

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**IŞIĞA DUYARLI KUMARİN FONKSİYONLU AMFİFİLİK
KOPOLİMERLERİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE İLAÇ TAŞIYICI
UYGULAMALARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Merve Keklik
(160305014)**

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Biyoteknoloji Tezli Yüksek Lisans Programı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Binnur TEMEL

OCAK 2019

Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün 160305014 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Merve KEKLİK, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "IŞIĞA DUYARLI KUMARİN FONKSİYONLU AMFİFİLİK KOPOLİMERLERİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE İLAÇ TAŞIYICI UYGULAMALARI" başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

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

Jüri Üyeleri : **Doç. Dr. Deniz CEYLAN TUNCABOYLU**
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Doç. Dr. Demet KARACA BALTA
Yıldız Teknik Üniversitesi

Teslim Tarihi : **11 Şubat 2019**

Savunma Tarihi : **22 Ocak 2019**



Aileme,

ÖNSÖZ

Çalışmalarına başladığım andan itibaren hiçbir bilgisini, deneyimini ve gerek laboratuvar içinde gerekse laboratuvar dışında yardımını, sabır ve ilgisini benden esirgemeyen, ben daha girmiş olduğum derya denizin içinde ne olduğumu bile anlayamamışken bana pusula olup yoluma ışık tutan, kendime her zaman örnek aldığım, değerli hocam Doç. Dr. Binnur TEMEL'e öğrettiği her bilgi için ve ışık olduğu her fikir için teşekkür ediyorum.

Laboratuvarda hep benimle olan, ihtiyaç duyduğum anlarda desteğini ve yardımını benden hiç esirgemeyen fedakar yol arkadaşım İrem Akar'a ve bulunduğu ortama neşesini getiren Hatice Kübra Kurt'a teşekkür ederim.

Var olduğum günden bu yana yanımda oldukları her ana şükrettiğim, desteklerini benden hiç esirgemeyen, umutsuzluğa düştüğüm her anımda beni bir lafıyla yeniden ayağa kaldıran annem Canan Keklik'e, arkamda olduğunu bildiğim, bana hep güven veren ve dayanağım olan babam Behçet Keklik'e, sıkıntılarımın üstesinden birlikte gelebildiğim kardeşim Abdulkadir Keklik'e tüm kalbimle teşekkür ederim.

Bu çalışma, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimi tarafından 12.2017/42 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Ocak 2019

Merve KEKLİK
(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.

Merve KEKLİK

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	iv
BEYAN	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR.....	viii
SEMBOLLER	ix
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
ÖZET	xiii
SUMMARY	xiv
1. GİRİŞ	1
2. TEORİK BİLGİLER.....	3
2.1 Polimerizasyon Çeşitleri	4
2.1.1 Katılma polimerizasyonu	4
2.1.2 Basamaklı polimerizasyon	4
2.1.3 Kontrollü/Yaşayan polimerizasyon teknikleri	4
2.1.3.1 Atom transfer radikal polimerizasyon (ATRP).....	4
2.1.3.2 Nitroksit aracılıklı polimerizasyon (NMP)	5
2.1.3.3 Tersinir katılma-ayırılma zincir transfer polimerizasyonu (RAFT) ...	6
2.2 Click Kimyası.....	9
2.2.1 Huisgen 1,3-dipolar siklokatılma	11
2.3 Işığa Duyarlı Polimerler	12
2.3.1 Işığa duyarlı polimerik miseller	13
2.3.2 Işığa duyarlı gruplar	16
2.3.2.1 Azobenzen.....	17
2.3.2.2 Spiropiran.....	18
2.3.2.3 o-Nitrobenzen	19
2.3.2.4 Antrasen	19
2.3.2.5 Sinnamik asit.....	20
2.3.2.6 Timin.....	21
2.3.2.7 Stilben	21
2.3.2.8 Kumarin	22
2.4 Glisidil Metakrilat (GMA)	25
2.4.1 Glisidilmetakrilat stabilitesi	25
2.4.2 PGMA'nın azitle fonksiyonlandırılması	27
3. MATERYAL VE METOD.....	28
3.1 Malzemeler.....	28
3.2 Kullanılan Cihazlar	28
3.3 Deneysel Kısım	29
3.3.1 7-(Prop-2-in-1-iloksi)-1-benzopiran-2-on Sentezi (PrCUM).....	29
3.3.2 Poli(glisidil metakrilat) (PGMA) sentezi	30
3.3.3 Poli(glisidil metakrilat)'ın azitlenmesi (PGMA-g-N ₃).....	30

3.3.4 PGMA-g-N ₃ ile Propargil Kumarinin Click Reaksiyonu (PGMA-g-PrCUM).....	31
3.3.5 (PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA Sentezi.....	31
3.3.6 Misel hazırlama.....	32
3.3.7 DOKS yüklü misel hazırlama.....	32
3.3.8 Kritik misel konsantrasyonunun (CMC) belirlenmesi.....	32
3.3.9 İlaç yükleme (DL) ve enkapsülasyon verimi (EE).....	32
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	34
4.1 7-(Prop-2-in-1-iloksi)-1-benzopiran-2-on (PrCUM) Sentezi ve Karakterizasyonu.....	34
4.2 Poli(glisidil metakrilat)'ın (PGMA) Sentezi ve Karakterizasyonu.....	37
4.3 Azitlenmiş Poli(glisidil metakrilat)'ın (PGMA-g-N ₃) Sentezi ve Karakterizasyonu.....	38
4.4 PGMA-g-N ₃ Polimerine “Click” Reaksiyonu ile Kumarin Takılması (PGMA-g-PrCUM).....	39
4.5 (PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA'nın Sentezi ve Karakterizasyonu.....	41
4.6 DOKS Yüklü ve Boş Misellerin Oluşturulması ve Karakterizasyonu.....	46
5. SONUÇ.....	53
KAYNAKLAR.....	54
ÖZGEÇMİŞ.....	61

KISALTMALAR

AIBN	: 2,2'-Azobis (2-metil propiyonitril)
ATRC	: Atom transfer radikal kenetlenme
ATRP	: Atom transfer radikal polimerizasyonu
CDCl₃	: Döteryo kloroform
CDTP	: 4-Siyano-4-[(dodesilsülfaniltiyokarbonil)sülfanil]pentanoik asit
CMC	: Kritik misel konsantrasyonu
DMF	: Dimetil formamid
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DLS	: Dinamik ışık saçılımı
DOKS	: Doksorubisin
DSC	: Diferansiyel taramalı kalorimetre
FT-IR	: Fourier dönüşümlü infrared spektrometresi
GMA	: Glisidil metakrilat
GPC	: Jel geçirgenlik kromatografisi
¹H NMR	: Proton nükleer manyetik rezonans spektroskopisi
KRP	: Kontrollü radikal polimerizasyonu
NMP	: Nitroksit aracılıklı polimerizasyon
PBS	: Fosfat tamponlu tuz çözeltisi
PDI	: Polidispersite
PEG	: Poli(etilen glikol)
PEGME	: Poli(etilen glikol) metil eter
RAFT	: Tersinir katılma-ayırışma zincir transfer polimerizasyonu
RES	: Retiküloendotelyal sistem
TEM	: Geçirimli elektron mikroskobu
TEMPO	: 2,2,6,6-Tetrametil-1-piperidiniloksi
THF	: Tetrahidrofur
TBTA	: Tris[(1-benzil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metil]amin
T_g	: Camı geçiş sıcaklığı
UV-Vis	: Ultraviyole ve görünür ışık absorpsiyonu

SEMBOLLER

Å	: Angstrom
°C	: Derece Santigrat
kDa	: Kilodalton
λ	: Dalgaboyu
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mL/dak	: Mililitre bölü dakika
mm	: Milimetre
µL	: Mikrolitre

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1 : Işığa duyarlı grupların tipik örnekleri ve ışığa duyarlı polimerik misellerin karşılık gelen özellikleri.....	17
Tablo 4.1 : Misellerin 0, 60 ve 120 dakika 350 nm’de aydınlatıldıktan sonra ölçülen DLS sonuçları.	47
Tablo 4.2 : Boş ve DOKS yüklü misellerin farklı zamanlarda ölçülen DLS dataları.	48



ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1	: ATRP için genel mekanizma..... 5
Şekil 2.2	: NMP için genel mekanizma. 6
Şekil 2.3	: Farklı RAFT ajanları türleri: ditiyoesterler, tritiyokarbonatlar, ksantatlar ve diyiokarbamatlar. 7
Şekil 2.4	: RAFT polimerizasyonu için genel mekanizma. 8
Şekil 2.5	: RAFT polimerizasyonu için kullanılan yeni yöntemler..... 9
Şekil 2.6	: Nükleofilik halka açma reaksiyonları..... 10
Şekil 2.7	: Non-aldol karbonil kimyası..... 10
Şekil 2.8	: Karbon-karbon bağları arasına ilave edilen oksidasyon reaksiyonları 10
Şekil 2.9	: ‘Click’ kimyasında kullanılan siklokatalizasyon reaksiyonları..... 11
Şekil 2.10	: Azit ve alkinlerin 1,3-dipolar siklokatalizasyonu..... 12
Şekil 2.11	: Işığa duyarlı polimerler 13
Şekil 2.12	: Polimerik misel oluşumu..... 14
Şekil 2.13	: Polimerik misellerde fiziksel ve kimyasal ilaç yükleme 15
Şekil 2.14	: Işığa duyarlı polimerik miseller..... 16
Şekil 2.15	: Azobenzen izomerizasyonu..... 17
Şekil 2.16	: Tersinir ışık kaynaklı bozulma ve sulu misellerin oluşumu için kullanılan AZO gruplarını taşıyan temsili amfifilik kopolimerler 18
Şekil 2.17	: Spiropiranın izomerizasyonu..... 18
Şekil 2.18	: Sulu misellerin tersinmez olarak bozulması için fotoparçalanır grupların kullanıldığı örnek bir gösterim 19
Şekil 2.19	: Antrasenin klasik fotodimerizasyon mekanizması..... 20
Şekil 2.20	: Sınnamik asitin dimerizasyonu..... 20
Şekil 2.21	: DNA zincirindeki timin bazının ışıkla dimerleşmesi. 21
Şekil 2.22	: Stilbenin ışıkla dimerizasyonu. 22
Şekil 2.23	: Klasik kumarin yapısı..... 22
Şekil 2.24	: Farklı alanlarda kullanılan kumarin türevleri. 23
Şekil 2.25	: a) PEO-b-PDEACMM kopolimer miselinin ve b) PEO-b-PLGA-ko-COU kopolimer miselinin foto-kaynaklı parçalanma reaksiyonu..... 24
Şekil 2.26	: Poli(glisidil metakrilat)’ın sentezi. 25
Şekil 2.27	: Poli(glisidil metakrilat)’ın modifikasyonu için kullanılan reaksiyonlar 26
Şekil 3.1	: Propargil kumarinin (PrCUM) sentez reaksiyonu. 30
Şekil 3.2	: RAFT polimerizasyonu ile PGMA polimerinin sentezi. 30
Şekil 3.3	: PGMA polimerinin azitlenmesi..... 30
Şekil 3.4	: PGMA-g-PrCUM polimerinin kimyasal yapısı..... 31
Şekil 3.5	: (PGMA-g-PrCUM) –b-POEGMA sentezinin kimyasal yapısı. 31
Şekil 4.1	: PrCUM molekülüne ait FT-IR spektrumu 35
Şekil 4.2	: PrCUM bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu. 35
Şekil 4.3	: PrCUM’in (2.4 x 10 ⁻² mg/mL) DMF içerisinde çekilmiş UV-Vis spektrumu. 36

Şekil 4.4	: PrCUM'un (2×10^{-3} mg/mL) DMF içerisinde çekilmiş floresans spektrumu.	36
Şekil 4.5	: PGMA'nın GPC kromatogramı.....	37
Şekil 4.6	: PGMA'nın CDCl_3 içinde çekilmiş ^1H NMR spektrumu.....	38
Şekil 4.7	: PGMA-g- N_3 'in DMSO içerisinde çekilen ^1H NMR spektrumu.....	39
Şekil 4.8	: PGMA-g-PrCUM'in DMSO içerisinde çekilen ^1H NMR spektrumu 40	
Şekil 4.9	: PGMA-g-PrCUM'in (4×10^{-3} mg/mL) DMF içerisinde çekilen floresans spektrumu.....	41
Şekil 4.10	: (PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA kopolimerinin DMSO içerisinde çekilen ^1H NMR spektrumu.	42
Şekil 4.11	: (PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA [8×10^{-3} mg/mL] DMF içerisinde çekilmiş floresans spektrumu.	43
Şekil 4.12	: a) PGMA, b) PGMA-g- N_3 , c) PGMA-g-PrCUM ve d) (PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA polimerlerinin FT-IR spektrumları.	44
Şekil 4.13	: PGMA, PGMA-g- N_3 , PGMA-g-PrCUM ve (PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA polimerlerinin DSC termogramları.....	45
Şekil 4.14	: a) PGMA, b) PGMA-g- N_3 , c) PGMA-g-PrCUM, d) (PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA polimerlerinin DMF içerisinde (4×10^{-2} mg/mL) çekilmiş UV-Vis spektrumları.....	46
Şekil 4.15	: Boş ve DOKS yüklü miseller için DLS verilerinden elde edilen boyut dağılım eğrileri.	47
Şekil 4.16	: A) Boş misellerin ve B) DOKS yüklü misellerin TEM görüntüleri... 48	
Şekil 4.17	: Kritik misel konsantrasyonu (CMC).	49
Şekil 4.18	: 350 nm'de aydınlatılan boş misel [0.1 mg/mL] sulu çözeltisinin UV-Vis spektrumunda gözlenen zamana bağlı değişim.....	50
Şekil 4.19	: 350 nm'de aydınlatılan DOKS yüklü misel [0.1 mg/mL] sulu çözeltisinin UV-Vis spektrumunda gözlenen zamana bağlı değişim. 50	
Şekil 4.20	: Boş miselin [0.1 mg/mL] su içerisinde çekilen floresans spektrumu. 51	
Şekil 4.21	: DOKS yüklü miselin [0.11 mg/mL] su içerisinde çekilen floresans spektrumu.	51

İŞIĞA DUYARLI KUMARİN FONKSİYONLU AMFİFİLİK KOPOLİMERLERİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE İLAÇ TAŞIYICI UYGULAMALARI

ÖZET

İlaç taşıyıcı sistemler, terapötik aktiviteyi arttırırken yan etkileri en aza indirmeye duyulan ihtiyaçtan dolayı sürekli gelişmektedir. Son zamanlarda oldukça ilgi çeken ilaç taşıyıcı sistemlerinden biri amfifilik blok kopolimerlerin oluşturduğu ve dış uyaranlar vasıtasıyla sulu çözeltilerde kendiliğinden bir araya gelen misellerdir. Dış uyaranlara yanıt veren polimerler arasından ışığa-duyarlı olanlar özellikle ilgi çekmektedir. Foto-tersinir dimerleşme yapabilen ve polimerik sistemlerde yaygın olarak kullanılan bu yapılar genellikle belli bir dalga boyundaki ışığın uygulanması ile tersine çevrilebilecek bir $[4\pi + 4\pi]$ - veya $[2\pi + 2\pi]$ - siklokatalı mekanizması ile gerçekleşmektedir. Kontrollü radikal polimerizasyon (CRP) tekniklerinin ve “click” reaksiyonlarının gelişmesiyle hassasiyet kazanan polimer sentezindeki ilerlemeler ile polimerik yapıtaşlarının tasarlanmasında esneklik, çeşitlilik ve işlevsellik açısından muazzam imkanlar ortaya çıkmıştır. Bu çok yönlülük polimerik yapıtaşlarının kendiliğinden bir araya gelerek oluşturdukları nanoyapıların istenilen boyutta ve şekilde oluşturulmasını sağlamıştır. CRP tekniklerinin hidrofobik ve hidrofilik kopolimerlerin sentezinde kullanılan diğer basit tekniklere göre üstünlüğü, polimerlerin molekül ağırlığının, dizilişinin ve uç grup fonksiyonlularının kontrolünü sağlamasıdır.

Bu çalışmada, kontrollü polimerizasyon tekniklerinin ve “click” reaksiyonlarının avantajları kullanılarak ışık vasıtasıyla dimerleşebilen kumarin grupları içeren amfifilik bir blok kopolimer sentezlenmiş, bu kopolimer ile misel oluşturulmuş ve ilaç taşıma etkinliği incelenmiştir. Hidrofobik bloğu oluşturmak amacıyla glisidil metakrilat (GMA) monomeri tersinir katılma-ayırışma zincir transfer polimerizasyonu (RAFT) vasıtasıyla polimerleştirilmiş, sonrasında glisidil fonksiyonları NaN_3 ile azitlenerek “click” reaksiyonu vasıtasıyla belli bir oranda kumarin grupları takılmıştır. Elde edilen bu polimer PEG metakrilat monomerinin RAFT polimerizasyonunda makrobaşlatıcı olarak kullanılmış ve amfifilik kopolimer elde edilmiştir. Çalışma sırasında sentezlenen polimerler FT-IR, ^1H NMR, UV-Vis, floresan ve DSC ile karakterize edilmiştir. Son aşamada diyaliz yöntemi kullanılarak amfifilik kopolimer ile misel oluşturulmuş, ilaç taşıma etkinliğini belirlemek amacıyla da misellere doksorubisin (DOKS) yüklenmiştir. İlaç yüklü ve boş misellerin partikül boyutları DLS ile ölçülerek TEM görüntüleri sonucunda elde edilen boyutlarla karşılaştırılmıştır.

Anahtar kelimeler: RAFT polimerizasyonu, amfifilik blok kopolimer, kumarin, misel, click kimyası

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND DRUG DELIVERY APPLICATIONS OF PHOTORESPONSIVE COUMARIN FUNCTIONAL AMPHIPHILICK COPOLYMERS

SUMMARY

Drug delivery systems are constantly evolving due to the need to minimize the side effects while increasing therapeutic activity. One of the most interesting drug delivery systems in recent times has been the self-assembly of stimuli-responsive amphiphilic block copolymers in aqueous solutions. Among them, the light-sensitive ones are of particular interest. These structures, which are capable of photo-reversible dimerization and are widely used in polymeric systems, generally proceed with a $[4\pi + 4\pi]$ - or $[2\pi + 2\pi]$ - cyclochemical mechanism which can be reversed by the application of light at a certain wavelength. Progress in the synthesis of controlled radical polymerisation (CRP) techniques and sensitive polymer synthesis through the development of "click" reactions has given tremendous opportunities in terms of flexibility, diversity and functionality in the design of polymeric building blocks. This versatility allows the nanostructures that the polymeric building blocks come together to form at the desired size and shape. The superiority of the CRP techniques over other simple techniques used in the synthesis of hydrophobic and hydrophilic copolymers makes it possible to control the molecular weight, sequence and end group functionality of the polymers.

In this work, an amphiphilic block copolymer containing light dimerizable coumarin groups was synthesized using the advantage of controlled polymerization techniques and click reactions. Glycidyl methacrylate (GMA) monomer was polymerized by reversible addition-fragmentation chain transfer polymerization (RAFT) to form hydrophobic block, followed by azide functionalization of glycidyl units with NaN_3 to attach a certain amount of coumarin groups via click reaction. Obtained polymer was used as macroinitiator in the RAFT polymerization of PEG methacrylate monomer and an amphiphilic copolymer was achieved. Polymers synthesized during this study were characterized by FT-IR, ^1H NMR, UV-Vis, fluorescence ve DSC. At the last stage, dialysis method was used for micelle formation and doxorubicin (DOX) was loaded to micelles in order to examine drug loading efficiency of the micelles. Particle sizes of drug loaded and empty micelles were measured by DLS and compared with TEM images.

Keywords: RAFT polymerization, amphiphilic block copolymer, coumarin, micelle, click chemistry

1. GİRİŞ

Son zamanlarda dışarıdan tetiklenen nanopartiküllerin ilaç salımı için kullanımına artan bir ilgi duyulmaktadır. Özellikle polimer bilimindeki ilerlemeler, polimerlerin benzersiz özelliklerle sentezlenip, dizayn edilmesine sebep olmuştur. Bu manada polimerlerin bu avantajları, yapısal açıdan çok yönlü oluşu, hidrofobik ve hidrofilik bileşenleri bir araya getirebilme esnekliğini de sunar. Kovalent olarak birbirine bağlı olan polimer-ilaç konjugatları kavramı ilk olarak 1975 yılında ortaya atılmış ve bu konuda pek çok çalışmalar yapılmıştır. Bu dönemden sonra önemli gelişmeler yaşanmış, hem doğada kendiliğinden var olan polimerlerin hem de sentetik olarak üretilen polimerlerin yapıları değiştirilerek farklı tasarımlar ortaya konmuştur. Bu tasarımlar yapılırken belirli özellikleri ve işlevleri olan formülasyonlar kullanılarak polimerlere gelişmiş bir çok özellik katılır. Bunun için de polimerize olabilen aktif esterler ve amitler yaygın şekilde kullanılır. İlacın hızlı veya yavaş salımında serbest kalma oranı ayırıcı grubun türüne göre şekillendirilir. Bu gelişmelerle pH, sıcaklık veya ışık gibi koşullara cevap verebilen polimerler üretilir. Bu yeni yapılar özellikle aktif tümör hücresi hedeflemesi için yenilikçi yaklaşımların temelini oluşturmaktadır. İlaç taşıyıcıları olarak, potansiyellerini en iyi duruma getirmek için polimerler iyi karakterize edilebilmeli, ayarlanır miktarlarda tekrarlanabilecek şekilde sentezlenebilir ve klinik uygulamalar için kabul edilebilir uygunlukta olmalıdır. Ayrıca biyouyumlu, immün tepkiye sebep olmayan ve biyolojik olarak parçalanabilir özellikte olmaları önemlidir. Bu sayede kolayca vücuttan atılabilen polimer taşıyıcıları ile dolaşımda dengeli kalıp, suda çözünür ilaçların yavaş salınması, düşük çözünürlüklü ilaçların hedef bölgeye toksik etkisini azaltarak iletilmesiyle hücre içine kolay bırakılabilmesi ve iki veya daha fazla ilacın verilebilmesi için önemli özelliklerde karakterize edilebilmeleri mümkündür.

Polimerik taşıyıcı sistemler tasarlanırken uygun ilaç ve polimer adayı seçimi büyük bir önem taşır. İlaçlarla kovalent bağlanmaya uygun $-COOH$, $-OH$, $-SH$ veya $-NH_2$ mevcudiyeti, biyouyumlu olması, biyolojik olarak bozunabilir olması, suda çözünürlüğü, ayarlanabilir boyutları ve düşük polidispersite gibi özellikler polimerin taşıyıcı olarak kullanılabilmesine olanak sağlar.

Polimer-ilaç konjugatlarında kullanılan sentetik polimerlerin kompozisyonu, yapısı ve molekül ağırlığı açısından çok yönlüdür. En çok kullanılan sentetik polimerlerden olan poli(etilen glikol) (PEG), basit bir polimer olması ve immün sistem tarafından tanınmamasıyla birlikte vücutta dolaşım süresini arttırmaya yardımcı olur. PEG üzerindeki modifikasyonlar hidroksil son grubunun değiştirilmesine dayanır. PEG toksik bir polimer değildir ve konjugasyonu kolaylıkla sağlanır. Kararlı bir yapıda olması sayesinde yüzey absorpsiyonuna yüksek direnç gösterir. Bu da onu suda çözünmeyen diğer polimerlerle konjuge edilip ilaç taşıma sistemi için ideal bir polimer haline getirir.

İlaç taşıma ve hedefleme yaklaşımlarındaki gelişmeler, ilaç tedavisinin etkinliğini artırıp insan sağlığını ve yaşam koşullarını olumlu yönde değiştirir. Hedefleme, ilacın belli koşullarda polimere doğrudan konjugasyonu veya polimer içerisine hapsedilip misel ya da enkapsüle edilerek oluşturulması ile mümkün olabilir. Bu sayede vücut içerisinde yol alırken hedef bölgeye gidene kadar stabilitesini koruması öngörülen taşıyıcı sistem kararlı bir yapı oluşturabilir. Miseller amfifilik polimer moleküllerinin kendi kendine biraraya gelerek oluşturdukları koloidal parçacıklardır. Miseller, boyutlarını sınırlandırıcı itici kuvvetlerin ve büyümeyi tetikleyen çekici kuvvetlerin katkılarıyla oluşurlar. Bu sayede ilacı hapsederek hedef bölgeye iletilmesinde önemli rol oynarlar.

Terapötik konjugatlar hedefleme kısımlarının yapıya eklenmesi ile gerçekleşir. Hedefleme aktif veya pasif hedefleme şeklinde yapılabilir. Pasif hedefleme mekanizmalarının etkisini en üst düzeye çıkarmanın bir yolu, fiziksel olarak polimer-ilaç konjugatlarının hedeflenen bölgede kalmasının sağlanmasıdır. Hedefleme normal hücelere kıyasla hastalıklı hücelerdeki belirli hücre yüzeyi belirteçlerinin aşırı ekspresyonuna dayanır. Elde edilen konjugatlar, bu aşırı ekspresyona bağlı hastalıklı hücelere sağlıklı hücreler arasındaki göreceli farklılıklardan faydalanılarak, hastalıklı hücelere karşı etkili hedefleme stratejisi olarak kullanılır.

Bu çalışmada, ışığa duyarlı kumarin grubu içeren amfifilik blok kopolimerlerin RAFT polimerizasyonu ve click reaksiyonu kullanılarak sentezlenmesi, diyaliz metodu ile bu polimerlerden misel oluşturulması ve ilaç yüklenmesi ile misellerin UV aydınlatma altındaki davranışlarının gözlenmesi hedeflenmiştir.

2. TEORİK BİLGİLER

Polimerler, çeşitli alanlardaki ihtiyaçlarımız için kullanılan çok büyük moleküllerdir. Yaşamın her alanında bulunan bu makromoleküller çoğu araştırmacı için büyük ilgi odağı haline gelmiştir. Hem doğada var olup hem de sentetik olarak laboratuvar ortamında üretilibilmeleri, onlara istenilen özelliklerin katılabilmesi gibi özellikler polimerleri bilim insanları tarafından farklı alanlarda yapılan çalışmalar için tercih sebebi yapmaktadır [1].

Kontrollü ve hedefe yönelik ilaç taşıma için doğal polimerlerin sunduğu özellikler onları tercih edilir kılmaktadır. Biyouyumlu, biyobozunur, tekdüze ve hassas molekül ağırlığında olmaları vücut içinde toksik etkiye sebep olmadan bu alanda kullanılabilmelerini sağlar [2]. Doğal polimerler polisakkaritler, polipeptitler ve polinükleotidler olmak üzere genellikle üç ana sınıfta toplanır [3]. Bunlara örnek olarak kitosan, dekstran, pullulan gibi örnekler verilebilir [4]. Polisakkaritler ve polipeptidler anti-tümör ilaçlarla konjuge edilebilir. Hatta bazen bu polimerlerin kendilerinde de anti-tümör özellik bulunabilir. Suda iyi çözünmeyen ilaçların doğal polimerle birleştirilerek tümör bölgesine gönderilmesi ile daha az ilaç kaybı ve sağlıklı dokuda daha az toksisite gözlenir [5].

Polimer kimyasındaki ilerlemeler, polimer yapılarının istenildiği gibi modifiye edilip tasarlanmasını ve ihtiyaçlara göre uyarlanabilmesini mümkün kılmıştır. Bu sayede ana ve yan zincirleri karakterize edilmiş çok sayıda sentetik polimer üretilmiştir. Bunlara örnek olarak poli(etilen glikol) (PEG), N-2-hidroksipropil metakrilamid (HPMA) kopolimerleri, poli(stiren-*ko*-maleik asit) (PSMA) ve poli(laktik-*ko*-glikolik asit) (PLGA) verilebilir. Her ne kadar sentetik polimerler ilaç taşıyıcı sistemlerinde kullanılacak şekilde modifiye edilmiş olsa da, yine de büyük bir sorun olan toksik etkilerine ilişkin problemler de bildirilmiştir [6].

Sentetik polimerleri sentezlemek için monomer adı verilen küçük moleküller farklı polimerizasyon metodları ile biraraya getirilmektedir. Kullanılacak olan polimerizasyon metodu, polimerleştirilecek monomerin uygunluğuna, şartlarına ve polimerizasyon reaksiyonlarının kinetiğine bağlı olarak farklılık göstermektedir [1].

2.1 Polimerizasyon Çeşitleri

2.1.1 Katılma polimerizasyonu

Katılma polimerizasyonu yönteminde serbest radikal başlatıcıları ya da iyonik başlatıcılar ile polimerleşmeyi başlatıp yürütecek olan aktif kısımları verecek yetenekte, doymamış çift bağ içeren bileşikler kullanılır. Katılma polimerizasyonları başlama, ilerleme, sonlanma adımlarını takiben devam eder ve aktif olan kısımların nötralleşmesi ile sonlanır. Monomer miktarı tepkime süresince yavaşça azalır. Yüksek miktarlarda verim elde etmek için polimerizasyon süresinin uzatılması gerekir, fakat tepkime boyunca molekül ağırlığında artan bir değişim olmaz [7].

2.1.2 Basamaklı polimerizasyon

Basamaklı polimerizasyon yönteminde, -OH, -COOH, -NH₂ gibi gruplar bulunduran moleküller kullanılır ve polimerizasyon esnasında H₂O ya da HCl gibi küçük moleküller açığa çıkar. Polimerizasyon süresince molekül ağırlığı sürekli olarak artış gösterir bu da paralel olarak uzun polimerizasyon süreleri gerektirir. Ortamda her büyüklükte molekül bulunur, ancak ortamda monomer kalmaz. Bu polimerizasyon aynı zamanda kondenzasyon polimerizasyonu olarak adlandırılır. Tekrarlanan ünitelerin içerisinde yer alan bağ türlerine göre elde edilen polimerler poliester, poliamit vb. şeklinde sınıflandırılır [7].

2.1.3 Kontrollü/Yaşayan polimerizasyon teknikleri

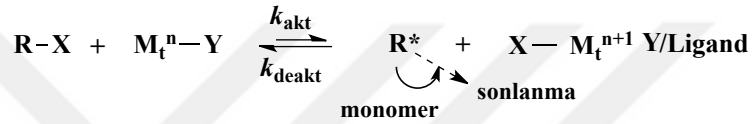
Polimerler sentezlenirken kullanılacak alana bağlı olarak, polimerin yapısında, işlevinde ve bileşiminde istenildiği gibi değişiklik yapılabilmesi bu alanda çalışma yapan araştırmacılar arasında son zamanlarda popüler hale gelmiştir. Kontrollü polimerizasyon tekniklerinin en çok kullanılanları atom transfer radikal polimerizasyonu (ATRP), nitroksit aracılıklı polimerizasyon (NMP) ve tersinir katılma-ayırılma zincir transfer radikal polimerizasyon (RAFT) yöntemleridir [7].

2.1.3.1 Atom transfer radikal polimerizasyon (ATRP)

Radikal polimerizasyon bir çok polimerik malzemenin üretimi için yaygın olarak kullanılan bir metottür. Kontrollü polimerizasyon yöntemi ile sınırsız sayıda homopolimer ve kopolimerler elde etmek mümkündür [8]. Kontrollü radikal polimerizasyonu temelde iki prensip üzerine yoğunlaşmıştır. İlk prensip hızlı başlayıp, belli konsantrasyonda yavaş büyüyen polimer zinciri, ikincisi ise büyüme yeteneğini

hala devam ettiren ama pasif olabilen kısım ile büyüyen radikaller arasında kurulan dinamik dengedir. Bu sayede büyüyen polimer zinciri çoğunluğu aslında bu kalıcı radikal etki nedeniyle olur [7].

ATRP polimerizasyonunda genel olarak basit ve ucuz bir alkil halojenür başlatıcısı ve geçiş metali ile katalizör olarak kullanılır [9]. Geçiş metali kompleksi oluşturmuş organik bir ligand kullanılır. Halojen bulunduran başlatıcılardaki pasif gruplar, metal/ligand kompleksi varlığında aktifleşir ve başlatıcının yapısındaki halojen metal/ligand kompleksine katılarak aktif radikal oluşumunu sağlar. Bu oluşuma monomerler eklenerek polimer zincirleri büyümeye başlar [10]. Şekil 2.1’de ATRP’nin genel mekanizması gösterilmiştir.



Şekil 2.1 : ATRP için genel mekanizma.

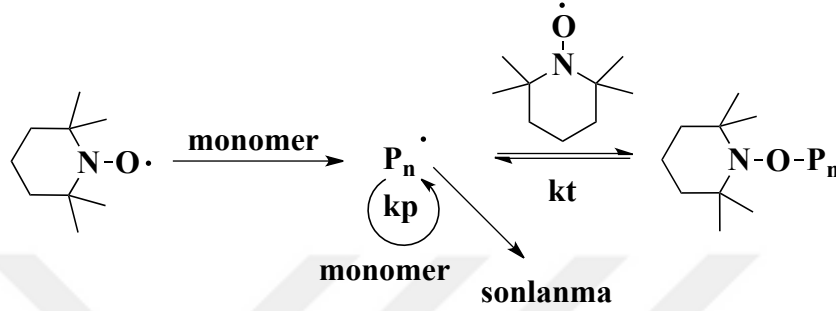
Reaksiyon sırasında ortamdaki monomerler bitene kadar büyüme devam eder. Radikaller, geçiş metali ile kompleks oluşturmuş ligandla birlikte tersine çevrilebilir bir redoks prosesi ile oluşturulmuş olur. Başarılı bir ATRP’de sonlandırılmış zincirlerin küçük bir katkısının yanında, aynı zamanda hızlı başlatma ve hızlı geri dönüşümlü olması tüm zincirlerin tekdüze büyümesini de sağlamaktadır. Polimerizasyon tamamlandıktan sonra elde edilen polimere monomer eklendiğinde tekrar polimerizasyonun başlayabilmesi, istenilen uzunlukta ve düşük polidispersitede (PDI) ürünler elde edilmesi mümkündür [11].

2.1.3.2 Nitroksit aracılıklı polimerizasyon (NMP)

Kontrollü polimerizasyon yöntemlerinden biri olan nitroksit aracılıklı polimerizasyon (NMP) araştırmacılar için çok çekici bir yöntemdir. Çeşitli fonksiyonel monomerlerin polimerizasyonunda etkili olmasının yanı sıra en önemli özelliği metal içermemesidir. Bu sayede saflaştırma yapılmadan renksiz ve kokusuz polimerler elde edilir [12].

Bu polimerizasyonda başlatıcı olarak kullanılan nitroksitin (TEMPO) kendisiyle ve zinciri büyüten monomerle veya başka herhangi bir bileşen ile yan reaksiyon vermemesi büyük bir avantaj sağlamaktadır. Ancak, TEMPO’nun 25-70 saat sürebilen ve 125-145 °C gibi yüksek sıcaklıktaki aktivasyonu ile sınırlı sayıda monomerin

olması gibi dezavantajları da bulunmaktadır [13]. TEMPO'nun yüksek sıcaklık etkisiyle kopan uç grubunun büyüyen zincirin sonuna tekrar eklenmesiyle aktifleşen, pasifleşen ve tekrar aktifleşen zincir ucunun polimerleşme kontrolü sağlanır. Sonunda nitroksit radikali kovalent olarak bağlanarak polimer sonlanır, uç grupta nitroksit olur ve bu da sisteme yaşayan özellik katar [14]. Şekil 2.2'de genel NMP mekanizması gösterilmiştir [15].

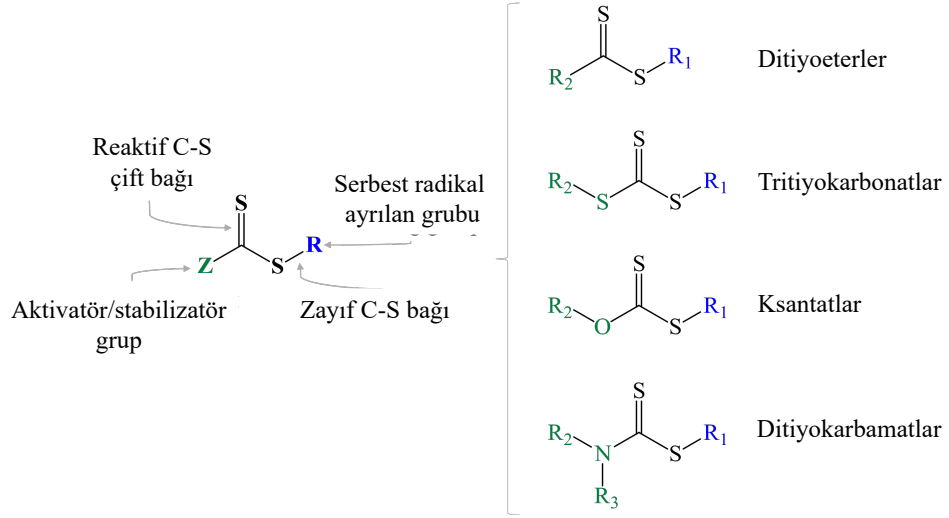


Şekil 2.2 : NMP için genel mekanizma.

Monomer seçimini genişletme çabasıyla Hawker ve ark. 1999 yılında birçok deneme yapmış, yeni tip nitroksitler ((N-terbütil-N-(1-dietilfosfeno-2,2 dimetilpropil)-N-oksil (DEPN), 2,2,5,5-tetrametil-4-fenil-3-azaheksan-3-oksil (TIPNO) ve N-tert-bütil-(1-tert-bütil-2-etilsülfinil) propil nitroksit (BESN)) kullanarak çok yüksek sıcaklıklarda polimerleştirilen monomerlerin (stiren, akrilatlar, akrilonitril ve izopren gibi) sınırlamalarının üstesinden gelmeye katkı sağlamış ve polimerizasyon kontrolünü önemli ölçüde geliştirmiştir [16-19].

2.1.3.3 Tersinir katılma-ayrılma zincir transfer polimerizasyonu (RAFT)

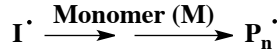
İlk olarak farklı zincir transfer ajanı (ZTA) kullanan iki farklı grup tarafından ortaya konulmuş ve Ksantatların Yer Değiştirmesi ile Makromoleküler Tasarım (MADEX) olarak adlandırılmıştır [20, 21]. RAFT mekanizmasında, sübstitüye bir monomerin geleneksel serbest radikal polimerizasyonu, uygun bir ZTA varlığında gerçekleşir. Aynı zamanda RAFT ajanı olarak da adlandırılan ZTA, Şekil 2.3'te gösterildiği gibi R ve Z sübstitüye gruplarını içeren tiyokarboniltiyo (S=C-S) yapısından oluşmaktadır. Z grubuna bağlı olarak, diğerlerinin yanı sıra, ditiyoesterler, tritiyokarbonatlar, ksantatlar ve ditiyokarbamatlar dahil olmak üzere çok çeşitli ZTA'lar kullanılabilir [20].



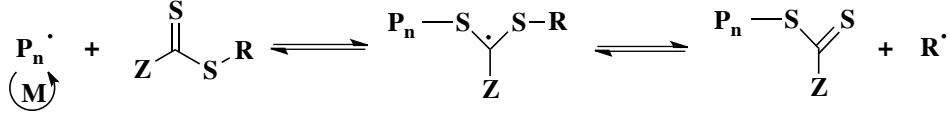
Şekil 2.3 : Farklı RAFT ajanları türleri: ditiyoesterler, tritiyokarbonatlar, ksantatlar ve diyiokarbamatlar.

ATRP ve NMP gibi diğer kontrollü radikal polimerizasyon tekniklerinin aksine, RAFT geri dönüşümlü zincir transferi prensibine dayanmaktadır. RAFT'da, birincil radikaller, Şekil 2.4'te gösterildiği gibi, serbest radikal ile bir başlatıcının ayrışmasından oluşur. İkinci aşamada (aynı zamanda denge öncesi olarak da adlandırılan geri dönüşümlü zincir transferi), zayıf bir kovalent bağından dolayı birincil radikalın zincir transfer ajanının tiyokarboniltiyo grubuna eklenmesiyle bir ara radikal oluşur. Bu ara radikal karşı tarafta parçalanabilir, geçici olarak devre dışı bırakılmış bir polimerik RAFT ajanı ve yeni bir aktif radikal üretebilir. Bu radikal, polimerizasyonu yeniden başlatabilir ve bir ZTA molekülü ile karşılaşarak tekrar uykuya girene kadar monomer birimleri ekleyerek yayılan yeni radikaller oluşturabilir. İlerleme radikalleri ile ana ara radikal arasındaki bu ilave parçalanma dengesinde, RAFT ana dengesi oluşur ve aktif ve uykuda olan türleri sürekli olarak oluşturur. Tersinmez sonlanma, birleşme veya orantısız sonlanma ile herhangi bir noktada gerçekleşebilir. Bununla birlikte, aktif radikal miktarını en aza indirmek ve sonlandırmayı azaltmak için, RAFT polimerizasyonları genellikle yüksek [RAFT]/[başlatıcı] oranlar kullanılarak gerçekleştirilir.

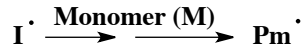
1. Başlatıcı



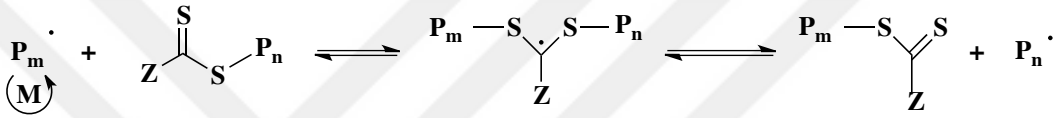
2. Zincir Transferi



3. Yeniden başlama



4. Zincir Eşitliği



5. Sonlanma



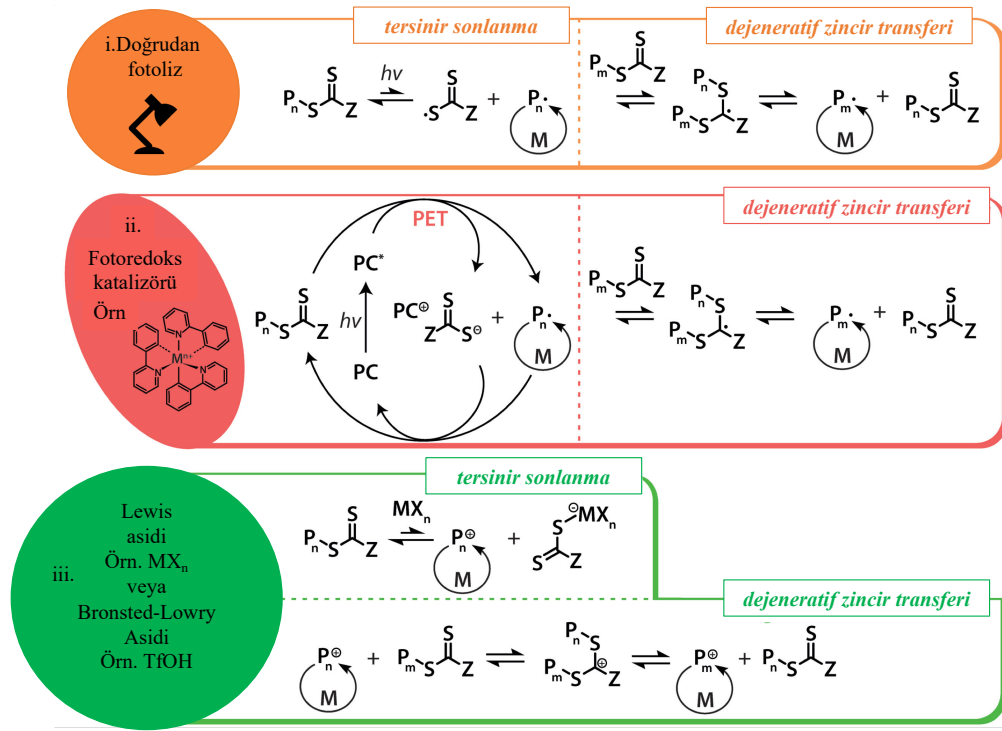
Şekil 2.4 : RAFT polimerizasyonu için genel mekanizma.

Son ürünün saflaştırılmasının yanı sıra, RAFT ajanının sentezi için çok aşamalı bir prosedür gerekliliği gibi RAFT tekniğinin bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Ayrıca, RAFT ajanları uzun bir süre sonra kararsız hale gelebilir, bazı uygulamalar için istenmeyen kükürt mevcudiyetinden dolayı güçlü renklere ve kokuya sahip olabilir ve bu durum, tritiyokarbonatla sonlandırma ile ilgili bazı toksisitelere sahip olabilir. Bu durum özellikle biyomedikal uygulamalar açısından sorun teşkil edebilir. Bazı ekstra kimyasal ve fiziksel saflaştırma adımlarıyla, bu dezavantajların üstesinden gelinebilir.

Bu küçük dezavantajlara rağmen, RAFT sayısız avantajı nedeniyle en önemli yöntemlerden biri haline gelmiştir. Çeşitli polimer mimarilerinin kontrollü sentezi için çok yönlü bir tekniktir, ılıman sıcaklıklar gibi ılımlı koşullar altında çalışabilir ve geleneksel radikal polimerizasyonuna kıyasla, oksijen ve diğer safsızlıkların varlığına daha az duyarlıdır. RAFT, pek çok monomer için uygundur ve su dahil olmak üzere çeşitli çözücülerde gerçekleştirilebilir [22]. Bununla birlikte, RAFT

polimerizasyonunun sulu dağılmış ortamda doğrudan kullanılması bazı rahatsızlıklara neden olur, ancak bazı özel önlemler alındığında kolayca üstesinden gelinebilir [23].

Genel olarak, geleneksel bir RAFT işlemi, bir radikal kaynak olarak termal başlatıcı ve bir RAFT ajanı olarak tiyokarboniltiyolo bileşiği kullanmaktadır. Termal dekompozisyon ile başlatılan sistemlerde gözlenen yan reaksiyonlar, monomerin kendiliğinden başlatılmış polimerizasyonu ve tersinmez zincir başlatma sistemi gibi dezavantajlar bazı özel koşullardaki polimerizasyonu sınırlandırmaktadır. Son zamanlarda, geleneksel RAFT polimerizasyonunu optimize etmek için başka yollarla (örneğin, foto, metal, enzim, redoks ve asit) ve bazı özel RAFT işlemleriyle indüklenen yeni radikal üretim stratejileri rapor edilmiştir.



Şekil 2.5 : RAFT polimerizasyonu için kullanılan yeni yöntemler [24].

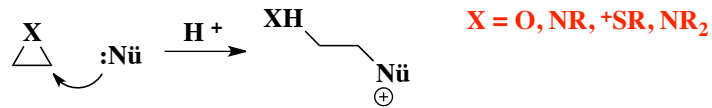
2.2 Click Kimyası

'Click' Kimyası, güçlü bir birleştirme özelliğine sahip umut verici ve popüler bir yöntemdir. Gerçekleştirilmesi oldukça kolay ve yüksek verimle sonuçlanan reaksiyonlardır. Suya ve oksijene karşı duyarsızdır [25]. Çeşitli yapılar bu yöntemle basitçe bir araya getirilebilmiştir. Bu yöntem mevcut yöntemlerin yerini almaz, tam tersine onları tamamlar, geliştirir ve birçok kimyasal teknikle birlikte iyi çalışır [26].

Ligantların polimerlerin ana veya yan zincirlerine kolaylıkla konumlandırılmasını sağlar ve fonksiyonel ligantlara sahip polimerlerin reaksiyonlarda kullanımını hızlandırır. Polimer yüzeyinde ve içindeki fonksiyonel ligantlara bu basit yöntemle erişilebilir [27].

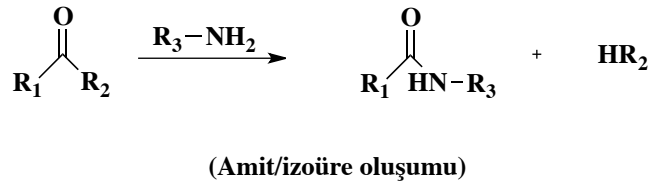
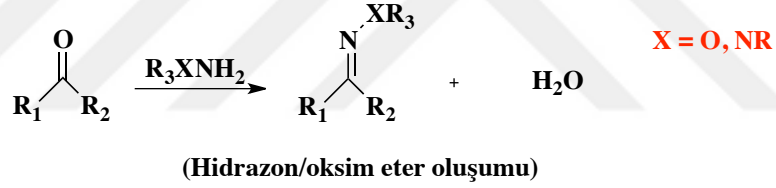
‘Click’ kimyası kendi içinde de;

- Nükleofilik halka açma reaksiyonları, epoksitler, aziridinler, siklik sülfatlar, siklik sülfamidler gibi heterosiklik elektrofiller [26],



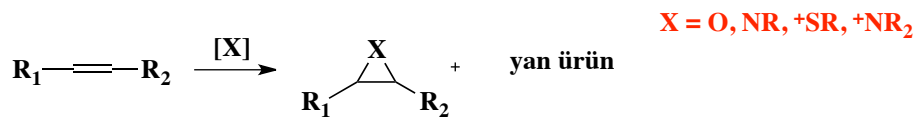
Şekil 2.6 : Nükleofilik halka açma reaksiyonları.

- Non-aldol karbonil kimyası, düşük termodinamik itme nedeniyle uzun reaksiyon süresi ve yan ürün verseler de bu kategoride sayılabilen üre, oksim eterleri, amidler ve heterosiklikler [26],



Şekil 2.7 : Non-aldol karbonil kimyası.

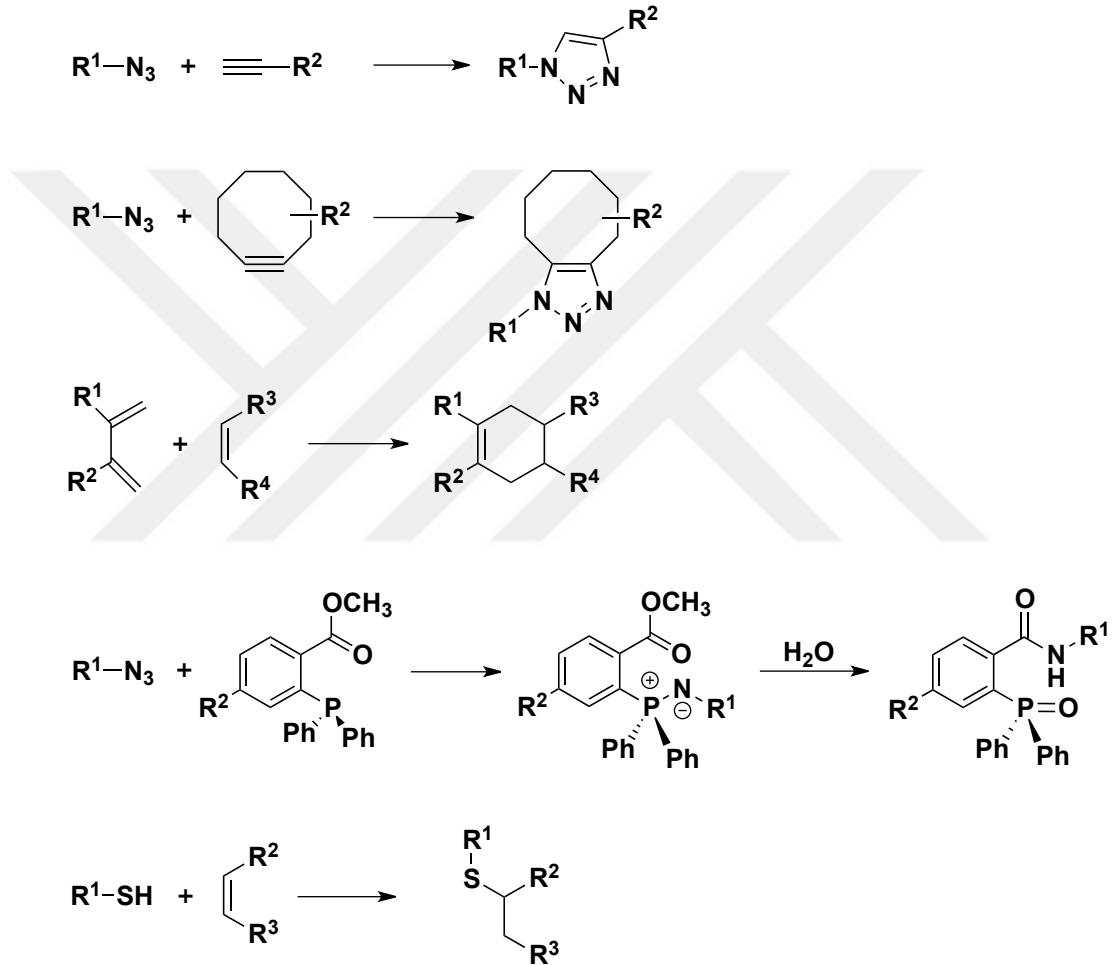
- Karbon-karbon bağları arasına ilave edilen, epoksidasyon [28], dihidroksilasyon [29], nitroksil ve sülfenil halejenürleri gibi [30] oksidasyon reaksiyonları,



Şekil 2.8 : Karbon-karbon bağları arasına ilave edilen oksidasyon reaksiyonları.

- Siklokatılmalar, öncelikle tercih edilenleri 1,3-dipolar ve hetero Diels-Alder siklokatılmaları vb. [25]

gibi başlıklar altında tanımlanarak sınıflandırılmıştır. Gerçekleştirilmesi kolay olan, yüksek verime sahip, ön koşul gerektirmeden birçok farklı yapıların birleştirilebildiği, saflaştırmanın minimum düzeyde ya da hiç gerektirmeyen adımlarının olduğu güçlü reaksiyonlar grubunu kapsar [31]. Şekil 2.9'da 'click' kimyasında kullanılan katılma reaksiyonları gösterilmiştir [32].



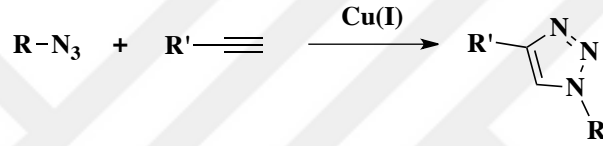
Şekil 2.9 : 'Click' kimyasında kullanılan siklokatılma reaksiyonları.

2.2.1 Huisgen 1,3-dipolar siklokatılma

Azid ve alkinler 1,3-dipolar siklokatılmasıyla Huisgen'in triazollerini oluşturur. Bu yöntem 'click' reaksiyonlarının önemli bir örneğidir [33, 34]. Reaksiyon oluşumu kolay ve güvenlidir. 'Click' reaksiyonları tipik olarak sıcaklık artışı gerektirmeyen, 0-160°C arasında farklı sıcaklıklarda, su da dahil birçok farklı çözücülerde ve 5-12 arasında farklı pH değerlerinde gerçekleşebilir [35-37]. Azid ve alkinlerin

birleştirilmesi de oldukça kolaydır ve standart koşullarda stabildirler [25, 38]. Oksijeni, suyu, pH'ları, organik sentez koşullarını, biyolojik molekülleri ve canlı sistemlerde var olan reaksiyon koşullarını tolere edebilirler [25, 31, 38]. Buna ek olarak sterik etkenlerden etkilenmez. Bu özelliklere bakıldığında onu diğer 'click' reaksiyonlarına göre oldukça popüler hale getirir [25, 38].

Huisgen'in 1,3-dipolar siklokatılması, azit ve alkinin katılmasını (Şekil 2.10) arttırmak için geçiş metali olan bakır (Cu(I)) katalizörünün kullanılması en yaygın türdür [35]. Aslında bakırın keşfi sayesinde alkinler ve azitler hem verimli hem de düzenli Şekilde birleşebilir, ılımlı koşullar altında 1,2,3-triazolleri oluşturabilirler [39]. Bu haliyle niceleyici verimleri, ılımlı reaksiyon koşulu ve fonksiyonel grup toleransının geniş olması nedeniyle polimer sentezi için de uygundur [40].

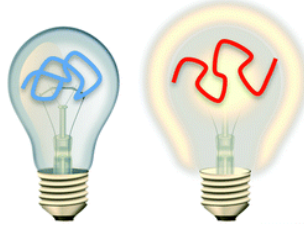


Şekil 2.10 : Azit ve alkinlerin 1,3-dipolar siklokatılması.

2.3 Işığa Duyarlı Polimerler

Farklı uyarılara cevap verebilen polimerler, araştırmacılar tarafından yoğun olarak üzerinde durulan bir çalışma konusudur. Bu polimerler, onları çevreleyen ortamda maruz bırakıldıkları değişik uyarılara karşı tepkisel olarak gösterdikleri davranışlar, uyarana bağlı polimerde değişikliğe sebep olur [41]. Tanım olarak uyarılara cevap veren polimerler sıcaklık, pH, redoks, iyonik kuvvet, işık vb. bir fiziksel uyarın kimyasalına maruz kaldığında fiziksel ve kimyasal özelliklerinde keskin bir değişiklik gösterebilen malzemelerdir.

Mevcut tüm uyarınlar arasında işık, son zamanlarda oldukça dikkat çekmektedir. Bunun sebebi ise işık uyarınının zaman ve uzayda lokalize olabilmesi ve sistemin dışarıdan da tetiklenebilmesidir (Şekil 2.11) [41]. Ayrıca, söz konusu fotokimyasal işlemlerin çoğu ek reaktif gerektirmez ve çoğu durumda yan ürünler sınırlıdır. Işık Őiddeti, dalga boyu ve işınlama süresi gibi işınlama parametreleri, sisteme uygun Şekilde kolayca ayarlanabilir.



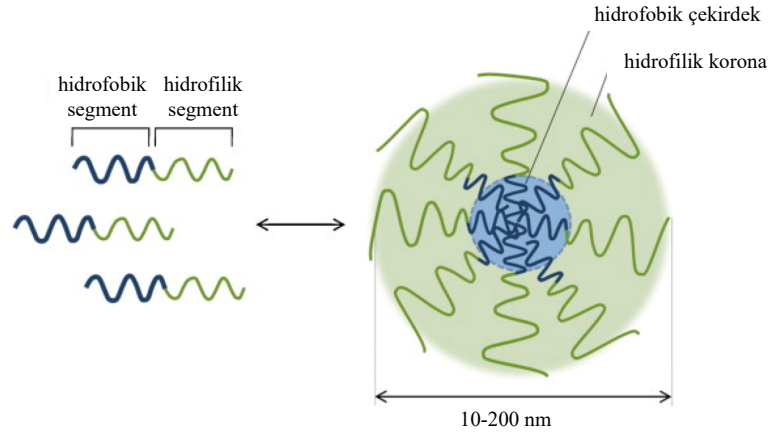
Şekil 2.11 : Işığa duyarlı polimerler [41].

Floresans, molekülün elektron bazında uyarılmış durumundan salınan fotondur. Temel durumundaki normal bir molekül, belli dalga boyunda bir UV ile aydınlatıldığında uyarılmış hale geçer. Molekül foton tarafından uyarılırsa, temel durumundaki elektronlardan biri yüksek enerjili boş yörüngeye geçer ve oluşan yeni durum uyarılmış hal olarak adlandırılır. Belli dalga boyunda UV ile uyarılan ışığa duyarlı polimerlerin, kimyasal yapısında değişiklik meydana getirebilmekte ve farklı kullanım alanları açısından onları cazip hale getirmektedir. Malzeme biliminde, hedeflenen uygulamalar polimer sentezini büyük ölçüde etkilemektedir. Tersine çevrilebilir şekilde, polimerin yapısı, konumu ve mimarisi, hangi uygulama türünün hedef alınabileceğini ayırt eder. Bu nedenle, uyaranlara duyarlı polimerleri doğru bir şekilde tasarlamak için hangi tip malzeme özelliklerinin istendiğini tam olarak bilmek çok önemlidir. Işığa duyarlı polimerler söz konusu olduğunda, polimer ne tür ışığa duyarlı kısımların sokulduğunu ve bu kısımların bir ışık ışımaya karşı tepkisinin ne olduğunu bilmek çok önemlidir. Fotokimyasal reaksiyonun doğası bu nedenle ışığa duyarlı malzemelerin rasyonel tasarımı için anahtar parametredir.

Işığa duyarlı polimerlerin geniş alandaki gelişiminin temel sebeplerinden biri biyomedikal alanlardaki potansiyel uygulamalarıdır [42]. Bu uygulamalar arasında ışığa duyarlı polimerik miseller dikkat çekmektedir ve bu tez konusunu içermekte olduğundan daha çok bu alanla ilgili bilgi verilmeye çalışılacaktır.

2.3.1 Işığa duyarlı polimerik miseller

Miseller, kendi kendilerine bir araya gelebilen amfifilik moleküller ya da yüzey aktif maddelerden oluşan 10-200 nm arası boylarda kolloidal parçacıklardır. Polimerik miseller, hidrofilik ve hidrofobik birimler içeren blok kopolimerlerden oluşur (Şekil 2.12). Farklı metodlarla oluşturulabilmektedirler. Miselin oluşabilmesi için ortamdaki polimerlerin belli bir konsantrasyonda yeteri kadar oluşması ve bir araya gelmesi gerekir. Bu konsantrasyona kritik misel konsantrasyonu denir.



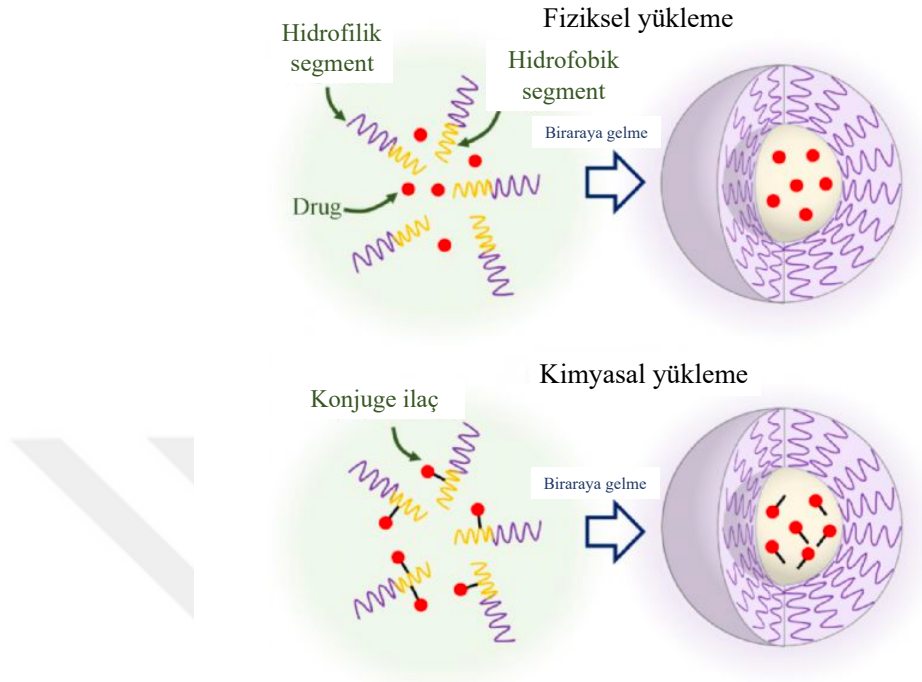
Şekil 2.12 : Polimerik misel oluşumu.

İdeal miseller, yüksek ilaç yükleme yeteneği, kontrollü salım, biyouyumluluk ve kararlı özellik göstermelidir. Hidrofobik ilaçlar miselin hidrofobik kısmında yer alabildiği gibi doğrudan polimere de bağlı olabilmektedir (Şekil 2.13). Misellerin fizikokimyasal özellikleri hidrofilik ve hidrofobik blokların boylarına ve özelliklerine dayanmaktadır. Bu bloklar farklı molekül ağırlığında ve hidrofilik-lipofilik dengede sentezlenebilmektedir. Kopolimerlerin farklı fizikokimyasal özellikleri, blokların kopolimer içindeki farklı molar oranları ile kontrol edilir. Misellerin fizikokimyasal özellikleri ve madde taşıyıcı olarak uygunlukları kopolimeri oluşturan blokların çeşitliliğine bağlıdır.

Genel olarak hidrofilik kısım için en çok kullanılan PEG, hidratlanmış yapısı ve retiküloendotelyal sistem (RES) tarafından korunup maskeleyici etki sağlamaktadır [43].

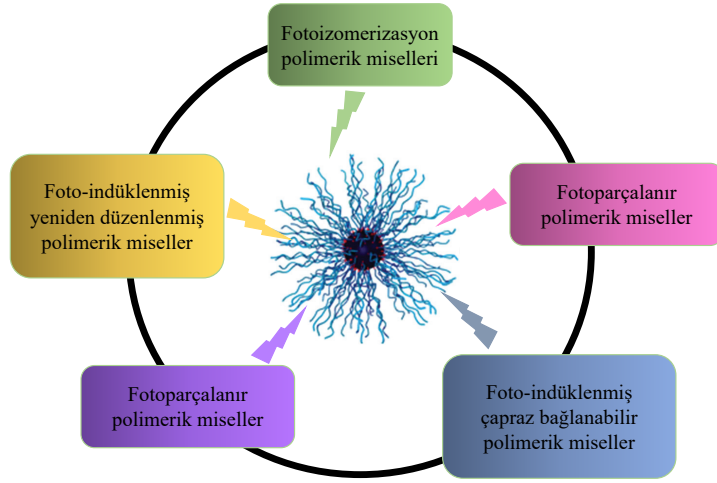
Işığa duyarlı polimerik miseller, ışığa duyarlı gruplar içeren polimerler ile oluşturulmaktadır. Işığa duyarlı grubun tipine ve buna göre oluşan miselerde bulunduğu yere bağlı olarak farklı ışığa duyarlı misel tipleri tasarlanabilmektedir. Örneğin, ışığa duyarlı kısımlar, genellikle misel çekirdeğine dahil edilmiş olmalarına rağmen, prensip olarak misel çekirdeğine, koronaya ya da çekirdek-korona arayüzüne sokulabilmektedir. Işık uygulandığında geri dönüşümlü veya geri dönüşsüz bir şekilde yanıt verebilirler. Geri dönüşü olmayan bir cevap durumunda, foto ayrılabilir birimlerin bloklardan birinin ana zincirine dahil edilmesi daha sonra belirli bir misel

bölmesinin seçici bozulmasına neden olmaktadır. Ek olarak misellerin seçilmiş bölümlerinin çapraz bağlanmasında kullanılabilirler [44].



Şekil 2.13 : Polimerik misellerde fiziksel ve kimyasal ilaç yükleme [45].

Foto-tepkime mekanizmalarının farklılıkları ve ışığın her bir tepkiye cevap veren grup üzerindeki etkisi göz önüne alındığında, tepkime veren foto-polimer miselleri beş türe ayırmak mümkündür (Şekil 2.14): (1) fotoizomerizasyon polimerik miselleri, (2) foto-indüklenmiş yeniden düzenlenmiş polimerik miseller, (3) fotoparçalanır polimerik miseller, (4) foto-indüklenmiş çapraz bağlanabilir polimerik miseller ve (5) foto-indüklenmiş enerji dönüşüm polimerik miselleri [42].



Şekil 2.14 : Işığa duyarlı polimerik miseller [42].

Görünüşe göre, ışığa duyarlı polimerik miseller, yalnızca ışığa duyarlı grupların tiplerinde değil, aynı zamanda ışığa duyarlı polimerik misellerin büyüleyici özelliklerinde de farklı bir araştırma alanıdır.

2.3.2 Işığa duyarlı gruplar

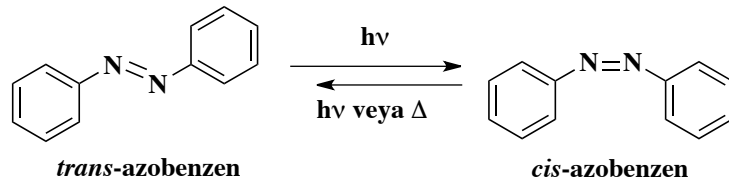
Işığa duyarlı polimerik miseller tipik olarak, fonksiyonel bir fotokromik kromofor ile bir amfifilik blok kopolimerin kendiliğinden bir araya gelmesi yoluyla oluşturulur (Tablo 2.1). Optik sinyal ilk önce fotokromik moleküller tarafından yakalanır. Daha sonra, fotoreseptördeki kromoforlar, foto ışınlamayı izomerizasyon, yeniden düzenleme, ayrılma, dimerizasyon ve enerji dönüşümü gibi bir foto reaksiyon yoluyla kimyasal bir sinyale dönüştürür. Kimyasal sinyal, misellerin işlevsel kısmına aktarılarak özelliklerinin kontrolü sağlanır. Kromoforların foto ışınlama üzerine değişimi kuvvetle moleküler yapılarına ve değişken ışık kaynaklarına bağlıdır.

Tablo 2.1 : Işığa duyarlı grupların tipik örnekleri ve ışığa duyarlı polimerik misellerin karşılık gelen özellikleri [42].

Işığa duyarlı grup	Tersinirlik	Işığın etkisi
Azobenzen	Fotoizomerizasyon	Evet
Spiropiran	Fotoizomerizasyon	Evet
Ditiyeniletan	Fotoizomerizasyon	Evet
2-Diazo-1,2-naftokinon	Foto-indüklenmiş yeniden düzenlenme	Hayır
<i>o</i> -Nitrobenzil ester	Fotoparçalanma	Hayır
Kumarinil ester	Fotoparçalanma	Hayır
Pirenilmetil ester	Fotoparçalanma	Hayır
Sinnamik asit	Foto-indüklenmiş çapraz bağlanma	Evet
Sinnamik ester	Foto-indüklenmiş çapraz bağlanma	Hayır
Kumarin	Foto-indüklenmiş çapraz bağlanma	Evet

2.3.2.1 Azobenzen

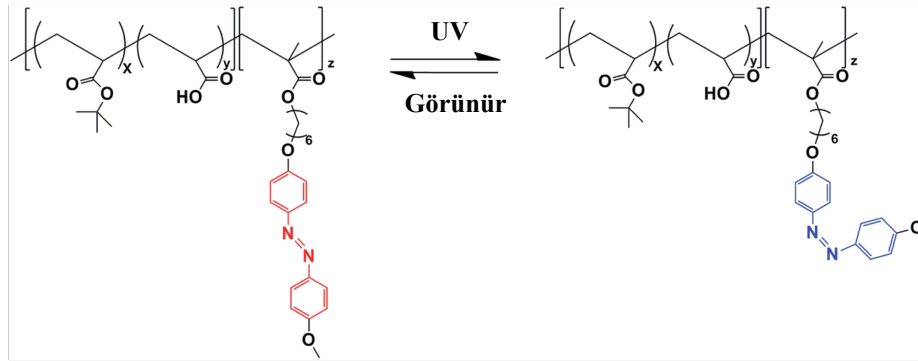
Azobenzen (AZO) ve türevlerinin konformasyonu (340-380 nm) sonucunda apolar trans formundan polar cis formuna değişir, ancak bu işlem 420-490 nm'de bir sonraki aydınlatmaya maruz kaldığında veya karanlıkta hareket ettiğinde yeniden düzenlenir (Şekil 2.15). Trans-AZO formu (dipol moment, $\mu=0D$) cis-AZO formundan ($\mu=3D$) daha az polardır ve daha hidrofobiktir. Bu da AZO içeren polimerik misellerin kendiliğinden bir araya gelmesine ve bozulmasına tersinir bir şekilde sebep olur.



Şekil 2.15 : Azobenzen izomerizasyonu.

Bu fenomene dayanarak, Zhao ve arkadaşları, ultraviyole (UV) ışık ile parçalan ve görünür ışıkla aydınlatıldığında kendini yeniden düzenleyen bir fotoizomerizasyon polimerik misel sistemi oluşturmuşlardır [46]. Bu sistem, hidrofilik bir blok ve yan zincir grupları olarak AZO'ları taşıyan hidrofobik bir bloktan oluşan bir amfifilik diblok kopolimerine dayanmaktadır (Şekil 2.16). Bu amfifilik kopolimerin dioksan-su karışımında kendiliğinden bir araya gelmesiyle küresel miseller oluşmaktadır. UV ışık

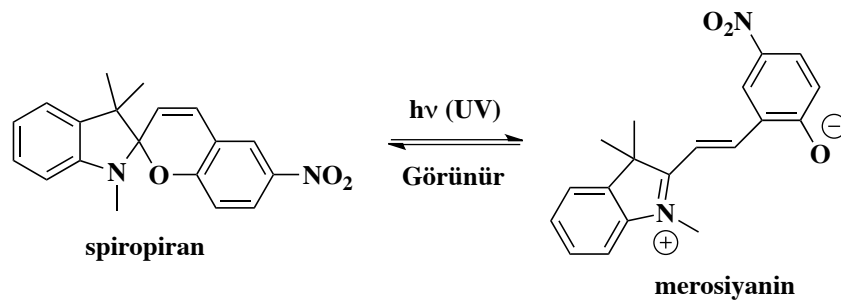
altında, yan zincir AZO grupları apolar trans formundan polar cis formuna izomerize edilir, bu da misel agregatlarının bozulmasına neden olur. Bununla birlikte, görünür ışık uygulandığında, AZO grupları tekrar trans forma dönüşür ve polimerik miseller çoğalır. Açıkça, UV ve görünür ışık ile değişen ışınlama üzerine, misel bozulması ve oluşumu, AZO içeren kopolimerlerde hidrofiliklik-hidrofobiklik dengesinin ayarlanmasıyla tersine çevrilebilmektedir.



Şekil 2.16 : Tersinir ışık kaynaklı bozulma ve sulu misellerin oluşumu için kullanılan AZO gruplarını taşıyan temsili amfifilik kopolimerler [46].

2.3.2.2 Spiropiran

Spiropiran (SP) da görünür ışık (620 nm) altında, hidrofilik zwitteriyonik merosiyanin formundan (açık form olarak adlandırılır) hidrofobik spiropiran formuna (kapalı form olarak) tersinir bir izomerizasyona uğrayan umut verici bir fotoizomerizasyon grubudur (Şekil 2.17). Tersinir prosesi UV ışık (365 nm) tarafından tetiklenir.



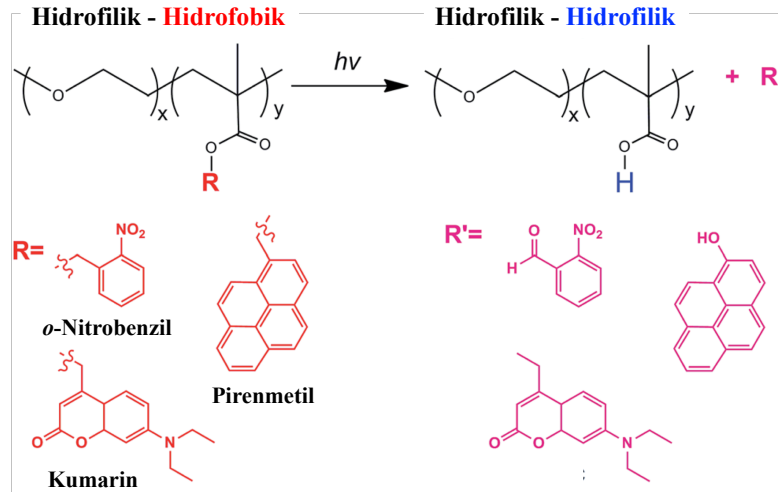
Şekil 2.17 : Spiropiranın izomerizasyonu.

SP içeren polimerler, algılama, görüntüleme ve ilaç taşıma gibi çeşitli biyomedikal uygulamalar için geniş çapta çalışılmıştır. AZO gruplarına kıyasla, SP birimlerinin blok kopolimer misellere dahil edilmesi, hidrofobik SP birimleri ve hidrofilik

zwitteriyonik merosiyanin birimleri arasındaki polarite farkı daha büyük olduğu için, geliştirilmiş ışık duyarlılığına sahip ters misellere yol açar [46].

2.3.2.3 *o*-Nitrobenzen

Fotokromik *o*-nitrobenzil (NB) içeren kopolimerlerde meydana gelen foto parçalanma reaksiyonunun, ışığa duyarlı polimerik misellerin oluşturulması için etkili yöntem olduğu bulunmuştur. Fotoparçalanır gruplar, yan zincirde, ana zincirde veya kopolimer bloklarının birleştiği noktada bulunabilir. NB içeren polimerler kapsamlı bir şekilde incelenmiştir, çünkü NB ve türevleri uygun bir şekilde temin edilebilir veya laboratuvar da sentezlenmesi kolaydır. Ayrıca, NB'nin fotoliz işlemi, bir foton UV ışığı ve/veya iki foton NIR ışığı ile tetiklenebilmektedir. Son zamanlarda, amfifilik NB yan zincir kopolimerlerini incelemek için daha fazla çaba gösterilmiştir. Bir çalışmada, hidrofilik PEO bloğu ile fotoparçalanır gruplar içeren polimetakrilat (PMA) bloğunu içeren polimerler sentezlenmiştir (Şekil 2.18) [44].

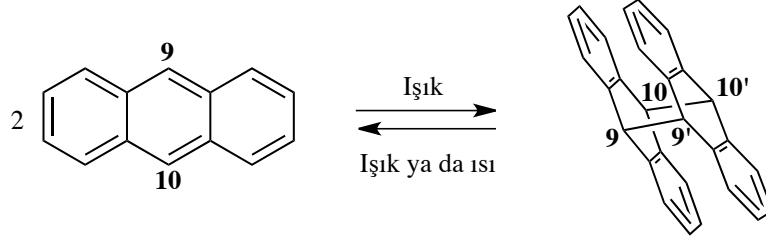


Şekil 2.18 : Sulu misellerin tersinmez olarak bozulması için fotoparçalanır grupların kullanıldığı örnek bir gösterim [44].

2.3.2.4 Antrasen

Bilinen en eski fotodimerizasyon veren bileşiklerden biri antrasendir. Antrasenin üçlü duruma veya yarı-radikal polimerizasyona maruziyeti iyi bilinir. Antrasen molekülleri UV radyasyon etkisi altında veya ısıtıldığında 9 ve 10'uncu karbonlardan bağlanan birimler içeren polikonjuge sistemler oluşur. Şekil 2.19'da antrasenin ışıkla dimerleşmesi gösterilmiştir [47]. Antrasenlerde fotokatılma işlemi, konjuge sistemin

indirgenmesi ile sonuçlandığından, fotodimerler UV spektrumlarında 300 nm'den büyük dalga boyunu absorblayamazlar. Absorpsiyon spektrumları arasındaki bu değişimle, kinetik çalışmalar için büyük avantaj sağlar [48].

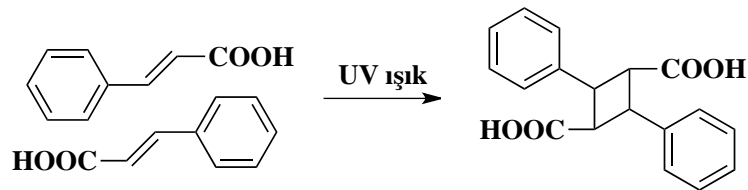


Şekil 2.19 : Antrasenin klasik fotodimerizasyon mekanizması.

Bağlı antrasenler, bağlı olmayan sistemlerle önemli benzerlikler göstermektedirler. Antrasen türevlerinin çoğunun yüksek konsantrasyonda fotodimerize olduğu gözlenmiştir [49].

2.3.2.5 Sinnamik asit

Katı hal olarak en çok çalışılan moleküllerden biri olan sinnamik asit UV ışığı etkisiyle dimerleşen moleküllerdendir. Bu molekül geri dönüşümü olmayan katı hal fotokimyasal reaksiyonu vermektedir [50-56]. Sinnamik asit, UV ($\lambda > 260$ nm) ile aydınlatıldığında, yüksek sıcaklıkta ve çeşitli UV dalga boylarında kararlı olan truksillik asite dönüşür (Şekil 2.20) [57]. Bununla birlikte, truksillik asit siklobütan halkası, derin UV ışığı altında ($\lambda < 260$ nm) fotoaktiftir ve orijinal sinnamik aside dönüşür.



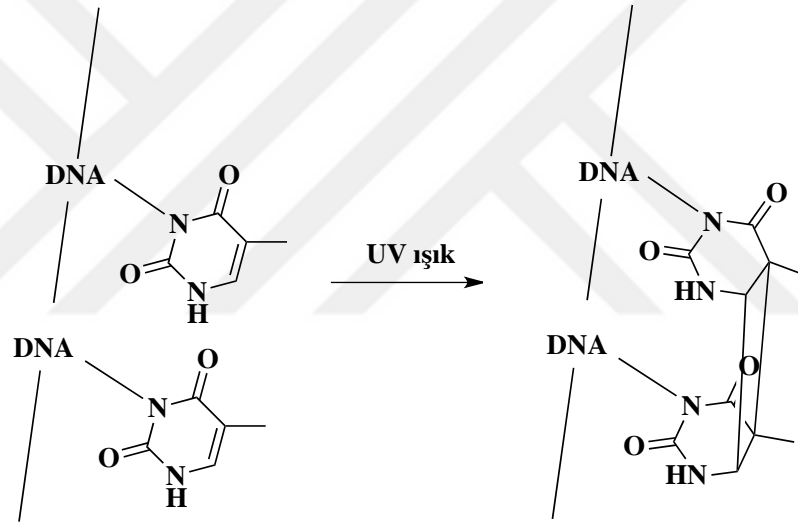
Şekil 2.20 : Sinnamik asitin dimerizasyonu.

Bu sistemi gösteren tipik bir örnek, poli(stiren)-blok-poli(2-sinamoiletıl metakrilat) (PS-b-PCEMA) polimerinin tetrahidrofuran-asetonitril (1/9, v/v) çözeltisinde kendiliğinden bir araya gelmesiyle oluşturduğu misellerdir. Fotoliz üzerine, PCEMA misel kabuğu çapraz bağlanmaktadır. Bu çalışmada, PCEMA kabuğuna rağmen,

CEMA dönüşümleri % 40'dan az olan intermisel füzyon derecesinin düşük olduğu tespit edilmiştir. % 10'dan daha fazla CEMA dönüşümüne sahip misel yapılarının, THF ve toluen içerisinde dağılabildiği ve yapısal olarak kararlı olduğu belirlenmiştir [58].

2.3.2.6 Timin

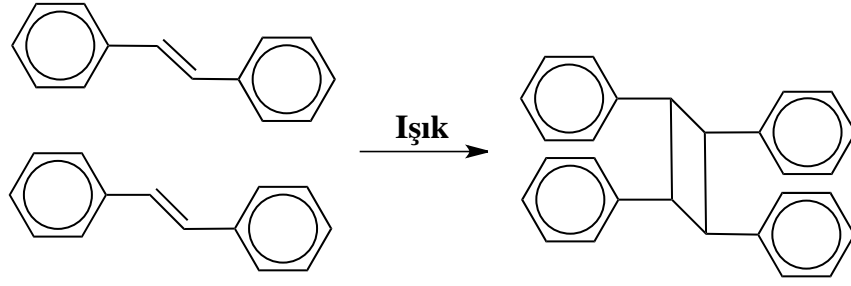
Pirimidinlerin dimerleri, UV ışığını emerek çok rahat üretilen foto ürünlerdir [59]. Fotokimyasal reaksiyonlar ile doğal olarak DNA molekülünde bulunan timinin dimerleşmesini göstermek için yapılan deneysel çalışmalar bulunmaktadır [60, 61]. Timinler nükleotid zincirlerine bağlıyken cis yapısını oluşturacak şekilde dimerleşebilirler (Şekil 2.21) [62]. Bu oluşan fotodimerleşmeyle hücredeki replikatif fonksiyon kaybolabilmektedir [63].



Şekil 2.21 : DNA zincirindeki timin bazının ışıkla dimerleşmesi.

2.3.2.7 Stilben

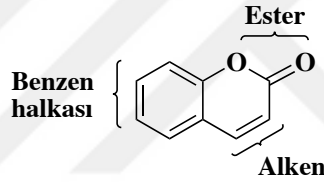
Stilbenlerin [2+2] fotodimerizasyonu, siklobütan türevlerinin ve polimerlerin sentezinde kullanıldığı gibi çapraz bağlanma içinde kullanılır [64, 65]. Bazı çalışmalarda stilbenlerin 340 nm UV ışığı altında fotodimerizasyonunun gerçekleştiği ve çift çapraz bağlandığı gösterilmiştir. (Şekil 2.22) [66].



Şekil 2.22 : Stilbenin ışıkla dimerizasyonu.

2.3.2.8 Kumarin

Genel olarak kumarinler benzopiron denilen geniş bir bileşik sınıfına aittir. Sadece bir halkanın başka bir benzen halkasıyla kaynaştığı iki altı üyeli halka ve halkanın içindeki bir alken ile ester fonksiyonel grubunu içeren diğer bir halkadan oluşmaktadır (Şekil 2.23).



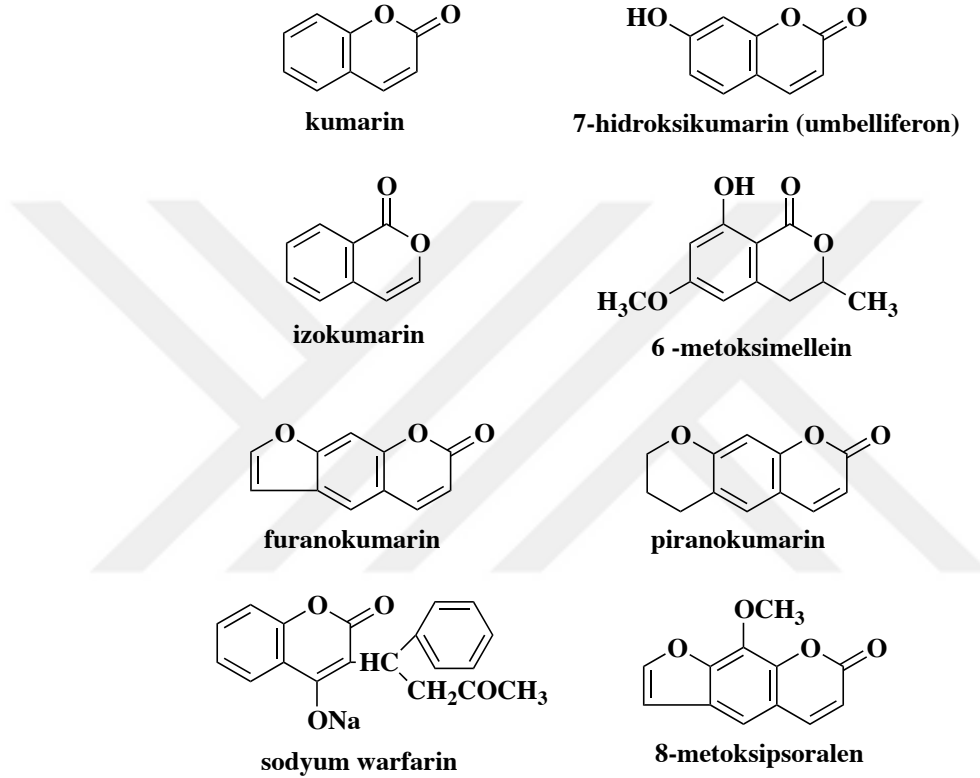
Şekil 2.23 : Klasik kumarin yapısı.

Kumarinler genel olarak farklı türevlere sahip olmakla birlikte, yaklaşık 146.15 molekül ağırlığına sahip, renksiz ve karakteristik kokuya sahip, yaklaşık 70°C'lik erime, 303°C'lik kaynama noktasına sahiptir [67].

Kumarinler doğada yaygın olarak özel bir fasulye çeşidinden izole edilmiştir ve bunun dışında da başka çeşitli bitkilerde bulunan bir çok türevleri mevcuttur [68]. Doğal olarak oluşan, kumadin, 7-hidroksikumarin (umbelliferon), 6,7-Dihidroksikumarin (aesculetin), 7-metoksikumarin (herniarin) gibi bazı kumarin türevleri bulunmaktadır [69].

Kumarin türevlerinin antitümör, merkezi sinir sistemi uyarıcısı, anti-inflamatuar, antibakteriyel, trigliserit düşürücü aktivite ve anti-HIV gibi terapötik pek çok etkisi bulunmaktadır. Bunun dışında tatlandırıcı olarak da kullanılırlar [70]. Kumarinler, spesifik sitokrom P-450 sistemi [71] tarafından faz II konjugasyonundan önce hidroksilasyon sonucunda metabolize edilirler [72, 73].

Çeşitli alanlarda kullanılan kumarin türevleri Şekil 2.24'te gösterilmiştir [74]. Dört tane ana kumarin alt türevi vardır. Ana bileşiği kumarin ve glikozitleri ile birlikte hidrosillenmiş, alkillenmiş ve alkoksillenmiş türevleri olan basit kumarinler, kumarin çekirdeğine bağlı furan halkasından oluşan furanokumarinler, altı üyeli bir halka içeren pironokumarinler ve piron halkası olan (4-hidroksisakarın) kumarin türevleridir. Kumarinler suda çözünmezler fakat yapısında 4-hidroksi bulunması hafif alkali koşullarda suda çözünür hale getiren zayıf da olsa asidik bir özellik kazandırır [75].



Şekil 2.24 : Farklı alanlarda kullanılan kumarin türevleri.

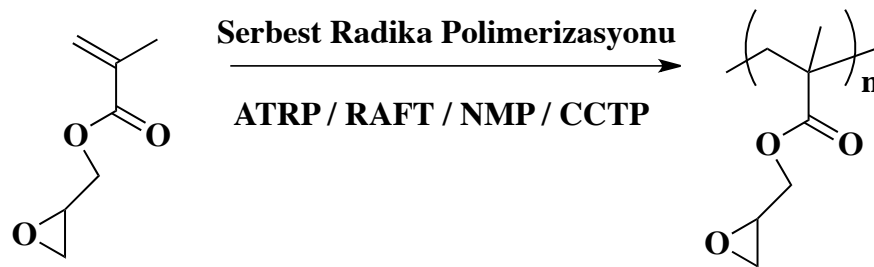
Kumarin grupları, polarite ve viskozite de dahil buldukları ortamda yüksek derecede hassas floresans özellik sergilerler. Bu da geniş alanlarda hassas floresan problemleri olarak kullanılmalarına olanak sağlar. Kumarin katkılı polimerlerin enerji transfer süreçleri incelenmiştir. Kumarin molekülünün polimerlere enerji aktarmasıyla polimerde kemilüminesansı kuvvetli şekilde arttırdığı belirlenmiştir [76].

Kumarin ve türevleri polimerik malzemeler tasarlanırken ışığa duyarlı olma özelliğinden dolayı yaygın olarak kullanılırlar [77]. Kumarinler polimer ince filmlerinin özelliklerini araştırmak için [78], sentezlenen bir kopolimerle birlikte ışığa duyarlı tek zincirli nanopartikül elde etmek için ve altınla birleştirilip nanoreaktör

poli(kumarin metakrilat) ve poli(metil metakrilat-ko-kumarin metakrilat) gibi çeşitli hidrofobik bloklar içeren amfifilik blok kopolimerler üretmişlerdir. Her iki durumda da kumarin gruplarının fotodimerizasyonu, miselleri 310 nm'nin üzerindeki dalga boylarında ışınlayarak tetiklenirken, 260 nm'nin altındaki dalga boylarında ışınlamada çapraz bağlanma meydana gelmiştir [83, 84].

2.4 Glisidil Metakrilat (GMA)

Glisidil metakrilat monomeri akrilik ve epoksi gruplarını bir arada bulunduran iki işlevselliği olan bir monomerdır. Bu özellikleri sayesinde sentezlenecek olan polimeri tasarlarken birçok esneklik sağlar. Bu farklı fonksiyonel grupların bulunması aynı zamanda boyutu, tekdüzeliği, polimer işlevselliği, morfolojisi ve çapraz bağlanmayı kontrol etmede bazı problemlere yol açabilmektedir [85, 86]. Polimerleşen glisidil metakrilat (PGMA) önemli bir mekanik mukavemete, asit baz direncine ve harika bir reaktiviteye sahiptir. Yapılan çalışmalarda poliglisisidil metakrilat molekülünde bulunan reaktif epoksi grubu ile amino grupları, karboksil grupları, hidroksil grupları veya sülfonik grupları gibi spesifik olan fonksiyonel grupları tanımlamak için tutucu alan olarak kullanılmıştır [87]. Katalizör taşıyıcı, sensör veya algılayıcı dedektör olarak, ilaç veya gen taşıyıcı olarak kullanımı gibi geniş uygulama alanları vardır. Bu uygulamalar sayesinde glisidil metakrilat ile homopolimer, kopolimer ve hibrit yapılar oluşturulur. Böylelikle bu yapıların farklı morfolijileri sayesinde miseller, nanotüpler, membranlar ve partiküller gibi farklı malzemeler elde edilmiştir. Neredeyse bütün polimerizasyon metodları kullanılarak üretilebilmeleri mümkündür [88].

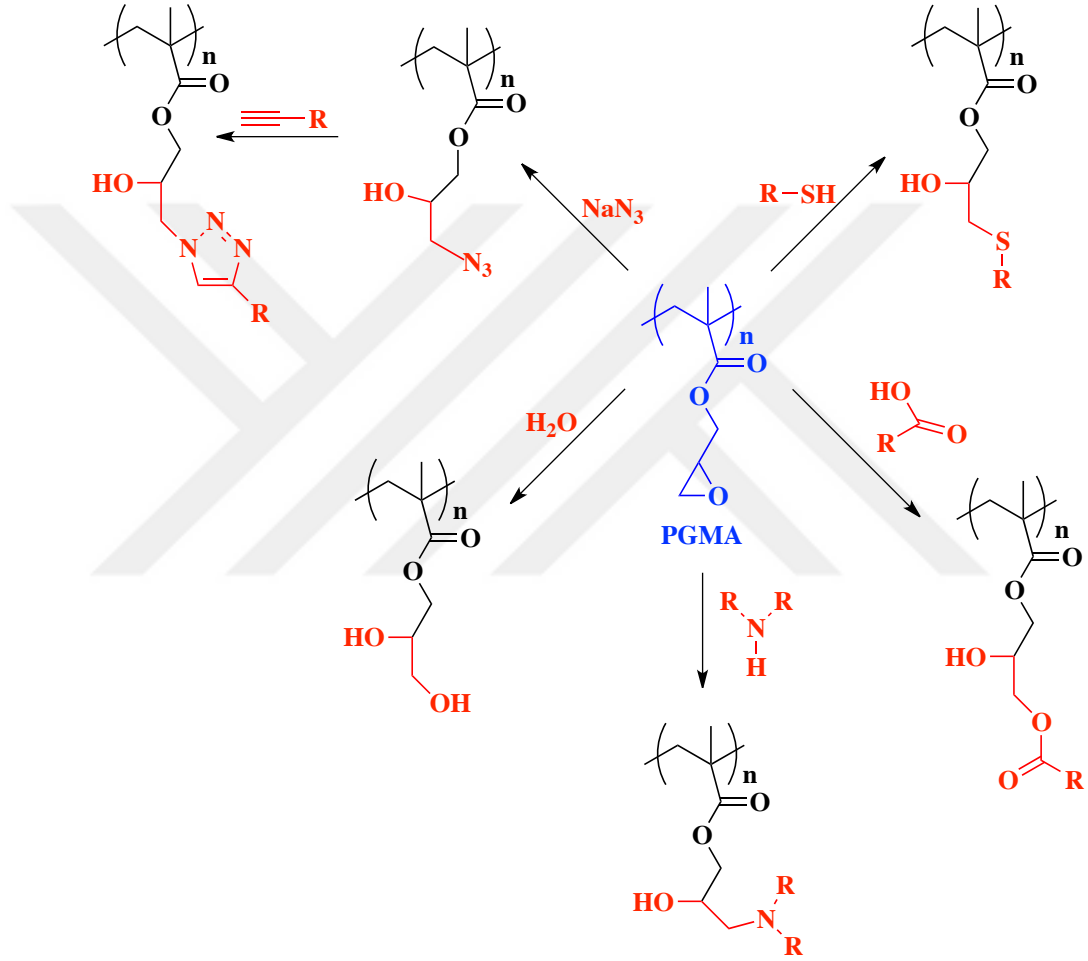


Şekil 2.26 : Poli(glisisidil metakrilat)'ın sentezi.

2.4.1 Glisidilmetakrilat stabilitesi

Glisidil metakrilat monomerinde bulunan epoksi halkası için bir asit katalizörü ya da güçlü nükleofil veya tipik bir baz katalizörü oluşturulup halka açma reaksiyonu doğal olarak gerçekleşir. Bu sayede uygulanan halka açma reaksiyonları sonrası belli ortam

koşulları altında stabil kalabilir hatta uzun süreler bozulma görülmeden çapraz bağlanma olmadan muhafaza edilebilir [89]. Bunun yanı sıra PGMA'dan fonksiyonlandırılmış polimerler elde etmek için epoksi yan zincirinin değişik koşullar altında halka açma reaksiyonu uygulanır. Glisidil metakrilatın bu harika yapısı kendisiyle sentezlenen polimerlerin pek çok şekilde fonksiyonlandırılmasına izin verir. Şekil 2.27'de GMA monomeri polimerleştirildikten sonra üzerinde yapılabilecek yapısal işlevselleştirmeler gösterilmiştir [90].



Şekil 2.27 : Poli(glisidil metakrilat)'ın modifikasyonu için kullanılan reaksiyonlar.

PGMA polimeri aminler, tiyoller, azitler, karboksilik asitler ve nükleofil olarak da su kullanarak modifiye edilebilir. Hangi yöntem kullanılırsa kullanılsın halka açıldıktan sonra reaktif bir -OH grubu oluşturur ve modifiye edilir. Hidroliz edildiğinde diol oluşur ve yüksek reaktivite nedeniyle seçici ve kolayca modifiye edilebilir bir grup halini alır.

2.4.2 PGMA'nın azitle fonksiyonlandırılması

Epoksit grupları, 50°C'de sodyum azit ve amonyum klorür varlığında açılmaktadır. Kullanılan amonyum klorür alkoksit anyonunu sönümlmek ve bir anyonik halka açılma polimerizasyonunun ilerlemesini durdurmak için kullanılır. Bu fonksiyonlandırma sonucunda PGMA, 'click' reaksiyonu için uygun hale getirilmiş olur. Yüksek verimlilik gösterir [91]. Bu sayede birçok kopolimer sentezi için ve de farklı polimerizasyon metodları kullanılarak farklı tasarım ve istenilen mimaride polimerler elde edilebilir [92].



3. MATERYAL VE METOD

3.1 Malzemeler

4-Metilumbelliferon (% 99, Aldrich), potasyum karbonat (Merck), propargil bromür (% 80, Aldrich), sodyum sülfat (Na_2SO_4 , Merck), 4-siyano-4-[(dodesilsülfaniltiyokarbonil)sülfanil]pentanoik asit (CDTP, min. % 97, Strem Chemicals), sodyum azit (NaN_3 , Merck), amonyum klorür (Merck), 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.), piren (Merck), tween[®] 80 (Merck), fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS, Aldrich), sodyum asetat (Merck), aseton (Merck), etil asetat (Merck), metanol (Merck), dietil eter (Chem-Lab), dimetilsülfoksit (DMSO, Carlo Erba), asetik asit (% 100, Merck) ve hidroklorik asit (HCl, Aldrich) alındığı gibi kullanılmıştır. *N,N*-dimetilformamit (DMF, %99.8, Alfa Aesar) 4 Å boyutundaki moleküler elek absorbenti ile kurutulup kullanılmıştır. 2,2'-Azobis(2-metilpropionitril) (AIBN, Aldrich) metanolden kristallendirildikten sonra kullanılmıştır. Glisidil metakrilat (Aldrich) ve poli(etilen glikol) metakrilat (POEGMA, $M_n = 500$, Aldrich) bazik alümina kolondan geçirilerek kullanılmıştır.

3.2 Kullanılan Cihazlar

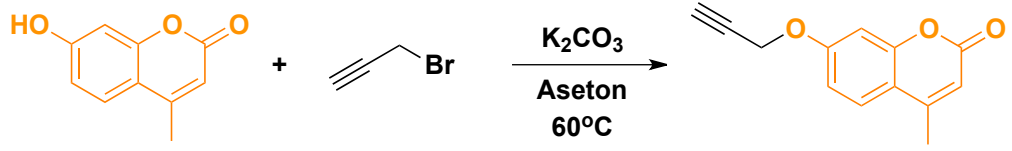
Fourier dönüşümlü infrared (FT-IR) spektrumları platin-ATR aksesuarı ile (ZnSe kristali) ALPHA Bruker spektrometresinde kaydedilmiştir. ¹H NMR ölçümleri, 500 MHz'lik Bruker NMR cihazında CDCl_3 çözücüsü kullanılarak alınmıştır. UV-Vis absorpsiyon spektrumları Hitachi marka U-2900 UV-Vis spektrofotometresi ile ölçülmüştür. Floresans emisyon spektrumu ölçümleri Hitachi marka F-2700 spektrofotometresi ile gerçekleştirilmiştir. 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 oluşturulması sırasında enjeksiyonlar 19.23 mm çaplı şırıngalar kullanılarak Sujipuli Technology NE-1600 6 kanallı programlanabilir şırınga pompasında 1 mL/dk enjeksiyon hızıyla 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 distile H₂O içerisinde 173°'lik ölçüm açısı ile belirlenmiştir. Misellerin aydınlatılma çalışmaları için 350 nm'de ışık yayan 12 adet lambalı Kerman marka bir fotoreaktör kullanılmıştır. Kritik misel konsantrasyonunun belirlenmesinde, DOKS kalibrasyon eğrisi ve DOKS yüklü misellerin ilaç salımını ölçmek için BioTek marka synergy H1 hibrid multi-mod ELISA okuyucu cihazı kullanılmıştır. Oluşturulan misel ve DOKS yüklü misellerin görüntülemeleri JEOL marka JEM-2100 (UHR) Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) ile yapılmıştır. Çalışma boyunca elde edilen polimerlerin ve misellerin diyaliz işlemlerinden sonra kurutulması için -90°C'ye düşen LaboGene marka CoolSafe 9 L liyofilizatörü kullanılmıştır.

3.3 Deneysel Kısım

3.3.1 7-(Prop-2-in-1-iloksi)-1-benzopiran-2-on Sentezi (PrCUM)

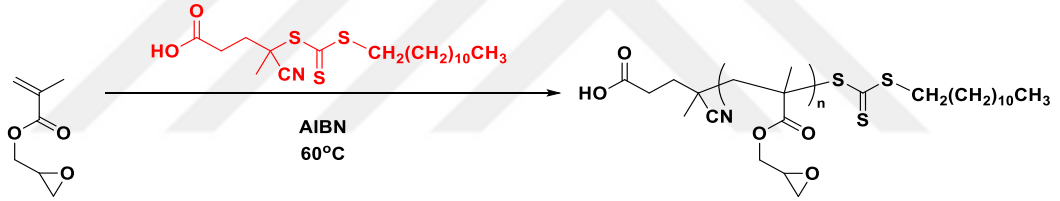
4-Metilumbelliferon (2 g, 0.0114 mol) ve potasyum karbonat (1.96 g, 0.0142 mol) bir balon içerisine konuldu ve 120 mL aseton ilave edilerek bir süre karıştırıldı. Daha sonra balona 20 mL aseton içerisinde çözünmüş propargil bromür (1.227 mL, 0.014 mol) damla damla ilave edildi. Damlatma işlemi sona erdiğinde reaksiyon balonu 60°C'deki yağ banyosuna yerleştirildi ve karışım geri soğutucu altında reflüks edildi. Bir gece sonunda aseton uçurularak 140 mL etil asetat ilave edildi ve 100 mL su ile 2 kere ekstraksiyon yapıldı. Etil asetat fazı sodyum sülfat ile kurutulduktan sonra süzüldü ve etil asetat uçuruldu. Elde edilen ürün vakum etüvünde 40°C'de kurutuldu.



Şekil 3.1 : Propargil kumarinin (PrCUM) sentez reaksiyonu.

3.3.2 Poli(glisidil metakrilat) (PGMA) sentezi

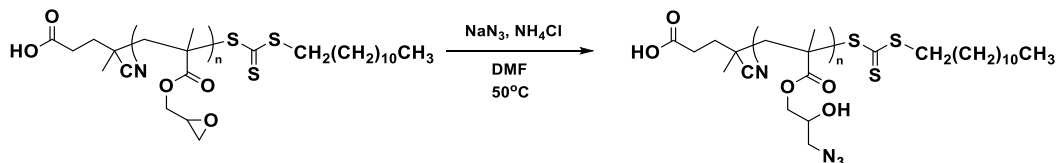
Glisidil metakrilat (GMA, 5 mL, 0.0376 mol), 4-siyano-4-[(dodesilsülfaniltiyokarbonil)sülfanil]pentanoik asit (CDTP, 0.152 g, 3.76×10^{-4} mol) ve 2,2'-azobis(2-metilpropionitril) (AIBN, 20.4 mg, 1.2408×10^{-4} mol) Schlenk tüp içerisine konulup 3 kere donma-erime çevrimi yapıldıktan sonra 60°C'deki yağ banyosunda 2.5 saat karıştırıldı. Süre sonunda soğutulan Schlenk tüp havaya açılarak içerisine 0.5 mL THF eklendi ve elde edilen polimer soğuk metanolde çöktürüldü. Krozeden süzöldükten sonra 40°C'de vakum etüvünde kurutuldu (Dönüşüm= % 56). Şekil 3.2'de reaksiyon yolu gösterilmiştir.



Şekil 3.2 : RAFT polimerizasyonu ile PGMA polimerinin sentezi.

3.3.3 Poli(glisidil metakrilat)'ın azitlenmesi (PGMA-g-N₃)

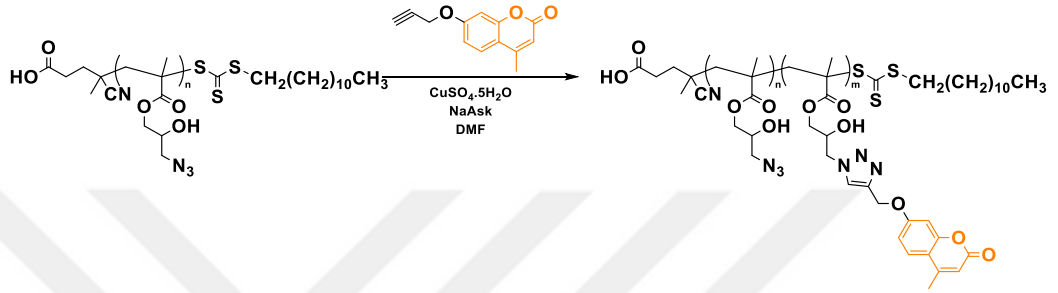
PGMA (1 g, 1.292×10^{-4} mol), sodyum azit (NaN₃, 1.36 g, 0.021 mol) ve amonyum klorür (1.1233 g, 0.021 mol) 40 mL kuru DMF içerisinde çözülerek 50°C'deki yağ banyosunda bir gece karışmaya bırakıldı. İçerisine 5 mL THF eklendi ve filtre kağıdından süzöldü. Süzöntü soğuk suda çöktürülerek elde edilen polimer liyofilizatörde kurutuldu. Reaksiyonun kimyasal yapısı Şekil 3.3'te gösterilmiştir.



Şekil 3.3 : PGMA polimerinin azitlenmesi.

3.3.4 PGMA-g-N₃ ile Propargil Kumarinin Click Reaksiyonu (PGMA-g-PrCUM)

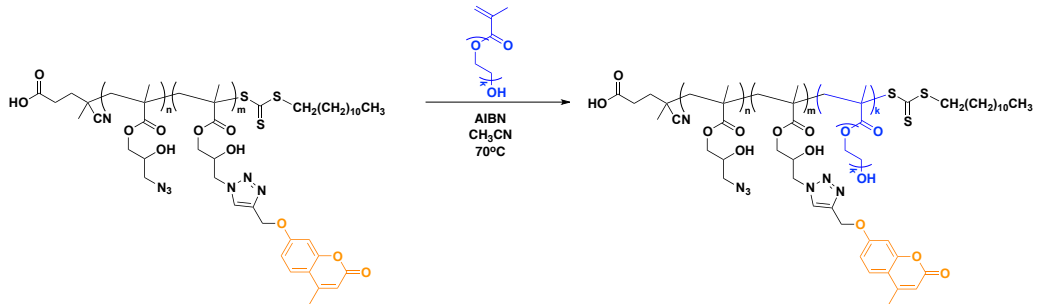
PGMA-g-N₃ (0.5 g, 6.46 x 10⁻⁵ mol), PrCUM (0.208 g, 9.69 x 10⁻⁴ mol), CuSO₄.5H₂O (0.048 g, 1.938 x 10⁻⁴ mol), askorbik asit (0.192 g, 9.69 x 10⁻⁴ mol) ve 20 mL DMF ile azot altında bir gece oda sıcaklığında karışmaya bırakıldı. Bakırdan uzaklaştırmak için diyaliz membran (MWCO= 3500 Da) içerisine alınarak suya karşı diyaliz yapıldı. Daha sonra polimer diyaliz membran içerisinden alınarak liyofilizatörde kurutuldu. Oluşan reaksiyon, kimyasal yapısıyla Şekil 3.4'te gösterilmiştir.



Şekil 3.4 : PGMA-g-PrCUM polimerinin kimyasal yapısı.

3.3.5 (PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA Sentezi

PGMA-g-PrCUM (0.1 g, 1.25 x 10⁻⁵ mol), polietilenglikol metiletermetakrilat (0.29 mL, 6.25 x 10⁻⁴ mol), 2,2'-azobis(2-metilpropionitril) (AIBN, 6.21 mg, 3.78 x 10⁻⁵ mol) ve 2 mL kuru DMF Schlenk tüp içerisine konulup 3 kere donma-erime çevrimi yapıldıktan sonra 70°C'deki yağ banyosunda 4 saat karıştırıldı. Süre sonunda soğuk dietil eterde çöktürülen polimer süzöldükten sonra 40°C'deki vakum etüvünde kurutuldu (Dönüşüm= % 70). Elde edilen kopolimerin reaksiyonu ve kimyasal yapısı Şekil 3.5'te gösterilmiştir.



Şekil 3.5 : (PGMA-g-PrCUM) –b-POEGMA sentezinin kimyasal yapısı.

3.3.6 Misel hazırlama

10 mg (PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA 1 mL DMF içerisinde çözüldü ve 2 saat oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra içerisine enjeksiyon pompası ile 9 mL distile su 1 mL/dk hızla damlatıldı. Bir gece oda sıcaklığında karışmaya bırakıldı ve daha sonra diyaliz membran (MWCO= 3500 Da) içerisine alınarak suya karşı 2 gün diyaliz yapıldı. DLS cihazı ile partikül boyutu ölçümleri yapıldı.

3.3.7 DOKS yüklü misel hazırlama

10 mg (PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA ve 1 mg Dokсорubisin 1 mL DMF içerisinde çözüldü ve 2 saat oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra içerisine enjeksiyon pompası ile 9 mL distile su 1 mL/dk hızla damlatıldı. Bir gece oda sıcaklığında karışmaya bırakıldı ve daha sonra diyaliz membran (MWCO= 3500 Da) içerisine alınarak suya karşı 2 gün diyaliz yapıldı. DLS cihazı ile partikül boyutu ölçümleri yapıldı.

3.3.8 Kritik misel konsantrasyonunun (CMC) belirlenmesi

Misellerin kritik misel konsantrasyonları (CMC), floresans boya çözündürme yöntemi kullanılarak ölçüldü. Hidrofobik olan piren mikroortam polaritesine bağlı olarak iyi bilinen değişikliklere uğramaktadır. Bu nedenle floresans probu olarak piren kullanıldı. Piren (5 mg) üzerine 5 mL aseton eklenip çözüldü. Bu çözültiden numaralandırılan 14 adet eppendorf tüpü içerisine 10'ar µl eklenip çeker ocağın içine asetonun uçması için bırakıldı. Daha sonra 10 mg kopolimere 10 mL distile su eklenip çözüldü ve polimer sulu çözeltisi 1×10^{-4} ile 1 mg/mL arasındaki konsantrasyonlarda olacak şekilde eppendorflara 1'er mL eklendi. Birkaç saniye vorteksle iyice karışması sağlanan numuneler 1 gece bekletildi. Ertesi gün plate'teki kuyucuklara 300'er µl konulup ELISA'da ölçüm alındı. Çözültüler 334 nm'de uyarılarak 384 nm ve 373 nm'deki intensite değerleri oranlandı (I_3/I_1). Bu intensite oranı kopolimer konsantrasyonunun logaritmasına karşı grafiğe geçirilerek en uygun iki doğrunun kesişim noktasından sulu ortamda kararlı misellerin oluşumu için gereken minimum polimer konsantrasyonuna karşılık gelen kritik misel konsantrasyonu belirlendi.

3.3.9 İlaç yükleme (DL) ve enkapsülasyon verimi (EE)

İlaç yüklü misellerdeki DOKS miktarı ELISA okuyucu ile 485 nm'de ölçülen absorbans değeri kullanılarak aşağıda verilen denklemler vasıtasıyla hesaplandı. Bunun için öncelikle 5 mg DOKS 10 mL DMSO içerisinde çözüldü ve 7 farklı konsantrasyon olacak şekilde DMSO ile seyreltem yapıldı. Elde edilen DOKS

çözeltilerinin 485 nm'deki absorbansları ölçülerek bir kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. DOKS yüklü miselin 485 nm'de ölçülen absorbans değeri kalibrasyon eğrisinden elde edilen denklemde yerine konularak mg/mL değeri hesaplandı. Bu değer daha sonra ilgili denklemler kullanılarak ilaç yükleme (DL) ve enkapsülasyon verimi (EE) hesaplandı.

$$\% \text{ DL} = \frac{\text{misel içerisindeki ilaç miktarı}}{\text{misel miktarı}} \times 100$$

$$\% \text{ EE} = \frac{\text{misel içerisindeki ilaç miktarı}}{\text{yüklenen toplam ilaç miktarı}} \times 100$$

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

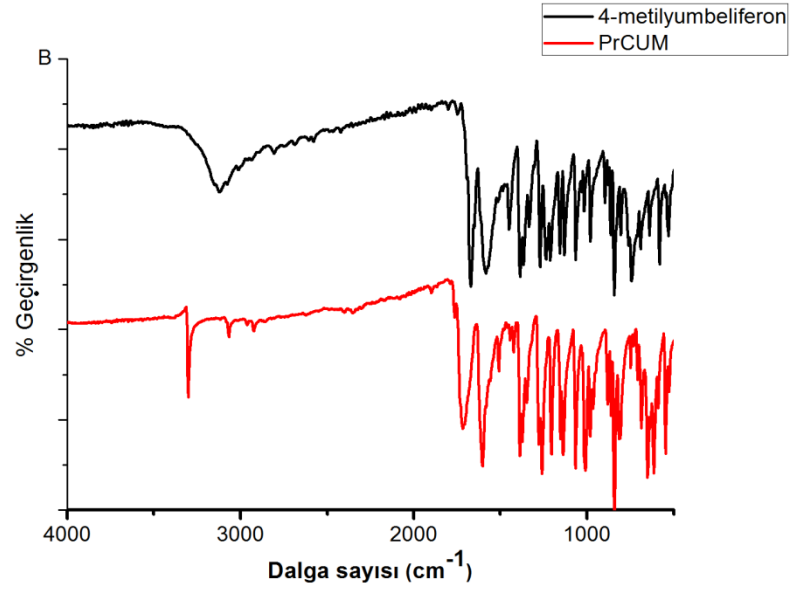
Bu çalışmada, glisidil metakrilat ile poli(etilen glikol) metakrilat monomerlerinin RAFT polimerizasyonu yöntemiyle blok kopolimerlerinin sentezlenmesi, glisidil ünitelerinin azitlenmesi ve 'click' reaksiyonu vasıtasıyla kumarin ile fonksiyonlandırılması hedeflenmiştir. Elde edilen ışığa duyarlı bu amfifilik blok kopolimerlerin sulu ortamda miselleri oluşturulmuş, misellere ilaç yüklenerek ilaç taşıyıcı sistem olma potansiyelleri incelenmiştir.

4.1 7-(Prop-2-in-1-iloksi)-1-benzopiran-2-on (PrCUM) Sentezi ve Karakterizasyonu

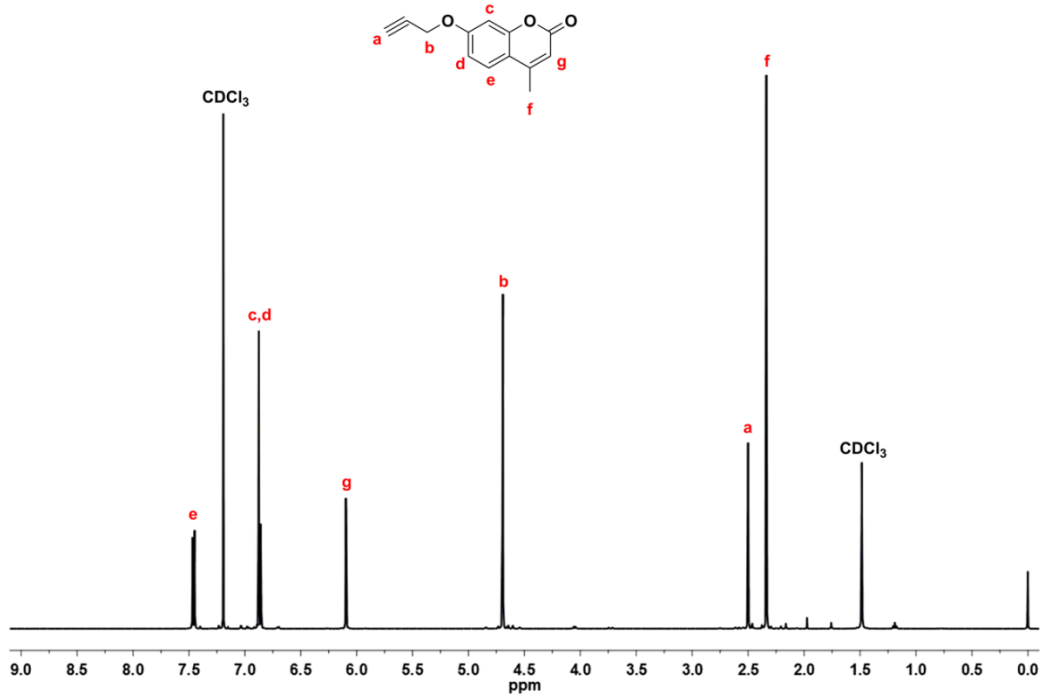
Oluşturulması hedeflenen taşıma sisteminin ışığa duyarlı kısmını oluşturan kumarin türevi 7-(prop-2-in-1-iloksi)-1-benzopiran-2-on molekülü literatürdekine benzer şekilde propargille fonksiyonlandırıldı [93]. Elde edilen PrCUM bileşiği FT-IR, ¹H NMR, DSC, UV-Vis ve floresan spektroskopisi kullanılarak karakterize edildi.

Şekil 4.1'de PrCUM bileşiğinin FT-IR spektrumu verilmiştir. 4-Metilumbelliferonda bulunan -OH grubunun 3110 cm⁻¹'de gözlenen gerilme sinyalinin kaybolduğu görülmüş, propargil bromür ile reaksiyonun başarılı bir şekilde gerçekleştirildiği tespit edilmiştir. Asetilenin karakteristik ≡C-H sinyali 3350 cm⁻¹'de gözlenmiştir. C=O grubunun gerilme titreşim bandı 1705 cm⁻¹'de ve C=C 1510 cm⁻¹'de görülmektedir.

PrCUM'un ¹H NMR spektrumu Şekil 4.2'de görülmektedir. Aromatik halkanın protonları 7.4, 6.8 ve 6.2 ppm'de, -CH₃ protonları 2.3 ppm'de, asetilen grubunun protonları ise 4.7 ve 2.5 ppm'de gözlemlendi.



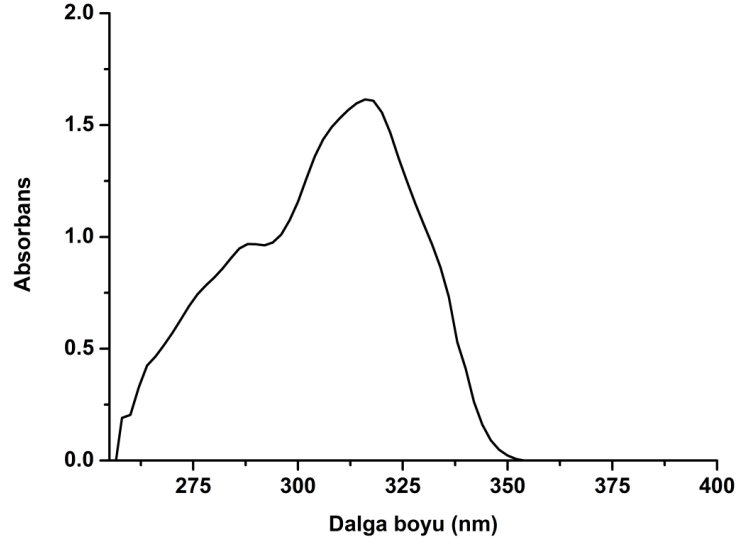
Şekil 4.1 : 4-metilyumbeliferon ve PrCUM molekülüne ait FT-IR spektrumu.



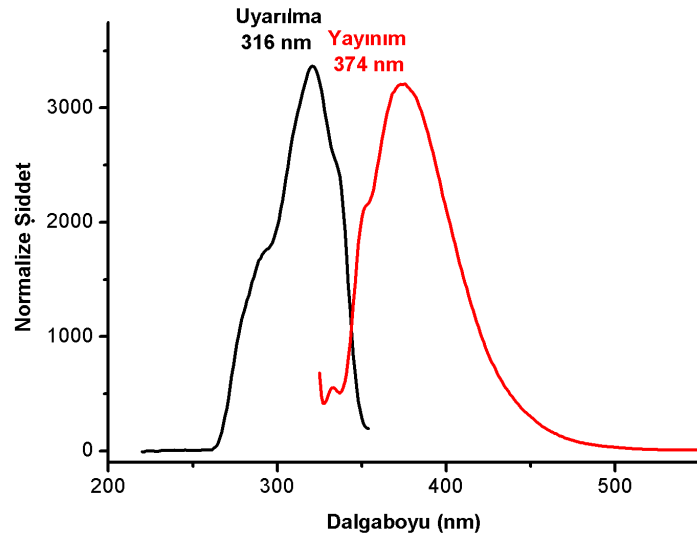
Şekil 4.2 : PrCUM bileşiğinin ¹H NMR spektrumu.

PrCUM'in DMF içerisinde çekilen UV-Vis spektrumunda Şekil 4.3'de görüldüğü gibi 320 nm dalga boyunda maksimum absorbands verdiği, yine DMF içerisinde çekilen

floresans spektrumunda 374 nm'de yayılım verdiği (Şekil 4.4) gözlemlendi. Her iki spektrumdan elde edilen veriler kumarinin UV ve floresans spektrumları ile uyum içerisindedir.



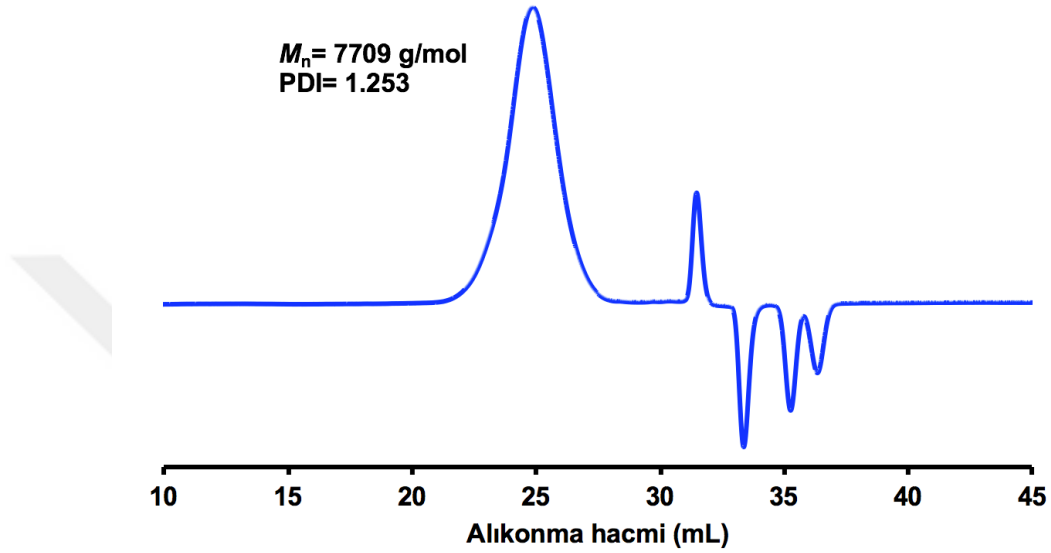
Şekil 4.3 : PrCUM'in (2.4×10^{-2} mg/mL) DMF içerisinde çekilmiş UV-Vis spektrumu.



Şekil 4.4 : PrCUM'un (2×10^{-3} mg/mL) DMF içerisinde çekilmiş floresans spektrumu.

4.2 Poli(glisidil metakrilat)'ın (PGMA) Sentezi ve Karakterizasyonu

4-Siyano-4-[(dodesilsülfaniltiyokarbonil)sülfanil]pentanoik asit (CDTP) RAFT ajanı kullanılarak glisidil metakrilat (GMA) monomeri polimerleştirildi. Elde edilen poli(glisidil metakrilat) (PGMA) polimerinin molekül ağırlığı GPC ile polistiren standartları kullanılarak ölçüldü (Şekil 4.5).



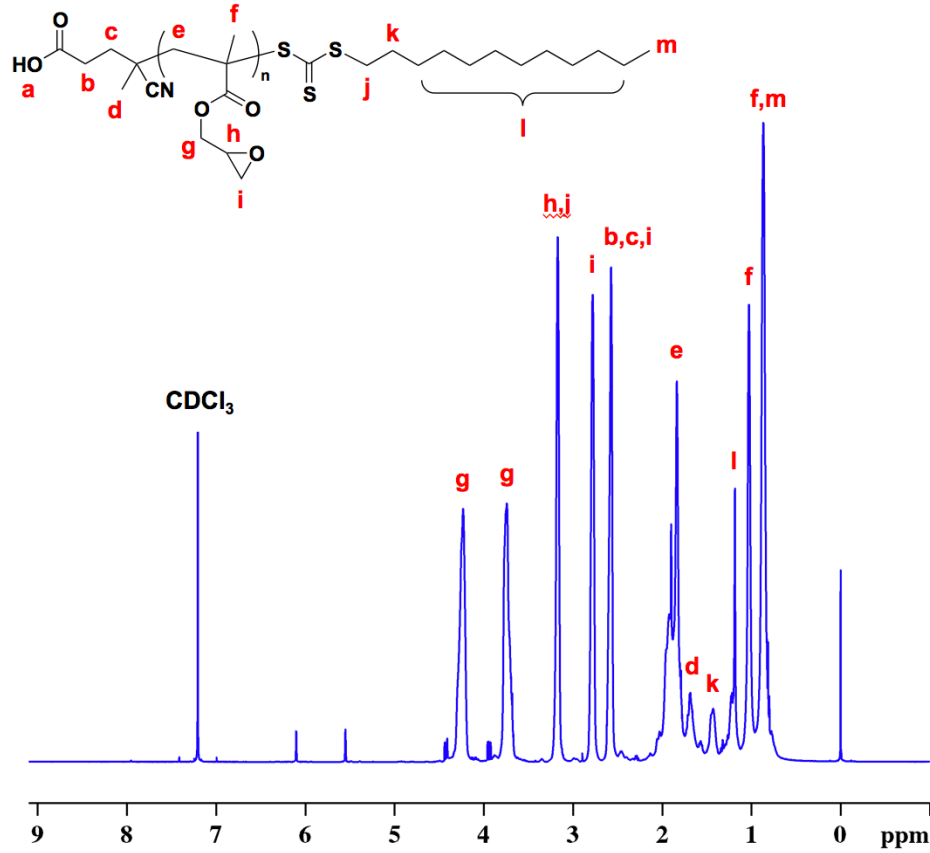
Şekil 4.5 : PGMA'ın GPC kromatogramı.

Teorik molekül ağırlığı ($M_{n,th}$) gravimetrik dönüşüm değeri (% 56) aşağıda verilen denklem kullanılarak 8364 g/mol olarak hesaplandı.

$$M_{n,th} = \frac{[\text{monomer}] \times M_{\text{monomer}}}{[\text{RAFT ajanı}]} \times \% \text{Dönüşüm} + M_{\text{RAFTajani}}$$

GPC ile elde edilen M_n değerinin teorik değerden daha küçük olduğu gözlemlendi. Şekil 4.6, epoksi halkasının reaksiyon sırasında bozulmadan kaldığını ortaya çıkaran polimerin ^1H NMR spektrumunu göstermektedir. 3.2 ppm (h) ile 2.6 ve 2.8 ppm'deki (i) pikler oksiran halkasının protonlarına ait pikleri ifade etmektedir. (i) ile gösterilen iki proton farklı kimyasal ortamlarda olduğu için iki farklı rezonans verdi [94]. Oksiran halkasının bağlı olduğu $-\text{CH}_2-\text{O}$ protonları da 3.8 ve 4.2 ppm'de (g) olacak şekilde iki farklı pik verdi. RAFT ajanından gelen d, k ve l ile gösterilen piklerin alanları ile g pikinin alanı oranlanarak $M_{n,NMR}$ değeri 3390 g/mol olarak hesaplandı. NMR'dan hesaplanan molekül ağırlığı da $M_{n,th}$ gibi düşük sonuç verdi. GPC ile ölçülen molekül ağırlıkları polistiren standartlarına göre hesaplandığı için molekül ağırlıkları arasında

böyle bir farkın olması doğaldır. Literatürde de pek çok farklı polimer için benzer sonuçlara rastlanmaktadır.

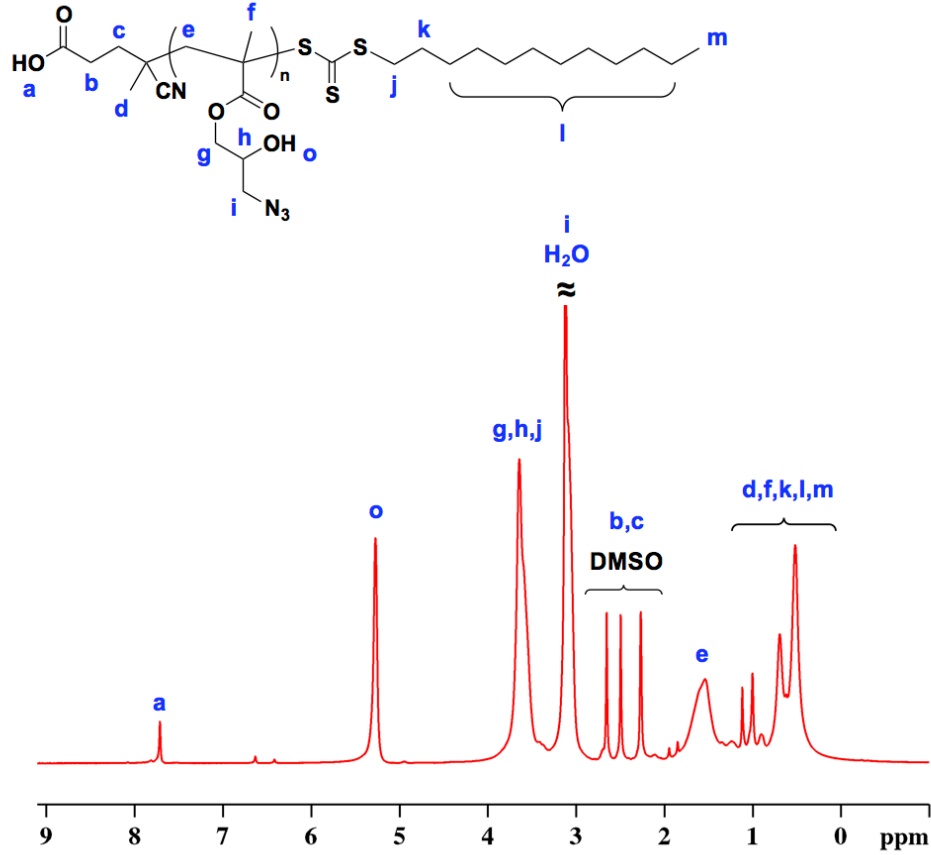


Şekil 4.6 : PGMA'nın CDCl_3 içinde çekilmiş ^1H NMR spektrumu.

4.3 Azitlenmiş Poli(glisidil metakrilat)'ın (PGMA-g- N_3) Sentezi ve Karakterizasyonu

PGMA polimeri fazla miktarda NaN_3 ile reaksiyona sokularak oksiran halkalarının tamamının açılması ve polimer yan zincirlerinde $-\text{OH}$ ve $-\text{N}_3$ fonksiyonlarının oluşması sağlandı. Elde edilen PGMA-g- N_3 polimeri THF içerisinde çözünmediği için GPC ölçümü alınamadı. Polimerin karakterizasyonu için FT-IR, ^1H NMR ve DSC kullanıldı. Şekil 4.7'de görüldüğü gibi azitleme sonrası oluşan $-\text{CH}_2-\text{N}_3$ protonları 3.2 ppm'de gözlemlendi ve DMSO'nun H_2O pikiyle çakıştığı tespit edildi. Benzer sonuçların literatürdeki bazı çalışmalarda görüldüğü tespit edildi [95]. Yine azitleme sonrasında oluşan $-\text{OH}$ protonu (o) 5.3 ppm'de gözlenirken (g) ve (h) protonları 3.7 ppm'de tespit edildi. PGMA'nın ^1H NMR spektrumunda RAFT ajanından gelen $-\text{COOH}$ asit uç grubunun protonu gözlenmezken azitleme sonrasında 7.8 ppm'de olduğu tespit edildi.

GPC ile molekül ağırlığı ölçülememiş olsa da ^1H NMR spektrumunda bulunan (f), (m), (d), (k) ve (l) piklerinin alanları toplamı (g), (h) ve (j) piklerinin alanları toplamı ile oranlanarak polimerizasyon derecesi $\text{DP} = 21$ olarak hesaplandı. Elde edilen bu değer PGMA'nın ^1H NMR spektrumundan hesaplanan DP değeri ile aynı çıktı. Bu da PGMA'nın tekrar eden ünitelerinin tamamının azitlendiğini gösterdi.

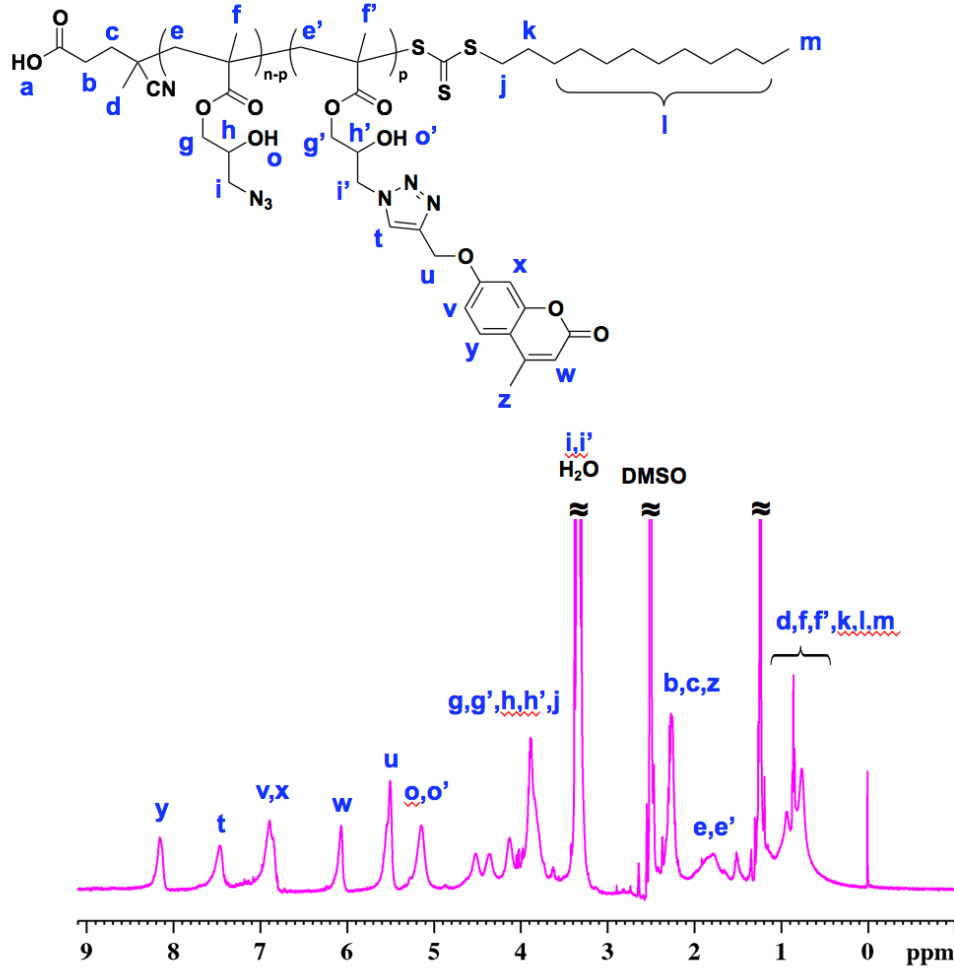


Şekil 4.7 : PGMA-g-N₃'in DMSO içerisinde çekilen ^1H NMR spektrumu.

4.4 PGMA-g-N₃ Polimerine “Click” Reaksiyonu ile Kumarin Takılması (PGMA-g-PrCUM)

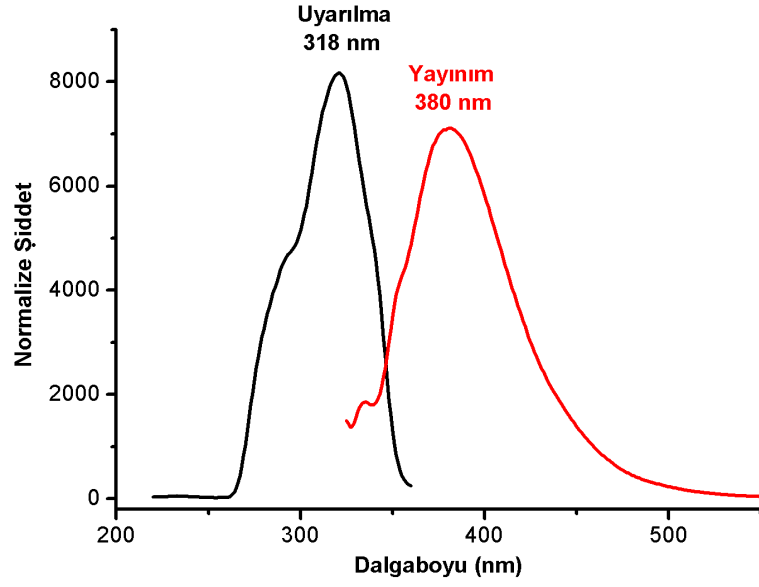
Tamamı azitlenmiş olan homopolimerin bir kısmı propargillenmiş kumarin ile ‘click’ reaksiyonuna sokularak ışığa duyarlı hale getirildi. PGMA-g-N₃'e benzer şekilde PGMA-g-PrCUM polimeri de THF içerisinde çözünmediği için GPC ölçümü yapılamadı. Elde edilen kumarin fonksiyonlu bu polimer FT-IR, ^1H NMR, UV-Vis, floresan ve DSC ile karakterize edildi. Şekil 4.8’de verilen ^1H NMR spektrumunda polimerde bulunan protonlara ait pikler ayrıntılı olarak gösterildi. (g), (h), (g’) ve (h’)

piklerinin integral alanlarının toplamının (t) pikinin integral alanı ile oranlanması sonucunda 21 üniteden 19 tanesine kumarin takıldığı tespit edildi.



Şekil 4.8 : PGMA-g-PrCUM'in DMSO içerisinde çekilen ¹H NMR spektrumu

Kumarin grupları floresans özellik göstermekte olduğundan polimere kumarin takılıp takılmadığını tespit etmenin diğer bir yolu da floresans ölçümü almaktır. PGMA-g-PrCUM'in DMF içinde çekilen floresans spektrumu Şekil 4.9'de gösterildi. 318 nm dalga boyunda uyarılma ve 380 nm dalga boyunda yayılım gösteren polimer "click" reaksiyonu öncesinde herhangi bir floresans göstermedi.

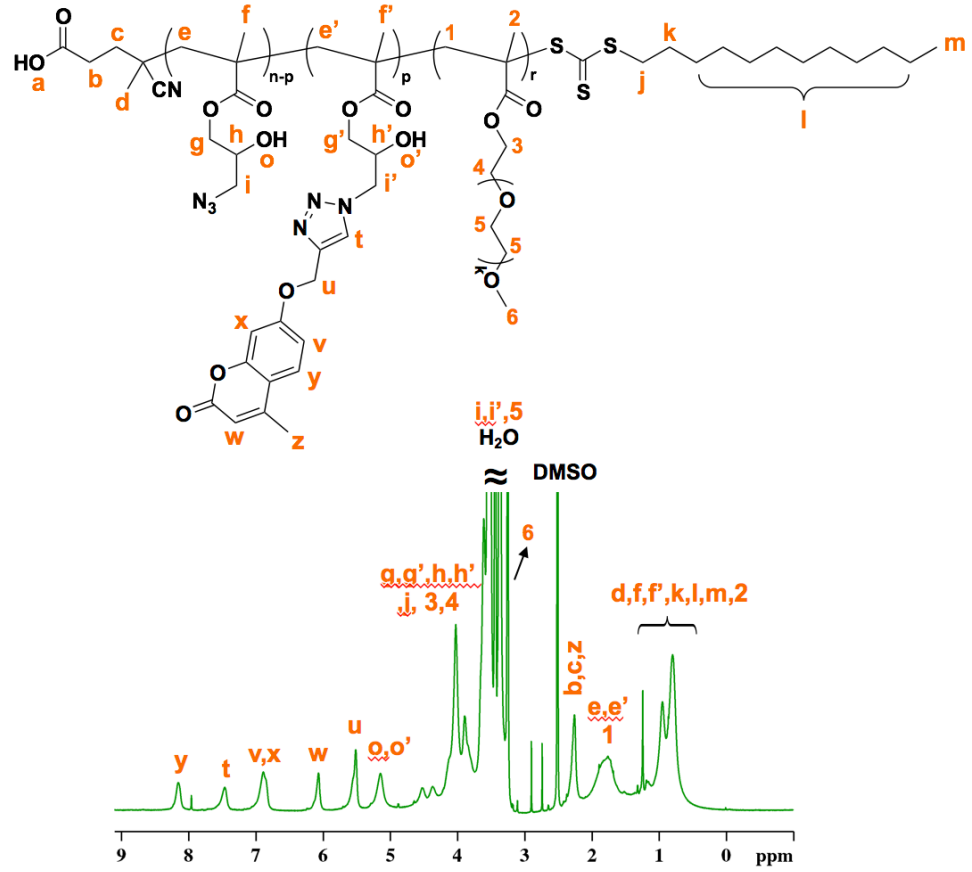


Şekil 4.9 : PGMA-g-PrCUM'in (4×10^{-3} mg/mL) DMF içerisinde çekilen floresans spektrumu.

4.5 (PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA'nın Sentezi ve Karakterizasyonu

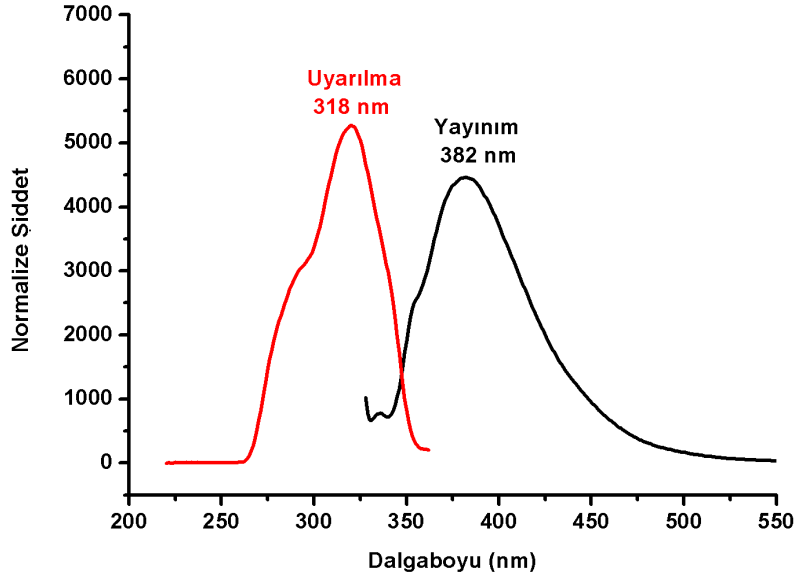
Bu aşamada amaç amfifilik bir blok kopolimer sentezlemek olduğundan hidrofobik olan PGMA-g-PrCUM bloğuna hidrofilik olan bir bloğun takılması gerekir. RAFT polimerizasyonu ile sentelenen PGMA polimeri azitleme ve “click” reaksiyonu gibi çeşitli fonksiyonlandırmalardan geçmiş olsa da bir makro RAFT ajanı olma özelliği taşır. Bu nedenle PGMA-g-PrCUM polimeri poli(etilen glikol) metakrilat (POEGMA) monomerinin RAFT polimerizasyonu için kullanıldı. Böylece, (PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA amfifilik blok kopolimeri sentelenmiştir. (PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA da THF içerisinde çözünmediğinden karakterizasyonu ^1H NMR, FT-IR, UV-Vis, floresans ve DSC ile yapıldı. ^1H NMR spektrumunda (Şekil 4.10) POEGMA hidrofilik bloğuna ait pikler 3.2 ppm ile 3.7 ppm arasında görüldü.

Aslında, amfifilik kopolimer oluşumunun doğrudan PGMA'nın RAFT ajanı olarak kullanılması ile de gerçekleştirilebileceği düşünüldü. Tez çalışmasına ilk olarak PGMA'nın POEGMA polimerizasyonunda kullanılması ile başlandı, ancak polimerizasyon sonucunda jelleşme gözlemlendi. Bununla ilgili literatürde bir veriye rastlanmamış olsa da azitleme işleminin genellikle önce yapıldığı tespit edildi.



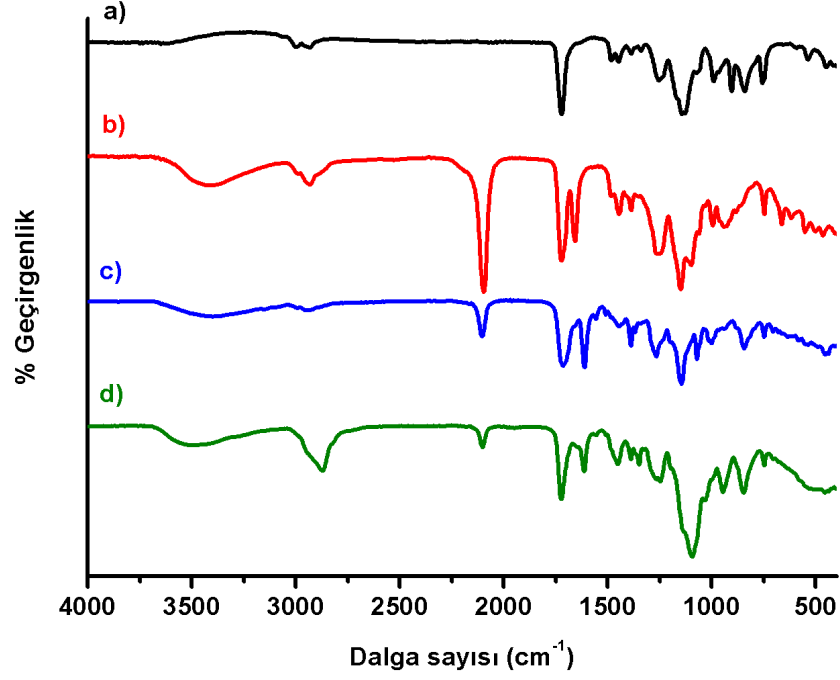
Şekil 4.10 : (PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA kopolimerinin DMSO içerisinde çekilen ^1H NMR spektrumu.

(PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA kopolimerinin DMF içerisinde çekilen floresans spektrumu Şekil 4.11’de gösterildi. Elde edilen amfifilik kopolimer de 318 nm dalga boyunda uyarılma ve 382 nm’de yayılım verdi. Elde edilen bu sonuçlar doğrultusunda kopolimer yapısının kumarin içerdiği açıkça görüldü.



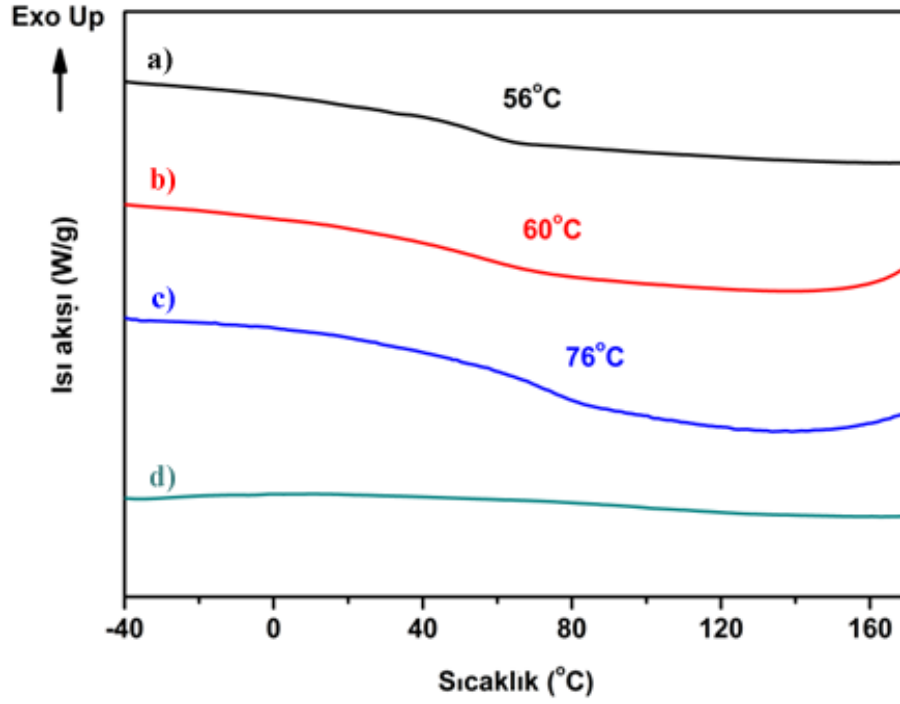
Şekil 4.11 : (PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA [8×10^{-3} mg/mL] DMF içerisinde çekilmiş floresans spektrumu.

PGMA, PGMA-g-N₃, PGMA-g-PrCUM ve (PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA polimerlerinin FT-IR spektrumları Şekil 4.12’de karşılaştırıldı. Azitleme reaksiyonu sonucunda elde edilen PGMA-g-N₃ polimerinin FT-IR spektrumunda -N₃ titreşimleri 2200 cm⁻¹’de açıkça görüldü (b). “Click” reaksiyonu sonucunda oluşan PGMA-g-PrCUM polimerinin tamamına kumarin takılmadığı FT-IR spektrumunda da görülmektedir. Azitlenen birimlerin bir kısmı kumarinle fonksiyonlandırılmış, bunun sonucunda 2200 cm⁻¹’deki -N₃ pikinde bir azalma gözlemlendi (c). Benzer şekilde (PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA kopolimerinin spektrumunda da -N₃ piki bulundu (d).



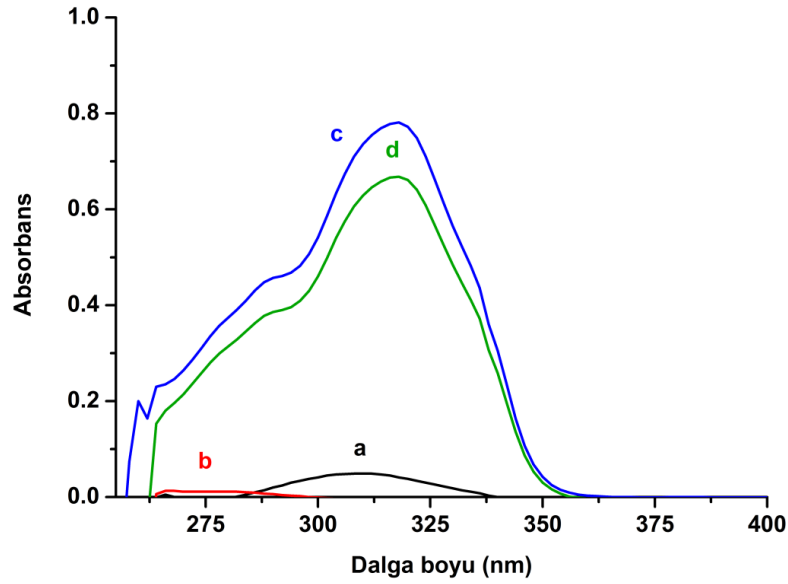
Şekil 4.12 : a) PGMA, b) PGMA-g-N₃, c) PGMA-g-PrCUM ve d) (PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA polimerlerinin FT-IR spektrumları.

Elde edilen, PGMA, PGMA-g-N₃, PGMA-g-PrCUM ve (PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA ürünlerinin termal davranışları DSC ile ölçüldü. Şekil 4.13'te karşılaştırılan sonuçlara göre PGMA'nın camsı geçiş sıcaklığı (T_g) 56°C, PGMA-g-N₃'nin T_g 'si 60°C ve PGMA-g-PrCUM'nin T_g 'si 76°C olarak ölçüldü. (PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA'nın T_g 'si sonucu ise gözlenemedi. Özellikle yüksek molekül ağırlıklı PEG türevlerinin T_g değerleri oldukça düşük olduğundan amfifilik kopolimerin T_g değerinin gözlenemediği düşünüldü. Elde edilen amfifilik kopolimerin oda sıcaklığında viskoz ve yapışkan bir malzeme olması da bu düşüncüyü desteklemektedir.



Şekil 4.13 : a) PGMA, b) PGMA-g-N₃, c) PGMA-g-PrCUM ve d) (PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA polimerlerinin DSC termogramları.

PGMA, PGMA-g-N₃, PGMA-g-PrCUM ve (PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA polimerlerinin DMF içerisinde çekilmiş UV-Vis spektrumları Şekil 4.14'te gösterildi. PGMA'nın 280-340 nm'de çok az bir absorpsiyon olduğu görüldü, buna da monomerde bulunan halka yapısının neden olduğu düşünülmektedir (Şekil 4.14-a). Azitleme reaksiyonuyla birlikte oksiran halkasının açılması sonucu UV'de gözlenen 280-340 nm'deki absorpsiyonun kaybolduğu görüldü. PGMA-g-PrCUM polimerinde kumarin gruplarının bulunduğunu gösteren diğer bir sonuç da 250-350 nm arasında gözlenen absorpsiyon pikidir. (PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA kopolimerinin UV-Vis spektrumunda da benzer şekilde 250-300 nm'de absorpsiyon gözlenmiş, kumarin gruplarının yapıda olduğu tespit edildi.



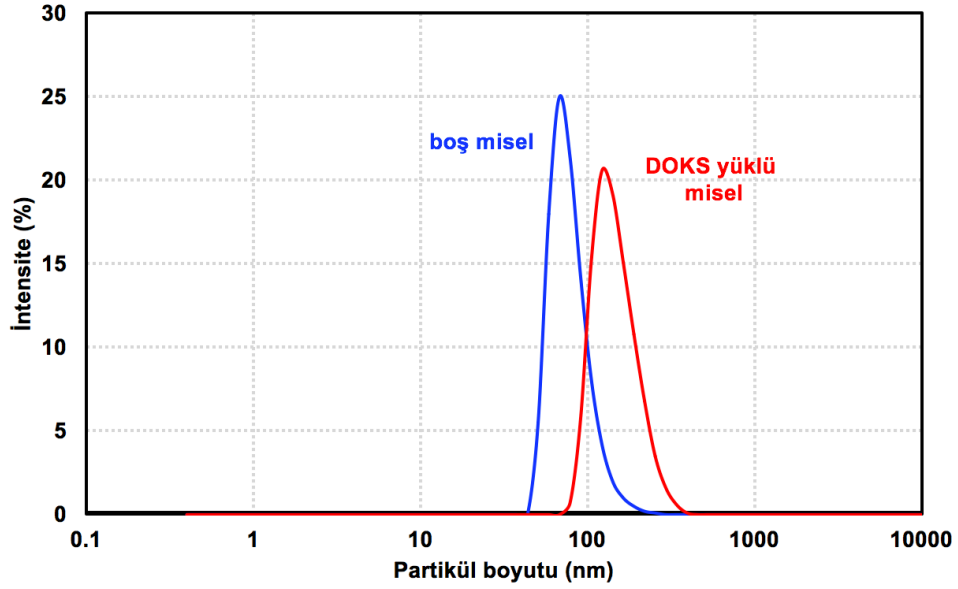
Şekil 4.14 : a) PGMA, b) PGMA-g-N₃, c) PGMA-g-PrCUM, d) (PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA polimerlerinin DMF içerisinde (4×10^{-2} mg/mL) çekilmiş UV-Vis spektrumları.

4.6 DOKS Yüklü ve Boş Misellerin Oluşturulması ve Karakterizasyonu

(PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA amfifilik kopolimeri kullanılarak diyaliz yöntemi ile boş miseller oluşturuldu. Aynı yöntemle DOKS ilave edilmesi sonucunda ilaç yüklü miseller oluşturuldu. Elde edilen boş ve DOKS yüklü misellerin karakterizasyonu için DLS, UV-Vis, floresans spektroskopisi ve TEM kullanıldı.

DLS ölçümleri için boş ve DOKS yüklü misellerin 1 mg/mL olacak şekilde sulu çözeltileri hazırlandı. Yapılan ölçümler sonucunda misellerin monodispers olduğu (boş misel için PDI= 0.124, DOKS yüklü misel için PDI= 0.075) ve ortalama partikül boyutlarının boş miseller için 80 nm ve DOKS yüklü miseller için 150 nm olduğu tespit edildi (Şekil 4.15).

(PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA amfifilik kopolimerinde bulunan kumarin grupları hidrofobik bloğa bağlı oldukları için oluşturulan misellerin çekirdeğinde konumlanmıştır. Kumarin gruplarının UV ışık altında dimerleştiği bilindiğinden misellerin aydınlatılması sonucunda boyutlarında değişiklik olup olmadığı araştırıldı. 350 nm’de fotoreaktörde 1 saat aydınlatıldıktan sonra DLS ölçümü alındı. Sonra 1 saat daha aydınlatılıp tekrar ölçüm alındı. Ancak, misel boyutlarında herhangi bir değişiklik gözlenmedi (Tablo 4.1).



Şekil 4.15 : Boş ve DOKS yüklü miseller için DLS verilerinden elde edilen boyut dağılım eğrileri.

Tablo 4.1 : Misellerin 0, 60 ve 120 dakika 350 nm’de aydınlatıldıktan sonra ölçülen DLS sonuçları.

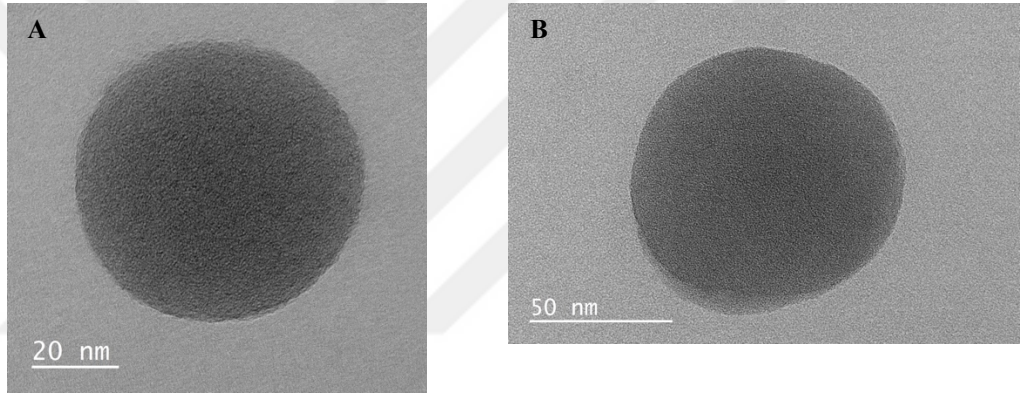
	R_h (nm)		
	0 dakika	60 dakika	120 dakika
Boş Misel	79.923 ± 1.448	84.82 ± 3.012	83.45 ± 1.739
DOKS Yüklü Misel	150.789 ± 4.607	154.5 ± 3.45	152.63 ± 4.717

Misellerin stabiletelerini belirlemek amacıyla buzdolabında ışık göremeyecek şekilde bekletilen misellerin farklı zamanlarda DLS ölçümleri yapıldı. 1., 3. ve 60. günlerde alınan DLS ölçümleri Tablo 4.2’de verildi. Elde edilen sonuçlar misellerin boyutlarında önemli ölçüde bir değişiklik olmadığını gösterdi.

Tablo 4.2 : Boş ve DOKS yüklü misellerin farklı zamanlarda ölçülen DLS dataları.

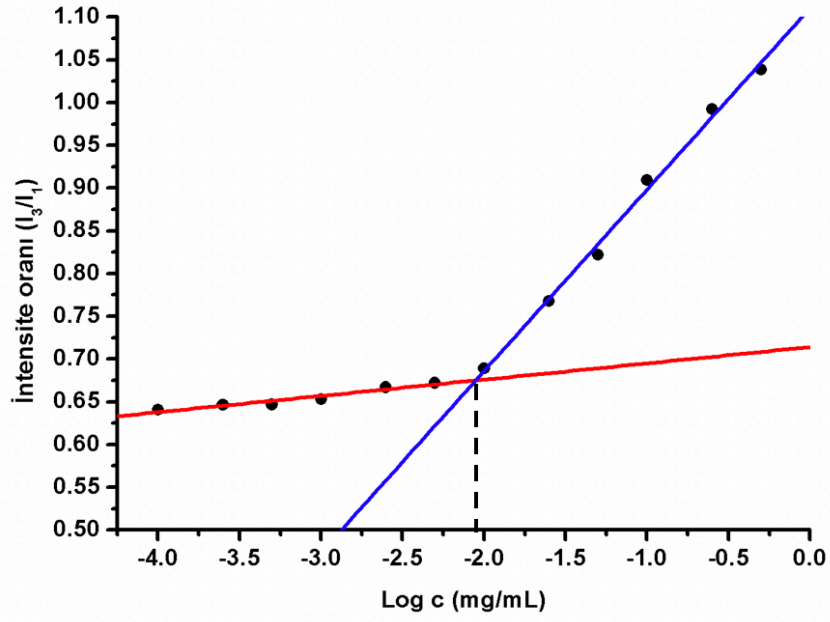
	R_h (nm)		
	1 gün	3 gün	60 gün
Boş Misel	79.923 ± 1.448	80.36 ± 3.99	77.76 ± 1.40
DOKS Yüklü Misel	150.789 ± 4.607	150.171 ± 4.607	146.22 ± 0.937

Misellerin morfolojisi Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) ile görüntülendi (Şekil 4.16). Misellerin monodisper ve küresel olduğu belirlendi. Boş misellerin 65 nm ve DOKS yüklü misellerin 95 nm çapında olduğu tespit edildi.



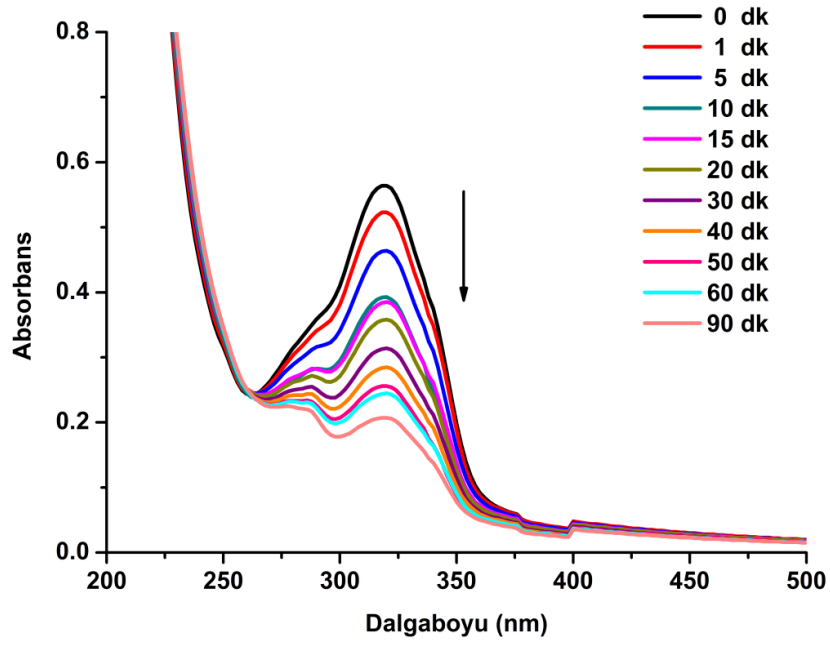
Şekil 4.16 : A) Boş misellerin ve B) DOKS yüklü misellerin TEM görüntüleri.

Kritik misel konsantrasyonunun belirlenmesi için giderek azalan farklı konsantrasyondaki misel çözeltilerinin içine floresan özelliği olan piren molekülü eklendi ve ELISA ile floresans ölçümü alındı. Çözeltiler 334 nm’de uyarılarak 384 nm ve 373 nm’deki intensite değerleri oranlandı (I_3/I_1). Bu intensite oranı kopolimer konsantrasyonunun logaritmasına karşı grafiğe geçirilerek en uygun iki doğrunun kesişim noktasından sulu ortamda kararlı misellerin oluşumu için gereken minimum polimer konsantrasyonuna karşılık gelen kritik misel konsantrasyonu 9.1 µg/mL olarak belirlendi (Şekil 4.17).

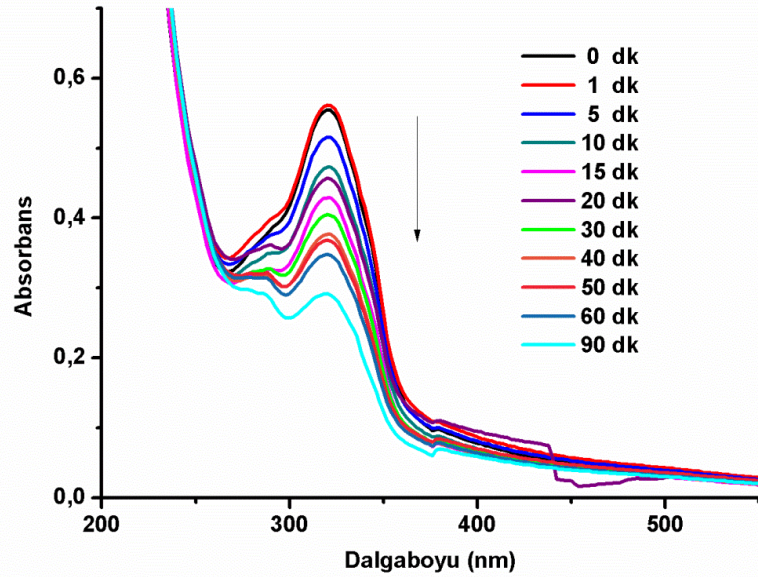


Şekil 4.17 : Kritik misel konsantrasyonu (CMC).

(PGMA-*g*-PrCUM)-*b*-POEGMA amfilik kopolimerinde bulunan kumarin gruplarının UV ışık altında fotodimerizasyon yaptığı bilinmektedir. Bu polimer ile oluşturulan misellerin çekirdeğinde konumlanan kumarin gruplarının aydınlatma sonucunda dimerleşmesini incelemek amacıyla 350 nm'de aydınlatma yapılarak absorpsiyon spektrumundaki değişiklikler incelendi. Hem boş misellerin hem de DOKS yüklü misellerin absorpsiyonlarının aydınlatma sonucunda zamanla azaldığı gözlemlendi (Şekil 4.18 ve Şekil 4.19). Bu durum misellerin çekirdek kısmındaki kumarin gruplarının dimerleşerek bir çeşit çapraz bağlanmaya sebep olduğunu gösterdi.

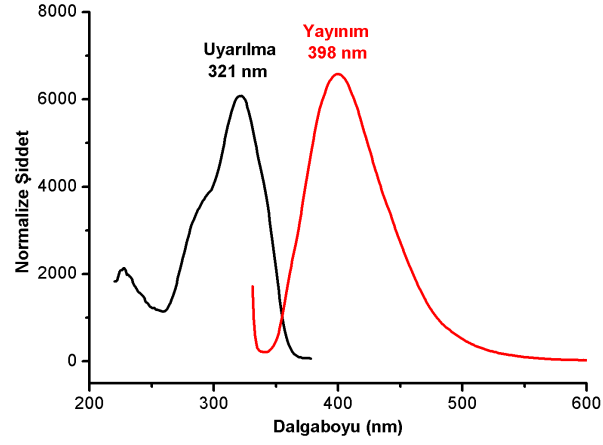


Şekil 4.18 : 350 nm’de aydınlatılan boş misel [0.1 mg/mL] sulu çözeltisinin UV-Vis spektrumunda gözlenen zamana bağlı değişim.

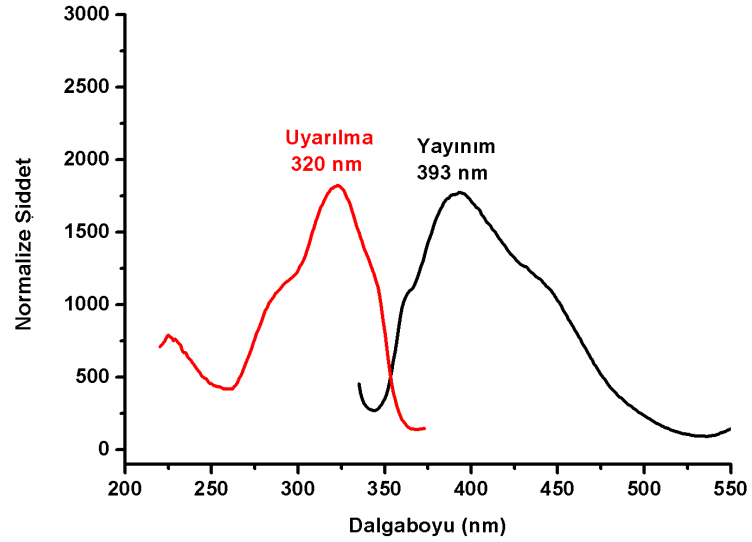


Şekil 4.19 : 350 nm’de aydınlatılan DOKS yüklü misel [0.1 mg/mL] sulu çözeltisinin UV-Vis spektrumunda gözlenen zamana bağlı değişim.

Oluştrulan boş ve DOKS yüklü misellerin floresans spektrumları Şekil 4.20 ve Şekil 4.21’de gösterildi. Boş miselin su içerisinde uyarılma dalga boyu 321 nm ve yayınım dalga boyunun 398 nm olduğu görüldü. DOKS yüklü miselin ise su içerisinde uyarılma dalga boyu 320 nm ve yayınım dalga boyu 393 nm olarak ölçüldü. Elde edilen bu sonuçlar yapı içerisinde kumarinin varlığını gösterdi.



Şekil 4.20 : Boş miselin [0.1 mg/mL] su içerisinde çekilen floresans spektrumu.



Şekil 4.21 : DOKS yüklü miselin [0.11 mg/mL] su içerisinde çekilen floresans spektrumu.

İlgili denklemler kullanılarak DOKS yükleme (DL) değeri % 1.1 ve enkapsülasyon verimi (EE) % 8.4 olarak hesaplandı. 10 mg (PGMA-g-PrCUM)-b-POEGMA ve 1 mg DOKS kullanılarak oluşturulan miselin teorik ilaç yükleme değeri;

Teorik ilaç yükleme (TDL)= $(1/11) \times 100 = \% 9.09$

olarak hesaplandı.

Literatürde ilaç enkapsülasyon verimi ayrıca deneysel olarak elde edilen ilaç yükleme değerinin teorik ilaç yükleme değerine oranlanmasıyla da elde edilmektedir.

Buna göre;

EE= $(1.1/9.09) \times 100 = \% 12.1$

olarak hesaplandı.

5. SONUÇ

Sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda, (PGMA-*g*-PrCUM)-*b*-POEGMA kopolimeri başarılı şekilde sentezlenmiş ve istenilen boyutlarda misel oluşturulup DOKS yüklenmiştir. GMA monomeri RAFT polimerizasyonu ile polimerleştirildikten sonra GPC ile karakterize edilmiş, ‘click’ kimyası metoduyla da PGMA-*g*-N₃ polimerine kumarin (PrCUM) molekülü takılmıştır. Elde edilen polimerler FT-IR, ¹H NMR, UV-Vis, floresans ve DSC ile karakterize edilmiştir. Işığa duyarlı kumarin molekülünün polimer yapısında bulunduğu UV-Vis ve floresans ölçümleriyle desteklenmiştir.

(PGMA-*g*-PrCUM)-*b*-POEGMA kopolimeri ile hem boş hem de DOKS yüklü miseller oluşturulmuş, misellerin ortalama boyutları DLS ile ölçülmüş ve TEM görüntüleri ile karşılaştırılmıştır. DLS ve TEM görüntülerinden elde edilen sonuçların birbiri ile tutarlılık gösterdiği gözlenmiştir. Kumarin molekülünün misel içindeki dimerleşme davranışını incelemek için belirli sürelerde 350 nm dalga boyunda aydınlatma yapılarak DLS, UV-Vis ve floresans ölçümleri alınmıştır. Dimerleşmenin partikül boyutunda bir değişiklik yaratmadığı, ancak UV absorpsiyonunda zamanla azalma olduğu görülmüştür. Misellerin ilaç yükleme ve enkapsülasyon verimleri hesaplanmış, literatürdekine benzer sonuçların elde edildiği tespit edilmiştir.

Tez çalışmasından elde edilen misellerin hücre kültürü çalışmalarının yapılması durumunda literatüre yeni ve etkili bir polimerik ilaç taşıma sistemi kazandırılacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] **Harris, F. W.** (1981). Introduction to polymer chemistry. *Journal of Chemical Education*, 58(11), 837.
- [2] **Ryu, J. S. ve Raucher, D.** (2015). Elastin-like polypeptide for improved drug delivery for anticancer therapy: preclinical studies and future applications. *Expert opinion on drug delivery*, 12(4), 653-667.
- [3] **Xiang, D., Shigdar, S., Qiao, G., Wang, T., Kouzani, A. Z., Zhou, S. F., Kong, L., Li, Y., Pu, C. ve Duan, W.** (2015). Nucleic acid aptamer-guided cancer therapeutics and diagnostics: the next generation of cancer medicine. *Theranostics*, 5(1), 23-42.
- [4] **Dragojevic, S., Ryu, J. S. ve Raucher, D.** (2015). Polymer-Based Prodrugs: Improving Tumor Targeting and the Solubility of Small Molecule Drugs in Cancer Therapy. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 20(12), 21750-21769.
- [5] **Qi, L. ve Xu, Z.** (2006). In vivo antitumor activity of chitosan nanoparticles. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 16(16), 4243-4245.
- [6] **Neuse, E. W.** (2008). Synthetic polymers as drug-delivery vehicles in medicine. *Metal-based drugs, 2008*, 469531-469531.
- [7] **Mardare, D. ve Matyjaszewski, K.** (1994). "Living" radical polymerization of vinyl acetate. *Macromolecules*, 27(3), 645-649.
- [8] **Moad, G. ve Solomon, D. H.** (2005). *The Chemistry of Radical Polymerization*. Elsevier Science.
- [9] **Matyjaszewski, K. ve Tsarevsky, N. V.** (2009). Nanostructured functional materials prepared by atom transfer radical polymerization. *Nature chemistry*, 1(4), 276-288.
- [10] **Patten, T. E. ve Matyjaszewski, K.** (1999). Copper(I)-Catalyzed Atom Transfer Radical Polymerization. *Accounts of Chemical Research*, 32(10), 895-903.
- [11] **Matyjaszewski, K.** (2012). Atom Transfer Radical Polymerization (ATRP): Current Status and Future Perspectives. *Macromolecules*, 45(10), 4015-4039.
- [12] **Hawker, C. J., Bosman, A. W. ve Harth, E.** (2001). New Polymer Synthesis by Nitroxide Mediated Living Radical Polymerizations. *Chemical Reviews*, 101(12), 3661-3688.
- [13] **Sciannamea, V., Jérôme, R. ve Detrembleur, C.** (2008). In-Situ Nitroxide-Mediated Radical Polymerization (NMP) Processes: Their Understanding and Optimization. *Chemical Reviews*, 108(3), 1104-1126.
- [14] **Husseman, M., Malmström, E. E., McNamara, M., Mate, M., Mecerreyes, D., Benoit, D. G., Hedrick, J. L., Mansky, P., Huang, E., Russell, T. P. ve Hawker, C. J.** (1999). Controlled Synthesis of Polymer Brushes by "Living" Free Radical Polymerization Techniques. *Macromolecules*, 32(5), 1424-1431.

- [15] **Akeroyd, N. ve Klumperman, B.** (2011). The combination of living radical polymerization and click chemistry for the synthesis of advanced macromolecular architectures. *European Polymer Journal*, 47(6), 1207-1231.
- [16] **Benoit, D., Chaplinski, V., Braslau, R. ve Hawker, C. J.** (1999). Development of a Universal Alkoxyamine for “Living” Free Radical Polymerizations. *Journal of the American Chemical Society*, 121(16), 3904-3920.
- [17] **Cuervo-Rodríguez, R., Bordegé, V., Carmen Fernández-Monreal, M., Fernández-García, M. ve L. Madruga, E.** (2004). Nitroxide-mediated free-radical copolymerization of styrene with butyl acrylate. 4168-4176 s.
- [18] **Detrembleur, C., Claes, M. ve Jerome, R.** (2003). Controlled Radical Polymerization of Alkyl Methacrylates in the Presence of NO/NO₂ Mixtures. *Advances in Controlled/Living Radical Polymerization ACS Symposium Series*. Cilt 854, ss. 496-518): American Chemical Society.
- [19] **Mishra, M. ve Yagci, Y.** (2016). *Handbook of Vinyl Polymers: Radical Polymerization, Process, and Technology, Second Edition*. CRC Press.
- [20] **Chiefari, J., Chong, Y. K., Ercole, F., Krstina, J., Jeffery, J., Le, T. P. T., Mayadunne, R. T. A., Meijs, G. F., Moad, C. L., Moad, G., Rizzardo, E. ve Thang, S. H.** (1998). Living Free-Radical Polymerization by Reversible Addition–Fragmentation Chain Transfer: The RAFT Process. *Macromolecules*, 31(16), 5559-5562.
- [21] **Mayadunne, R. T. A., Rizzardo, E., Chiefari, J., Krstina, J., Moad, G., Postma, A. ve Thang, S. H.** (2000). Living Polymers by the Use of Trithiocarbonates as Reversible Addition–Fragmentation Chain Transfer (RAFT) Agents: ABA Triblock Copolymers by Radical Polymerization in Two Steps. *Macromolecules*, 33(2), 243-245.
- [22] **Keddie, D. J.** (2014). A guide to the synthesis of block copolymers using reversible-addition fragmentation chain transfer (RAFT) polymerization. *Chemical Society Reviews*, 43(2), 496-505.
- [23] **Charleux, B., Delaittre, G., Rieger, J. ve D’Agosto, F.** (2012). Polymerization-Induced Self-Assembly: From Soluble Macromolecules to Block Copolymer Nano-Objects in One Step. *Macromolecules*, 45(17), 6753-6765.
- [24] **McKenzie, T. G., Fu, Q., Uchiyama, M., Satoh, K., Xu, J., Boyer, C., Kamigaito, M. ve Qiao, G. G.** (2016). Beyond Traditional RAFT: Alternative Activation of Thiocarbonylthio Compounds for Controlled Polymerization. *Advanced Science*, 3(9), 1500394.
- [25] **Kolb, H. C. ve Sharpless, K. B.** (2003). The growing impact of click chemistry on drug discovery. *Drug discovery today*, 8(24), 1128- 1137.
- [26] **Kolb, H. C., Finn, M. G. ve Sharpless, K. B.** (2001). Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angewandte Chemie (International ed in English)*, 40(11), 2004-2021.

- [27] **Binder, W. H. ve Sachsenhofer, R.** (2008). ‘Click’ Chemistry in Polymer and Material Science: An Update. *Macromolecular Rapid Communications*, 29(12-13), 952-981.
- [28] **Adolfsson, H., Converso, A. ve Sharpless, K. B.** (1999). Comparison of amine additives most effective in the new methyltrioxorhenium-catalyzed epoxidation process. *Tetrahedron Letters*, 40(21), 3991-3994.
- [29] **Kolb, H. C., VanNieuwenhze, M. S. ve Sharpless, K. B.** (1994). Catalytic Asymmetric Dihydroxylation. *Chemical Reviews*, 94(8), 2483-2547.
- [30] **KÜHLE, E.** (1971). One Hundred Years of Sulfenic Acid Chemistry II a. Oxidation, Reduction, and Addition Reactions of Sulfenyl Halides I. *Synthesis*, 1971(11), 563-586.
- [31] **Hein, C. D., Liu, X.-M. ve Wang, D.** (2008). Click Chemistry, A Powerful Tool for Pharmaceutical Sciences. *Pharmaceutical Research*, 25(10), 2216-2230.
- [32] **Palomo, J. M.** (2012). Click reactions in protein chemistry: from the preparation of semisynthetic enzymes to new click enzymes. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 10(47), 9309-9318.
- [33] **Huisgen, R.** (1963). 1,3-Dipolar Cycloadditions. Past and Future. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 2(10), 565-598.
- [34] **Khau, V. V. ve Martinelli, M. J.** (1996). 1,3-Dipolar cycloreversion of a 1,3,4-oxadiazolidine as a controlled azomethine imine surrogate for pyrazolidine synthesis. *Tetrahedron Letters*, 37(25), 4323-4326.
- [35] **Bock, V. D., Hiemstra, H. ve van Maarseveen, J. H.** (2006). CuI-Catalyzed Alkyne–Azide “Click” Cycloadditions from a Mechanistic and Synthetic Perspective. *European Journal of Organic Chemistry*, 2006(1), 51-68.
- [36] **Himo, F., Lovell, T., Hilgraf, R., Rostovtsev, V. V., Noodleman, L., Sharpless, K. B. ve Fokin, V. V.** (2005). Copper(I)-Catalyzed Synthesis of Azoles. DFT Study Predicts Unprecedented Reactivity and Intermediates. *Journal of the American Chemical Society*, 127(1), 210-216.
- [37] **Rodionov, V. O., Fokin, V. V. ve Finn, M. G.** (2005). Mechanism of the ligand-free CuI-catalyzed azide-alkyne cycloaddition reaction. *Angewandte Chemie (International ed in English)*, 44(15), 2210-2215.
- [38] **Brase, S., Gil, C., Knepper, K. ve Zimmermann, V.** (2005). Organic azides: an exploding diversity of a unique class of compounds. *Angewandte Chemie (International ed in English)*, 44(33), 5188-5240.
- [39] **Johnson, J. A., Lewis, D. R., Díaz, D. D., Finn, M. G., Koberstein, J. T. ve Turro, N. J.** (2006). Synthesis of Degradable Model Networks via ATRP and Click Chemistry. *Journal of the American Chemical Society*, 128(20), 6564-6565.
- [40] **Vogt, A. P. ve Sumerlin, B. S.** (2006). An Efficient Route to Macromonomers via ATRP and Click Chemistry. *Macromolecules*, 39(16), 5286-5292.
- [41] **Bertrand, O. ve Gohy, J.-F.** (2017). Photo-responsive polymers: synthesis and applications. *Polymer Chemistry*, 8(1), 52-73.

- [42] Huang, Y., Dong, R., Zhu, X. ve Yan, D. (2014). Photo-responsive polymeric micelles. *Soft Matter*, 10(33), 6121-6138.
- [43] Larson, N. ve Ghandehari, H. (2012). Polymeric conjugates for drug delivery. *Chemistry of materials : a publication of the American Chemical Society*, 24(5), 840-853.
- [44] Gohy, J.-F. ve Zhao, Y. (2013). Photo-responsive block copolymer micelles: design and behavior. *Chemical Society Reviews*, 42(17), 7117-7129.
- [45] Shin, D. H., Tam, Y. T. ve Kwon, G. S. (2016). Polymeric micelle nanocarriers in cancer research. *Frontiers of Chemical Science and Engineering*, 10(3), 348-359.
- [46] Wang, G., Tong, X. ve Zhao, Y. (2004). Preparation of Azobenzene-Containing Amphiphilic Diblock Copolymers for Light-Responsive Micellar Aggregates. *Macromolecules*, 37(24), 8911-8917.
- [47] Gil'man, A. B. ve Drachev, A. I. (2006). Plasma-chemical synthesis and properties of polymer semiconductors and prospects for their use. *High Energy Chemistry*, 40(2), 70-78.
- [48] Bouas-Laurent, H., Castellan, A., Desvergne, J.-P. ve Lapouyade, R. (2000). Photodimerization of anthracenes in fluid solution: structural aspects. *Chemical Society Reviews*, 29(1), 43-55.
- [49] Ferguson, J., Morita, M. ve Puza, M. (1976). Conformation effects in the spectroscopy and photochemistry of 1,2-di(9-anthryl)ethane. A model for the anthracene "excimer". *Chemical Physics Letters*, 42(2), 288-292.
- [50] Medishetty, R., Park, I.-H., Lee, S. S. ve Vittal, J. J. (2016). Solid-state polymerisation via [2+2] cycloaddition reaction involving coordination polymers. *Chemical Communications*, 52(21), 3989-4001.
- [51] Medishetty, R., Husain, A., Bai, Z., Runcevski, T., Dinnebier, R. E., Naumov, P. ve Vittal, J. J. (2014). Single crystals popping under UV light: a photosalient effect triggered by a [2+2] cycloaddition reaction. *Angewandte Chemie (International ed in English)*, 53(23), 5907-5911.
- [52] Yang, S.-Y., Naumov, P. ve Fukuzumi, S. (2009). Topochemical Limits for Solid-State Photoreactivity by Fine Tuning of the π - π Interactions. *Journal of the American Chemical Society*, 131(21), 7247-7249.
- [53] MacGillivray, L. R., Reid, J. L. ve Ripmeester, J. A. (2000). Supramolecular Control of Reactivity in the Solid State Using Linear Molecular Templates. *Journal of the American Chemical Society*, 122(32), 7817-7818.
- [54] Ramamurthy, V. ve Venkatesan, K. (1987). Photochemical reactions of organic crystals. *Chemical Reviews*, 87(2), 433-481.
- [55] Cohen, M. D., Schmidt, G. M. J. ve Sonntag, F. I. (1964). 384. Topochemistry. Part II. The photochemistry of trans-cinnamic acids. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, (0), 2000-2013.
- [56] Cohen, M. D. ve Schmidt, G. M. J. (1964). 383. Topochemistry. Part I. A survey. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, (0), 1996-2000.
- [57] Benedict, J. B. ve Coppens, P. (2009). Kinetics of the Single-Crystal to Single-Crystal Two-Photon Photodimerization of α -trans-Cinnamic

- Acid to α -Truxillic Acid. *The Journal of Physical Chemistry A*, 113(13), 3116-3120.
- [58] **Ding, J. ve Liu, G.** (1998). Polystyrene-block-poly(2-cinnamoyl ethyl methacrylate) Nanospheres with Cross-Linked Shells. *Macromolecules*, 31(19), 6554-6558.
- [59] **Wu, X., Karsili, T. N. V. ve Domcke, W.** (2017). Role of Electron-Driven Proton-Transfer Processes in the Ultrafast Deactivation of Photoexcited Anionic 8-oxoGuanine-Adenine and 8-oxoGuanine-Cytosine Base Pairs. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 22(1), 135.
- [60] **Climent, T., González-Ramírez, I., González-Luque, R., Merchán, M. ve Serrano-Andrés, L.** (2010). Cyclobutane Pyrimidine Photodimerization of DNA/RNA Nucleobases in the Triplet State. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 1(14), 2072-2076.
- [61] **Blancafort, L. ve Migani, A.** (2007). Modeling Thymine Photodimerizations in DNA: Mechanism and Correlation Diagrams. *Journal of the American Chemical Society*, 129(47), 14540-14541.
- [62] **Olmon, E. ve Kohler, B.** (2005). *Circular dichroism studies of solvent effects on the photodegradation of the thymidylic acid 18-mer.*
- [63] **Hanawalt, P.** (2012). *Molecular Mechanisms for Repair of DNA.* Springer US.
- [64] **Schraub, M., Gray, H. ve Hampp, N.** (2011). Selective [2 + 2]-Cycloaddition in Methacrylic Stilbene Polymers without Interference from E/Z-Isomerization. *Macromolecules*, 44(22), 8755-8762.
- [65] **Goodall, G. W. ve Hayes, W.** (2006). Advances in cycloaddition polymerizations. *Chem Soc Rev*, 35(3), 280-312.
- [66] **Doi, T., Kashida, H. ve Asanuma, H.** (2015). Efficiency of [2 + 2] photodimerization of various stilbene derivatives within the DNA duplex scaffold. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 13(15), 4430-4437.
- [67] **Egan, D., O'Kennedy, R., Moran, E., Cox, D., Prosser, E. ve Thornes, R. D.** (1990). The pharmacology, metabolism, analysis, and applications of coumarin and coumarin-related compounds. *Drug metabolism reviews*, 22(5), 503-529.
- [68] **Sethna, S. M. ve Shah, N. M.** (1945). The Chemistry of Coumarins. *Chemical Reviews*, 36(1), 1-62.
- [69] **Lacy, A. ve O'Kennedy, R.** (2004). Studies on coumarins and coumarin-related compounds to determine their therapeutic role in the treatment of cancer. *Current pharmaceutical design*, 10(30), 3797-3811.
- [70] **Musa, M. A., Cooperwood, J. S. ve Khan, M. O.** (2008). A review of coumarin derivatives in pharmacotherapy of breast cancer. *Current medicinal chemistry*, 15(26), 2664-2679.
- [71] **Graham-Lorence, S., Khalil, M. W., Lorence, M. C., Mendelson, C. R. ve Simpson, E. R.** (1991). Structure-function relationships of human aromatase cytochrome P-450 using molecular modeling and site-directed mutagenesis. *The Journal of biological chemistry*, 266(18), 11939-11946.
- [72] **Soto-Nuñez, M., Díaz-Morales, K. A., Cuautle-Rodríguez, P., Torres-Flores, V., López-González, J. S., Mandoki-Weitzner, J. J. ve**

- Molina-Guarneros, J. A.** (2015). Single-cell microinjection assay indicates that 7-hydroxycoumarin induces rapid activation of caspase-3 in A549 cancer cells. *Experimental and therapeutic medicine*, 10(5), 1789-1795.
- [73] **Fentem, J. H., Fry, J. R. ve Whiting, D. A.** (1991). o-hydroxyphenylacetaldehyde: A major novel metabolite of coumarin formed by rat, gerbil and human liver microsomes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 179(1), 197-203.
- [74] **Hoult, J. R. S. ve Payá, M.** (1996). Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: Natural products with therapeutic potential. *General Pharmacology: The Vascular System*, 27(4), 713-722.
- [75] **Jain, P. ve Joshi, H.** (2012). *Coumarin: Chemical and pharmacological profile*. 236-240 s.
- [76] **Corrales, T., Abrusci, C., Peinado, C. ve Catalina, F.** (2004). Fluorescent Sensor as Physical Amplifier of Chemiluminescence: Application to the Study of Poly(ethylene terephthalate). *Macromolecules*, 37(17), 6596-6605.
- [77] **Trenor, S. R., Shultz, A. R., Love, B. J. ve Long, T. E.** (2004). Coumarins in polymers: from light harvesting to photo-cross-linkable tissue scaffolds. *Chem Rev*, 104(6), 3059-3077.
- [78] **Williams, R. H.** (2016). *Spectroscopy: New Uses and Implications*. Apple Academic Press.
- [79] **He, J., Tremblay, L., Lacelle, S. ve Zhao, Y.** (2011). Preparation of polymer single chain nanoparticles using intramolecular photodimerization of coumarin. *Soft Matter*, 7(6), 2380-2386.
- [80] **Jones, G. ve Jimenez, J. A. C.** (2001). Azole-linked coumarin dyes as fluorescence probes of domain-forming polymers. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 65(1), 5-12.
- [81] **Rwei, A. Y., Wang, W. ve Kohane, D. S.** (2015). Photoresponsive nanoparticles for drug delivery. *Nano Today*, 10(4), 451-467.
- [82] **Liu, G., Liu, W. ve Dong, C.-M.** (2013). UV- and NIR-responsive polymeric nanomedicines for on-demand drug delivery. *Polymer Chemistry*, 4(12), 3431-3443.
- [83] **Jiang, J., Qi, B., Lepage, M. ve Zhao, Y.** (2007). Polymer Micelles Stabilization on Demand through Reversible Photo-Cross- Linking. *Macromolecules*, 40(4), 790-792.
- [84] **Babin, J., Lepage, M. ve Zhao, Y.** (2008). "Decoration" of Shell Cross-Linked Reverse Polymer Micelles Using ATRP: A New Route to Stimuli-Responsive Nanoparticles. *Macromolecules*, 41(4), 1246-1253.
- [85] **Tian, L., Li, X., Zhao, P., Chen, X., Ali, Z., Ali, N., Zhang, B., Zhang, H. ve Zhang, Q.** (2015). Generalized Approach for Fabricating Monodisperse Anisotropic Microparticles via Single-Hole Swelling PGMA Seed Particles. *Macromolecules*, 48(20), 7592- 7603.
- [86] **Zhao, Y., Duan, S., Yu, B., Liu, F.-S., Cheng, G. ve Xu, F.-J.** (2015). *Gd(III) ion-chelated supramolecular assemblies composed of PGMA-based polycations for effective biomedical applications*. e197 s.
- [87] **Sun, X., Yang, L., Xing, H., Zhao, J., Li, X., Huang, Y. ve Liu, H.** (2014). High capacity adsorption of Cr(VI) from aqueous solution using polyethylenimine-functionalized poly(glycidyl methacrylate)

- microspheres. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 457, 160-168.
- [88] **Fan, X., Jia, X., Liu, J., Liu, Y., Zhang, H., Zhang, B., Zhang, H. ve Zhang, Q.** (2017). Morphology evolution of poly(glycidyl methacrylate) colloids in the 1,1-diphenylethene controlled soap-free emulsion polymerization. *European Polymer Journal*, 92, 220-232.
- [89] **Gadwal, I., Stuparu, M. C. ve Khan, A.** (2015). Homopolymer bifunctionalization through sequential thiol–epoxy and esterification reactions: an optimization, quantification, and structural elucidation study. *Polymer Chemistry*, 6(8), 1393-1404.
- [90] **Muzammil, Ezzah M., Khan, A. ve Stuparu, M. C.** (2017). Post-polymerization modification reactions of poly(glycidyl methacrylate)s. *RSC Advances*, 7(88), 55874-55884.
- [91] **Li, S. ve Gao, C.** (2013). Dendritic molecular brushes: synthesis via sequential RAFT polymerization and cage effect for fluorophores. *Polymer Chemistry*, 4(16), 4450-4460.
- [92] **Zhao, C., Wu, D., Lian, X., Zhang, Y., Song, X. ve Zhao, H.** (2010). Amphiphilic Asymmetric Comb Copolymer with Pendant Pyrene Groups and PNIPAM Side Chains: Synthesis, Photophysical Properties, and Self-Assembly. *The Journal of Physical Chemistry B*, 114(19), 6300-6308.
- [93] **Arcau, J., Andermark, V., Aguiló, E., Gandioso, A., Moro, A., Cetina, M., Lima, J. C., Rissanen, K., Ott, I. ve Rodríguez, L.** (2014). Luminescent alkynyl-gold(i) coumarin derivatives and their biological activity. *Dalton Transactions*, 43(11), 4426-4436.
- [94] **Zhu, J., Zhou, D., Zhu, X. ve Chen, G.** (2004). Reversible addition–fragmentation chain transfer polymerization of glycidyl methacrylate with 2-cyanoprop-2-yl 1-dithionaphthalate as a chain-transfer agent. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 42(10), 2558-2565.
- [95] **Luo, H., Santos, J. L. ve Herrera-Alonso, M.** (2014). Toroidal structures from brush amphiphiles. *Chemical Communications*, 50(5), 536- 538.

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Merve Keklik
Doğum Tarihi ve Yeri : 03.03.1992 - Fatih
E-posta : merve.keklikk@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : Haliç Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik, 08.07.2014

DİĞER YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

Keklik M., Temel B. A., "Synthesis, Characterization and Drug Delivery Applications of Photoresponsive Coumarin Functional Amphiphilic Copolymers", *6th International BAU Drug Design Congress*, İstanbul, Türkiye, 13-15 Aralık 2018.