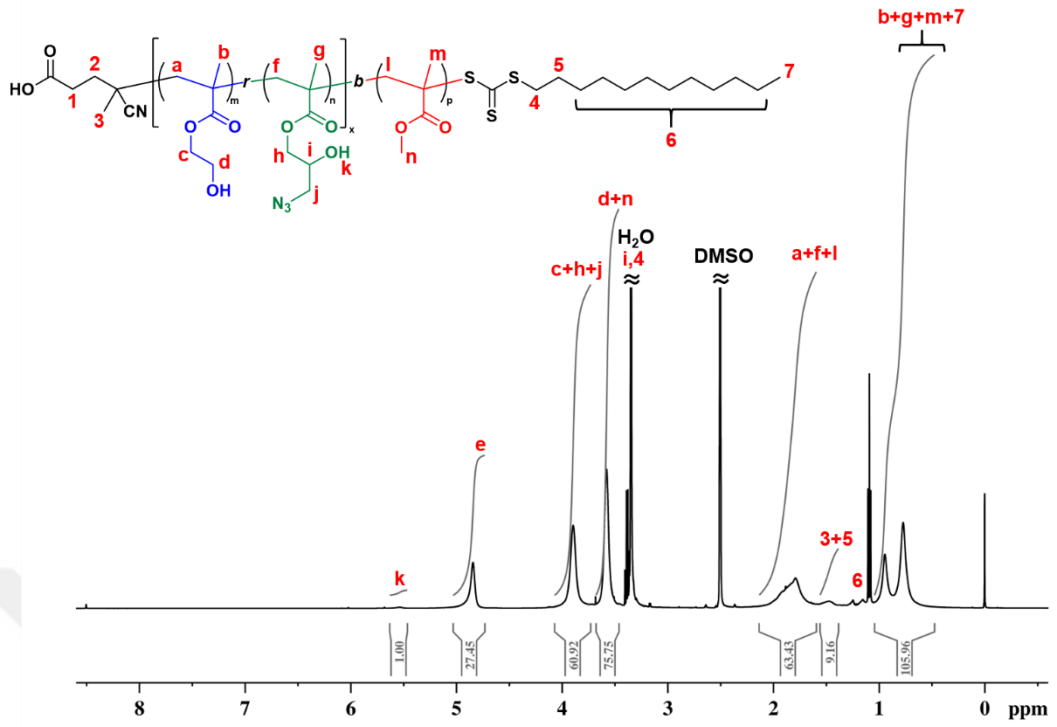
Şekil A.5 : P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-3 polimerinin DMSO-d₆'da çekilen ¹H NMR spektrumu.



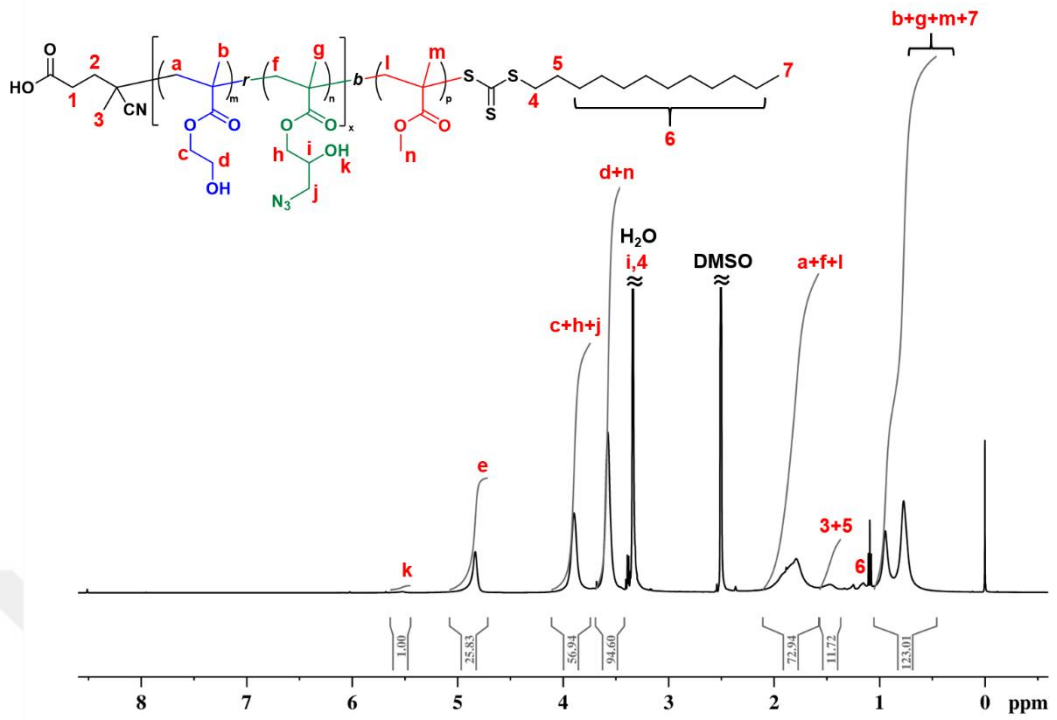
Şekil A.6 : P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-1 makroRAFT ajanı ile sentezlenen P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-*b*-PMMA polimerinin DMSO-d₆'da çekilen ¹H NMR spektrumu.



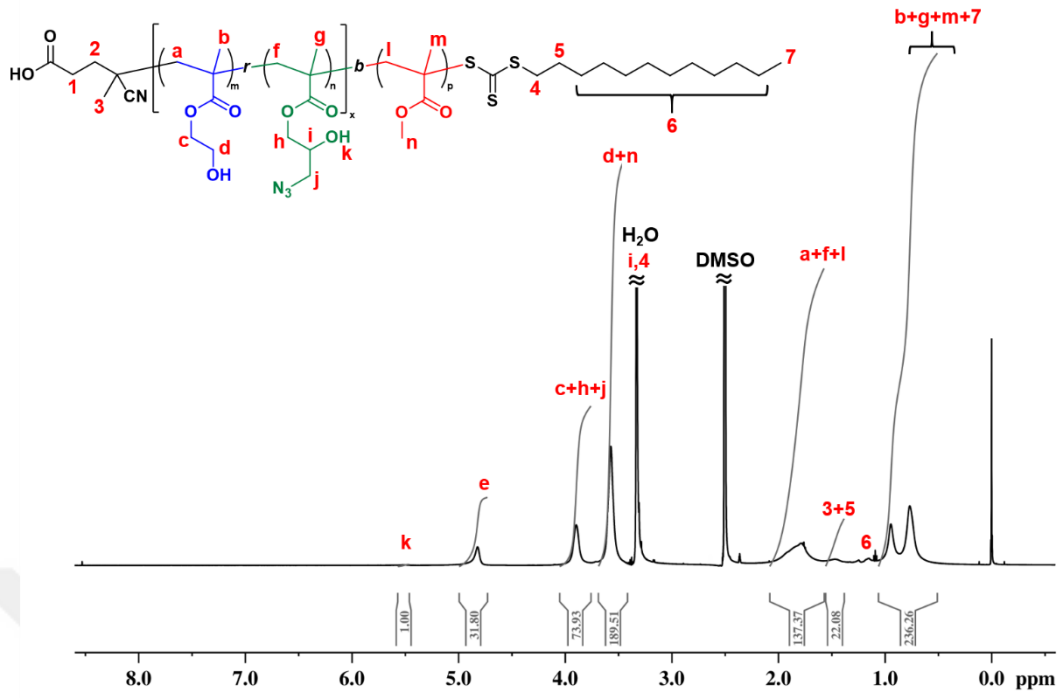
Şekil A.7 : P(HEMA-*r*-GMA- N_3)-3 makroRAFT ajanı ile sentezlenen P(HEMA-*r*-GMA- N_3)-*b*-PMMA polimerinin DMSO-d_6 'da çekilen ^1H NMR spektrumu.



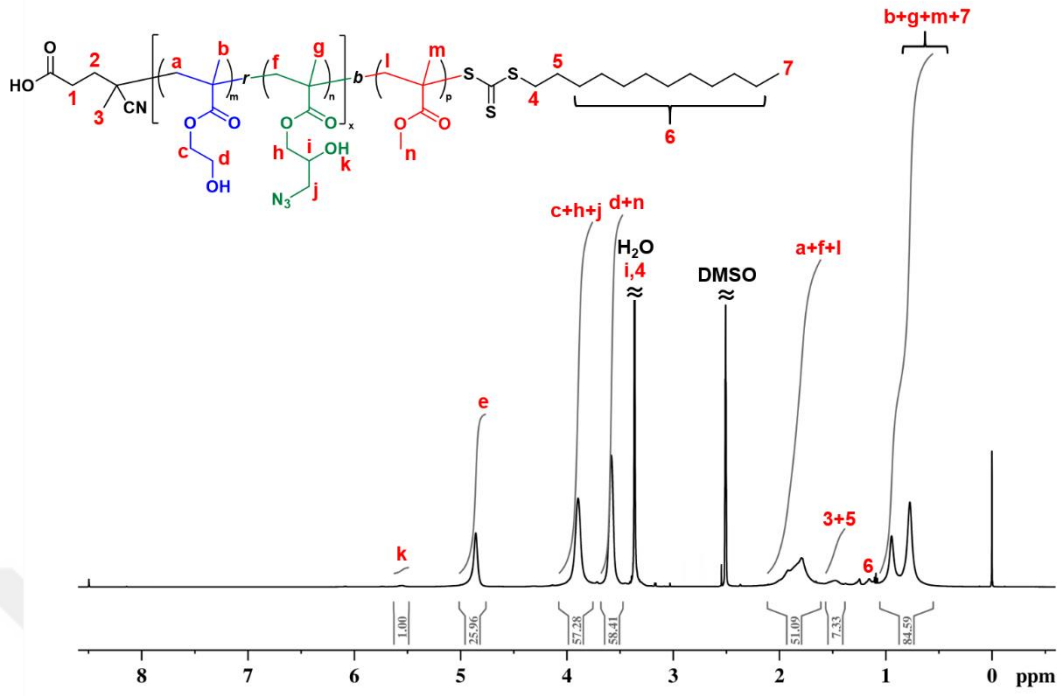
Şekil A.8 : P(HEMA-*r*-GMA- N_3)-2 makroRAFT ajanı ile 5 saatte sentezlenen P(HEMA-*r*-GMA- N_3)-*b*-PMMA polimerinin DMSO-d_6 'da çekilen ^1H NMR spektrumu.



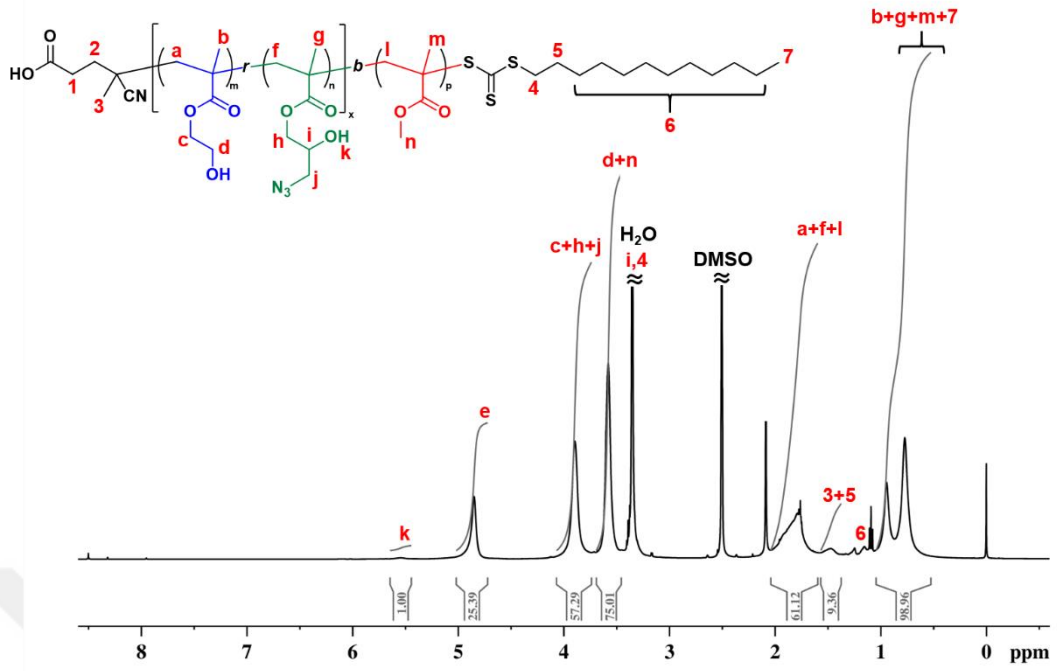
Şekil A.9 : P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 makroRAFT ajanı ile 7 saatte sentezlenen P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-*b*-PMMA polimerinin DMSO-d_6 'da çekilen ^1H NMR spektrumu.



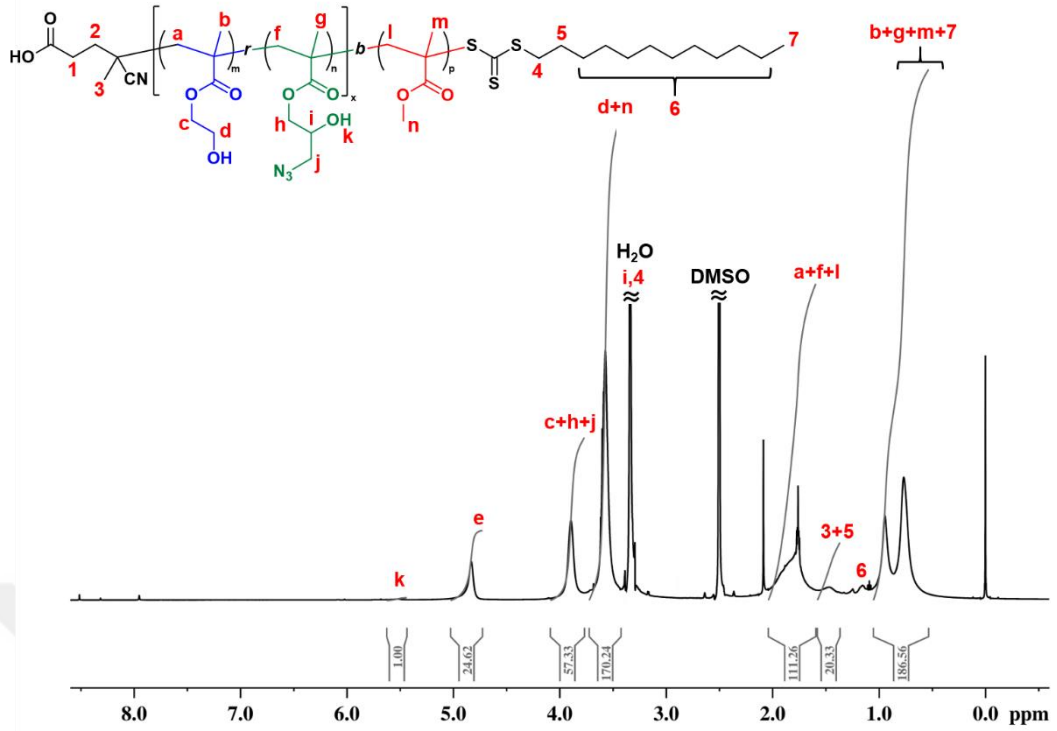
Şekil A.10 : P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 makroRAFT ajanı ile ağırlıkça %15 olacak şekilde metanol içerisinde sentezlenen P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-*b*-PMMA polimerinin DMSO-*d*₆'da çekilen ¹H NMR spektrumu.



Şekil A.11 : P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 makroRAFT ajanı ile ağırlıkça %20 olacak şekilde metanol içerisinde sentezlenen P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-*b*-PMMA polimerinin DMSO-*d*₆'da çekilen ¹H NMR spektrumu.

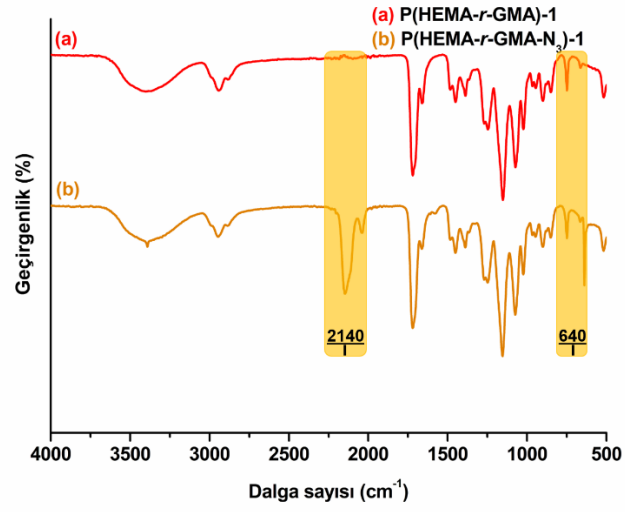


Şekil A.12 : P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 makroRAFT ajanı ile [MMA]:[M-CTA] oranı 50 olacak şekilde sentezlenen P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-*b*-PMMA polimerinin DMSO-*d*₆'da çekilen ¹H NMR spektrumu.

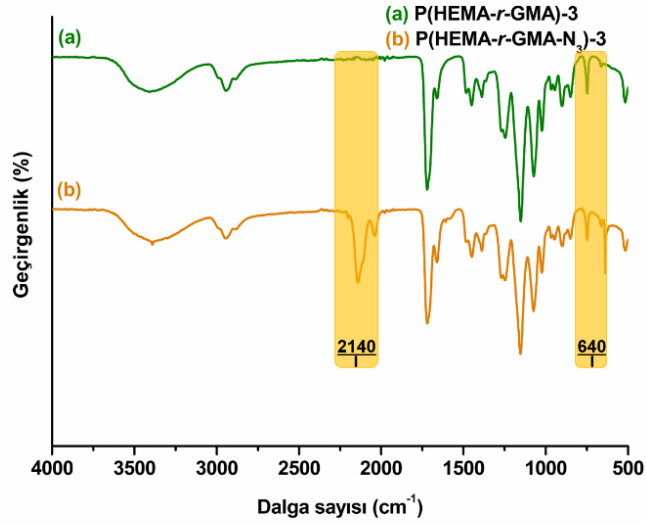


Şekil A.13 : P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 makroRAFT ajanı ile [MMA]:[M-CTA] oranı 200 olacak şekilde sentezlenen P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-*b*-PMMA polimerinin DMSO-d₆'da çekilen ¹H NMR spektrumu.

EK C



Şekil A.14 : a) P(HEMA-*r*-GMA)-1 ve b) P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-1 polimerlerinin FT-IR spekturumları.

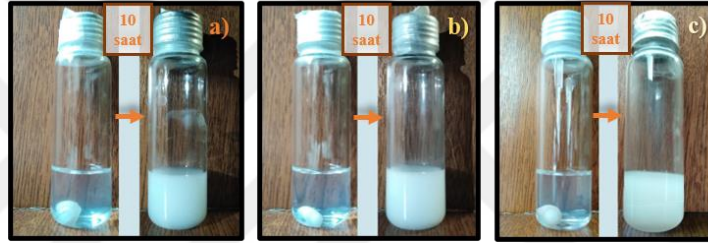


Şekil A.15 : a) P(HEMA-*r*-GMA)-3 ve b) P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-3 polimerlerinin FT-IR spekturumları.

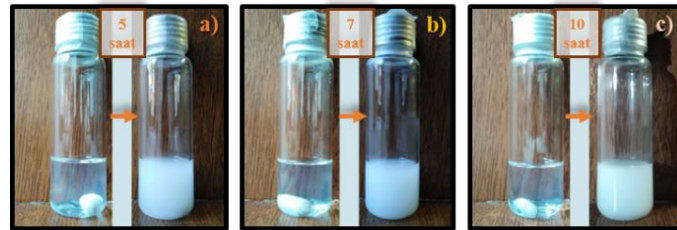
EK D



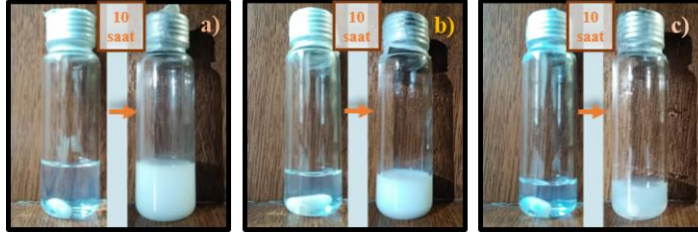
Şekil A.16 : P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 makroRAFT ajanı kullanılarak 10 saatlik polimerizasyon öncesi ve sonrası fotoğrafları.



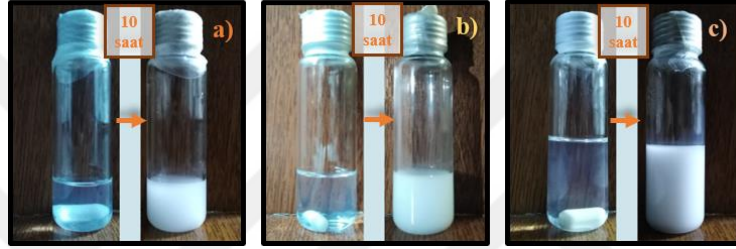
Şekil A.17 : a) P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-1, b) P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 ve c) P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-3 makroRAFT ajanları kullanılan sistemlerin polimerizasyon öncesi ve sonrası fotoğrafları.



Şekil A.18 : P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 makroRAFT ajanı kullanılarak a) 5, b) 7 ve c) 10 saatlik polimerizasyonlar öncesi ve sonrası fotoğrafları.



Şekil A.19 : P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 makroRAFT ajanı kullanılarak ağırlıkça (%w/w) a) %10, b) %15 ve c) %20 olacak şekilde metanol içerisinde gerçekleştirilen polimerizasyonların öncesi ve sonrası fotoğrafları.



Şekil A.20 : P(HEMA-*r*-GMA-N₃)-2 makroRAFT ajanı kullanılarak [MMA]:[M-CTA] oranı a) 50, b) 100 ve c) 200 olacak şekilde polimerizasyon öncesi ve sonrası fotoğraflar.

KAYNAKLAR

- [1] **Mehta, R., Manna, P. and Bhattacharya, A.** (2019). *Encyclopedia of Polymer Applications, 3 Volume Set*.
- [2] **Odian, G. G.** (2004). *Principles of polymerization*. Hoboken, N.J.: Wiley-Interscience.
- [3] **Parisi, O., Curcio, M. and Puoci, F.** (2015). *Polymer Chemistry and Synthetic Polymers*. pp. 1-31):
- [4] **Hasirci, V., Yigor, P., Endogan, T., Eke, G. and Hasirci, N.** (2011). *Polymer Fundamentals: Polymer Synthesis*. Vol. 1, pp. 349-371):
- [5] **Ramakrishnan, S.** (2017). Condensation polymerization. *Resonance*, 22(4), 355-368.
- [6] **Tanzi, M. C., Farè, S. and Candiani, G.** (2019). Chapter 1 - Organization, Structure, and Properties of Materials. In M.C. Tanzi, S. Farè, G. Candiani, (Eds.), *Foundations of Biomaterials Engineering* pp. 3-103): Academic Press.
- [7] **Matyjaszewski, K. and Spanswick, J.** (2005). Controlled/living Radical Polymerization. *Materials Today*, 8, 26–33.
- [8] **Bisht, H. S. and Chatterjee, A. K.** (2001). Living Free-Radical Polymerization—A Review. *Journal of Macromolecular Science, Part C*, 41(3), 139-173.
- [9] **Braunecker, W. and Matyjaszewski, K.** (2007). Braunecker, W. A. & Matyjaszewski, K. Controlled/living radical polymerization: features, developments, and perspectives. *Prog. Polym. Sci.* 32, 93-146. *Progress in Polymer Science*, 32, 93-146.
- [10] **Le Droumaguet, B. and Nicolas, J.** (2010). Recent advances in the design of bioconjugates from controlled/living radical polymerization. *Polymer Chemistry*, 1(5), 563-598.
- [11] **Moad, G., Rizzardo, E. and Thang, S.** (2012). Radical Addition-Fragmentation Chemistry and RAFT Polymerization. *Polymer Science: A Comprehensive Reference, 10 Volume Set*, 3, 181-226.
- [12] **D'Agosto, F., Rieger, J. and Lansalot, M.** (2020). RAFT-Mediated Polymerization-Induced Self-Assembly. *Angewandte Chemie International Edition*, 59(22), 8368-8392.
- [13] **Castiglione, D. and Davis, F.** (2016). Block Copolymers and Photonic Band Gap Materials. pp. 263-285):
- [14] **Hebbeker, P., Steinschulte, A., Schneider, S. and Plamper, F.** (2017). Balancing Segregation and Complexation in Amphiphilic Copolymers by

Architecture and Confinement. *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*, 33.

- [15] **Jr, C.** (2012). *Introduction to Polymer Chemistry*.
- [16] **Alexandridis, P., Olsson, U., Linse, P. and Lindman, B.** (2000). Structural Polymorphism of Amphiphilic Block Copolymers in Mixtures with Water and Oil: Comparison with Solvent-Free Block Copolymers and Surfactant Systems. pp. 169-190):
- [17] **Shrivastava, A.** (2018). 2 - Polymerization. In A. Shrivastava, (Ed.). *Introduction to Plastics Engineering* pp. 17-48): William Andrew Publishing.
- [18] **Matyjaszewski, K. and Davis, K.** (2002). *Statistical, Gradient, Block and Graft Copolymers by Controlled/Living Radical Polymerizations*.
- [19] **Lindman, B. and Alexandridis, P.** (2000). Amphiphilic molecules: small and large. pp. 1-12):
- [20] **Ahmed, M.** (2020). Chapter 16 - Nanomaterial synthesis. In R. Narain, (Ed.). *Polymer Science and Nanotechnology* pp. 361-399): Elsevier.
- [21] **Bastakoti, B. and Liu, Z.** (2017). Multifunctional polymeric micelles as therapeutic nanostructures: Targeting, imaging, and triggered release. pp. 261-283):
- [22] **Hamley, I. W., Dehsorkhi, A., Castelletto, V., Seitsonen, J., Ruokolainen, J. and Iatrou, H.** (2013). Self-assembly of a model amphiphilic oligopeptide incorporating an arginine headgroup. *Soft Matter*, 9(19), 4794-4801.
- [23] **Zhu, Y., Yang, B., Chen, S. and Du, J.** (2017). Polymer vesicles: Mechanism, preparation, application, and responsive behavior. *Progress in Polymer Science*, 64, 1-22.
- [24] **Charleux, B., Delaittre, G., Rieger, J. and D'Agosto, F.** (2012). Polymerization-Induced Self-Assembly: From Soluble Macromolecules to Block Copolymer Nano-Objects in One Step. *Macromolecules*, 45(17), 6753-6765.
- [25] **Lombardo, D., Calandra, P., Pasqua, L. and Magazù, S.** (2020). Self-Assembly of Organic Nanomaterials and Biomaterials: The Bottom-Up Approach for Functional Nanostructures Formation and Advanced Applications. *Materials*, 13(5).
- [26] **Derry, M. J., Fielding, L. A. and Armes, S. P.** (2016). Polymerization-induced self-assembly of block copolymer nanoparticles via RAFT non-aqueous dispersion polymerization. *Progress in Polymer Science*, 52, 1-18.
- [27] **Cheng, G. and Pérez-Mercader, J.** (2019). Polymerization-Induced Self-Assembly for Artificial Biology: Opportunities and Challenges. *Macromolecular Rapid Communications*, 40(2), 1970006.
- [28] **Ratcliffe, L. P. D., Blanazs, A., Williams, C. N., Brown, S. L. and Armes, S. P.** (2014). RAFT polymerization of hydroxy-functional methacrylic monomers under heterogeneous conditions: effect of varying the core-forming block. *Polymer Chemistry*, 5(11), 3643-3655.
- [29] **Zhang, X., Rieger, J. and Charleux, B.** (2012). Effect of the solvent composition on the morphology of nano-objects synthesized via RAFT

polymerization of benzyl methacrylate in dispersed systems. *Polymer Chemistry*, 3(6), 1502-1509.

- [30] **Zhang, W.-J., Hong, C.-Y. and Pan, C.-Y.** (2019). Polymerization-Induced Self-Assembly of Functionalized Block Copolymer Nanoparticles and Their Application in Drug Delivery. *Macromolecular Rapid Communications*, 40(2), 1800279.
- [31] **Thompson, S. W., Guimarães, T. R. and Zetterlund, P. B.** (2020). RAFT Emulsion Polymerization: MacroRAFT Agent Self-Assembly Investigated Using a Solvachromatic Dye. *Biomacromolecules*, 21(11), 4577-4590.
- [32] **Liu, C., Hong, C.-Y. and Pan, C.-Y.** (2020). Polymerization techniques in polymerization-induced self-assembly (PISA). *Polymer Chemistry*, 11(22), 3673-3689.
- [33] **Wang, X. and An, Z.** (2019). New Insights into RAFT Dispersion Polymerization-Induced Self-Assembly: From Monomer Library, Morphological Control, and Stability to Driving Forces. *Macromolecular Rapid Communications*, 40(2), 1800325.
- [34] **Warren, N. J., Mykhaylyk, O. O., Mahmood, D., Ryan, A. J. and Armes, S. P.** (2014). RAFT Aqueous Dispersion Polymerization Yields Poly(ethylene glycol)-Based Diblock Copolymer Nano-Objects with Predictable Single Phase Morphologies. *Journal of the American Chemical Society*, 136(3), 1023-1033.
- [35] **Chen, X., Liu, L., Huo, M., Zeng, M., Peng, L., Feng, A., Wang, X. and Yuan, J.** (2017). Direct Synthesis of Polymer Nanotubes by Aqueous Dispersion Polymerization of a Cyclodextrin/Styrene Complex. *Angewandte Chemie International Edition*, 56(52), 16541-16545.
- [36] **Wang, K., Wang, Y. and Zhang, W.** (2017). Synthesis of diblock copolymer nano-assemblies by PISA under dispersion polymerization: comparison between ATRP and RAFT. *Polymer Chemistry*, 8(41), 6407-6415.
- [37] **Qiao, X. G., Lansalot, M., Bourgeat-Lami, E. and Charleux, B.** (2013). Nitroxide-Mediated Polymerization-Induced Self-Assembly of Poly(poly(ethylene oxide) methyl ether methacrylate-co-styrene)-b-poly(n-butyl methacrylate-co-styrene) Amphiphilic Block Copolymers. *Macromolecules*, 46(11), 4285-4295.
- [38] **Kumar, B., Jajodia, K., Kumar, P. and Gautam, H.** (2017). Recent advances in nanoparticle-mediated drug delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 41.
- [39] **Yadav, H. K. S., Almokdad, A. A., shaluf, S. I. M. and Debe, M. S.** (2019). Chapter 17 - Polymer-Based Nanomaterials for Drug-Delivery Carriers. In S.S. Mohapatra, S. Ranjan, N. Dasgupta, R.K. Mishra, S. Thomas, (Eds.), *Nanocarriers for Drug Delivery* pp. 531-556): Elsevier.
- [40] **Bae, Y. H. and Park, K.** (2020). Advanced drug delivery 2020 and beyond: Perspectives on the future. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 158, 4-16.
- [41] **Sharma, R. and Rana, V.** (2018). Recent Advances in Development of Nano Drug Delivery. pp. 93-131):

- [42] **Mendes, L. P., Lima, E. M. and Torchilin, V. P.** (2018). Chapter 9 - Targeted Nanotheranostics for Selective Drug Delivery in Cancer. In J. Conde, (Ed.). *Handbook of Nanomaterials for Cancer Theranostics* pp. 245-277): Elsevier.
- [43] **Sharma, M.** (2019). Chapter 18 - Transdermal and Intravenous Nano Drug Delivery Systems: Present and Future. In S.S. Mohapatra, S. Ranjan, N. Dasgupta, R.K. Mishra, S. Thomas, (Eds.), *Applications of Targeted Nano Drugs and Delivery Systems* pp. 499-550): Elsevier.
- [44] **Kedar, U., Phutane, P., Shidhaye, S. and Kadam, V.** (2010). Advances in polymeric micelles for drug delivery and tumor targeting. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 6(6), 714-729.
- [45] **Mishra, R. K., Tiwari, S. K., Mohapatra, S. and Thomas, S.** (2019). Chapter 1 - Efficient Nanocarriers for Drug-Delivery Systems: Types and Fabrication. In S.S. Mohapatra, S. Ranjan, N. Dasgupta, R.K. Mishra, S. Thomas, (Eds.), *Nanocarriers for Drug Delivery* pp. 1-41): Elsevier.
- [46] **Vasile, C.** (2019). Chapter 1 - Polymeric Nanomaterials: Recent Developments, Properties and Medical Applications. In C. Vasile, (Ed.). *Polymeric Nanomaterials in Nanotherapeutics* pp. 1-66): Elsevier.
- [47] **Duan, S., Guo, L., Shi, D., Shang, M., Meng, D. and Li, J.** (2017). Development of a novel folate-modified nanobubbles with improved targeting ability to tumor cells. *Ultrasonics Sonochemistry*, 37, 235-243.
- [48] **Zhang, H., Cai, Z., Sun, Y., Yu, F., Chen, Y. and Sun, B.** (2012). Folate-conjugated β -cyclodextrin from click chemistry strategy and for tumor-targeted drug delivery. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 100A(9), 2441-2449.
- [49] **Zhou, Y., Wang, Z., Wang, Y., Li, L., Zhou, N., Cai, Y., Zhang, Z. and Zhu, X.** (2020). Azoreductase-triggered fluorescent nanoprobe synthesized by RAFT-mediated polymerization-induced self-assembly for drug release. *Polymer Chemistry*, 11(35), 5619-5629.

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Esra KARA

Doğum Tarihi ve Yeri :

E-posta :

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2017, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi,
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

DİĞER YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Kara, E., Temel, B. A. (2020). Polimerizasyonla İndüklenmiş Kendiliğinden Birleşme (PISA) Yöntemi ile Folik Asit Fonksiyonlandırılmış Misellerin Hazırlanması ve Karakterizasyonu, *International Eurasian Conference on Biotechnology and Biochemistry*, 16-18 Aralık, Ankara, Türkiye.