



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**FARKLI ZİNCİR UZUNLUKLARINA SAHİP
ALKİLEYİCİ AJANLARLA POLİ(4-
VİNİLPİRİDİN-CO-N-VİNİLPİRİDİN)
KOPOLİMERİNİN KUARTERNİZASYONU VE
ANTİBAKTERİYEL UYGULAMALARI**

DAMLA GÖKKAYA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

POLİMER BİLİMİ VE TEKNOLOJİLERİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Doç. Dr. Suzan ABDURRAHMANOĞLU

EŞ-DANIŞMAN

Doç. Dr. M. Murat ÖZMEN

İSTANBUL, 2019



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**FARKLI ZİNCİR UZUNLUKLARINA SAHİP
ALKİLLEYİCİ AJANLARLA POLİ(4-
VİNİLPİRİDİN-CO-N-VİNİLPİRİDİN)
KOPOLİMERİNİN KUARTERNİZASYONU VE
ANTİBAKTERİYEL UYGULAMALARI**

DAMLA GÖKKAYA

526617010

YÜKSEK LİSANS TEZİ

POLİMER BİLİMİ VE TEKNOLOJİLERİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Doç. Dr. Suzan ABDURRAHMANOĞLU

EŞ-DANIŞMAN

Doç. Dr. M. Murat ÖZMEN

İSTANBUL, 2019

MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Öğrencisi Damla GÖKKAYA'nın "Farklı Zincir Uzunluklarına Sahip Alkilleyici Ajanlarla Poli(4-vinilpiridin-co-N-vinilpirolidon) Kopolimerlerinin Kuarternizasyonu ve Antibakteriyel Uygulamaları" başlıklı tez çalışması, 24 Haziran 2019 tarihinde savunulmuş ve jüri üyeleri tarafından başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri

Doç.Dr. Suzan ABDURRAHMANOĞLU (Danışman)

Marmara Üniversitesi



Prof.Dr. Sevim KARATAŞ (Üye)

Marmara Üniversitesi



Doç.Dr. Aslıhan GÜNEL (Üye)


Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi



ONAY

Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ^{26.06.2019} tarih ve ^{2019/13-08} sayılı kararı ile Damla GÖKKAYA'nın Polimer Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalında Yüksek Lisans derecesi alması onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü


Prof. Dr. Bülent EKİCİ
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Öncelikle tez danışmanım Doç. Dr. Suzan ABDURRAHMANOĞLU'na lisansüstü çalışmalarına olan desteklerini, tavsiyelerini ve zamanlarını benimle oldukça verimli bir şekilde paylaştığı ve tez çalışmalarım boyunca beni desteklediği için en içten teşekkürlerimi sunarım.

Eş danışmanım Doç.Dr. M. Murat ÖZMEN'e lisansüstü çalışmalarım boyunca üzerimden desteklerini ve tavsiyelerini eksik etmediği, zamanlarını oldukça verimli bir şekilde benimle paylaştığı ve tez çalışmalarım sürecinde araştırılması ve yazılması için bana her zaman yardımcı olduğu için içtenlikle teşekkür ederim.

Lisansüstü çalışmalarım boyunca üzerimden desteğini ve bilgi birikimini eksik etmediği, bilgileriyle bana her zaman yol gösterdiği, bilimsel çalışmalar yapma sevgisini aşıladığı ve değerli çalışma zamanlarını paylaştığı için Dr. Öğr. Üyesi Murat TOPUZOĞULLARI'na çok teşekkür ederim.

Lisansüstü tez çalışmamın antibakteriyel testlerinin yapılmasına yardımcı oldukları için Doç. Dr. Tülin ARASOĞLU ve lisansüstü öğrenci Kübra TRABZONLU'ya en içten teşekkürlerimi ve minnetlerimi sunarım.

Lisansüstü çalışmalarımda sonsuz destekleri ve paylaşımları için öncelikle H. Kübra BAYRAKTAR'a, Serap HAFIZOĞLU'na, İlke ŞAHİN'e, M.Şeyma KADAYIFÇI'ya ve Tayfun ACAR'a ve YTÜ 306-307 Polimer-Aşı laboratuvarındaki arkadaşlarıma çok teşekkür ederim. Yıldız Teknik Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü ve Marmara Üniversitesi Kimya Bölümü çalışanlarına ve Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Doç.Dr. Cenks Sesal' teşekkür ederim. Ayrıca tez çalışmalarım boyunca beni motive eden ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili arkadaşım Ömer ÖZBURUN'a çok teşekkür ederim.

Son olarak, beni bugünlere getiren ve maddi-manevi desteklerini bir an bile olsa üzerimden eksik etmeyen canım ailem Özden GÖKKAYA, Mücahit GÖKKAYA ve ablam Gizem GÖKKAYA'ya attığım her adımda beni sevgileriyle destekledikleri için en özel teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma M.Ü BAPKO- FEN-C-YLP-130319-0070 no'lu proje ile desteklenmiştir.

Haziran, 2019

Damla GÖKKAYA

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
SEMBOLLER.....	vi
KISALTMALAR.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
TABLO LİSTESİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Tezin Amacı.....	3
1.3. Patojenik Mikroorganizmalar.....	4
1.3.1. Bakteriler.....	4
1.3.2. Bakterilerin İlaç Direnci.....	7
1.4. Antibakteriyel Polimerler.....	8
1.4.1. Antibakteriyel Polimerlerin Sınıflandırılması.....	8
1.4.2. Antibakteriyel Polimerlerin Etki Mekanizması.....	13
1.4.3. Antibakteriyel Polimerlerin Çalışma Mekanizmasını Etkileyen Faktörler.....	17
1.4.4. Antibakteriyel Katyonik Polimerlerin Uygulamaları.....	19
1.5. Amin Grubu İçeren Polimerlerde Kuarternizasyon Reaksiyonu.....	22
2. MATERYAL VE YÖNTEMLER.....	26
2.1. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER.....	26
2.2. DENEYSEL YÖNTEMLER.....	29
2.2.1. P(4VP-co-NVP) Kopolimerinin Serbest Radikal Polimerizasyonu ile Sentezi.....	29
2.2.2. P(4VP-co-NVP)'nin Farklı Zincir Uzunluklarına Sahip Alkilbromürlerle Kuarternizasyonu.....	30
2.3. KARAKTERİZASYON.....	31
2.3.1. Polimerlerin Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) Analizi.....	31
2.3.2. Polimerlerin ¹ H-NMR Spektroskopisi ile Analizi.....	32
2.3.3. Jel Geçirgenlik Kromatografisi (GPC) Analizi.....	32
2.3.4. Polimerlerin Dinamik ve Elektroforetik Işık Saçılması Spektroskopisi ile Analizi.....	32

2.4. ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	32
2.4.1. Besiyeri ve Çözeltilerin Hazırlanması.....	33
2.4.2. Bakteriyel Süspansiyonların Hazırlanması	33
2.4.3. Agar Kuyucuk Difüzyon Testi	33
2.4.4. Broth Mikrodilüsyon Yöntemi.....	34
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	34
3.1. P(4VP-co-NVP) Kopolimerinin Sentezi ve Karakterizasyonu	34
3.2. Kopolimerin Kuarternerleştirilmesi ve Karakterizasyonları.....	37
3.2.1. Alkilbromürlerle Kuarternerleştirilmiş P(4VP-co-NVP) Kopolimerlerinin FTIR Spektroskopisi Analizleri	37
3.2.2. Alkilbromürlerle Kuarternerleştirilmiş P(4VP-co-NVP) Kopolimerlerinin ¹ H-NMR Spektroskopisi ile Analizi.....	39
3.2.3. Alkilbromürlerle Kuarternerleştirilmiş P(4VP-co-NVP) Kopolimerlerinin Dinamik ve Elektroforetik Işık Saçılması Analizleri.....	42
3.3. Alkilbromürlerle Kuarternerleştirilmiş P(4VP-co-NVP) Kopolimerlerin Antibakteriyel Testleri.....	46
4. SONUÇLAR	52
KAYNAKLAR.....	54
ÖZGEÇMİŞ.....	62

ÖZET

FARKLI ZİNCİR UZUNLUKLARINA SAHİP ALKİLLEYİCİ AJANLARLA POLİ(4-VİNİLPİRİDİN-CO-N-VİNİLPİROLİDON) KOPOLİMERİNİN KUARNİZASYONU VE ANTİBAKTERİYEL UYGULAMALARI

Patojenik mikroorganizmalar bulaşıcı hastalıklara yol açarak önemli halk sağlığı problemlerine sebep olabilmektedir. Hastalık oluşumunu önlemek ve hastalık oluştuktan sonra tedavisinde kullanmak üzere yeni etkin malzemelerin üretilmesi günümüzün en önemli konularından birisi haline gelmiştir.

Bu tez çalışmasında, patojen mikroorganizmalara karşı kullanılabilecek suda çözünen kuarnize edilmiş lineer kopolimerlerin sentezlenmesi ve karakterize edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaç için, ilk önce poli(4-vinilpiridin-co-n-vinilpirolidon) P(4VP-co-NVP) kopolimeri serbest radikal polimerizasyonu ile sentezlenmiştir. Elde edilen bu kopolimer, farklı zincir uzunluklarına sahip alkil halojenürler (bromoetan, 1-bromobütan, 1-bromoheksan, 1-bromodekan) ile kuarnize edilmiş ve her bir alkilleyici ajanla farklı kuarnizasyon derecelerine sahip polimerler üretilmiştir. Elde edilen kopolimer ve kuarnize kopolimerler, Jel Geçirgenlik Kromatografisi (GPC), Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (NMR), Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) ve Dinamik Işık Saçılması (DLS) teknikleri ile incelenmiştir.

Kromatografi ve spektroskopi analizleri sonucunda P(4-VP-co-NVP) kopolimerinin ve kuarnize P(4-VP-co-NVP) kopolimerlerinin başarılı bir şekilde sentezlendiği görülmüştür. Elde edilen kuarnize kopolimerlerin +10 ile +32,5 mV aralığında zeta potansiyel değerlerine sahip olduğu bulunmuştur.

Kuarnize kopolimerlerin antibakteriyel aktivite testlerinin yapılması için *Escherichia coli* (*E. coli*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterileri model olarak seçilmiştir ve agar kuyucuk difüzyon testi ile broth mikrodilüsyon yöntemleri uygulanmıştır. Kuarnize kopolimerlerin (1-bromodekan ile kuarnize edilmiş kopolimerler dışında) minimum inhibisyon konsantrasyonu değerlerinin *E. coli*'de 256 µg/ml ve *Pseudomonas aeruginosa*'da 128 µg/ml olduğu tespit edilmiş olup *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktivitesinin olmadığı bulunmuştur.

Anahtar Sözcükler: 4-vinil piridin, N-vinil pirolidon, antibakteriyel, kuarnizasyon.

Haziran 2019

Damla Gökkaya

ABSTRACT

QUARTEENIZATION AND ANTIBACTERIAL APPLICATIONS OF POLY(4-VINYLPYRIDIN-CO-N-VINYLPYRROLIDON) COPOLYMERS PREPARED BY USING ALKYLATING AGENTS WITH DIFFERENT CHAIN LENGTHS

Pathogenic microorganisms can cause infectious diseases and thus significant public health problems. It has become one of the most important issues of today to prevent the occurrence of these diseases and to produce new efficient materials for their treatment.

In this thesis, it is aimed to synthesize and characterize water soluble quaternized linear copolymers which can be used against pathogenic microorganisms. For this purpose, initially Poly(4-vinylpyridine-co-n-vinylpyrrolidone) P(4-VP-co-NVP) copolymer was synthesized by free radical polymerization. Then this copolymer was quaternized with alkyl halides of different chain lengths (bromoethane, 1-bromobutane, 1-bromohexane, 1-bromodecane) and using each alkylating agent polymers having different degrees of quaternization were prepared. The obtained copolymer and quaternized copolymers were examined by Gel Permeation Chromatography (GPC), Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR), Fourier Transformed Infrared Spectroscopy (FTIR) and Dynamic Light Scattering (DLS) techniques.

Chromatography and spectroscopy analysis showed that P(4-VP-co-NVP) copolymer and quaternized P(4-VP-co-NVP) copolymers were synthesized successfully. The quaternized copolymers obtained were found to have zeta potential values in the range of +10 to +30 mV.

Escherichia coli (*E. coli*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*) microorganisms were selected as models to perform antibacterial activity tests of quaternized copolymers. Agar well diffusion and broth microdilution methods were used as test methods. It has been observed that the quaternized copolymers (with the exception of copolymers which quaternized with 1-bromodecane) have antibacterial activity against *E.coli* and *P.aeruginosa* with the minimum inhibitory concentration values of 256 µg/ml and 128 µg/ml respectively. However copolymers have not antibacterial activity against *S. aureus*.

Key Words: 4-vinyl pyridine, N-vinyl pyrrolidone, antibacterial, quaternization.

June 2019

Damla Gökkaya

SEMBOLLER

[I]₀	: Reaksiyon başlangıcında başlatıcı molaritesi
[M]₀	: Reaksiyon başlangıcında monomer molaritesi
μL	: Mikrolitre
Da	: Dalton
k_a	: Radikal polimerizasyonda aktivasyon sabiti
k_d	: Radikal polimerizasyonda deaktivasyon hız sabiti
L	: Litre
M	: Molarite
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
M_n	: Sayıca ortalama molekül ağırlığı
mV	: Milivolt
M_w	: Ağırlıkça ortalama molekül ağırlığı
n_{KA}	: Kuarternizasyon ajanı mol sayısı
nm	: Nanometre
n_{VP}	: Vinil piridin mol sayısı
PDI	: Polidispersite indeks

KISALTMALAR

4VP	: 4-vinil piridin
AIBN	: Azobisisobütironitril
AMP	: Antibakteriyel peptidler
BrB	: 1-Bromobütan
BrD	: 1-Bromodekan
BrE	: Bromoetan
BrH	: 1-Bromoheksan
DD	: Deasetilasyon derecesi
DLS	: Dinamik Işık Saçılım Spektroskopisi
DM	: Dış membran
DMF	: Dimetil formamid
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
GPC	: Jel Geçirgenlik Kromatografisi
HEMA	: Hidroksietilmetakrilat
KCl	: Potasyum klorür
KH₂PO₄	: Monopotasyum fosfat
LPS	: Lipopolisakarit
MIC	: Minimal inhibisyon konsantrasyonu
MHA	: Muller Hilton agar
MHB	: Muller Hilton broth
NaCl	: Sodyum klorür
NAG	: N-asetilglukozamin
Na₂HPO₄	: Disodyum fosfat
NAM	: N-asetilmuramik asit
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
NVP	: 1-vinil-2-pirolidon
OD	: Optik yoğunluk
P(4VP)	: Poli(4-vinil piridin)
P(NVP)	: Poli(N-vinil pirolidon)
P(VP)	: Poli(vinil piridin)
PAMAM	: Poli(amidoamin)
PCL	: Poli(kaprolakton)
PEG	: Poli(etilen glikol)
PEGMA	: Poli(etilen glikol metakrilat)
PEI	: Poli (etilenimin)

PEA : Poli(ester amin)
PLL : Poli-L-lizin
PMMA : Polimetil metakrilat
POEGMA : Poli(oligo(etilen glikol)metakrilat)
PS : Polistiren
ROS : Reaktif oksijen türleri
SDB : Sabouraud Dextrose broth
SM : Sitoplazmik membran



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. 1 Gram pozitif ve Gram negatif hücre duvarlarının şematik gösterimi [35].....	5
Şekil 1. 2 Gram pozitif bakterilerin hücre duvarının ana yüzey yapıları [39].....	6
Şekil 1. 3 Gram negatif bakterilerin hücre duvarının ana yüzey yapıları [39].....	6
Şekil 1. 4 A) Bakteriyel hücrelerde bulunan tipik antibiyotik hedef bölgeleri ve (B) antibiyotik direnci mekanizmaları [44].	7
Şekil 1. 5 Doğal katyonik polimerler; (a) kitosan [55], (b) selüloz türevi [56], (c) PLL. 9	
Şekil 1. 6 Sentetik katyonik polimerler; (a) PEI [67], (b) PAMAM [68] , (c) P(4VP) ve PEA [69].	11
Şekil 1. 7 Alkil bromür ile alkillenmiş P(4VP)'nin şematik gösterimi [75].	12
Şekil 1. 8 Kuarternize edilmiş P(VP-co-HEMA) kopolimerinin sentez şeması [79]....	13
Şekil 1. 9 Antibakteriyel polimerlerin bakterileri uzaklaştırıcı ve öldürücü etkisi [2]..	14
Şekil 1. 10 Temas halinde bir katyonik polimerin genel bakteri hücrelerini öldürme mekanizması (i) Katyonik polimerin bakteri hücre çeperi ile etkileşimi, (ii) difüzyon yoluyla sitoplazmik membran ile etkileşim ve (iii) bakteri hücrelerinin temas halinde ölümü.	15
Şekil 1. 11 AMP taklidi katyonik polimerin negatif bakteri membranına etkisinin şematik gösterimi [97].	16
Şekil 1. 12 Antibakteriyel ve kirlenme önleyici kuarterner amonyum gruplarına bağlı filmlerin ve ilgili kimyasal yapıların şeması [110].....	20
Şekil 1. 13 (A) Katyonik vinil monomerlerin zincir polimerizasyonu. (B) basamaklı polimerizasyon ile katyonik polimer sentezi.	22
Şekil 1. 14 Amin grubunun Menshutkin reaksiyonu ile kuarternizasyonu [120].	23
Şekil 1. 15 Reaktif polimerin katyonik işlevselleşmesi.	23
Şekil 1. 16 Kuarterner amonyum bileşiği-polimer sentezinin ve antibakteriyel özelliğinin şematik gösterimi [127].	24
Şekil 2. 1 P(4VP-co-NVP) kopolimerinin serbest radikal polimerizasyonu ile sentezi. 30	
Şekil 2. 2 Farklı zincir uzunluklarına sahip alkil halojenürler kullanılarak kuarternize P(4VP-co-NVP) kopolimer oluşumu.	30
Şekil 3. 1 P(4VP-co-NVP) kopolimerinin FTIR spektrumu	35
Şekil 3. 2 Işık saçılım detektöründen elde edilen P(4VP-co-NVP) kopolimerinin GPC kromatogramı.	36
Şekil 3. 3 P(4VP-co-NVP) kopolimerinin ¹ H-NMR spektrumu	37
Şekil 3. 4 P(4VP-co-NVP) ve kuarterner P(4VP-co-NVP) kopolimerlerinin FTIR spektrumları. (a) BrE, (b) BrB, (c)BrH ve (d) BrD ile farklı oranlarda kuarternize edilmiş P(4VP-co-NVP) kopolimerleri	38
Şekil 3. 5 BrE serisi kopolimerlere ait ¹ H-NMR spektrumları	40
Şekil 3. 6 BrB serisi kopolimerlere ait ¹ H-NMR spektrumları	41
Şekil 3. 7 BrH serisi kopolimerlere ait ¹ H-NMR spektrumları.	41
Şekil 3. 8 BrD serisi kopolimerlere ait ¹ H-NMR spektrumları.	42
Şekil 3. 9 P(4VP-co-NVP) kopolimerinin pH 7'de hacimce hidrodinamik boyut dağılımı.....	43
Şekil 3. 10 BrE ile kuarternleştirilmiş olan P(4VP -co-NVP) kopolimerleri; BrE1, BrE2, BrE3 ve BrE4	43
Şekil 3. 11 BrB ile kuarternleştirilmiş olan P(4VP -co-NVP) kopolimerleri; BrB1, BrB2, BrB3 ve BrB4	44

Şekil 3. 12 BrH ile kuarternleştirilmiş olan P(4VP -co-NVP) kopolimerleri; BrH1, BrH2, BrH3 ve BrH4.....	45
Şekil 3. 13 BrD ile kuarternleştirilmiş olan P(4VP -co-NVP) kopolimerleri; BrD1, BrD3 ve BrD4 (BrD2 suda çözünmemiştir).....	45
Şekil 3. 14 BrE, BrB, BrH ve BrD kopolimerlerinin E.coli için agar kuyucuk difüzyon metot sonuçları	47
Şekil 3. 15 BrE, BrB, BrH ve BrD katyonik polimerlerinin S.aureus için agar kuyucuk difüzyon metot sonuçları	47



TABLO LİSTESİ

Tablo 2. 1 Kuarternizasyon reaksiyonunda kullanılan ajanların isimleri ve konsantrasyonları.....	31
Tablo 3. 1 Polimerlerin kuarternizasyon dereceleri ve zeta potansiyel değerleri	46
Tablo 3. 2 BrE, BrB, BrH, BrD kopolimerlerinin E.coli, S. Aureus ve P. aeruginosa için broth mikrodilüsyon yöntemine göre tespit edilen MIC değerleri	48
Tablo 3.3 Antibakteriyel aktivite gösteren kuarterner kopolimerlerin standart plate görüntüleri (<i>a</i> : 100 kat seyreltilmiş petriyer <i>b</i> :10 ⁶ kat seyreltilmiş petriyeri göstermektedir.).....	51



1. GİRİŞ

1.1. Giriş

Modern toplumlarda mikrobiyal enfeksiyonların kontrolü, üzerinde durulması gereken önemli bir sağlık sorunudur. Mikrobiyal enfeksiyonların asıl kaynakları bakteriler, mantarlar ve parazitler gibi canlı organizmalardır [1]. Bu patojenik mikroorganizmalar bulaşıcı hastalıklara yol açabilmekte ve birçok insanın ölümüne neden olabilmektedir. Son yıllarda, antibiyotiğe dirençli hastaların sayısı ve dirençli mikrobiyal suşların sayısı kullanılabilir antibiyotik sayısından çok daha hızlı arttığından, mevcut tedavi yöntemleriyle mikrobiyal enfeksiyonların tedavisi zorlaşmaktadır [2]. Artan antibiyotik direncinin önemli bir sağlık sorunu haline gelmesi birçok araştırmacıyı bu alanda alternatif antibiyotik türevleri bulmaya teşvik etmiştir [3]. Bakteri gibi patojenleri öldürmek veya üremelerini önlemek için kullanılan bir ajan anlamına gelen antibakteriyel kavramı doğmuştur [4, 5].

Antibakteriyel polimerler patojenlerle mücadele için umut verici yeni ajanlar olarak 1965 yılında keşfedilmiştir [6]. 1971’de kuarternler amonyum grupları ile polimerler sentezleyen Panarin ve arkadaşları gibi çeşitli gruplar antibakteriyel etki gösteren çeşitli polimerik yapıları sentezlemiştir [7]. Son yirmi yılda, yeni yapıların sentezi ve bilinen polimerlerin modifikasyonları ve ayrıca biyolojik, fizikokimyasal ve biyokimyasal araştırma ve mühendislik tasarımlarında antibakteriyel özelliklere sahip makromoleküller alanında büyük ilerlemeler kaydedilmiştir [8]. İlaveten su arıtımında, hastane içi enfeksiyonlarda, biyomedikal malzemelerde, gıda ve genel tüketici pazarları gibi çeşitli alanlarda da mikrobiyal enfeksiyonların önlenmesi yeni antibakteriyel ajanların tespitine yönelik çalışmaların artmasının diğer sebepleridir [9].

Antibakteriyel polimerler, küçük moleküllere kıyasla yüksek etkinliğe, daha düşük toksisiteye sahiptir [10]. Antibakteriyel uygulamalar, temel olarak, mikrobik canlılığı yok etme ve/veya yapışmazlık stratejilerinin kullanımına dayanmaktadır. Örneğin; antibakteriyel peptitler bakteri hücre zarının bozulmasına sebep olarak bakteriyel canlılığı sonlandırırken, hidrofilik özelliklerinden dolayı yapışma önleyici bir aktiviteye sahip olan heparin mikropların büyümesini önlemektedir [11, 12].

Mikrobiyal canlılığı yok etme stratejisine yönelik polimerler genellikle katyonik biyosit, antibakteriyel peptidler veya antibiyotikler gibi aktif maddelerle işlevselleştirilmekte ve temas halinde bakterileri öldürebilmektedirler [13]. Benzer özelliklere sahip antibakteriyel polimerler, polimer yüzeyine aktif olarak tutunan bakterileri de öldürmektedir. Bu tip polimerlerin antibakteriyel etkinliği, amfifilik polimerlerin katyonik gruplarının bakteri hücresi yüzeyindeki negatif yüklü gruplarla seçici olarak elektrostatik etkileşimine dayanmaktadır [14, 15]. Polimerdeki hidrofobik alkil zincirleri ise bakteri zarındaki lipit zincirleri arasına girerek bu moleküllerin düzenini bozmaktadır [16]. Polimerdeki fonksiyonel katyonik kısımlar; ya monomerin yapısında olan ya da polimerizasyon sonrası modifikasyonlarla yapıya eklenen gruplardır [17].

Russell ve Matyjaszewski gibi araştırmacılar antibakteriyel yüzeyler oluşturmak üzere katyonik polimerlerle fazlasıyla ilgilenmişler ve yüzey yükü yoğunluğu ile polimer yüzeylerinin antibakteriyel aktivitesi arasında bir denge bulmuşlardır [18, 19]. Katyonik polimerler, makromoleküler omurgası pozitif yük taşıyan ve bu yüklerin yoğunluğu ile dağılımının ayarlanabildiği bir polielektrolit sınıfıdır [20]. Bu polielektrolitlerin zincir yapısı ve çözünürlüğü, katyonik grupların iyonlaşma derecesine ve su ile etkileşimlerine bağlıdır. Katyonik grupların negatif yüklü parçacıklarla etkileşimi sonucunda birçok biyolojik uygulamada kullanılacak farklı makromoleküler sistemler oluşturulabilmektedir [21]. Kuarterner amonyum polütuzları [polilizin, polialilamin, poli (etilenimin) (PEI), poliiyonenler, kuarternize poli(4-vinilpiridin) P(4VP) [22] gibi doğrusal katyonik polielektrolitler ile model lipid membranlar [8] arasındaki etkileşimlere ilişkin çok sayıda çalışma, antibakteriyel polimerler ile ilgili bir takım ortak özellikleri ortaya çıkarmıştır. En yaygın kullanılan antibakteriyel polimerler, hücre duvarı ile etkileşime giren ve hücre içi bileşenlerin sızıntısıyla sonuçlanan hücre ölümüne neden olan pozitif yüklü kuarterner amonyum yapılarını içermektedir [14]. Antibakteriyel polimerik materyallerin sayısız örneği olmasına rağmen, bunların çoğu kuarterner amonyum gruplarına sahip katyonik polimerik sistemlerden oluşmaktadır; doğal peptitleri taklit eden polimerler; halojen polimerler [23]; kitosan türevleri [24]; gümüş ve titanyum-nanokompozitleri [17, 25], vb. Bu katyonik polimerler, blok kopolimerler, dendrimerler, yıldız ve graft polimerler olmak üzere çeşitli şekillerde elde edilebilmektedir.

Kuarterner amonyum yan grupları taşıyan ve aromatik veya heterosiklik yapılar içeren katyonik polimerlerden bilinen örneklerin çoğu polistiren (PS) ve P(4VP) türevlerinden türetilmiştir. P(4VP), piridinyum tipi antibakteriyel polimerlere öncülük eden polimerdir [26]. Kuarternize edilmiş P(4VP), kullanılan kuarternizasyon ajanının alkil zinciri uzunluğuna bağlı olarak kendine özgü antibakteriyel özelliklere sahiptir [27]. Farklı alkil bromürlerle kuarternize edilmiş P(4VP)'lerin, ilaca dirençli *Staphylococcus epidermidis*, *P. aeruginosa* ve *E. coli* bakterilerini öldürdüğü ve N-hekzil ile kuarternize edilmiş P(4VP)'nin antibakteriyel etkinliğinin belirgin derecede yüksek olduğu gösterilmiştir [28, 29]. Ayrıca, kuarternize P(4VP) ve PS içeren blok ve rastgele kopolimerlerin de antibakteriyel aktiviteye sahip oldukları ortaya çıkarılmıştır [30]. Ancak kuarternize edilmiş P(4VP), vücuttaki toksik etkisinden ve hidrofobikliğinden dolayı iyi bir biyoyumluluk göstermediği için biyolojik uygulamalarda kullanımı sınırlıdır [31]. Bu sebeple antibakteriyel P(4VP) polimerinin yapısına poli(etilen glikol) (PEG), poli(N-vinil piroolidon) (P(NVP)) gibi biyoyumluluk ve hidrofiliklik kazandıracak farklı polimerler veya monomerler eklenmektedir [30].

Kuarternize P(4VP)'nin sitotoksitesini azaltmak ve suda çözünürlüğü arttırmak için kullanılabilen polimerlerden biri, kuarternize piridinyum ile bir kopolimer oluşturabilen P(NVP) polimeridir. P(NVP) toksik değildir, biyoyumludur, suda çözünürlüğü yüksektir ve ilaç, kozmetik gibi alanlarda kullanılmaktadır [32]. P(NVP) gibi biyolojik uygulamalar için kullanılmak üzere geliştirilmiş polimerlerin biyoyumluluk ve antibakteriyel etkileri üzerinde yıllardır çalışılmaktadır. Örneğin, 4-vinilpiridin (4-VP) ve N-vinil-2-piroolidon (NVP) monomerleri ile poli (4-vinilpiridin-co-N-vinil piroolidon) P(4VP-co-NVP) kopolimeri sentezlenmiş ve bu yapı antibakteriyel uygulamalar için benzil halojenür ile kuarternize edilmiştir [1].

1.2. Tezin Amacı

Bu çalışmanın amacı, kuarterner amonyum grupları içeren ve biyoyumluluk özelliği gösterebilecek monomerlerden oluşan antibakteriyel bir polimer sentezlemektir. Bu amaçla, polimerin yapısı, farklı alkil uzunluklarına sahip ajanlarla değişen oranlarda kuarternize edilerek, üretilen tüm pozitif yüklü kopolimerlerin antibakteriyel etkinliği incelenmiştir. Biyoyumlu bir monomer içeren polikasyonun yapısında gerçekleştirilen değişikliklerin antibakteriyel etkinliğine etkisi araştırılarak, bu tipteki malzemelerin

tasarlanmasında kullanılabilir önemli parametrelerin saptanmasının literatüre katkıda bulunacağı öngörülmüştür.

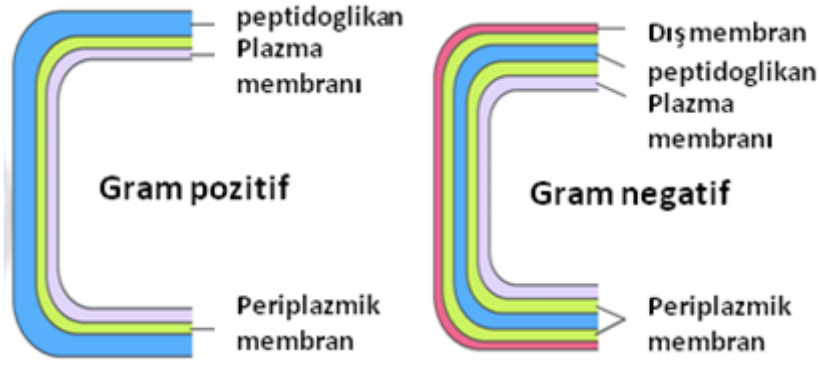
Bu amaca ulaşmak için, P(4VP-co-NVP) kopolimeri sentezlenmiş ve bu kopolimer 4 farklı kuarternizasyon ajanı kullanılarak (bromoetan, 1-bromobütan, 1-bromoheksan ve 1-bromodekan) 4 farklı oranda kuarternize edilmiştir. Üretilen 16 farklı polimerin antibakteriyel etkinliği test edilerek polimer yapısının antibakteriyel etkinliğe etkisi incelenmiştir.

1.3. Patojenik Mikroorganizmalar

1.3.1. Bakteriler

Geleneksel olarak, hüresel organizmalar hücre türlerine göre iki kategoriye ayrılmıştır. Bunlar prokaryotik veya ökaryotik hücrelerdir. Genel olarak, prokaryotlar daha küçük ve daha basit yapıya sahiptirler [33]. Bakteriler bu prokaryotik hücreler içerisinde bulunup, çekirdekte ve bazı organellerden (mitokondri, golgi aygıtı, endoplazmik retikulum gibi) yoksundur. Ancak, diğer tüm hücrelerde bulunan sitoplazma, DNA, ribozom ve plazma membranı gibi kısımlar bakterilerde de bulunmaktadır [34].

Bakterilerin yaklaşık %90'ında hücre duvarı bulunmaktadır. Hücre duvarı, yarı-katı bir yapıya sahip olarak, hücre zarına bir miktar güç sağlayan tipik bir katmandır. Bu bakteri hücre duvarlarının 1884'ten beri kullanılan ve Gram boyası olarak bilinen diferansiyel bir boya ile boyanmasıyla iki tip hücre duvarı ortaya çıkmıştır: Gram negatif (-) ve Gram pozitif (+) (Şekil 1.1). Elektron mikroskobu 1940'larda icat edildiğinde, boyama farkının hücre duvarlarındaki farklılıklar ile bağlantılı olduğu bulunmuştur. Bu boyama tekniğinin uygulanmasından sonra, Gram pozitif bakterilerin mor renk aldığı, Gram negatif bakterilerin ise pembe renk aldıkları görülmüştür.

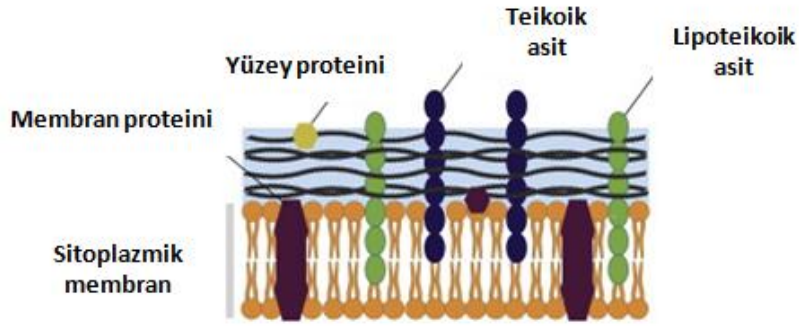


Şekil 1.1 Gram pozitif ve Gram negatif hücre duvarlarının şematik gösterimi [35].

Hem Gram pozitif hem de Gram negatif hücre duvarları, peptidoglikan (murein) olarak bilinen bir bileşen içermektedir. Bu madde sadece bakteri hücre duvarlarında bulunmaktadır. Bununla birlikte her iki bakteri hücre duvarı türü de ek bileşenler içermektedir. Bu sebeple; bakteri hücre duvarı ile özellikle ökaryotik mikropların hücre duvarlarına göre daha karmaşık bir yapıya sahiptir.

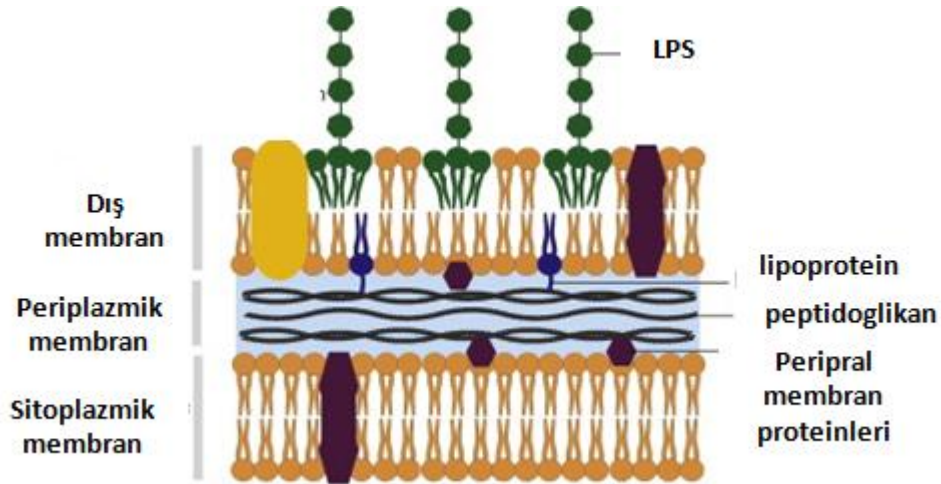
Peptidoglikan, uzun zincirlerden yani ardışık iki glukoz türeviden (N-asetilglukozamin (NAG) ve N-asetilmuramik asit (NAM)) yapılmış bir polisakarittir. Zincirler, NAM şeker birimini uzatan ve kafes benzeri bir yapının oluşmasına izin veren bir tetrapeptid ile birbirine çapraz bağlanmıştır. Gram negatiflerde bunlar; tetrapeptiti oluşturan dört aminoasit: L-alanin, D-glutamin, L-lisin veya meso-diaminopimelik asit ve D-alanindir. Gram pozitif bakterilerin ise çoğunda, bir tetrapeptiti diğerine bağlamaya yarayan glisin (peptit ara köprüsü) gibi beş amino asidin köprüsü vardır. Her iki durumda da çapraz bağlanma, yapının gücünü arttırmaktadır [36].

Gram-pozitif bakterilerin çoğu, büyük ölçüde peptidoglikandan oluşan nispeten kalın (yaklaşık 20 ila 80 nm), aralıksız hücre duvarına (sakulus) sahiptir. Şekil 1.2’de görüldüğü gibi kalın hücre duvarlarında, diğer hücre duvarı polimerleri (teikoik asitler, polisakaritler ve peptidoglikolipitler gibi) peptidoglikana kovalent olarak eklenmektedir [37]. Gram pozitif bakterilere *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Bacillus anthracis* gibi bakteriler örnek olarak verilebilir [38].



Şekil 1. 2 Gram pozitif bakterilerin hücre duvarının ana yüzey yapıları [39].

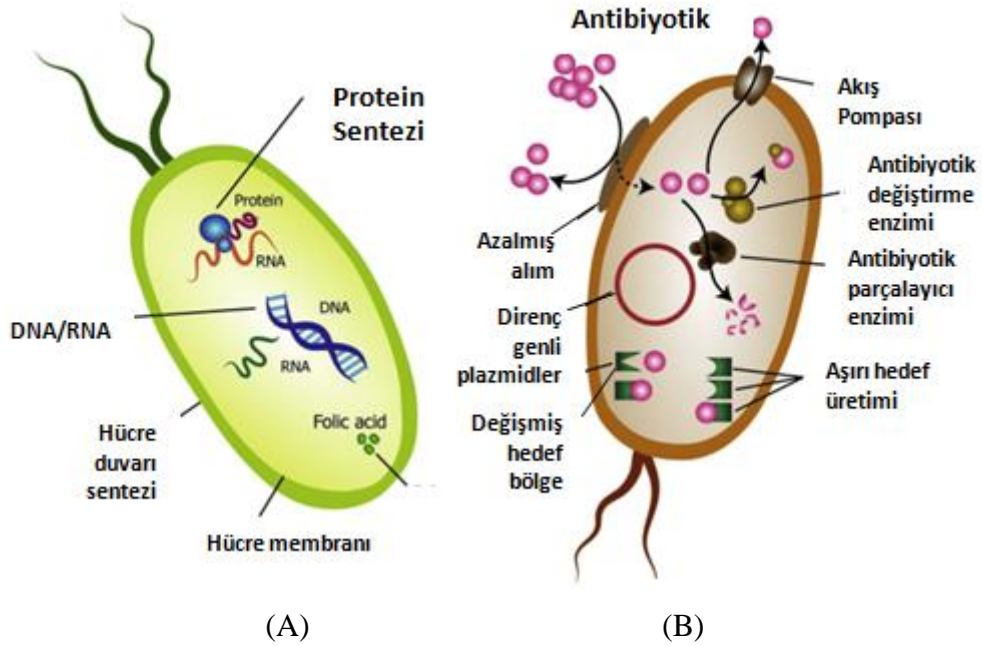
Gram negatif hücre duvarı, çok ince bir yapıya sahiptir ve sadece 2-3 kat peptidoglikan (%20 peptidoglikan) içermektedir (Şekil 1.3). Ayrıca gram negatif bakteriler dış plazma zarını çevreleyen iki bölgeye sahiptir: periplazmik boşluk ve lipopolisakarit katmanı. Dış plazma zarını peptidoglikan katmanından ayıran periplazmik boşluk, bağlayıcı proteinler ve potansiyel olarak tehlikeli yabancı maddeleri yok eden proteinleri içermektedir. Lipopolisakarit (LPS) tabakası, dış peptidoglikan tabakasına bitişik bulunmaktadır. Hücre zarındaki benzer şekilde fosfolipid çift katmanlı yapıdadır ve peptidoglikana lipoproteinler tarafından bağlanmaktadır [40]. Tıbbi öneme sahip Gram negatif bakteriler arasında *Salmonella* türleri, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus* türleri ve *Pseudomonas aeruginosa* bulunmaktadır [41].



Şekil 1. 3 Gram negatif bakterilerin hücre duvarının ana yüzey yapıları [39].

1.3.2. Bakterilerin İlaç Direnci

Küçük moleküler ağırlıklı antibiyotikler uzun yıllardır etkili antibakteriyel ajanlar olarak kullanılmıştır. Antibiyotikler hücre duvarı, biyosentetik yollar, 50S-30S ribozomları, hücre zarları veya genetik materyalleri hedeflemektedir [42]. Ancak son zamanlarda, birçok bakteri hücrelerinde ortaya çıkan biyolojik dirençten dolayı antibiyotik ve benzeri malzemelerin kullanımı yetersiz gelmektedir. Bakterilerdeki bu direnç, Şekil 1.4'te görüleceği gibi, akış pompalarının hızının değişimini, kimyasal modifikasyonları ve biyosentetik yolların modifikasyonu gibi farklı mekanizmalarla gerçekleşmektedir [43]. Sonuç olarak, antibiyotik direncinin ortaya çıkması, antibiyotik kullanımının yararlarının çoğunu azaltmıştır [44]. Bu sebeplerden dolayı antibakteriyel polimerler, antibiyotik direncinden kaçınmak için iyi bir alternatif olarak çıkmıştır. Antibakteriyel polimerler, ilk olarak Cornell ve Dunraruma tarafından 2-metakriloksitroponlar kullanılarak sentezlenmiş ve 1965 yılından günümüze kadar artan bir ivmeyle çalışılmaya devam edilmiştir [2, 45].



Şekil 1. 4 A) Bakteriyel hücrelerde bulunan tipik antibiyotik hedef bölgeleri ve (B) antibiyotik direnci mekanizmaları [44].

1.4. Antibakteriyel Polimerler

Antibakteriyel polimer, bakterisidal veya bakteriyostatik olmak üzere iki farklı tipte tanımlanabilmektedir [46]. Her iki tip antibakteriyel polimerin mikrobiyal enfeksiyonu önlemek üzere çalışma mekanizmalarını ise iki farklı strateji olarak sınıflandırabiliriz. İlk strateji, mikroorganizmayı ilgili malzemenin yüzeyine yapışmadan önce çözelti içinde öldürerek mikrobiyal yapışmayı engellemektir. İkinci strateji ise bakteri yapışmasını veya bakteri üremesini önleyen bakteri yok edici kısımlar malzemeye eklenerek ilgili malzemenin fonksiyonelleştirilmesini ve değiştirilmesini gerektirmektedir. Bu iki alternatif yoldan birinin kullanılmasıyla, geçmiş yıllarda bakteriyel büyümeyi önleyen çok sayıda etkili bakteri yok edici polimer geliştirilmiştir [47]. Antibakteriyel polimerlerin yüksek etkinlik göstermeleri, büyüklüklerinin ve morfolojilerinin kolayca değiştirilebilir olması ve günümüzde üretimleri için çok sayıda sentetik yol olması bu polimerlerin kullanılması için oldukça umut vaat etmektedir. Ayrıca, antibakteriyel polimerler, antibiyotik kullanımındaki bakteriyel ve fungal dirence karşı etki gösterebilmektedir. Ancak, bu antibakteriyel maddelerin etkinliği, insanlar üzerinde göstermiş oldukları toksisiteleri ile doğru orantılıdır [48]. Tüm bunlar göz önüne alındığında, bakteri öldürücü yüksek antibakteriyel aktiviteye ve daha az toksik etkiye sahip antibakteriyel polimerlerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

1.4.1. Antibakteriyel Polimerlerin Sınıflandırılması

Antibakteriyel polimerler, patojenik mikropların neden olduğu enfeksiyonları önleyici ya da tedavi edici biyolojik uygulamalarda kullanılmaktadır ve günümüzde önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir. Şimdiye kadar, antibakteriyel katyonik polimerler [49], biyosit salımlı polimerler ve benzerleri dâhil olmak üzere birçok farklı tipte antibakteriyel polimerler geliştirilmiştir [10]. Bunların arasında, antibakteriyel katyonik polimerler, bu alandaki dikkatlerin çoğunu üzerine çekmiştir [50]. Çünkü antibakteriyel katyonik polimerlere karşı antibiyotiklerde olduğu gibi ciddi bir mikrobiyal ilaç direnci oluşmamaktadır.

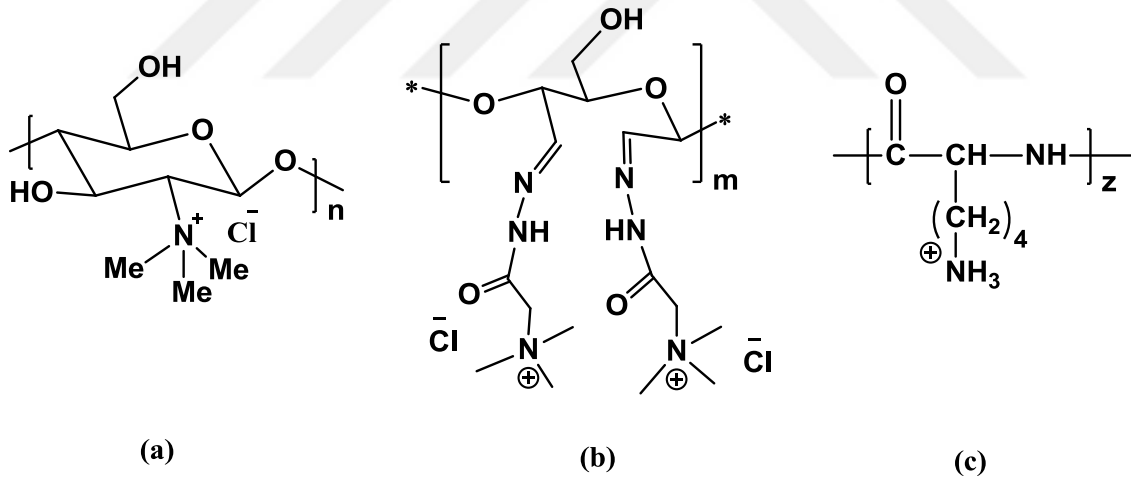
Antibakteriyel katyonik polimerler esas olarak katyonik ve hidrofobik gruplar olarak iki fonksiyonel bileşenden oluşmaktadır. Antibakteriyel polimerin çalışma mekanizması; öncelikle, katyonik gruplarının yardımı ile patojenik mikropların zarına adsorbe olması ve sonrasında hidrofobik gruplar yardımıyla zarın içine girerek bu zar

yapısını bozması olarak açıklanabilmektedir [44].

Antibakteriyel özelliklere sahip polimerler, doğal ve sentetik katyonik polimerler olarak sınıflandırılmaktadır [51]. En yaygın doğal katyonik polimerler, kitosan, selüloz türevleri ve ϵ -poli-L-lizin (PLL) [13] iken, en yaygın sentetik katyonik polimerler P4VP), poli(amidoamin) (PAMAM) ve polietilenimin (PEI)'dir [52].

1.4.1.1. Doğal Katyonik Polimerler

Doğal katyonik polimerler, biyobozunurlukları, biyouyumlulukları ve bakteri öldürebilme özellikleri ile giderek daha önemli hale gelmektedir. Doğal katyonik polimerler 2 gruba ayrılmaktadır: proteinler (PLL vb.) ve polisakaritler (kitosan, selüloz vb.) [53]. Bu polimerler son zamanlarda, ilaç ve gen taşımada, antibakteriyel uygulamalarda, doku mühendisliğinde ve su arıtımında yaygın olarak kullanılmaktadırlar [54]. Antibakteriyel uygulamalarda en çok kullanılan doğal katyonik polimerler Şekil 1.5'te verilmiştir.



Şekil 1.5 Doğal katyonik polimerler; (a) kitosan [55], (b) selüloz türevi [56], (c) PLL.

Selüloz, ağaçlardan, pamuktan, samandan ve diğer yüksek bitki hücre duvarlarından elde edilebilen bir polisakarittir [57]. β -(1-4)-bağlı anhidroglikoz tekrar birimlerinden oluşan, Dünya'da en bol bulunan doğal polimerdir [58]. Eterifikasyon reaksiyonlarının kullanılması ile selülozun yapısı kimyasal olarak değiştirilebilmektedir. Song ve arkadaşları, amfifilik katyonik selüloz türevlerini sentezlemek için eterifikasyon reaksiyonu yoluyla hidroksil selüloz grupları için hidrofobik heksadesil gruplarını

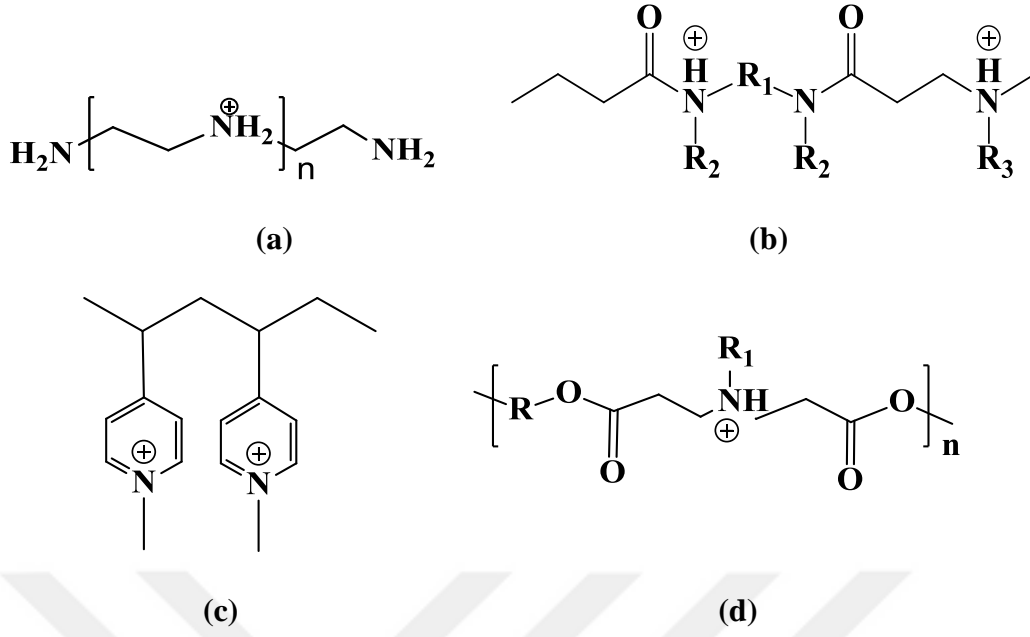
kullanmışlardır [59]. Bu katyonik selüloz ve türevleri, suda çözünebilirlik, biyolojik bozunabilirlik, ucuzluk ve bakteri yok edici özellikleri sebebiyle ilaç salımı ve kozmetik gibi çeşitli terapötik uygulamalarda kullanılmaktadır [60].

Kitosan, funguslardan ve deniz kabuklularından elde edilen bir biyopolimerdir. Toksik olmaması, biyobozunurluğu ve biyouyumluluğu ile yüksek antibakteriyel etkinliği sebebiyle son zamanlarda dikkat çekmiştir [61]. Kitosan, katyonik veya diğer hidrofilik ve hidrofobik kısımları içeren türevlerini üretmek için amino grubundan veya hidroksil gruplarından kimyasal olarak modifiye edilmektedir [62]. Birçok çalışmada, Gram pozitif ve Gram negatif üzerinde kitosanın antibakteriyel bir ajan olarak önemi belirtilmiştir [63].

PLL, bakteriyel fermentasyonla üretilen bir grup katyonik polimer içeren bir polipeptittir [64]. PLL, L-lizin amino asidinin katyonik bir homopolimeridir ve protonlandığında elektrostatik etkileşim yoluyla negatif yüklü biyomoleküller ile etkileşime girebilen çok sayıda primer aminlerden oluşmaktadır [65, 66]. PLL, polipleks oluşumu için kullanılan ilk polikasyonlardan biridir. Fizyolojik ortamda kısmen protonlanmış olan PLL'deki lizinin primer amin grupları, negatif yüklü DNA fosfat grupları ile etkileşime girerek nano-boyutlu polielektrolit kompleksleri oluşturabilmektedir [55].

1.4.1.2. Sentetik Katyonik Polimerler

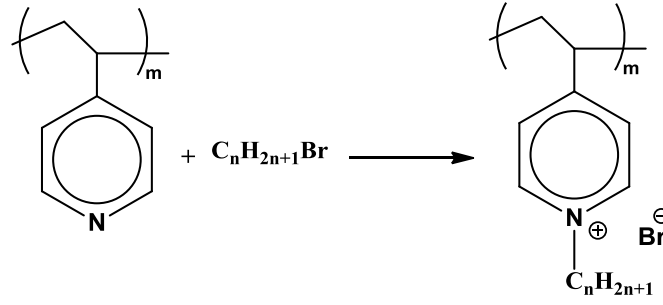
Sentetik katyonik polimerlerin doğal katyonik polimerlerden farklı olarak kimyasal modifikasyonları daha kolaydır ve istenen molekül ağırlığında üretilmektedirler. Biyoaktif kısımlar ve fonksiyonel gruplar, sentetik polimerik sisteme kolayca dahil edilebilmekte ve bunun sonucunda spesifik M_w değerine ve gerektiğinde bozunabilir bağlara sahip yapılar oluşturulabilmektedir [55]. Bu özellikler, polimerin hem terapötik etkinliğini hem bozunma karakterini belirlemektedir. Kuarterner amonyum grupları olan polimerler, bakterileri yok edebilen ve en çok çalışılan sentetik katyonik polimer sınıflarından biridir [27]. Moleküler ağırlıkları, hidrofobiklikleri ve yüzey yükleri değiştirilerek farklı özelliklere sahip kuarterner amonyum grubu içeren polimerler üretilmektedir. Kuarterner amonyum içeren sentetik polimerler arasında P(4VP), PAMAM, PEI, polimetakrilat (PMMA) ve poliester amin (PEA) en yaygın ve önemli olanlardır (Şekil 1.6).



Şekil 1. 6 Sentetik katyonik polimerler; (a) PEI [67], (b) PAMAM [68] , (c) P(4VP) ve PEA [69].

i. Poli(4-vinilpiridin)

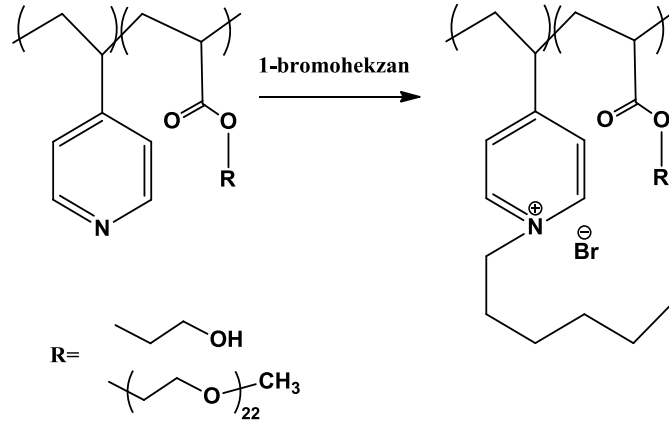
P(4VP), piridin halkalarının amfoterik karakteristikleri, hidrofilik-hidrofobik denge ve azot atomlarının birçok farklı kimyasal madde ile modifiye edilebilmesinden dolayı önemli bir katyonik polimerdir [70, 71]. P(4VP)'nin piridin halkalarındaki azot kuarternize edilerek pozitif yüke sahip polimer elde edilebilmektedir. P(4VP)'nin kuarternizasyonu, ilk olarak Coleman ve Fuoss tarafından çalışılmıştır [72]. Kuarternize edilmiş P(4VP), 4VP'nin piridin halkası üzerindeki azot ile farklı ajanlarla veya uç gruplarla (alkil halojenürler vb.) modifiye edilerek kuarternizasyon reaksiyonu ile elde edilebilmektedir [73, 74]. Guo-Hua ve arkadaşları kinetik bir model geliştirmek için P(4VP)'leri alkil bromürlerle kuarternize etmişlerdir (Şekil1.7) [75].



Şekil 1. 7 Alkil bromür ile alkillenmiş P(4VP)'nin şematik gösterimi [75].

Kuarternize edilmiş P(4VP)'nin antibakteriyel etkinliği, P(4VP) pozitif yüklü grupları ile negatif yüklü bakteriyel hücre duvarı arasındaki elektrostatik etkileşim sonucunda hücre duvarının bozulması ve sonuçta hücrenin ölümüne dayanmaktadır [76]. Kuarternize P(4VP)'nin bakterisidal aktivitesi, yük yoğunluğuna bağlı olarak değişebilmektedir. Bu polimerin bakterisidal aktivitesi, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Streptococcus pneumonia* gibi geniş bir bakteri yelpazesi için önceki çalışmalarda belirlenmiştir [29].

Biyoyumluluğunun düşüklüğü ve memeli hücrelerinde toksik etkiye neden olma eğilimi nedeniyle P(4VP) sınırlı bir kullanıma sahiptir. Bu durum, 4VP'nin NVP, Hidroksietilmetakrilat (HEMA), poli(etilenglikol metakrilat) (PEGMA) ve poli(oligo(etilen glikol)metakrilat) (POEGMA) [77] gibi biyoyumlu monomerlerle kopolimerize edilmesiyle hem antibakteriyel hem de biyoyumlu polimerlerin üretilmesinin amaçlandığı çalışmaların yapılmasına yol açmıştır [78]. Antibakteriyel aktivite çalışmalarında kuarternize P(4VP)'nin bu biyoyumluluk sağlayabilecek monomerlerle hem blok hem de rastgele kopolimerleri oldukça yaygın kullanılmaktadır. Yoon ve arkadaşları, her ikisi de katyonik gruplar olacak şekilde 4VP birimleri taşıyan poli(stiren-r-4-vinil piridin) blok kopolimerleri ve poli (stiren-r-4-vinil piridin) rastgele kopolimerleri üzerinde çalışmışlardır [26]. Başka bir çalışmada, Allison ve arkadaşları tarafından biyoyumlu ve pozitif yüklü bir kopolimer olan P(VP-co-HEMA) kopolimeri elde edilmiştir (Şekil 1.8) [79].



Şekil 1. 8 Kuarternize edilmiş P(VP-co-HEMA) kopolimerinin sentez şeması [79].

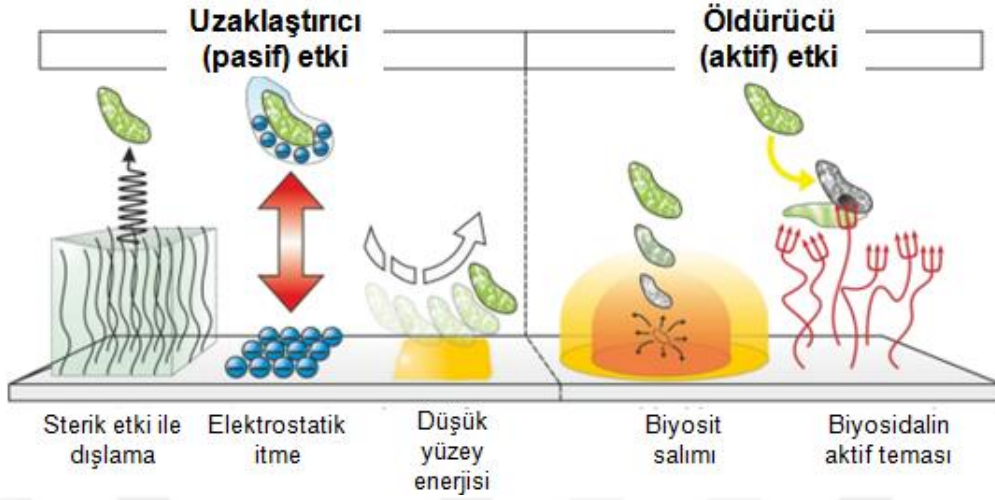
P(4VP)'nin piridin halkalarının kuarternizasyonundan veya 5'ten düşük pH değerlerinde protonlanmasından sonra genetik materyal (DNA, RNA) ile kompleksler oluşturabilmektedir. Bu şekilde oluşan kuarternize P(4VP) polielektrolit komplekslerinin gen terapisi araştırmalarında kullanılabilceği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [77].

1.4.2. Antibakteriyel Polimerlerin Etki Mekanizması

Sentetik antibakteriyel polimerlerin tasarlanmasında ana strateji, farklı bakteri hücrelerinin hücre duvarının ortak yapısal özelliklerine dayanmaktadır. Hücrelerin hücre duvarının en önemli özelliği, net negatif yüklü olmasıdır [80]. Yapısında bulunan teikoik (ve lipoteikoik) asit moleküllerinden dolayı Gram pozitif bakterilerinin hücre duvarı negatif yüklüdür. Gram negatif bakterilerinin dış membranının (DM) negatif yüklü olmasının sebebi ise lipopolisakaritler ve enzimler gibi gömülü temel fonksiyonel proteinleri olan bir fosfolipit çift tabakasından oluşan sitoplazmik membrana (SM) sahip olmasıdır. Sitoplazmik membran, seçici geçirgenlik özelliklerine sahiptir (yarı geçirgendir) ve hücre sitoplazmasının içinde ve dışında çözünen maddelerin ve metabolitlerin transferini düzenlemektedir [81, 82]. Bir bakteri hücrelerinin SM/DM ve SM özelliklerine dayanarak, bu membranları hedef alan katyonik hidrofilik ve hidrofobik gruplara sahip antibakteriyel polimerler tasarlanmaktadır [8].

Bakterilerin büyümesini inhibe etmek veya bakterileri öldürmek için çeşitli polimerik malzemeler üretilmiş (kopolimerler, hidrojel, kriyojel vb.) ve bu malzemelerin bakteriyel öldürme mekanizmaları araştırılmıştır [83, 84]. Yapılan çalışmalarda, antibakteriyel polimerlerin aktivitesine göre çeşitli mekanizmalar açıklanmaktadır. Bu mekanizmalar bakteri hücrelerini uzaklaştırıcı (pasif etki) veya öldürücü (aktif etki)

olarak ayrılabilir (Şekil 1.9) [85].



Şekil 1.9 Antibakteriyel polimerlerin bakterileri uzaklaştırıcı ve öldürücü etkisi [2].

Bakterileri uzaklaştırma; çoğunlukla PEG veya benzer polimerlere dayanan polimerik malzeme kaplamaları, ultra-hidroforik modifikasyonlar (düşük yüzey enerjisi, dışlama sterik itme) veya yüksek oranda negatif yüklü polimerler (düşük yüzey enerjisi) ile gerçekleştirilmektedir [86].

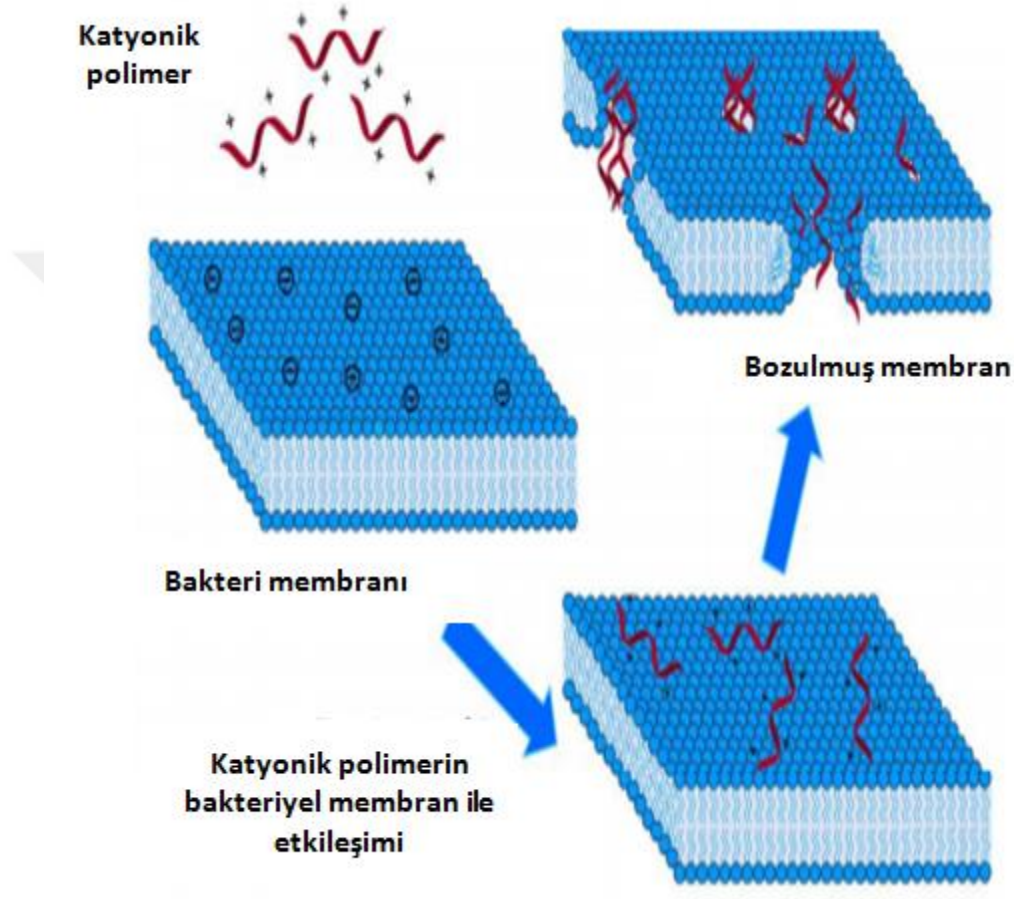
Bakterilerin öldürülmesi ise, ya aktif olarak oluşturulan matristen bir biyosit salımıyla ya da kuarterner amonyum tuzları, alkil piridinyum ve kuarterner fosfonyum gibi gruplara sahip katyonik polimerler ile sağlanabilmektedir [87]. Bu katyonik polimerlerin, bakteri türüne bağlı olarak bakteri hücre çeperi ile temas ederek bakteri hücre zarını nasıl tahrip edebildiğine dair çeşitli antibakteriyel mekanizmalar bildirilmiştir [88].

Katyonik bir polimerin bakteriye temasıyla bakterilerin öldürülmesiyle ilgili şu genel mekanizma önerilmektedir:

- (1) İlk olarak katyonik polimer ile bakteri duvarı etkileşime girmektedir. Bakteriyel hücre duvarları çoğunlukla negatif yüklü olduğundan katyonik polimerler anyonik polimerlere kıyasla çok daha etkin bir şekilde hücre duvarına adsorbe olmaktadır. Polikasyonun yapısındaki pozitif yüklü yüzey ile bakteri zarı arasındaki iyon değişim mekanizmasının (elektrostatik etkileşim) antibakteriyel aktiviteye sebep olduğu kanıtlanmıştır [54].

(2) Polimerin katyonik zinciri hücre duvarı boyunca yayılmakta ve sitoplazmik membrana yapışmaktadır. Polimerin bakteriyel membrana yapışması, sitoplazmik membranın parçalanmasına ve ardından sitoplazmik bileşenlerin hücre dışına sızmasına sebep olmaktadır.

(3) Sonuçta, bakteri hücresi ölümü gerçekleşmektedir [89, 90] (Şekil 1.10).

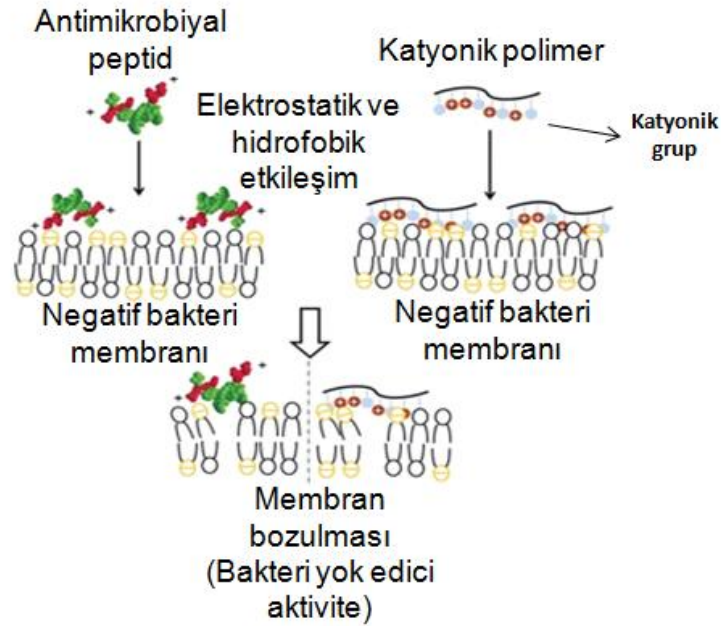


Şekil 1. 10 Temas halinde bir katyonik polimerin genel bakteri hücresini öldürme mekanizması (i) Katyonik polimerin bakteri hücre çeperi ile etkileşimi, (ii) difüzyon yoluyla sitoplazmik membran ile etkileşim ve (iii) bakteri hücresinin temas halinde ölümü.

Song ve arkadaşları antibakteriyel katyonik polimerlerle ilgili bir çalışmalarında, bu polimerlerin antibakteriyel mekanizmasının potasyum akışına neden olduğunu, bakteriyel sitoplazmik membrana zarar verdiğini ve membran potansiyelini bozduğunu öne sürmüşlerdir [91]. Başka bir çalışmada ise PLL/poli(ϵ -kaprolakton) (PCL) kopolimerinin oluşturduğu misellerin bakterisit mekanizması Zhao ve arkadaşları

tarafından rapor edilmiştir. Nanoboyutlu bu misellerin, bakteri duvarlarını/zarlarını tahrip edebildikleri ve reaktif oksijen türleri (ROS) ile alkalın fosfataz seviyelerinde artışa neden olduklarını göstermişlerdir. Ayrıca bu malzemenin bakteriyel ozmotik basıncında değişikliğe sebep olarak hücre membranının delinmesine ve delikler açılmasına, bunun sonucunda ise sitoplazmanın hücre dışına sızmasına neden olduğu ortaya konulmuştur [92, 93].

Şekil 1.11’de görüldüğü gibi AMP’lerin antibakteriyel özelliklerinden ilham alınarak, bu yapıları taklit eden katyonik hidrofilik gruplar ve hidrofobik kısımlara sahip polimerler birçok çalışmada kullanılmıştır [94]. Tiller ve arkadaşları, cam lamaları bakterileri öldüren alkilenmiş piridinyum polimerleri ile kovalent bağlanma yoluyla kaplamışlardır [28]. Gottenbos ve arkadaşları ise farklı yüzey yükü yoğunluklarına sahip üç metakrilat polimeri ve kopolimerini sentezlemişlerdir. Daha sonra bu malzemelerin Gram negatif ve Gram pozitif basiller üzerindeki antibakteriyel etkilerini çalışmışlardır. Gram negatif basilin, pozitif yüklü yüzeylere sahip polimerler tarafından inhibe edildiğini göstermişlerdir [95]. Bunlara ek olarak, Whitten ve arkadaşları, kuarterner amonyum grupları veya alkil piridinyum gruplarına sahip olan poli(fenilen etilenin)’in çözelti halinde veya immobilize edilmiş bir fazda Gram negatif ve Gram pozitif bakterilerin büyümesini inhibe ettiğini bildirmişlerdir [96].



Şekil 1.11 AMP taklidi katyonik polimerin negatif bakteri membranına etkisinin şematik gösterimi [97].

1.4.3. Antibakteriyel Polimerlerin Çalışma Mekanizmasını Etkileyen Faktörler

Antibakteriyel polimerlerin antibakteriyel aktivitelerini ve aktivite mekanizmasını moleküler ağırlık, katyonik yük yoğunluğu, aktif bölge ile polimer arasındaki grup (spacer) uzunluğu, hidrofilik-hidrofobik denge ve karşıt iyonların yapısı gibi faktörler etkilemektedir [89].

i. Molekül Ağırlığı

Antibakteriyel polimerin molekül ağırlığı, antibakteriyel özelliklerin belirlenmesinde önemli bir rol oynadığı yapılan çalışmalarda gösterilmiş ve antibakteriyel aktivite için polimerin molekül ağırlığının 5×10^4 ve $1,2 \times 10^5$ Da arasında olması gerektiği bulunmuştur. Molekül ağırlığı 5×10^4 Da'dan düşük olduğunda, antibakteriyel özelliği molekül ağırlığıyla arttığı, $1,2 \times 10^5$ Da'da daha yüksek molekül ağırlıklarında ise polimerin antibakteriyel aktivitesinin keskin bir şekilde azaldığı belirtilmiştir. Bu durum, hücre duvarının geçirgenliğine dayanarak açıklanmıştır [98].

ii. Yük Yoğunluğu

Pozitif yük yoğunluğu, polimer ile bakteri hücreleri arasında daha güçlü elektrostatik etkileşim oluşmasını sağlamaktadır. Al-Badri ve arkadaşları, tekrar eden birim başına bir ile üç amin grubuna sahip polimerler ile bir çalışma yapmışlardır ve bunun sonucunda orta ile iyi antibakteriyel özelliğe sahip polimerleri ortaya koymuşlardır [99]. Ayrıca başka bir çalışmada tekrar eden birim üzerinde yük yoğunluğu kademeli olarak azaltılarak polimerlerin biyolojik özellikleri arasındaki korelasyon araştırılmıştır [100]. Polikasyonların negatif yüklü hücre yüzeyi üzerine adsorpsiyonunun, polikasyonlar tarafından taşınan yüksek yük yoğunluğu nedeniyle daha iyi aktivite sağlaması beklenmektedir [101]. Yapılan bir çalışmada ise amfilik piridinyum-metakrilat kopolimerlerinin yük yoğunluğunun değiştirilmesi ile antibakteriyel ve hemolitik aktivitelerin arttığı bulunmuştur [102].

iii. Hidrofobiklik ve Hidrofiliklik

Antibakteriyel polimerlerin "amfilik dengesi" olarak da adlandırılan hidrofobiklik-hidrofiliklik dengenin, bu polimerlerin antibakteriyel aktivitesinde oldukça önemli olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmiştir [103]. Polimerin hidrofobiklik-hidrofiliklik

dengesi; komşu amonyum grupları arasındaki alkil aralığına, yapıya eklenmiş alkil zincirlerinin uzunluğuna, polimerdeki hidrofilik ve hidrofobik grupların sayısı ve birbirlerine göre oranlarına bağlıdır [102, 104]. Amfifilik dengede meydana gelen değişiklikler polikasyonlar ve bakteriyel membranlar arasındaki etkileşimde de farklılaşmalara neden olmaktadır. Hidrofobik alkil zincirleri, katyonik polimerin hücre membranına bağlanmasına ve membranda yayılmasını kolaylaştırırken, aşırı hidrofobiklik ise polimerin membran penetrasyonunu bloke etmekte ve sitotoksitesini arttırmaktadır [105].

iv. pH

Bazı amfoterik yapılı polimerlerin antibakteriyel aktivitesine pH'nın etki ettiği gözlenmiştir. Bu tür polimerler, ancak asidik pH değerlerinde polikasyon yapısı oluşturmakta ve bu sebeple pH'a bağlı olarak antibakteriyel etki gösterebilmektedirler. Örneğin, kitosan asidik pH'da suda daha iyi çözünürken polikasyon oluşumu nedeniyle de pH'a bağlı olarak maksimum antibakteriyel aktivite sergilemektedir [106].

v. Alkilasyon Etkisi

Alkilasyonun antibakteriyel polimerin monomer birimlerine alkil gruplarının bağlanması ve pozitif yüklü gruplar elde edilmesi işlemidir. Yapıya eklenen alkil grupları ve polimer zincirinin uzunluğuna bağlı olarak polimerin antibakteriyel etkinliğinde farklılıklar ortaya çıkmaktadır. Panarin ve arkadaşları, vinilamin, aminoalkil metakrilatlar ve kuarterner amonyum gruplarına sahip N-vinilpirolidon gibi suda çözünür katyonik kuarternize kopolimerlerindeki azota bağlı alkil sübstituentlerinin uzunluğu arttıkça (C1'den C16'ya kadar) bu polimerlerin antibakteriyel aktivitelerinin de arttığını bulmuşlardır [107]. Buna karşın, Klibanov ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise, alkilenmiş kuarternize P(4VP) polimerlerinde alkil sübstituentlerinin zincir uzunluklarının çok yüksek olmaması gerektiği ve 6 karbona sahip alkil sübstituentlerinin en yüksek aktiviteye sahip olduğu ortaya konulmuştur [28].

1.4.4. Antibakteriyel Katyonik Polimerlerin Uygulamaları

i. Su Arıtma

Antibakteriyel polimerler su filtreleme sistemlerinde geniş uygulama alanına sahiptirler. Klorlama, içme suyunun dezenfeksiyonunda ve atık su arıtımında klasik ve kritik bir adım olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte, suda çözünen bu dezenfektanlar; kısa süreli stabiliteleri, triklorometanlar ve kloroasetik asitler gibi kanserojen yan ürünlerinin bulunması ve klor dirençli mikrop türlerinin ortaya çıkması gibi dezavantajlara sahiptirler [108]. Bu sebeple, alternatif, yeni ve güvenli dezenfektanların geliştirilmesi gerekmektedir. Onnis-Hayden ve arkadaşları, N-heksillenmiş PEI'yi kum yüzeyine kovalent olarak bağlayarak, su arıtma ve dezenfeksiyonunda bu antibakteriyel kum filtresinin kullanımını araştırmışlardır. Bu polimerlerin basit yıkama aşamaları ile yeniden üretilebilme özelliğine sahip olduğu ve özellikle klor dirençli türler için kullanışlı olduğu ortaya konulmuştur [109].

ii. Tıbbi Alanda Kullanılan Kendiliğinden Sterilleşen Yüzeyler

Tıbbi cihaz yüzeylerinin (kateterler, implantlar vb.) bakteriyel kontaminasyonu, hastanede edinilen enfeksiyonların en önde gelen nedenlerinden biridir. Bu işlem bakterilerin yüzeye yapışması ile başlamakta, ardından antibiyotiklere ve konağın bağışıklık sistemine yüksek dirençli bir biyofilm implantasyonu ve gelişmesi ile devam etmektedir. Bu problemin üstesinden gelmek için kullanılan stratejilerden biri, mikroorganizmayı öldüren, çevreye kuarterner amonyum bileşikleri ya da gümüş gibi bir biyosit salan antibakteriyel malzemeler geliştirmektir (Şekil 1.12). Antibakteriyel bir ajanla yüklenmiş bu tür maddeler, ilk kullanım aşamalarında maddenin hızlı bir şekilde salını nedeniyle çevresel kirlenme ve kısa raf ömrü problemi oluşturabilmektedir. Bu sebeple, yıkayarak uzaklaştırılmayan biyosit malzemelerin geliştirilmesi ve bu biyositlerin cam, metaller gibi yüzeylere kovalent bağlanması diğer önemli bir strateji haline gelmiştir [10].



Şekil 1.12 Antibakteriyel ve kirlenme önleyici kuarterner amonyum gruplarına bağlı filmlerin ve ilgili kimyasal yapıların şeması [110].

Tiller ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, poli(4-vinil-N-alkilpiridinyum bromür) kovalent olarak cam lamlara tutturulmuş ve antibakteriyel özellikleri değerlendirilmiştir. Bu çalışmada, amino cam lamlara akriloil klorür bağlanmış ve 4VP ile kopolimerleştirilmiştir. Cam lama tutturulmuş bu P(4VP)'ler heksil bromür ile alkilendirilmiştir. Oluşan yüzeyin *S. aureus* hücrelerinin %97 ±3'ünü öldürdüğü görülmüştür [28].

Liang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, biyosidal kaplamalarda kullanım için çeşitli N-halamin siloksan ve kuarterner amonyum gruplarına sahip siloksan kopolimerleri incelenmiştir. Kopolimerler pamuklu kumaş örneklerine kaplanmış ve *S. aureus* ile *E. coli*'ye karşı biyosidal etkinlikleri değerlendirilmiştir. Sonuçta, hem N-halamin hem de kuarterner fonksiyonel grupların *S. aureus*'a karşı etkili olduğu kanıtlanmıştır. Ayrıca, N-halamin gruplarının *E. coli*'ye karşı da etkili oldukları bulunmuştur [111].

Antibakteriyel ameliyat iplikleri, 2-hidroksietil metakrilat monomerinin (HEMA) polipropilen monofilament üzerine radyasyonla aşılmasıyla hazırlanmıştır. Modifiye edilmiş bu iplikler, *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktivite etkisi göstermiştir [89].

Malzemelerin polielektrolitlerle (kitosan, aljinik asit sodyum tuzu) konjugasyonu ile elde edilen pamuklu gazlı bez sargılar, *Staphylococcus aureus* ve *Klebsiella pnömonisine* karşı yüksek bakteri öldürücü etki göstermiştir. Bu yara sargılarının insan dermal fibroblastlarına sitotoksikite göstermediği de ayrıca kanıtlanmıştır [112].

iii. Gıda Uygulamaları

Tüketici sağlığı konusundaki endişeler nedeniyle gıda güvenliği ve kalitesine olan ilgi giderek artmaktadır. Ortaya çıkan yeni teknolojiler tüketici sağlığı risklerini azaltmak için gıda endüstrisi tarafından ele alınmaktadır. Özellikle, antibakteriyel polimerlerin gıda ambalajında kullanılması konusunda önemli ilerlemeler kaydedilmiştir ve antibakteriyel polimerlerin antibakteriyel ambalajların tasarımına katılabilmesi için farklı yöntemler geliştirilmiştir. Bunlar; uçucu antibakteriyel maddeleri içeren nihai polimerik gıda paketine entegrasyon, antibakteriyel maddelerin polimere katılması, kovalent bağlanma veya kaplamalar yoluyla antibakteriyel polimerler eklenerek yüzey modifikasyonları meydana getirilmesi ve doğal antibakteriyel polimerlerin veya kuarternler amonyum grupları içeren polimerlerin kullanılmasıdır [113].

iv. Fiber ve Tekstil

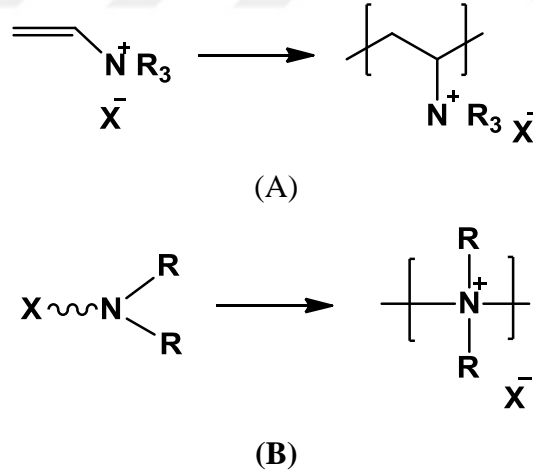
Pamuk, keratin lifleri gibi doğal kaynaklardan yapılan tekstil ürünleri, kullanımları ve uzun süreli depolanmaları sırasında istenmeyen mikroorganizmaların büyümesini destekleyici ortamlar olarak kabul edilmektedirler. Bu mikrobiyal saldırılara karşı onları koruyan son bir polimer işleme ile üretilen antibakteriyel tekstil ürünleri önemli bir pazar oluşturmaktadır [89].

Kitosan, çevre dostu tekstil endüstrisi için mükemmel bir adaydır [114]. Bununla birlikte, kitosan ile ilişkili esas problemler, kumaşlara zayıf yapışması ve alkali koşullar altında antibakteriyel aktivitelerini kaybetmeleridir [115]. Bir çalışmada, çift fonksiyonlu gruplar içeren suda çözünür üç kitosan türevi 2,3-epoksipropiltrimetilamonyum klorür ve benzaldehit ile sentezlenmiş ve çapraz bağlama maddesi olarak sitrik asitle birlikte pamuklu kumaşlara uygulanmıştır. Üretilen bu kumaşların, *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı sırasıyla % 99 ve % 96'dan fazla antibakteriyel etkinlik gösterdikleri ve oldukça dayanıklı oldukları ortaya konulmuştur [116].

1.5. Amin Grubu İçeren Polimerlerde Kuarternizasyon Reaksiyonu

Polimerik kuarterner amonyum bileşikleri, makromoleküler bir zincir boyunca pozitif yüklerin yoğunluğu ve dağılımı sayesinde önemli özelliklere sahip olan bir polielektrolit sınıfıdır. Sentezlenen veya çeşitli uygulamalarda kullanılan polikasyonların çoğu kuarterner amin grubu içeren yapılardır. Bu yapıların sıkça kullanılmasının sebepleri ise, sentezlerinin kolay olması, suda çözünebilir hidrofilik bir yapıda olmaları ve yeterli kimyasal ve termal stabiliteye sahip olmalarıdır. Kuarterner amonyum gruplarına sahip katyonik polimerler, iki farklı sentetik yol ile sentezlenmektedir: (1) uygun monomerlerin zincir veya basamak polimerizasyonu ve (2) reaktif öncü polimerlerin modifikasyonu [117].

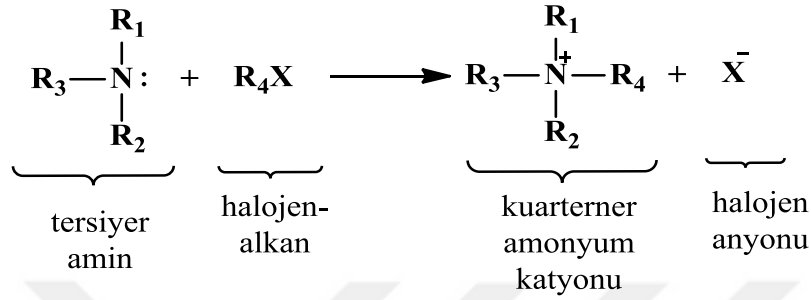
Uygun monomerlerin zincir veya basamak polimerizasyonu yoluyla sentezlenmesine örnek olarak, katyonik yük taşıyan amin grubuna sahip vinil monomerlerin zincir polimerizasyonu reaksiyonu verilebilir (Şekil 1.13A). Basamaklı polimerizasyonda ise, amin grubu taşıyan monomerlerin kondenzasyonu sırasında katyonik yük amin grubu üzerinde oluşmaktadır (Şekil 1.13B) [118].



Şekil 1. 13 (A) Katyonik vinil monomerlerin zincir polimerizasyonu. (B) basamaklı polimerizasyon ile katyonik polimer sentezi.

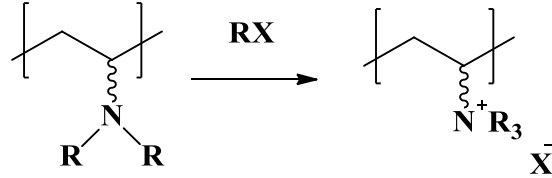
Basamaklı polimerizasyon sırasında kuarterner amonyum gruplarının oluşumu, bis-terciyer aminler ve dihalojenürlerin Menshutkin reaksiyonu veya bir amino alkil halojenürün reaksiyonu ile açıklanabilmektedir. Menshutkin reaksiyonuyla bir terciyer amin bir alkil halojenür ile reaksiyona sokularak kuarterner bir amonyum tuzu elde

edilmektedir (Şekil 1.14) [119, 120]. Tepkimeler alkol gibi polar çözücüler içinde gerçekleştirilmektedir. Kuarterner amonyum yapılarının oluşturulması için alkil iyodürler, klorürler ve bromürler etkili alkilleyici ajanlar kullanılmaktadır. Bu polimerizasyon reaksiyonu doğrusal bir dihalojenür ile bir nükleofilik dtersiyer amin arasındaki S_N2 mekanizmasına dayanmaktadır [121].



Şekil 1. 14 Amin grubunun Menshutkin reaksiyonu ile kuarternizasyonu [120].

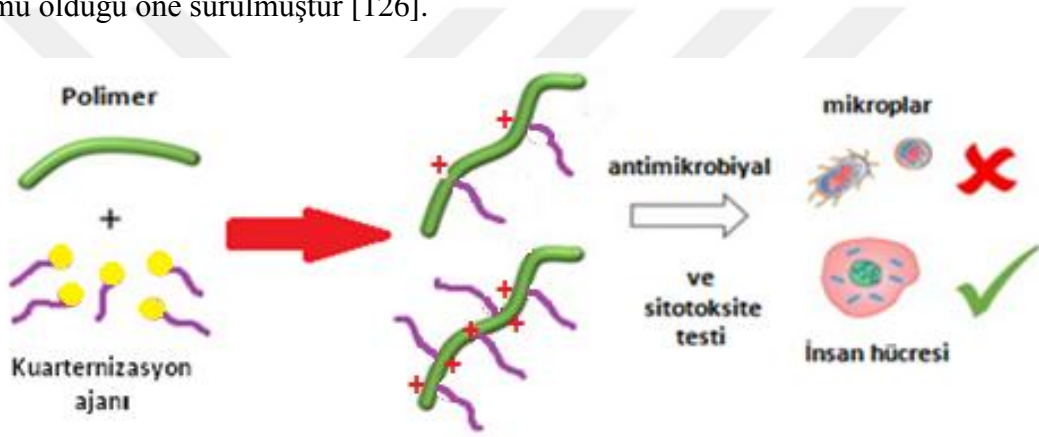
Reaktif öncü polimerlerin modifikasyonu ile kuarterner amonyum grubu içeren polimerler birden fazla yolla elde edilmektedir. Bu duruma, halojen içeren polimerin bir tersiyer amin ile kuarternizasyonu ve polimerik tersiyer aminlerin bir alkil veya aril halojenür ile kuarternizasyonu (Şekil 1.15) gibi mekanizmalar örnek verilmektedir [118].



Şekil 1. 15 Reaktif polimerin katyonik işlevselleşmesi.

Tersiyer aminlerin kuarternizasyonu sonucunda polimer zincirinde oluşan katyonik gruplar, antibakteriyel katyonik polimerlerin mikrobiyal zarların yüzeyine adsorpsiyonunu kolaylaştıran gruplardır. 1980'lerde, Ikeda ve arkadaşları, iki yeni katyonik polielektrolit olan biguanid grupları ve polivinil benzil amonyum klorür içeren polimetakrilatlar sentezlemiş ve *S. aureus* ile *E. coli*'ye karşı monomer türlerinininkinden çok daha yüksek biyosidal aktivite elde etmişlerdir [101].

Kuarterner amonyum grubuna sahip polimerler geniş bir antibakteriyel aktivite spektrumuna sahiptir. Hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı ortalama konsantrasyonlarda etkilidirler. Ayrıca virüs, mantar ve algelere karşı orta derecede etkinliğe sahiptirler (Şekil 1.16) [122]. Çoğu bakterinin hücresel membranları negatif olarak yüklenmiştir ve katyonik biyositlerin hedef bölgesi olduğu kanıtlanmıştır [123, 124]. Bu yapılar arasındaki ortak özellikler, hem pozitif yüke hem de hidrofobik bir segmente sahip olmalarıdır [125]. Bir membran-aktif katyonik biyosit sınıfı olan biyosidal kuarterner amonyum grubu bulunan polimerlerin antibakteriyel mekanizmasının, hücre duvarına nüfuz etmesi ve sitoplazmik membran ile yıkıcı etkileşiminin ardından hücre içi bileşenlerin sızması ve bunun sonucu olarak hücre ölümü olduğu öne sürülmüştür [126].



Şekil 1.16 Kuarterner amonyum bileşiği-polimer sentezinin ve antibakteriyel özelliğinin şematik gösterimi [127].

Üç farklı ajan (6-bromohekzanoik asit, piridinyum bromür ve benzalkonyum bromür) ile kuarternize edilen kitosan bakteri hücreleri ile etkileşime sokulduğunda tüm kuarternize kitosan türevlerinin Gram negatif (*P. Aeruginosa*) bakterisine karşı antibakteriyel aktivite göstermesine karşılık, Gram pozitif (*S. Aureus*) bakterisine karşı hiçbir aktivite göstermediği belirtilmiştir [128].

Kenawy ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, vinilbenzil klorürün 2-kloroetil vinil eter veya metilmetakrilat ile çapraz-bağlayıcı olarak divinilbenzil klorür kullanılarak kopolimerizasyonu gerçekleştirilmiştir. Ardından tersiyer aminler/fosfinlerle kuarternizasyonun ardından iki çeşit çapraz bağlanmış kopolimer geliştirmiştir. Hazırlanan kopolimerlerin antibakteriyel özellikleri bakteri ve mantarlara

karşı test edildiğinde üretilen tüm kopolimerlerin antibakteriyel aktivite gösterdikleri ortaya çıkmıştır [129].

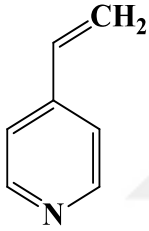
Bu çalışmada, öncelikle P(4VP-co-NVP) kopolimeri serbest radikal polimerizasyonu ile sentezlenmiştir. Sentezlenen kopolimer, pozitif yüklü katyonik kopolimer elde etmek için literatürde daha önce kullanılmamış farklı alkil uzunluklarına sahip ajanlarla artan oranlarda kuarternize edilmiştir. Farklı zincir uzunluklarına sahip kuarternizasyon ajanları olarak da bromoetan, 1-bromobütan, 1-bromohekzan ve 1-bromodekan (C2, C4, C6 ve C10) kullanılmıştır. Aşağıdaki bölümlerde ayrıntılı olarak görüleceği gibi, elde edilen kuarternize P(VP-co-NVP) kopolimerleri FTIR, ¹H NMR, DLS spektrometreleri ve GPC kullanılarak karakterize edilmiştir. Sonraki aşamada ise, üretilen tüm kuarternize edilmiş polimerlerin *E. coli*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa*'a karşı etkinlikleri incelenmiştir. Sonuç olarak, tez çalışmasında, kuarternize P(4VP-co-NVP) kopolimerinin antimikrobiyal etkinliğine kuarternizasyon ajanlarının alkil zinciri uzunluğunun ve kopolimerin kuarternizasyon derecesinin etkisi ayrıntılı ve sistematik olarak incelenmiştir.

2. MATERYAL VE YÖNTEMLER

2.1. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Bu çalışma için, 4-vinilpiridin ((4VP) Sigma-Aldrich), 1-vinil-2-pirolidon (Sigma Aldrich), Azobisizobütironitril (AIBN, Sigma-Aldrich), Dimetil formamid (DMF, Sigma Aldrich), izopropil alkol (Sigma Aldrich), 1-bromohekzan (Sigma Aldrich), 1-bromobütan (Sigma Aldrich), 1-bromodekan (Sigma Aldrich), bromoetan (Sigma Aldrich), Dietil eter (Sigma Aldrich), metil alkol (Sigma-Aldrich) temin edildiği şekilde kullanılmıştır. Tüm sulu çözeltiler Millipore MilliQ su arıtma sisteminden elde edilen ultra saf su ile hazırlanmıştır. Bu Yüksek Lisans tez çalışması süresince kullanılan kimyasallar maddelerin molekül yapıları, teknik bilgileri ve kullanım şekilleri aşağıda belirtilmektedir.

4-vinilpiridin (4VP)



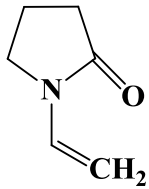
Molekül Ağırlığı: 105,14 g/mol

Formülü: C₇H₇N

Safılık: >95.0 %

Kaynama Noktası:62-65 °C

1-vinil-2-pirolidon



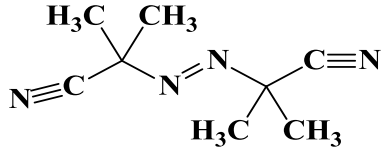
Molekül Ağırlığı: 111,14 g/mol

Formülü: C₆H₉NO

Safılık: >99 %

Kaynama Noktası:95 °C

Azobisizobütironitril (AIBN)



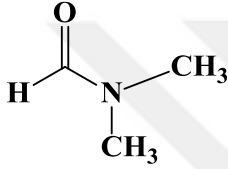
Molekül Ağırlığı: 162,21 g/mol

Formülü: C₈H₁₂N₄

Safılık: >99 %

Kaynama Noktası: 104 °C

Dimetil formamid (DMF)



Molekül Ağırlığı: 93,09 g/mol

Formülü: C₂H₇NO

Safılık: >99,8 %

Kaynama Noktası: 153 °C

Bromoetan



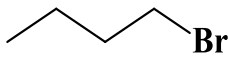
Molekül Ağırlığı: 108,97 g/mol

Formülü: C₂H₅Br

Safılık: >99 %

Kaynama Noktası: 38,24 °C

1-Bromobütan



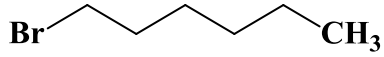
Molekül Ağırlığı: 137,02 g/mol

Formülü: C₄H₉Br

Safılık: >99 %

Kaynama Noktası: 101,4 °C

1-Bromoheksan



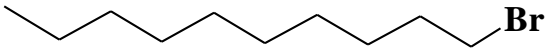
Molekül Ağırlığı: 165,07 g/mol

Formülü: C₆H₁₃Br

Safılık: >98 %

Kaynama Noktası: 158 °C

1-Bromodekan



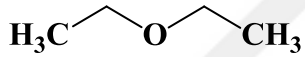
Molekül Ağırlığı: 221,18 g/mol

Formülü: C₁₀H₁₉Br

Safılık: >98 %

Kaynama Noktası: 238 °C

Dietil eter



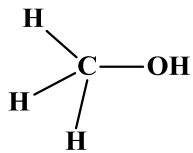
Molekül Ağırlığı: 74,12 g/mol

Formülü: (C₂H₅)₂O

Safılık: >99 %

Kaynama Noktası: 35 °C

Metil Alkol



Molekül Ağırlığı: 32,04 g/mol

Formülü: CH₃OH

Safılık: >99 %

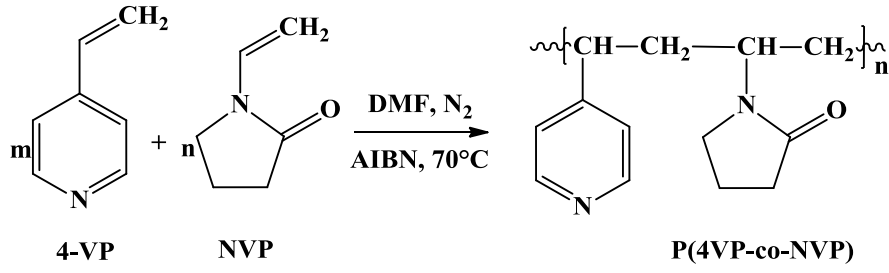
Kaynama Noktası: 64,7 °C

2.2. DENEYSEL YÖNTEMLER

Bu çalışmada kuarterner 4VP grupları içeren P(4VP-co-NVP) kopolimerleri üretilmiştir. Bu amaçla ilk aşamada P(4VP-co-NVP) kopolimerinin serbest radikal polimerizasyonu ile sentezi yapılmıştır. Sonraki aşamada ise, P(4VP-co-NVP) kopolimerindeki 4VP grupları farklı zincir uzunluklarına sahip alkil bromürlerle değişen oranlarda kuarternize edilmiştir. Kuarternizasyonda kullanılan alkil bromürler bromoetan (BrE), 1-bromobütan (BrB), 1-bromoheksan (BrH) ve 1-bromodekan (BrD) bileşikler olarak seçilmiştir. Elde edilen tüm kuarternize kopolimerlerin antibakteriyel etkinlikleri *E.coli*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* üzerinde incelenmiştir. *E.coli* ve *P. aeruginosa* Gram negatif, *S. aureus* ise Gram pozitif model bakteriler olarak seçilmişlerdir [130].

2.2.1. P(4VP-co-NVP) Kopolimerinin Serbest Radikal Polimerizasyonu ile Sentezi

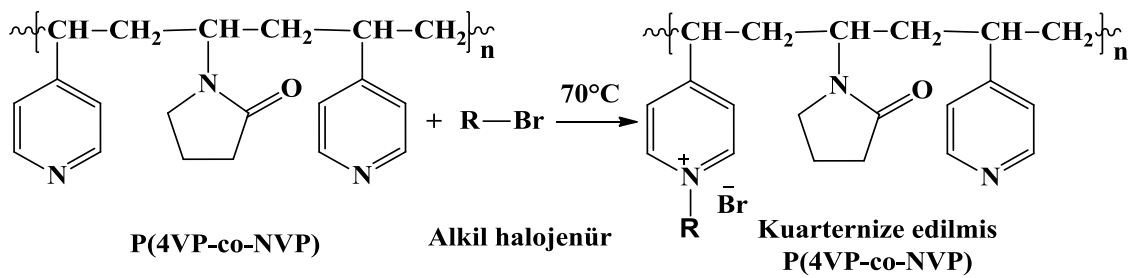
P(4VP-co-NVP) kopolimeri serbest radikal polimerizasyonu ile sentezlenmiştir (Şekil 2.1). Bu kopolimerin sentez reaksiyonu, $[M]_0/[I]_0 = 200/1$ oranı için toplam monomer konsantrasyonu 2 M ve toplam çözelti hacmi 5 mL olacak şekilde belirlenmiştir. 4-vinilpiridin (0,4 M, 0,2 ml) ve 1-vinil-2-pirolidon (1,6 M, 0,85 ml) monomerleri 3,3 ml DMF içerisinde çözülmüştür. Çözelti 30 dakika azot gazına tabi tutulmuştur, daha sonra yağ banyosunda 70 °C'ye ısıtılmıştır. Son olarak, $[M]_0/[I]_0 = 200/1$ oranına göre belirlenen AIPN 0,5 ml DMF içinde çözülmüş bir şekilde polimerizasyonu başlatmak üzere çözeltiliye eklenmiştir. Çözelti 12 saat boyunca yağ banyosunda karıştırılmıştır. Reaksiyon durdurulduktan (70 °C'deki yağ banyosundan alınması) sonra polimer, aşırı miktarda soğuk dietil eter ile çöktürülmüş ve santrifüjleme işlemi yapılmıştır. Eter dekantasyon ile uzaklaştırılıp kalan katı polimer metanol ile çözülerek tekrar soğuk eter ile çöktürülmüştür (Bu çöktürme işlemi 3 kez tekrarlanmıştır.). Numune gece boyunca 50 °C'de kurutulmuştur. Elde edilen beyaz toz numune bir sonraki kullanıma kadar 25 °C'de desikatörde saklanmıştır.



Şekil 2. 1 P(4VP-co-NVP) kopolimerinin serbest radikal polimerizasyonu ile sentezi.

2.2.2. P(4VP-co-NVP)'nin Farklı Zincir Uzunluklarına Sahip Alkilbromürlerle Kuarternizasyonu

Sentezlenen P(4VP-co-NVP) kopolimerinde bulunan 4VP birimleri farklı zincir uzunluklarına sahip alkil bromürlerle değişen oranlarda kuarternize edilmiştir (Şekil 2.2). P(4VP-co-NVP), on altı farklı vialde polimer miktarı 50 mg olacak şekilde tartılmıştır ve 1 mL etanol içinde çözülmüştür. Daha sonra, bu çözeltilere, Tablo 2.1’de belirtilen miktarlarda kuarternizasyon ajanları (BrE, BrB, BrH, BrD) ilave edilmiştir. Eklenen kuarternizasyon ajanlarının konsantrasyonları, $n_{KA}/n_{4VP}=0,1; 0,3; 0,5$ ve 5 olacak şekilde ayarlanmıştır. Homojen haldeki çözeltiler 4 gün boyunca 70 °C’de yağ banyosunda karıştırılmıştır. Bu işlemin sonunda, çözeltiler aşırı miktar (1/15 kat) dietil eter ile çöktürülüp santrifüjlenmiştir. Elde edilen katı polimerler metanol içerisinde çözümlenip tekrar eter ile (3 kez) çöktürülmüştür. Etüvde 50 °C’de gece boyunca kurutulan örnekler daha sonrasında 25 °C’de desikatörde saklanmıştır.



R: C₂H₅, C₄H₉, C₆H₁₃, C₁₀H₂₁

R-Br : BrE, BrB, BrH, BrD

Şekil 2. 2 Farklı zincir uzunluklarına sahip alkil halojenürler kullanılarak kuarternize P(4VP-co-NVP) kopolimer oluşumu.

Tablo 2. 1 Kuarternizasyon reaksiyonunda kullanılan ajanların isimleri ve konsantrasyonları

Örnek Kodu	Polimer Konsantrasyonu (mg/mL)	Kullanılan Kuarternizasyon Ajanı (Alkilbromür)	Kuarternizasyon Ajanı Konsantrasyonu (mg/mL)
BrE1	50	Bromoetan	0,0033
BrE2	50	Bromoetan	0,0067
BrE3	50	Bromoetan	0,0170
BrE4	50	Bromoetan	0,0840
BrB1	50	1-Bromobütan	0,0050
BrB2	50	1-Bromobütan	0,0100
BrB3	50	1-Bromobütan	0,0250
BrB4	50	1-Bromobütan	0,1250
BrH1	50	1-Bromoheksan	0,0060
BrH2	50	1-Bromoheksan	0,0127
BrH3	50	1-Bromoheksan	0,0320
BrH4	50	1-Bromoheksan	0,1500
BrD1	50	1-Bromodekan	0,0095
BrD2	50	1-Bromodekan	0,0190
BrD3	50	1-Bromodekan	0,0475
BrD4	50	1-Bromodekan	0,237

2.3. KARAKTERİZASYON

2.3.1. Polimerlerin Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) Analizi

Kopolimerin yapısını ve kuarternize kopolimerlerin piridin halkalarının kuarternizasyon derecelerini belirlemek için FTIR spektroskopisi kullanılmıştır. Tüm numuneler kuru toz halinde, ZnSe kristali içeren Pike MIRacle ATR aparatı ile Shimadzu IR-Prestige-21 FTIR spektrometresi kullanılarak analiz edilmiştir. Ölçümler $4000-650\text{ cm}^{-1}$ lik dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir.

2.3.2. Polimerlerin ¹H-NMR Spektroskopisi ile Analizi

Kopolimer ve kuarternize edilmiş tüm polimerlerin, ¹H-spektrumları Bruker Avance 500 NMR spektroskopisi kullanılarak analiz edilmiştir. Polimer örnekleri dötero kloroform veya DMSO'da çözünerek spektrumları alınmıştır.

2.3.3. Jel Geçirgenlik Kromatografisi (GPC) Analizi

Sentezlenen P(4VP-co-NVP) kopolimerinin molekül ağırlığı ve molekül ağırlığı dağılımı, kırılma indisi ve ışık saçılma detektörleri içeren Viscotek TDA302 GPC sistemi kullanılarak belirlenmiştir. Ayırma işlemi Eprogen CatSEC300 kolonuyla gerçekleştirilmiş ve akış hızı 0,4 mL/dak olarak ayarlanmıştır. Mobil faz olarak, 0,15 M NaCl içeren 0,1 M asetik asit çözeltisi hazırlanmıştır. Kalibrasyon standardı olarak polietilen oksit (M_n = 21 kDa ve PDI = 1,15) kullanılmıştır. Örnekler 0,45 µm şırınga filtresi ile filtrelenmiştir.

2.3.4. Polimerlerin Dinamik ve Elektroforetik Işık Saçılması Spektroskopisi ile Analizi

Polimer numunelerin hidrodinamik boyutu, hidrodinamik boyut dağılımları ve zeta potansiyel analizleri 25°C'de Malvern Zetasizer Nano ZS cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm örnekler ultra saf suda çözülmüş ve 0,45 µm şırınga filtresi kullanılarak filtrelenmiştir. Hem boyut hem de zeta potansiyel analizleri için tek kullanımlık kıvrımlı kılcal küvetler kullanılmıştır.

2.4. ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Bu çalışmada elde edilen katyonik polimerlerin antibakteriyel özellikleri; *Staphylococcus aureus* (ATCC number: 25923) (Gram pozitif), *Escherichia coli* (ATCC number 25922) ve *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC number 27853) (Gram negatif) türleri kullanılarak broth mikrodilüsyon ve agar kuyucuk difüzyon metotları ile değerlendirilmiştir. Test metotlarında kullanılan mikroorganizmaların çalışma süspansiyonları, tek gecelik kültürden hazırlanmış olup 1,5–3,0x10⁸ CFU mL⁻¹ olacak şekilde ayarlanmıştır.

2.4.1. Besiyeri ve Çözeltilerin Hazırlanması

Muller Hilton agar (MHA) ve Muller Hilton broth (MHB) besiyerleri dehidre besiyeri olarak ticari alınmış olup, 34,0 g/L konsantrasyonda distile su içinde ısıtılarak eritilmiştir. Eritilen besiyeri otoklavda 125 °C'da 15 dakika sterilize edilerek, steril petri kutularına 12,5'er mL olacak şekilde dökülmüştür.

PBS (fosfat buffer solüsyonu), antibakteriyel testlerde canlı mikroorganizmadaki pH koşullarını sağlamasından dolayı hazırlanmıştır. PBS çözeltisi hazırlanması için toplam hacim 500 ml olacak şekilde 8 g/L sodyum klorür (NaCl), 0,2 g/L potasyum klorür (KCl), 1,44 g/L disodyum fosfat (Na₂HPO₄), 0,24 g/L monopotasyum fosfat (KH₂PO₄) miktarlarında distile su içerisinde çözülmüştür. Daha sonra oluşan çözelti denemelerde kullanılmak üzere +4 °C'de saklanmıştır.

2.4.2. Bakteriyel Süspansiyonların Hazırlanması Çalışma kültüründeki bakteri kolonilerinden birkaçı alınarak Muller Hilton broth (MHB) besiyerinde bir gece 37 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda kültür yoğunluğu antibakteriyel aktivite testleri için, OD_{600nm} 0,1-0,2 aralığına ayarlanmıştır (1,5–3,0x10⁸ CFU ml⁻¹ konsantrasyon).

2.4.3. Agar Kuyucuk Difüzyon Testi

Bu test, Arasoglu vd. tarafından çalışmalarında belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir [130]. Kısaca, hazırlanan mikrobiyal çalışma kültürlerinden 0,1 mL alınarak MHA (Mueller Hilton agar) yüzeylerine swab ile yayılmış ve yaklaşık yarım saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra agar tabakaya dört kuyucuk (6 mm çap) açılmıştır. Bu kuyucuklara stok konsantrasyonu 2 mg/mL olan test örneklerinin her birinden 100 µL yüklenip 37 °C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda antibakteriyel aktivite kuyucuk etrafında oluşan inhibisyon alanı ölçülerek değerlendirilmiştir. Negatif kontrol olarak test örneklerinin çözücüsü kullanılırken pozitif kontrol olarak vancomycine antibiyotiği (4 mg/L) kullanılmıştır.

2.4.4. Broth Mikrodilüsyon Yöntemi

Broth mikrodilüsyon yöntemi, CLSI standardına uygun olarak gerçekleştirilmiştir [131]. Yöntemde, test örneklerinin minimal inhibisyon konsantrasyonu (MIC) belirlenmiş olup çalışma 96 kuyucuklu plate kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Testte, ilk kuyucuktan başlanarak sırasıyla sonraki kuyucuklara bir öncekinin yarısı konulmak suretiyle test örneklerinin (2 µg/mL stok solüsyon) seyrelmesi sağlanmıştır. Sonrasında her bir kuyucuğa ilgili mikroorganizma çalışma kültüründen 100 µL ilave edilerek (2×10^5 CFU ml⁻¹) 37 °C' de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda MIC değeri, kuyucuklardaki mikrobiyal üremenin spektrofotometrik olarak (OD_{600 nm}) ölçülmesi ve beraberinde standart petri sayma yöntemi ile tespit edilmiştir. Çalışmanın kontrol gruplarını ise test örneklerinin çözücüsü, sadece bakteri içeren ve içermeyen sıvı besiyerleri oluşturmuştur. Çalışma üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

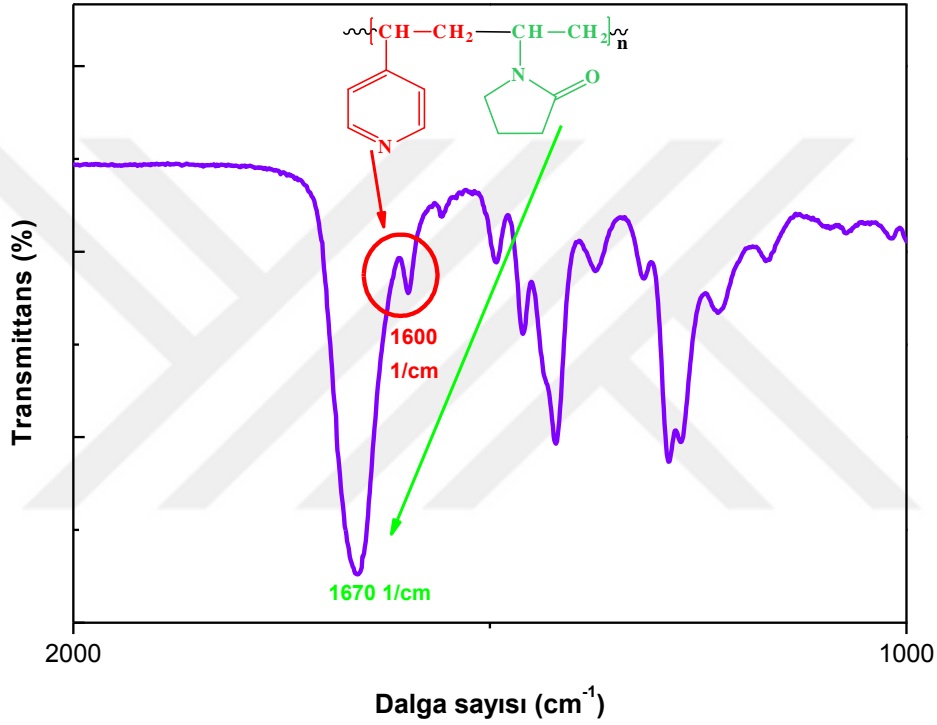
3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu tezin amacı, antibakteriyel uygulamalarda kullanılmak üzere kuarterner amonyum gruplarına sahip kopolimerlerin sentezi, karakterizasyonu ve antibakteriyel etkinliklerinin incelenmesidir. Bu kapsamda, öncelikle 4VP ve NVP monomerlerini içeren P(4VP-co-NVP) rastgele kopolimeri sentezlenmiştir. Sonrasında, bu polimerdeki 4VP grupları, değişen alkil uzunluklarına sahip kuarternizasyon ajanlarıyla (alkilbromürlerle) farklı oranlarda kuarternize edilerek kuarterner amonyum gruplarına sahip kopolimerler elde edilmiştir. Sentezlenen kopolimerlerin mikrobiyolojik testleri yapılarak, polimer içeriğindeki kuarterner amonyum grup miktarının ve bu gruplara bağlı olan alkil zincirlerinin uzunluklarının antibakteriyel etkinlik üzerindeki etkisi sistematik olarak incelenmiştir.

3.1. P(4VP-co-NVP) Kopolimerinin Sentezi ve Karakterizasyonu

4VP ve NVP monomerlerinin serbest radikal polimerizasyonu sonucunda beyaz toz formunda bir P(4VP-co-NVP) kopolimeri elde edilmiştir. Kopolimerin moleküler ağırlığı ve moleküler ağırlık dağılımı GPC ile belirlenmiştir. Kopolimerin kimyasal yapısını analiz etmek için FTIR ve NMR spektroskopileri kullanılmıştır.

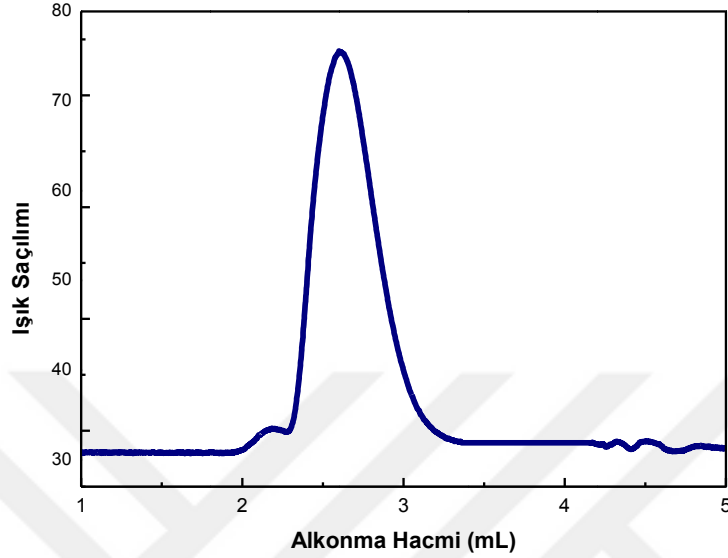
P(4VP-co-NVP) kopolimerinin FTIR spektrumu Şekil 3.1'de verilmiştir. 1600 cm^{-1} 'deki bant, piridin halkasına aittir. 2900 ve 3000 cm^{-1} arasındaki bantlar polimer zincirindeki alifatik gruplara ait iken $3000-3100\text{ cm}^{-1}$ aralığında meydana gelen bantlar ise aromatik halkayı göstermektedir. 1670 cm^{-1} bulunan bant, pirolidondaki karbonil grubuna aittir. Literatürde de görülebileceği gibi, FTIR spektrumlarındaki 1600 ve 1670 cm^{-1} 'deki bantlar piridin ve pirolidon gruplarının varlığını kanıtlamaktadır [132].



Şekil 3. 1 P(4VP-co-NVP) kopolimerinin FTIR spektrumu

P(4VP-co-NVP) kopolimerinin ışık saçılması detektöründen alınan GPC kromatogramı Şekil 3.2'de verilmiştir. Bu detektörden gelen sinyal doğrudan polimerin konsantrasyonu ve moleküler kütlesi ile ilişkilidir. Kromatogramda polimere ait pik $2,6\text{ mL}$ 'de elüe olmuştur. $2,1\text{ mL}$ 'de elüe olan küçük pik ise çok az miktardaki agregat olmuş polimeri göstermektedir. Kromatogramda monomerlere ait pik veya pikler bulunmamaktadır. P(4VP-co-NVP) kopolimerinin GPC analizi sonucunda ağırlıkça ortalama molekül ağırlığı (M_w) 36 kDa ve polidispersite indeksi (M_w/M_n) 1.665 olarak bulunmuştur. GPC kromatogramı, kopolimerin unimodal dağılımda olduğunu ve

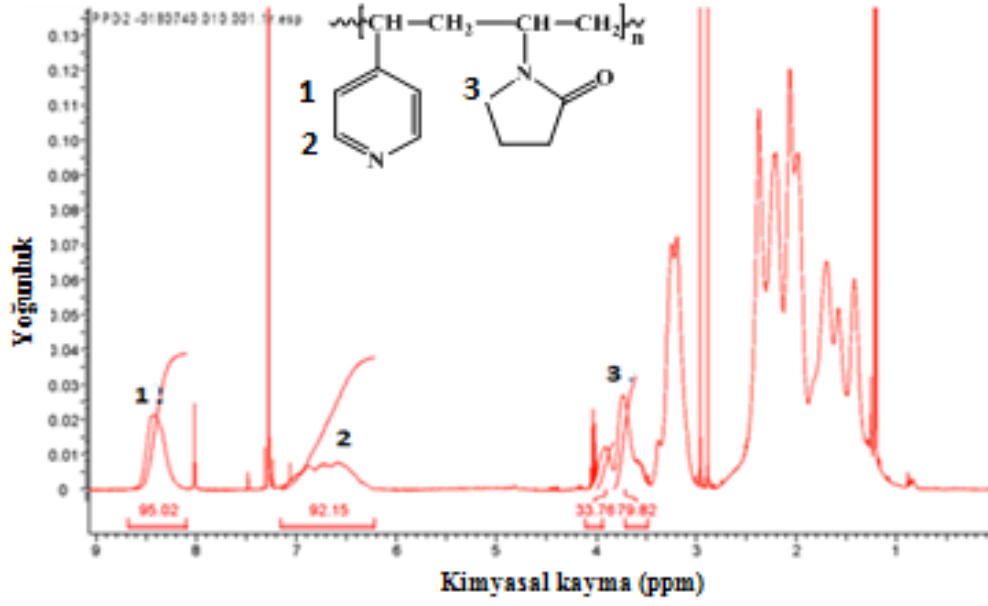
reaksiyona girmemiş monomerlerin başarılı bir şekilde uzaklaştırıldığını göstermektedir.



Şekil 3. 2 Işık saçılım detektöründen elde edilen P(4VP-co-NVP) kopolimerinin GPC kromatogramı.

¹H-NMR spektrumu polimerlerin kimyasal yapısı hakkında bilgi vermektedir. Şekil 3.3, P(4VP-co-NVP) kopolimerlerinin dötero DMSO içerisindeki ¹H-NMR spektrumunu göstermektedir. Kopolimerin spektrumunda görüldüğü üzere, 6,8 ve 8,3 ppm'deki (1 ve 2) pikler, 4VP'deki piridin halkasının protonlarına aittir. Spektrumda 3,7 ppm'de görülen pik ise NVP'deki azot atomuna bağlı metilen (-CH₂-) grubundaki protonlara aittir. Ayrıca pik alanları hesaplandığında, kopolimerin molce %45 4VP ve molce %55 NVP içerdiği saptanmıştır.

¹H-NMR ve FTIR spektrumları ile GPC kromatogramı beraber ele alındığında P(4VP-co-NVP) kopolimerinin başarılı şekilde sentezlendiği saptanmış ve polimerin kuarternizasyonu aşamasına geçilmiştir.



Şekil 3. 3 P(4VP-co-NVP) kopolimerinin ¹H-NMR spektrumu

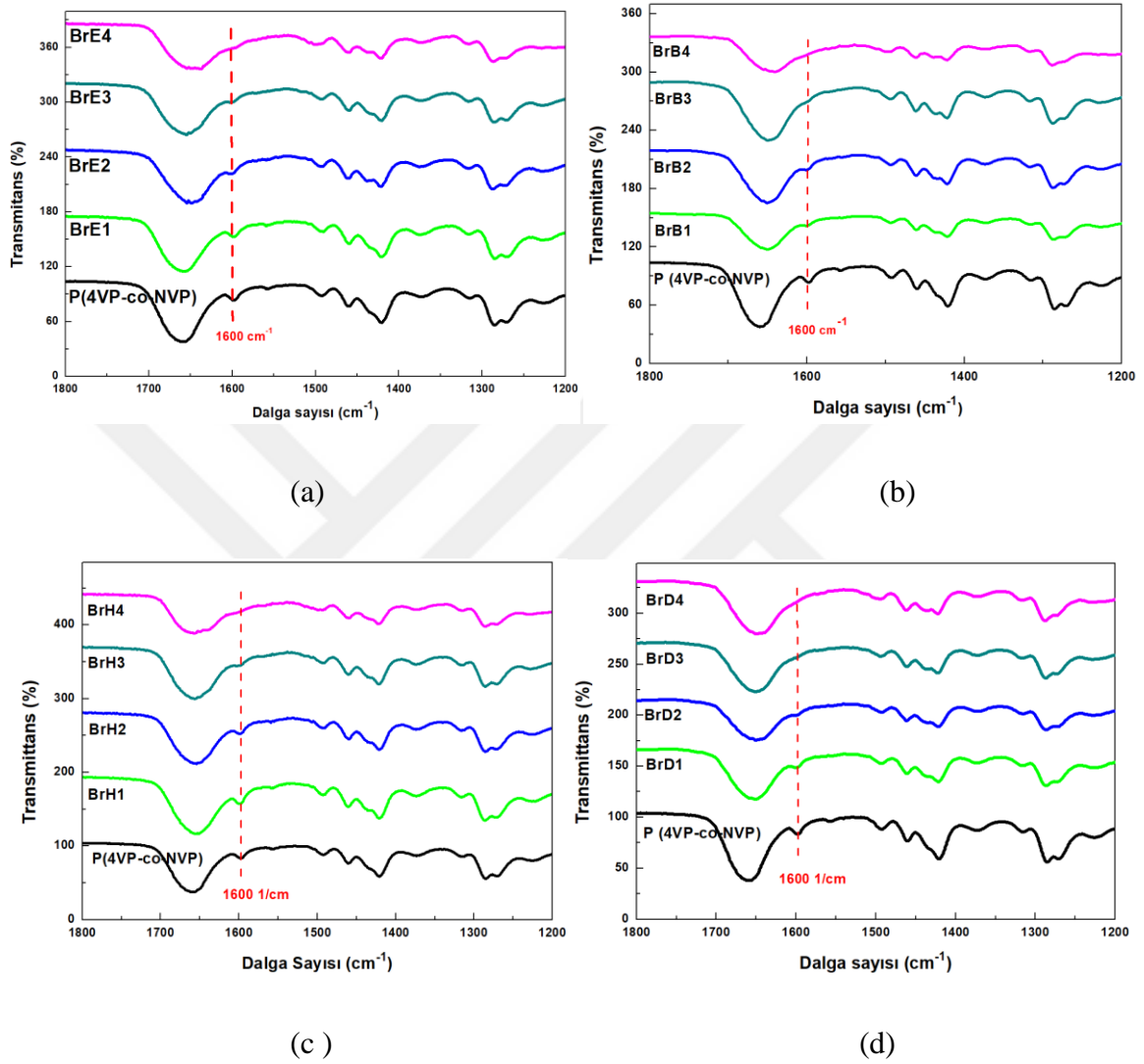
3.2. Kopolimerin Kuarternleştirilmesi ve Karakterizasyonları

P(4VP-co-NVP) kopolimerinin piridin grupları, kuarterner amonyum grupları içeren pozitif yüklü polimerler elde etmek için farklı zincir uzunluklarına sahip alkilbromürler ile kuarternize edilmiştir. Tablo 2.1’de isimleri ve reaksiyona eklenen miktarlarının verildiği bu ajanlardan BrE 2 karbonlu, BrB 4 karbonlu, BrH 6 karbonlu ve BrD ise 10 karbonlu alkil zincirlerine sahiptirler. Kopolimerle, bu ajanların her biri değişen konsantrasyonlarda reaksiyona sokularak farklı pozitif yüklere sahip polimerler elde edilmiştir. Elde edilen kuarterner kopolimerler FTIR ve ¹H-NMR spektroskopileri ile analiz edilerek polimer yapısındaki 4VP birimlerinin ne kadarının kuarternleştirildiği saptanmıştır.

3.2.1. Alkilbromürlerle Kuarternleştirilmiş P(4VP-co-NVP) Kopolimerlerinin FTIR Spektroskopisi Analizleri

Elde edilen kuarterner kopolimerler öncelikle FTIR spektroskopisi ile karakterize edilmiştir. FTIR spektrumlarında 4VP gruplarının kuarternleştirdiği 1600 ve 1640 cm⁻¹’deki pikler gözlemlenerek saptanabilmekte ve bu dalga sayılarında çıkan piklerin şiddetleri bu grupların polimer zinciri içindeki sayısı ile ilişkilendirilebilmektedir. 1600 cm⁻¹’deki pik 4VP’deki piridin halkasına aitken ve 1640 cm⁻¹’deki pik ise

kuarternerleştirilmiş piridin halkasına aittir. Şekil 3.4 'te P(4VP-co-NVP) kopolimeri ve alkilbromürlerle kuarternize edilmiş P(4VP-co-NVP) (BrE, BrB, BrH ve BrD) kopolimerlerine ait FTIR spektrumları verilmiştir.



Şekil 3. 4 P(4VP-co-NVP) ve kuarterner P(4VP-co-NVP) kopolimerlerinin FTIR spektrumları. (a) BrE, (b) BrB, (c)BrH ve (d) BrD ile farklı oranlarda kuarternize edilmiş P(4VP-co-NVP) kopolimerleri

Şekil 3.4'te verilen tüm FTIR spektrumlarında 1600 ve 1670 cm^{-1} 'de 4VP ve NVP gruplarına ait pikler görülmektedir. 1640 cm^{-1} 'de görülmesi beklenen kuarternize piridin halkasına ait pik, 1670 cm^{-1} 'de çıkan NVP pikiyle çakıştığından ötürü hiçbir spektrumda saptanamamıştır.

Şekil 3.4a'da kuarternizasyon ajanı olarak BrE'nin kullanıldığı kopolimerlerin FTIR spektrumları verilmektedir. Şekil 3.4a'da görüldüğü üzere, piridin halkasına ait olan 1600 cm⁻¹'deki pikin şiddetinin reaksiyona eklenen BrE konsantrasyonu arttıkça azaldığı görülmektedir. Bunun sebebi, eklenen kuarternizasyon ajanı miktarı arttıkça daha çok sayıda piridin halkasının kuarternize olmasından dolayı kuarternize olmamış piridin halkası sayısının azalmasıdır [133]. 1640 cm⁻¹'deki kuarternize piridin halkasına ait pik ise 1670 cm⁻¹'deki NVP'ye ait daha şiddetli pikten ötürü saptanamamaktadır.

Şekil 3.4b, c ve d'de ise sırasıyla BrB, BrH ve BrD'nin kuarternizasyon ajanları olarak kullanıldığı reaksiyonlar sonucu elde edilen kopolimerlere ait FTIR spektrumları verilmiştir. Bu spektrumlarda da Şekil 3.4a'da olduğu şekilde, eklenen kuarternizasyon ajanı konsantrasyonu arttıkça 1600 cm⁻¹'deki pikin şiddetinin azaldığı görülmektedir. Kuarternizasyon ajanının en yüksek konsantrasyonda eklendiği tüm kopolimerlerde ise 1600 cm⁻¹'deki pik gözlenmemektedir.

FTIR spektrumları kuarternizasyon konsantrasyonu arttıkça, polimer zincirindeki kuarternize olmamış piridin halkalarının sayısının azaldığını net bir şekilde göstermektedir. Ancak kuarternize piridin halkalarının miktarını saptamak için ve kopolimerinin yapısının analizi için tüm kopolimerler ¹H-NMR spektroskopisi ile incelenmiştir.

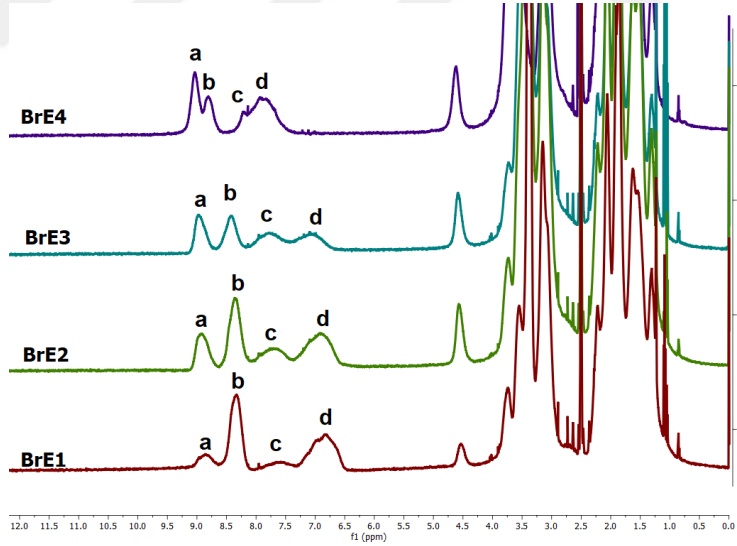
3.2.2. Alkilbromürlerle Kuarternleştirilmiş P(4VP-co-NVP) Kopolimerlerinin ¹H-NMR Spektroskopisi ile Analizi

Kuarternizasyon işlemi sonrasında piridin halkasındaki azot atomu kuarterner amonyum grubuna dönüşmektedir. Bu sebeple de aromatik piridin halkasındaki protonların ¹H-NMR spektrumlarında kayma gerçekleşmektedir. Piridin halkasındaki protonlar 6,6 and 8,2 ppm değerlerinde ¹H-NMR spektrumunda pik vermektedir. Ancak piridin halkasındaki azot kuarternerleştiğinde 8,8-9,0 ve 7,5-7,8 ppm aralıklarında yeni pikler gözlenmektedir. Piridin ve kuarterner piridin halkalarına ait piklerin alanları Denklem 3.1'e yerleştirilerek ilgili polimerin kuarternerleşme derecesi bulunabilmektedir [134].

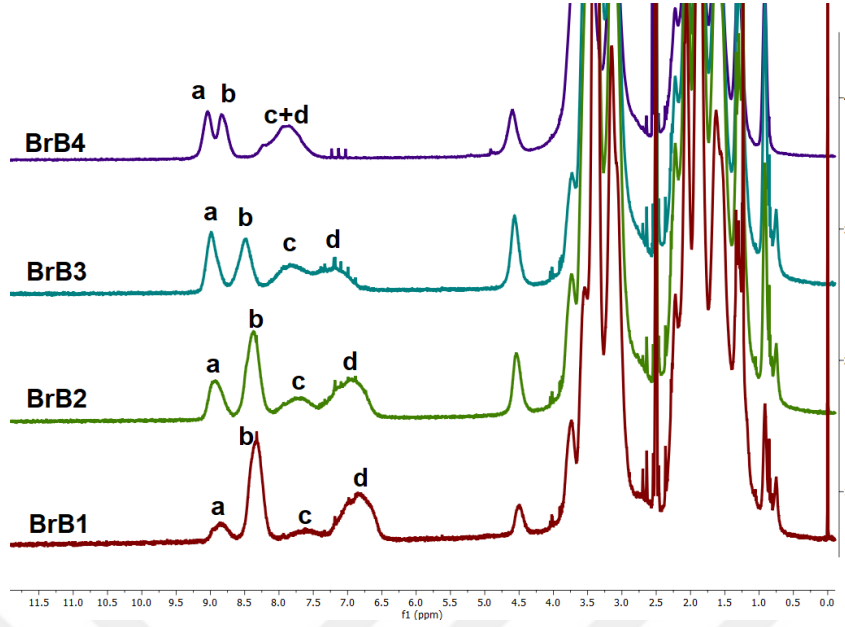
$$Q\% = \frac{A_{QVP}}{A_{QVP} + A_{VP}} \quad (\text{Denklem 3.1})$$

Denklem 3.1’de $Q\%$ kuarternerleşme derecesini, A_{QVP} kuarterner piridin halkasındaki proton pikinin alanı ve A_{VP} ise kuarterner olmayan piridin halkasındaki proton pikinin alanını vermektedir. Tez çalışmasında üretilen kuarterner kopolimerlerin kuarternizasyon dereceleri $^1\text{H-NMR}$ spektrumları kullanılarak belirlenmiştir.

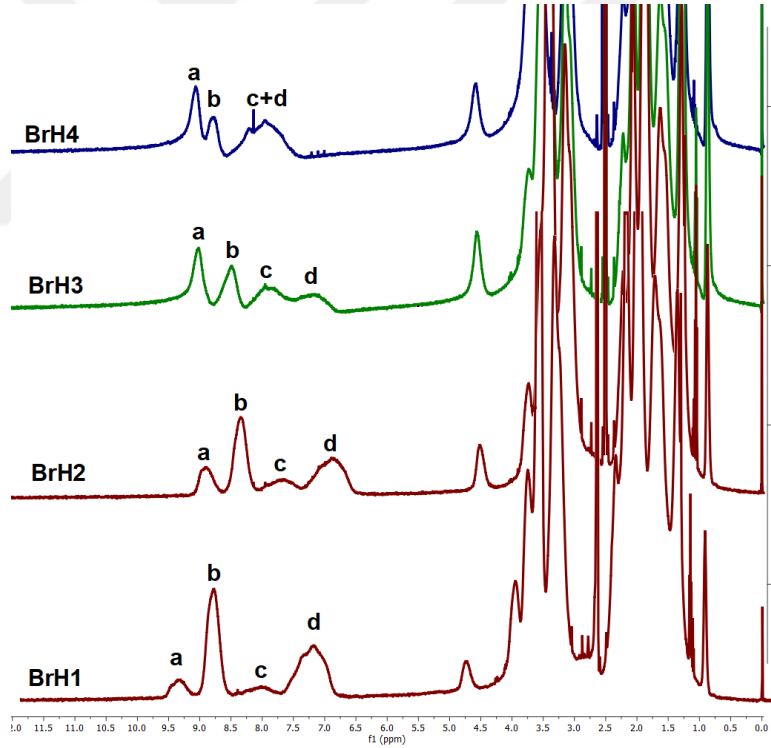
Şekil 3.5, 3.6, 3.7 ve 3.8 sırasıyla bromoetan, 1-bromobütan, 1-bromoheksan ve 1-bromodekan ile kuarternize edilmiş kopolimerlerin $^1\text{H-NMR}$ spektrumlarını göstermektedir. Şekillerden görüleceği üzere 6,5-9,5 ppm aralığında 4 pik bulunmaktadır. Bu piklerden a ve c ile işaretliler kuarterner piridin protonlarına aitken b ve d işaretli pikler kuarterner olmayan piridin halkalarına aittir. $^1\text{H-NMR}$ spektrumları incelendiğinde, kuarterner piridin halkasına ait piklerin alanlarının kuarternerleşme reaksiyonu için eklenen bromoalkan miktarıyla beraber arttığı görülmektedir. Bu spektrumlardaki piridin halkasına ait protonların pik alanları ve Denklem 3.1 kullanılarak elde edilen kuarternerleşme dereceleri Tablo 3.1’de verilmiştir. Tablodaki değerler incelendiğinde, kuarternizasyon reaksiyonunda eklenen bromoalkan miktarı arttıkça kuarternerleşme derecesinin de arttığı görülmektedir.



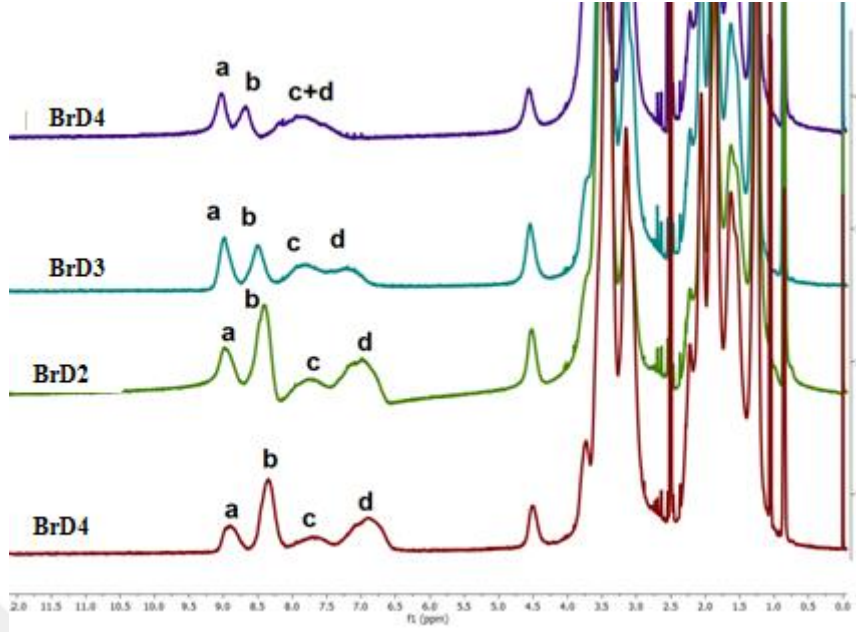
Şekil 3. 5 BrE serisi kopolimerlere ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumları



Şekil 3. 6 BrB serisi kopolimerlere ait ^1H -NMR spektrumları



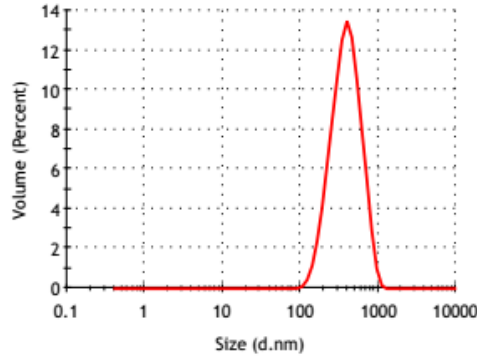
Şekil 3. 7 BrH serisi kopolimerlere ait ^1H -NMR spektrumları.



Şekil 3. 8 BrD serisi kopolimerlere ait ¹H-NMR spektrumları.

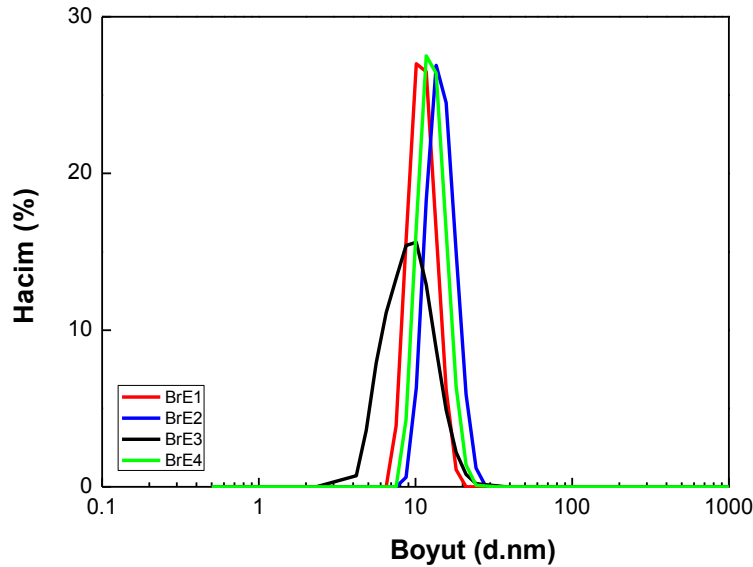
3.2.3. Alkilbromürlerle Kuarternleştirilmiş P(4VP-co-NVP) Kopolimerlerinin Dinamik ve Elektroforetik Işık Saçılması Analizleri

Kopolimerin ve kuarternize kopolimerlerin hidrodinamik boyut ve yüzey yükleri (zeta potansiyelleri), çözelti içerisinde ve biyolojik şartlarda (ortamda) davranışlarını etkileyen en önemli özelliklerdendir. Bu sebeple, polimerlerin sulu çözeltileri dinamik ve elektroforetik ışık saçılması spektroskopisi ile incelenerek hidrodinamik çap ve zeta potansiyel değerleri saptanmıştır. Şekil 3.9, P(4VP-co-NVP) kopolimerinin pH 7'deki boyut dağılımını göstermektedir. Şekilde görüldüğü üzere, kopolimerin hidrodinamik çapı boyutu yaklaşık 413 nm olarak belirlenmiştir. Polimerin boyutunun bu kadar yüksek çıkmasının sebebi polimer zincirindeki hidrofobik 4VP gruplarında ötürü polimer zincirlerinin agrege olmasından kaynaklanmaktadır.



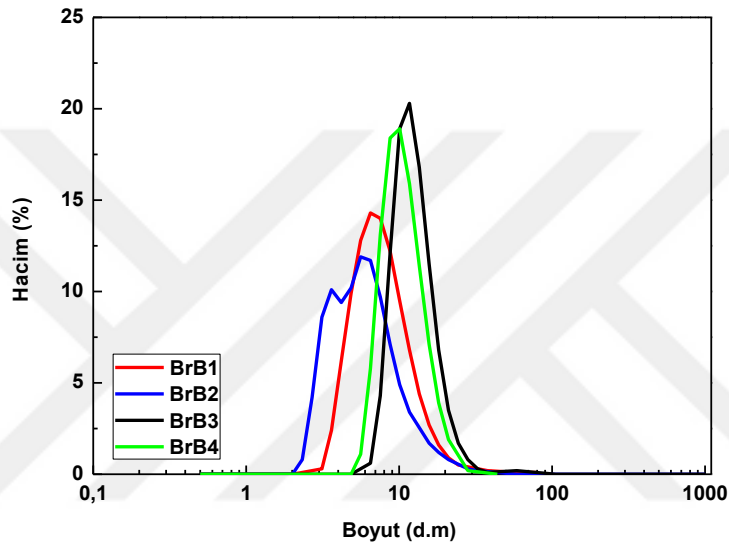
Şekil 3. 9 P(4VP-co-NVP) kopolimerinin pH 7’de hacimce hidrodinamik boyut dağılımı

BrE ile kuarternize edilmiş P(4VP-co-NVP) kopolimerlerinin boyut dağılım grafikleri Şekil 3.10’da verilmiştir. Kuarternize kopolimerlerin hidrodinamik çaplarının 12-16 nm aralığında olduğu saptanmıştır. Kopolimerin boyutunun kuarternizasyondan sonra önemli derecede küçüldüğü net bir şekilde görülmektedir. Bunun sebebi ise, hidrofobik piridin gruplarının kuarternizasyondan sonra pozitif yüklenmesinden ötürü polimerin suda çözünür hale gelmesidir. Bu sebeple polimer zincirleri agrege olmamaktadır.



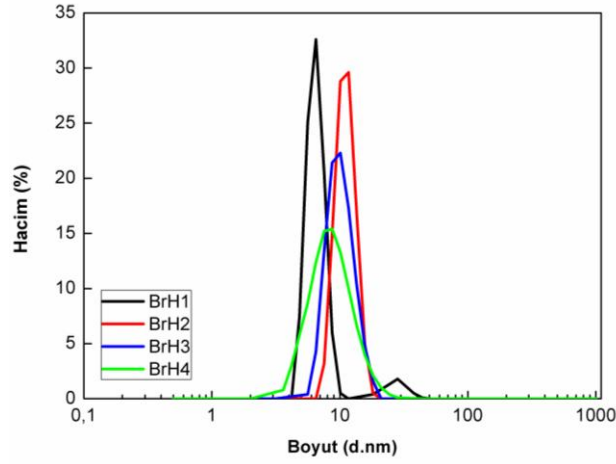
Şekil 3. 10 BrE ile kuarternleştirilmiş olan P(4VP -co-NVP) kopolimerleri; BrE1, BrE2, BrE3 ve BrE4

BrB ile kuarternize edilmiş P(4VP-co-NVP) kopolimerlerinin boyut dağılım grafikleri Şekil 3.11’de verilmiştir. Kuarternize kopolimerlerin hidrodinamik çaplarının 8-20 nm aralığında olduğu saptanmıştır. BrE’de de açıklandığı gibi kopolimerin boyutunun kuarternizasyondan sonra önemli derecede küçüldüğü yine net bir şekilde görülmektedir. Bunun sebebi olarak, hidrofobik piridin gruplarının kuarternizasyondan sonra pozitif yüklenmesinden ötürü polimerin suda çözünür hale gelmesidir. Bu sebeple polimer zincirleri agrege olmamaktadır.



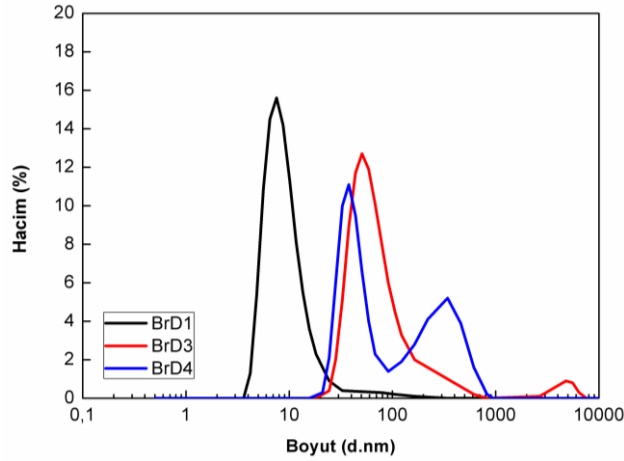
Şekil 3. 11 BrB ile kuarternleştirilmiş olan P(4VP -co-NVP) kopolimerleri; BrB1, BrB2, BrB3 ve BrB4

BrH ile kuarternize edilmiş P(4VP-co-NVP) kopolimerlerinin boyut dağılım grafikleri Şekil 3.12’de verilmiştir. Kuarternize kopolimerlerin hidrodinamik çaplarının 8-16 nm aralığında olduğu saptanmıştır.



Şekil 3.12 BrH ile kuarternleştirilmiş olan P(4VP-co-NVP) kopolimerleri; BrH1, BrH2, BrH3 ve BrH4

BrD ile kuarternize edilmiş P(4VP-co-NVP) kopolimerlerinin boyut dağılım grafikleri Şekil 3.13'te verilmiştir. Kuarternize kopolimerlerin hidrodinamik çaplarının 10-110 nm aralığında olduğu saptanmıştır. Bu kopolimerlerde, BrE, BrB ve BrH'den farklı olarak daha büyük çap değerleri elde edilmiştir. Kopolimerlerin kuarternizasyonunda kullanılan 1-bromodekandaki alkil zincirinin BrE, BrB ve BrH'den daha uzun olmasından ötürü, hidrofobik etkiye sebep olarak polimerlerin agrege olmasına yol açtığı düşünülmektedir.



Şekil 3.13 BrD ile kuarternleştirilmiş olan P(4VP-co-NVP) kopolimerleri; BrD1, BrD3 ve BrD4 (BrD2 suda çözünmemiştir).

Yüzey yükü (zeta potansiyel) değeri polimerlerin çözelti davranışlarını ve biyolojik aktivitelerini etkileyen en önemli özellikler arasındadır. Tablo 3.1'de görüldüğü üzere, kopolimer ve kuarterner kopolimerlerin zeta potansiyel değerleri +10 ve +32,5 mV arasındadır. Bu sonuçlar doğrultusunda kuarterner kopolimerlerin yapısında kuarternize piridin halkalarının mevcut olduğu ve bu kopolimerlerin pH 7'de oldukça pozitif yüklü olduğu anlaşılmaktadır.

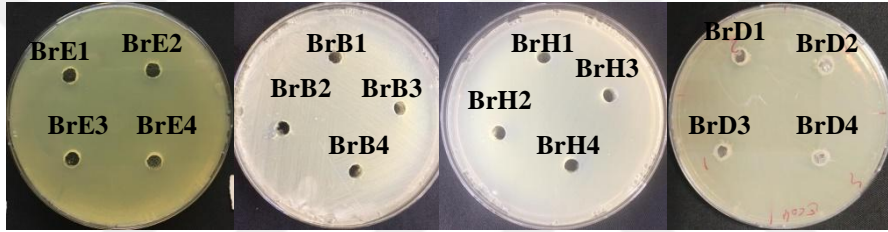
Tablo 3. 1 Polimerlerin kuarternizasyon dereceleri ve zeta potansiyel değerleri

Polimer Adı	Q%	Zeta Potansiyel (mV)
P (4VP -co-NVP)	-	+4,3
P (4VP-co-NVP)-BrE1	21,7	+14
P (4VP-co-NVP)-BrE2	29,5	+25,9
P (4VP-co-NVP)-BrE3	48,8	+32,5
P (4VP-co-NVP)-BrE4	61,2	+15
P (4VP-co-NVP)-BrB1	20,6	+26,2
P (4VP-co-NVP)-BrB2	28,6	+22,6
P (4VP-co-NVP)-BrB3	48,5	+21,2
P (4VP-co-NVP)-BrB4	51,1	+10,2
P (4VP-co-NVP)-BrH1	15,8	+26,2
P (4VP-co-NVP)-BrH2	27,8	+23,9
P (4VP-co-NVP)-BrH3	52,5	+29,5
P (4VP-co-NVP)-BrH4	61,4	+14,7
P (4VP-co-NVP)-BrD1	25,2	+18,7
P (4VP-co-NVP)-BrD2	40	Suda çözünmemiştir.
P (4VP-co-NVP)-BrD3	48,6	+11,2
P (4VP-co-NVP)-BrD4	54,5	+9,85

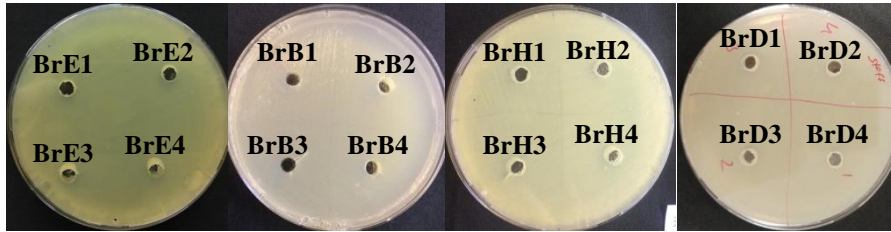
3.3. Alkilbromürlerle Kuarternerleştirilmiş P(4VP-co-NVP) Kopolimerlerin Antibakteriyel Testleri

Çalışmada sentezlenen kuarterner P(4VP-co-NVP) kopolimerlerinin antibakteriyel aktivitesi iki farklı metot kullanılarak *E. Coli* ve *S. aureus* organizmaları üzerinde değerlendirilmiştir. Bu metotlardan ilki, agar kuyucuk difüzyon testi, difüzyon prensibi ile çalışan kalitatif bir test olup kuyucuk etrafında oluşan alanın çapının ölçülmesi ile

değerlendirilen bir metottur. Bu metotla değerlendirilen tüm test örneklerinin hiçbirinde inhibisyon alanı görülmediğinden antibakteriyel aktivite tespit edilememiştir (Şekil 3.14 ve Şekil 3.15). Ancak bu metot difüzyon prensibini esas aldığından sentezlenen tüm örneklerin MHA agar içerisinde difüze olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Bunun nedeninin, kopolimerin boyutlarının veya yükünün agar ortamı içinde difüzyonunu önlemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Kopolimerlerin büyüklüğü agar jelindeki boşluklardan geçmeyi engellemiş olsa da, pozitif yüklü kopolimerler agar jelin yapısındaki agaropektinin sülfat grupları gibi negatif yüklü agar bileşenleri ile elektrostatik olarak etkileşime girebilmektedir. Literatürdeki çalışmada da belirtildiği üzere, agar jeli yapısındaki az sayıda karşı yüklü grup bile elektrostatik çekimle yüklü parçacıklar için güçlü bir yakalama etkisi gösterebilmektedir [135].



Şekil 3. 14 BrE, BrB, BrH ve BrD kopolimerlerinin *E.coli* için agar kuyucuk difüzyon metot sonuçları



Şekil 3. 15 BrE, BrB, BrH ve BrD katyonik polimerlerinin *S.aureus* için agar kuyucuk difüzyon metot sonuçları

Antibakteriyel aktivitenin tespitinde kantitatif metot olarak kullanılan broth mikrodilüsyon yöntemine göre belirlenen MIC değerleri Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3. 2 BrE, BrB, BrH, BrD kopolimerlerinin *E.coli*, *S. Aureus* ve *P. aeruginosa* için broth mikrodilüsyon yöntemine göre tespit edilen MIC değerleri

Örnek	MIC değerleri (µg/ml)		
	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
BrE1	>1024µg/ml	>1024µg/ml	1024 µg/ml
BrE2	512µg/ml	>1024µg/ml	>1024 µg/ml
BrE3	512µg/ml	>1024µg/ml	>1024 µg/ml
BrE4	1024µg/ml	>1024µg/ml	>1024 µg/ml
BrB1	>1024µg/ml	>1024µg/ml	1024 µg/ml
BrB2	512µg/ml	>1024µg/ml	256 µg/ml
BrB3	>1024µg/ml	>1024µg/ml	1024 µg/ml
BrB4	>1024µg/ml	>1024µg/ml	1024 µg/ml
BrH1	>1024µg/ml	>1024µg/ml	128 µg/ml
BrH2	512µg/ml	>1024µg/ml	256 µg/ml
BrH3	256µg/ml	>1024µg/ml	256 µg/ml
BrH4	1024µg/ml	>1024µg/ml	128 µg/ml
BrD1	>1024µg/ml	>1024µg/ml	>1024µg/ml
BrD2	>1024µg/ml	>1024µg/ml	>1024µg/ml
BrD3	>1024µg/ml	>1024µg/ml	>1024µg/ml
BrD4	>1024µg/ml	>1024µg/ml	>1024µg/ml

S. aureus ile yürütülen çalışmada sentezlenen kopolimer örneklerinin test edilen konsantrasyonlarının hiçbirinde antibakteriyel aktivite tespit edilememiştir. Polimerin antibakteriyel aktivite gösterebilmesi için polimer zinciri ve bakteriyel membran arasında güçlü ve yakın bir etkileşim olması gerekmektedir [136]. Çalışmada üretilen kuarternier kopolimerlerin yapısındaki pozitif yüklü gruplar ve hidrofobik grupların Gram pozitif bakteriyel membranıyla antibakteriyel etki gösterecek kadar kuvvette etkileşime girmek için yeterli olmadığı görülmüştür. Bunun en önemli sebeplerinden biri olarak Gram pozitif bakterilerinin membranlarının Gram negatiflere kıyasla daha az negatif yüklü olmasıdır [130]. Ancak tez çalışmasındaki kopolimere benzer yapıda olup benzilbromürle kuarternize edilmiş kopolimerlerin *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği bilinmektedir [1]. Kuarternize edilmiş kitosanla yapılmış bir çalışmada ise benzil grubuyla kuarternize edilmiş kitosanın etil grubuyla kuarternize

edilmiş kitosana göre daha yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir [137]. Bu tez çalışmasında, kopolimerin alkil gruplarıyla kuarternize edilmiş olmasının *S. aureus*'a karşı kopolimerin antibakteriyel aktivite göstermemesine sebep olmuştur.

E.coli çalışmasında ise MIC değeri veren örnekler Tablo 3.2'de verilmektedir. BrE2, BrE3, BrE4, BrB2, BrH2, BrH3 ve BrH4 kopolimerlerinin çalışılan konsantrasyonlarda antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu görülmektedir.

BrE serisi incelendiğinde, BrE1 *E.coli*'ye karşı antibakteriyel aktivite göstermemektedir. Bunun sebebi, polimerin kuarternleşme miktarının ve zeta potansiyel değerinin düşük olmasıdır. BrE2 ve BrE3 ise 512 µg/mL MIC değerine sahipken BrE4 kopolimerinin MIC değeri 1024 µg/mL'dir. BrE4 kopolimerinin MIC değerinin yüksek olmasının zeta potansiyel değerinin BrE2 ve BrE3'ten daha düşük olmasıdır.

BrB serisi örneklerde sadece BrB2 örneği *E.coli*'ye karşı 512 µg/mL konsantrasyonda antibakteriyel aktivite göstermiş diğer BrB örnekleri ise aktivite göstermemiştir. BrE serisi örneklerinin aktivite gösterirken BrB serisi örneklerin aktivite göstermemesinin iki sebebi olduğu düşünülmektedir. Etil grupları çok kısa alkil zincirleri oldukları için pozitif yüklü piridin halkalarının membranla doğrudan etkileşime girmesine olanak sağlamaktadır. Ancak bütül gruplarının daha uzun olması bu doğrudan etkileşimi azaltmıştır. Ayrıca heksil grupları kadar hidrofobik olmadıkları için antibakteriyel aktivite göstermemişlerdir. BrB2 örneğinin aktivite göstermesi ise ancak polimerin çözelti içerisindeki konformasyonundan ötürü olabileceği düşünülmektedir.








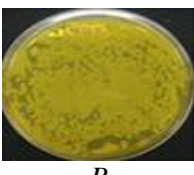


BrH serisi örneklerinin *E. coli*'ye karşı antibakteriyel etkinlikleri incelendiğinde BrH2'nin MIC değeri 512 µg/mL olarak bulunurken BrH3'ünki 256 µg/mL ve BrH4'ünki ise 1024 µg/mL olarak tespit edilmiştir. Bu seride kullanılan alkilleyici ajan heksil grubu literatürdeki çalışmalarda da en etkin antibakteriyel aktiviteyi sağlayan grup olarak belirtilmiştir [139]. Bu sebeple bu seride en düşük MIC değerine ulaşılmıştır. BrH4'teki MIC değeri artışı ise yüksek miktardaki heksil grubundan ötürü polimer içi hidrofobik etkiden ötürü oluşmuş katlanmaların kopolimer-membran etkileşimini azaltmasıdır.

1-Bromodekan ile kuartenize edilmiş P(4VP-co-NVP) kopolimerlerinin Şekil 3.9’da belirtilen hidrodinamik yarıçapları göz önüne alındığında boyutlarının diğer kopolimer serilerinden daha büyük olduğu görülmektedir. Bu durum 1-bromodekan ile kuartenize edilmiş P(4VP-co-NVP) kopolimerlerinin bu alkilleyici ajanın sahip olduğu uzun hidrofobik alkil zinciri sebebi ile agrege olduğunu ve suda çözünemez yapıda olduğunu göstermektedir. Bu sebeple, BrD ile kuarternize edilmiş P(4VP-co-NVP) kopolimerlerinin *E.coli*, *S.aureus* ve *P.aeruginosa* organizmalarının hiçbirisinde antibakteriyel etki göstermemiştir.

Ayrıca kuarternize kopolimerlerinin *E.coli* bakterisi üzerinde göstermiş oldukları MIC değerlerinin desteklenmesi için gram negatif bir bakteri olan *P.aeruginosa* üzerinde de antibakteriyel aktivite incelenmiştir. *P.aeruginosa* organizması üzerinde, *E.coli* ile tespit edilen antibakteriyel aktiviteyi destekleyen MIC değerleri elde edilmiştir. Bu aktivite sonucunda özellikle hekzil grubu ile kuartenize edilen polimerlerin MIC değerlerinin 128 µg/mL’ye kadar düştüğü görülmüştür.

E.coli üzerinde MIC değeri tespit edilen bu örnekler “standart plate” sayımı yöntemi için petri kaplarına ekildiklerinde Tablo 3.3’te verilen görüntüler elde edilmiştir. Bu görüntülerden de anlaşılacağı üzere MIC değeri elde edilen kopolimerler kontrol grubu görüntülerindeki petrilere kıyasla bakteri koloni oluşumunu inhibe ettiği net bir şekilde anlaşılmaktadır.

Tablo 3.3 Antibakteriyel aktivite gösteren kuarterner kopolimerlerin standart plate görüntüleri (*a*: 100 kat seyreltilmiş petriker *b*: 10^6 kat seyreltilmiş petrikeri göstermektedir.)

Örnek	MIC Değeri ($\mu\text{g/mL}$)	“Standart Plate” Görüntüsü	
		Örnek	Bakteri Kontrolü
B2	512	 <i>a</i>	 <i>A</i>
E2	512	 <i>b</i>	 <i>B</i>
E3	512	 <i>b</i>	 <i>B</i>
H2	512	 <i>b</i>	 <i>B</i>
H3	256	 <i>b</i>	 <i>B</i>

4. SONUÇLAR

Tez çalışmasında, antibakteriyel özelliğe sahip suda çözünür monomer içeren katyonik kopolimerler sentezlenerek antibakteriyel etkinlikleri incelenmiştir. Gerçekleştirilen deneysel çalışmalar sonucunda aşağıdaki bulgulara ulaşılmıştır:

- 4VP monomerinin NVP monomeriyle rastgele kopolimeri sentezlenmiş, NMR spektroskopisi ve GPC karakterizasyonları sonucunda başarılı bir şekilde elde edilmiştir.
- Elde edilen kopolimer 2, 4, 6 ve 10 karbona sahip lineer alkilbromürlerle 4'er farklı oranda kuarternleştirilerek 16 farklı kopolimer üretilmiş ve bu kopolimerler FTIR ve NMR spektroskopileri ile incelenerek başarılı bir şekilde sentezlendikleri gösterilmiştir.
- Üretilen kopolimerler ışık saçılması yöntemiyle incelendiğinde; 2, 4 ve 6 karbonlu alkilbromürlerle kuarternize edilmiş kopolimerlerin boyutunun 8-20 nm aralığında olduğu bulunmuştur. Ancak, 10 karbonlu alkil bromürle kuarternize edilen kopolimerlerin boyutları 110 nm' ye kadar yükselmiştir. Bunun sebebinin uzun alkil zincirlerinin polimerin agregasyonuna yol açmasının olduğu düşünülmektedir.
- Kuarternize edilen tüm kopolimerlerin pozitif olan zeta potansiyellerinin +10 ile +32,5 mV aralığında olduğu görülmüştür.
- Tüm kopolimerlerin *E.coli*, *S.aureus* ve *P.aeruginosa*'a karşı antibakteriyel testleri yapılmıştır. Agar difüzyon testlerinde aktivite görülmemesinin nedeninin polimerlerin boyut ve pozitif yüklerinden ötürü agar içinde difüze olamaması ile ilişkilendirilmiştir. Broth mikrodilüsyon testlerinde kopolimerler *S. Aureus*'a karşı aktivite göstermemiştir. Bu durumun, bu mikroorganizmaların membran ve hücre duvarı yapılarından kaynaklandığı belirtilmiştir.
- Kopolimerlerin *E. coli*'ye ve *P.aeruginosa*'a karşı ise antibakteriyel aktivite gösterdikleri görülmüştür. Alkilleyici ajan ve kuarternleştirme oranına göre değişen *E. coli* için 256-1024 µg/mL, *P.aeruginosa* için ise 128-1024 µg/mL arasında farklı MIC değerleri alınmıştır. *E. coli*'ye karşı elde edilen MIC değerleri *P.aeruginosa* bakterisiyle yapılan çalışma sonucunda desteklenmiştir.

Tez çalışmasındaki bulgular ele alındığında 4VP ve NVP monomerlerinden oluşan ve kuarterner amonyum grupları ile lineer alkil yan grupları taşıyan P(4VP-co-NVP) kopolimerinin antibakteriyel özelliğe sahip olduğu görülmüştür. Polimerin yapısında kuarternerleşme derecesi ve alkilleyici ajan değiştirildiğine antibakteriyel etkinliğinin de değiştiği gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre, üretilen kopolimerlerin yüzey kaplama, çeşitli tekstil ürünleri vb. uygulamalarda kullanılmak üzere bir antibakteriyel malzeme adayı olduğu ortaya çıkmıştır.

Bundan sonraki çalışmalarda, antibakteriyel etkinliği arttırmak amacıyla farklı molekül ağırlıklarında veya farklı monomer oranlarında kopolimerler hazırlanması düşünülmektedir. Ayrıca, üretilen kopolimerlerin biyomedikal alana yönelik uygulamalarda kullanılmasını sağlamak amacıyla biyouyumluluk testlerinin yapılması planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Xue, Y. and H. Xiao, *Antibacterial/Antiviral Property and Mechanism of Dual-Functional Quaternized Pyridinium-type Copolymer*. *Polymers*, 2015. 7(11): p. 2290-2303.
2. Siedenbiedel, F. and J.C. Tiller, *Antimicrobial Polymers in Solution and on Surfaces: Overview and Functional Principles*. *Polymers*, 2012. 4(1): p. 46-71.
3. Reinhardt, A. and I. Neundorf, *Design and application of antimicrobial peptide conjugates*. *International journal of molecular sciences*, 2016. 17(5): p. 701.
4. Chan, C.-F., et al., *Applications of nanoparticles for antimicrobial activity and drug delivery*. *Current Organic Chemistry*, 2014. 18(2): p. 204-215.
5. Sun, D., et al., *Antimicrobial materials with medical applications*. *Materials Technology*, 2015. 30(sup6): p. B90-B95.
6. Sidney, M. and R.H. Shimizu, *Novel quaternary ammonium compounds and polymers thereof*. 1965, Google Patents.
7. Panarin, E., M. Solovskii, and O. Ekzemplyarov, *Synthesis and antimicrobial properties of polymers containing quaternary ammonium groups*. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 1971. 5(7): p. 406-408.
8. Timofeeva, L. and N. Kleshcheva, *Antimicrobial polymers: mechanism of action, factors of activity, and applications*. *Applied microbiology and biotechnology*, 2011. 89(3): p. 475-492.
9. Ventola, C.L., *The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats*. *Pharmacy and therapeutics*, 2015. 40(4): p. 277.
10. Jain, A., et al., *Antimicrobial polymers*. *Advanced healthcare materials*, 2014. 3(12): p. 1969-1985.
11. Desrousseau, C., et al., *Modification of the surfaces of medical devices to prevent microbial adhesion and biofilm formation*. *Journal of hospital Infection*, 2013. 85(2): p. 87-93.
12. Yu, Q., Z. Wu, and H. Chen, *Dual-function antibacterial surfaces for biomedical applications*. *Acta Biomater*, 2015. 16: p. 1-13.
13. Huang, K.-S., et al., *Recent advances in antimicrobial polymers: a mini-review*. *International journal of molecular sciences*, 2016. 17(9): p. 1578.
14. Xue, Y., H. Xiao, and Y. Zhang, *Antimicrobial polymeric materials with quaternary ammonium and phosphonium salts*. *Int J Mol Sci*, 2015. 16(2): p. 3626-55.
15. Kuroda, K. and G.A. Caputo, *Antimicrobial polymers as synthetic mimics of host-defense peptides*. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, 2013. 5(1): p. 49-66.
16. Chen, Y., et al., *Redox-responsive supramolecular amphiphiles based on a pillar [5] arene for enhanced photodynamic therapy*. *Polymer Chemistry*, 2016. 7(19): p. 3268-3276.
17. Alvarez-Paino, M., A. Munoz-Bonilla, and M. Fernandez-Garcia, *Antimicrobial Polymers in the Nano-World*. *Nanomaterials (Basel)*, 2017. 7(2).
18. Riga, E.K., et al., *Polymer-Based Surfaces Designed to Reduce Biofilm Formation: From Antimicrobial Polymers to Strategies for Long-Term Applications*. *Macromol Rapid Commun*, 2017. 38(20).
19. Lee, S.B., et al., *Permanent, nonleaching antibacterial surfaces. I. Synthesis by*

- atom transfer radical polymerization*. *Biomacromolecules*, 2004. 5(3): p. 877-882.
20. Willott, J.D., et al., *Physicochemical behaviour of cationic polyelectrolyte brushes*. *Progress in Polymer Science*, 2017. 64: p. 52-75.
 21. Lutz, J.-F., Ö. Akdemir, and A. Hoth, *Point by Point Comparison of Two Thermosensitive Polymers Exhibiting a Similar LCST: Is the Age of Poly(NIPAM) Over?* *Journal of the American Chemical Society*, 2006. 128(40): p. 13046-13047.
 22. Patel, M., et al., *Antibacterial behaviour of quaternized poly(vinyl chloride)-g-poly(4-vinyl pyridine) graft copolymers*. *Chinese Journal of Polymer Science*, 2014. 33(2): p. 265-274.
 23. Liu, L., et al., *In situ forming hydrogels based on chitosan for drug delivery and tissue regeneration*. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2016. 11(6): p. 673-683.
 24. Lv, X., et al., *Construction of a quaternary ammonium salt platform with different alkyl groups for antibacterial and biosensor applications*. *RSC Advances*, 2018. 8(6): p. 2941-2949.
 25. Sarwar, M.S., et al., *Preparation and characterization of PVA/nanocellulose/Ag nanocomposite films for antimicrobial food packaging*. *Carbohydr Polym*, 2018. 184: p. 453-464.
 26. Park, E.S., et al., *Antibacterial activities of polystyrene-block-poly (4-vinyl pyridine) and poly (styrene-random-4-vinyl pyridine)*. *European polymer journal*, 2004. 40(12): p. 2819-2822.
 27. Muñoz-Bonilla, A. and M. Fernández-García, *Polymeric materials with antimicrobial activity*. *Progress in Polymer Science*, 2012. 37(2): p. 281-339.
 28. Tiller, J.C., et al., *Designing surfaces that kill bacteria on contact*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2001. 98(11): p. 5981-5985.
 29. Tiller, J.C., et al., *Polymer surfaces derivatized with poly (vinyl-N-hexylpyridinium) kill airborne and waterborne bacteria*. *Biotechnology and bioengineering*, 2002. 79(4): p. 465-471.
 30. Deka, S., A. Sharma, and P. Kumar, *Cationic Polymers and their Self-Assembly for Antibacterial Applications*. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2015. 15(13): p. 1179-1195.
 31. <*Hemocompatibility of Hydrophilic Antimicrobial Copolymers of.pdf*>.
 32. Jiang, J., et al., *Antifouling and antimicrobial polymer membranes based on bioinspired polydopamine and strong hydrogen-bonded poly(N-vinyl pyrrolidone)*. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2013. 5(24): p. 12895-904.
 33. Lowy, F., *Bacterial classification, structure and function*. Columbia University. Lecture notes. Retrieved August, 2009. 22.
 34. Wilson, J., et al., *Mechanisms of bacterial pathogenicity*. *Postgraduate medical journal*, 2002. 78(918): p. 216-224.
 35. Liu, T.-Y., et al., *Differentiation of bacteria cell wall using Raman scattering enhanced by nanoparticle array*. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 2012. 12(6): p. 5004-5008.
 36. Parker, N., *Microbiology*. 2016.
 37. Kim., M.R.J.S.a.K.-S., *Medical Microbiology*. 4th edition ed. Chapter 2. Structure. 1996.
 38. Sizar, O. and C.G. Unakal, *Gram Positive Bacteria*, in *StatPearls [Internet]*.

- 2019, StatPearls Publishing.
39. Epan, R.M., et al., *Molecular mechanisms of membrane targeting antibiotics*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 2016. 1858(5): p. 980-987.
 40. Kovalenko, N., *Morphology of bacteria, viruses and protozoa*. 2017.
 41. Temiz, H., et al., *Kan Kültürlerinden İzole Edilen Gram-Negatif Bakterilerde Çeşitli Antibiyotiklere Direnç*. *Klimik Journal/Klimik Dergisi*, 2014. 26(1).
 42. Henderson, J.M. and K.Y.C. Lee, *Promising antimicrobial agents designed from natural peptide templates*. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, 2013. 17(4): p. 175-192.
 43. Kapoor, G., S. Saigal, and A. Elongavan, *Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians*. *Journal of anaesthesiology, clinical pharmacology*, 2017. 33(3): p. 300.
 44. Ganewatta, M.S. and C. Tang, *Controlling macromolecular structures towards effective antimicrobial polymers*. *Polymer*, 2015. 63: p. A1-A29.
 45. Cornell, R.J. and L.G. Donaruma, *2-Methacryloxytropones. Intermediates for the synthesis of biologically active polymers*. *Journal of medicinal chemistry*, 1965. 8(3): p. 388-390.
 46. Álvarez-Paino, M., A. Muñoz-Bonilla, and M. Fernández-García, *Antimicrobial polymers in the nano-world*. *Nanomaterials*, 2017. 7(2): p. 48.
 47. Alfredo, N.V. and J. Rodríguez-Hernández, *Antimicrobial Polymeric Nanostructures*, in *Nanostructures for Antimicrobial Therapy*. 2017, Elsevier. p. 85-115.
 48. Santos, M., et al., *Recent developments in antimicrobial polymers: A review*. *Materials*, 2016. 9(7): p. 599.
 49. Tashiro, T., *Antibacterial and bacterium adsorbing macromolecules*. *Macromolecular Materials and Engineering*, 2001. 286(2): p. 63-87.
 50. Yang, Y., et al., *Antimicrobial cationic polymers: From structural design to functional control*. *Polymer Journal*, 2018. 50(1): p. 33.
 51. Ahvenainen, R., *Novel food packaging techniques*. 2003: Elsevier.
 52. Mecke, A., et al., *Lipid bilayer disruption by polycationic polymers: the roles of size and chemical functional group*. *Langmuir*, 2005. 21(23): p. 10348-10354.
 53. Abedini, F., et al., *Overview on natural hydrophilic polysaccharide polymers in drug delivery*. *Polymers for Advanced Technologies*, 2018. 29(10): p. 2564-2573.
 54. Rekha Deka, S., A. Kumar Sharma, and P. Kumar, *Cationic polymers and their self-assembly for antibacterial applications*. *Current topics in medicinal chemistry*, 2015. 15(13): p. 1179-1195.
 55. Samal, S.K., et al., *Cationic polymers and their therapeutic potential*. *Chemical Society Reviews*, 2012. 41(21): p. 7147-7194.
 56. Grenda, K., et al., *Environmentally friendly cellulose-based polyelectrolytes in wastewater treatment*. *Water Science and Technology*, 2017. 76(6): p. 1490-1499.
 57. Kang, H., R. Liu, and Y. Huang, *Graft modification of cellulose: methods, properties and applications*. *Polymer*, 2015. 70: p. A1-A16.
 58. Liu, R., H. Yu, and Y. Huang, *Structure and morphology of cellulose in wheat straw*. *Cellulose*, 2005. 12(1): p. 25-34.
 59. Song, Y., et al., *Self-assembled micelles based on hydrophobically modified*

- quaternized cellulose for drug delivery*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2011. 83(2): p. 313-320.
60. Sirviö, J., et al., *Synthesis of highly cationic water-soluble cellulose derivative and its potential as novel biopolymeric flocculation agent*. Carbohydrate polymers, 2011. 86(1): p. 266-270.
 61. Rivero, S.G., M.A. Garcia, and A.N. Pinotti, *Physical and chemical treatments on chitosan matrix to modify film properties and kinetics of biodegradation*. 2013.
 62. Šimůnek, J., V. Brandysová, and I. Koppová, *The antimicrobial action of chitosan, low molar mass chitosan, and chitooligosaccharides on human colonic bacteria*. Folia microbiologica, 2012. 57(4): p. 341-345.
 63. Sahariah, P. and M.r. Másson, *Antimicrobial chitosan and chitosan derivatives: a review of the structure–activity relationship*. Biomacromolecules, 2017. 18(11): p. 3846-3868.
 64. Yuan, Y., et al., *Modification of porous PLGA microspheres by poly-L-lysine for use as tissue engineering scaffolds*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2018. 161: p. 162-168.
 65. Sela, M., R. Arnon, and I. Jacobson, *Synthesis of poly-L-lysine and poly-L-lysyl albumin via ϵ , N-trifluoroacetyl- α , N-carboxy-L-lysine anhydride*. Biopolymers: Original Research on Biomolecules, 1963. 1(6): p. 517-525.
 66. Ahn, C.-H., et al., *Synthesis of biodegradable multi-block copolymers of poly (L-lysine) and poly (ethylene glycol) as a non-viral gene carrier*. Journal of controlled release, 2004. 97(3): p. 567-574.
 67. Yu Xu, P., et al., *Anion exchange membranes based on poly (vinyl alcohol) and quaternized polyethyleneimine for direct methanol fuel cells*. Journal of Applied Polymer Science, 2013. 128(6): p. 3853-3860.
 68. Charles, S., et al., *Surface modification of poly (amidoamine)(PAMAM) dendrimer as antimicrobial agents*. Tetrahedron letters, 2012. 53(49): p. 6670-6675.
 69. Wang, M., et al., *Poly(ester amine) constructed from polyethylenimine and pluronic for gene delivery in vitro and in vivo*. Drug Delivery, 2016. 23(9): p. 3224-3233.
 70. Medjahed, K., L. Tennouga, and A. Mansri. *Series of Poly (4-vinylpyridine) Containing Quaternary Alkyl bromides: Synthesis and Determination Percentage of Quaternization*. in *Macromolecular Symposia*. 2014. Wiley Online Library.
 71. Koh, J.H., et al., *Synthesis and characterization of AgBr nanocomposites by templated amphiphilic comb polymer*. Journal of colloid and interface science, 2009. 338(2): p. 486-490.
 72. Coleman, B.D. and R.M. Fuoss, *Quaternization kinetics. I. Some pyridine derivatives in tetramethylene sulfone*. Journal of the American Chemical Society, 1955. 77(21): p. 5472-5476.
 73. Topuzogullari, M., et al., *pH-and temperature-responsive amphiphilic diblock copolymers of 4-vinylpyridine and oligoethyleneglycol methacrylate synthesized by RAFT polymerization*. Polymer, 2014. 55(2): p. 525-534.
 74. Sahiner, N. and O. Ozay, *Responsive tunable colloidal soft materials based on p (4-VP) for potential biomedical and environmental applications*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2011. 378(1-3): p. 50-

- 59.
75. Hu, G.H. and W. Wang, *A kinetic model for steric hindrance effects on quaternization of poly (vinylpyridines)*. Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry, 1993. 31(13): p. 3453-3464.
 76. Kaur, R. and S. Liu, *Antibacterial surface design–Contact kill*. Progress in Surface Science, 2016. 91(3): p. 136-153.
 77. Topuzogullari, M., Y.B. Elalmis, and S.D. Isoglu, *Thermo-Responsive Complexes of c-Myc Antisense Oligonucleotide with Block Copolymer of Poly (OEGMA) and Quaternized Poly (4-Vinylpyridine)*. Macromolecular bioscience, 2017. 17(4): p. 1600263.
 78. Sellenet, P.H., et al., *Synergistic activity of hydrophilic modification in antibiotic polymers*. Biomacromolecules, 2007. 8(1): p. 19-23.
 79. Allison, B.C., B.M. Applegate, and J.P. Youngblood, *Hemocompatibility of hydrophilic antimicrobial copolymers of alkylated 4-vinylpyridine*. Biomacromolecules, 2007. 8(10): p. 2995-2999.
 80. Franklin, T.J. and G.A. Snow, *Biochemistry and molecular biology of antimicrobial drug action*. 2005: Springer Science & Business Media.
 81. Singer, S.J. and G.L. Nicolson, *The fluid mosaic model of the structure of cell membranes*. Science, 1972. 175(4023): p. 720-731.
 82. Hugo, W.B., G. Ayliffe, and A.D. Russell, *Principles and Practice of Disinfection, Preservation, and Sterilisation*. 1999: Blackwell Science.
 83. Palantoken, A., et al., *Dual antimicrobial effects induced by hydrogel incorporated with UV-curable quaternary ammonium polyethyleneimine and AgNO₃*. Materials Science and Engineering: C, 2016. 68: p. 494-504.
 84. Shirbin, S.J., et al., *Polypeptide-based macroporous cryogels with inherent antimicrobial properties: the importance of a macroporous structure*. ACS Macro Letters, 2016. 5(5): p. 552-557.
 85. Wei, T., et al., *Smart Antibacterial Surfaces with Switchable Bacteria-Killing and Bacteria-Releasing Capabilities*. ACS Applied Materials & Interfaces, 2017. 9(43): p. 37511-37523.
 86. Sanni, O., et al., *Bacterial attachment to polymeric materials correlates with molecular flexibility and hydrophilicity*. Advanced healthcare materials, 2015. 4(5): p. 695-701.
 87. Tiller, J.C., *Coatings for prevention or deactivation of biological contamination*, in *Developments in Surface Contamination and Cleaning*. 2008, Elsevier. p. 1013-1065.
 88. Banerjee, I., R.C. Pangule, and R.S. Kane, *Antifouling coatings: recent developments in the design of surfaces that prevent fouling by proteins, bacteria, and marine organisms*. Advanced materials, 2011. 23(6): p. 690-718.
 89. Kenawy, E.-R., S. Worley, and R. Broughton, *The chemistry and applications of antimicrobial polymers: a state-of-the-art review*. Biomacromolecules, 2007. 8(5): p. 1359-1384.
 90. Sun, H., et al., *Synthesis, Self-Assembly, and Biomedical Applications of Antimicrobial Peptide–Polymer Conjugates*. Biomacromolecules, 2018. 19(6): p. 1701-1720.
 91. Song, A., et al., *Antibacterial studies of cationic polymers with alternating, random, and uniform backbones*. ACS chemical biology, 2011. 6(6): p. 590-599.
 92. Li, Z., et al., *Two-level antibacterial coating with both release-killing and*

- contact-killing capabilities*. Langmuir, 2006. 22(24): p. 9820-9823.
93. Zhao, R., et al., *Biodegradable cationic ϵ -poly-L-lysine-conjugated polymeric nanoparticles as a new effective antibacterial agent*. Science bulletin, 2015. 60(2): p. 216-226.
 94. Liu, L., et al., *Main-chain imidazolium oligomer material as a selective biomimetic antimicrobial agent*. Biomaterials, 2012. 33(33): p. 8625-8631.
 95. Gottenbos, B., et al., *Positively charged biomaterials exert antimicrobial effects on gram-negative bacilli in rats*. Biomaterials, 2003. 24(16): p. 2707-2710.
 96. Chemburu, S., et al., *Light-induced biocidal action of conjugated polyelectrolytes supported on colloids*. Langmuir, 2008. 24(19): p. 11053-11062.
 97. Yin, L.-H., et al., *Preparation of highly efficient antibacterial polymeric films via the modulation of charge density and hydrophobicity*. RSC Advances, 2017. 7(10): p. 6006-6012.
 98. Timofeeva, L. and N. Kleshcheva, *Antimicrobial polymers: Mechanism of action, factors of activity, and applications*. Vol. 89. 2010. 475-92.
 99. Al-Badri, Z.M., et al., *Investigating the effect of increasing charge density on the hemolytic activity of synthetic antimicrobial polymers*. Biomacromolecules, 2008. 9(10): p. 2805-2810.
 100. Lienkamp, K., et al., *Antimicrobial Polymers Prepared by Ring-Opening Metathesis Polymerization: Manipulating Antimicrobial Properties by Organic Counterion and Charge Density Variation*. Chemistry—A European Journal, 2009. 15(43): p. 11715-11722.
 101. Ikeda, T., H. Yamaguchi, and S. Tazuke, *New polymeric biocides: synthesis and antibacterial activities of polycations with pendant biguanide groups*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 1984. 26(2): p. 139-144.
 102. Sambhy, V., B.R. Peterson, and A. Sen, *Antibacterial and Hemolytic Activities of Pyridinium Polymers as a Function of the Spatial Relationship between the Positive Charge and the Pendant Alkyl Tail*. Angewandte Chemie International Edition, 2008. 47(7): p. 1250-1254.
 103. Waschinski, C.J., et al., *Insights in the antibacterial action of poly(methyloxazoline)s with a biocidal end group and varying satellite groups*. Biomacromolecules, 2008. 9(7): p. 1764-1771.
 104. Bridier, A., et al., *Resistance of bacterial biofilms to disinfectants: a review*. Biofouling, 2011. 27(9): p. 1017-1032.
 105. King, A., et al., *High antimicrobial effectiveness with low hemolytic and cytotoxic activity for PEG/quaternary copolyoxetanes*. Biomacromolecules, 2014. 15(2): p. 456-467.
 106. Lim, S.-H. and S.M. Hudson, *Synthesis and antimicrobial activity of a water-soluble chitosan derivative with a fiber-reactive group*. Carbohydrate research, 2004. 339(2): p. 313-319.
 107. Panarin, E., et al., *Biological activity of cationic polyelectrolytes*. Die Makromolekulare Chemie: Macromolecular Chemistry and Physics, 1985. 9(S19851): p. 25-33.
 108. Nonaka, T., et al., *Preparation of resins containing phenol derivatives from chloromethylstyrene-tetraethyleneglycol dimethacrylate copolymer beads and antibacterial activity of resins*. Journal of Applied Polymer Science, 1997. 66(8): p. 1621-1630.

109. Onnis-Hayden, A., et al., *An antimicrobial polycationic sand filter for water disinfection*. Water Science and Technology, 2011. 63(9): p. 1997-2003.
110. He, W., et al., *A Novel Surface Structure Consisting of Contact-active Antibacterial Upper-layer and Antifouling Sub-layer Derived from Gemini Quaternary Ammonium Salt Polyurethanes*. Scientific Reports, 2016. 6: p. 32140.
111. Liang, J., et al., *N-halamine/quat siloxane copolymers for use in biocidal coatings*. Biomaterials, 2006. 27(11): p. 2495-2501.
112. Gomes, A.P., et al., *Incorporation of antimicrobial peptides on functionalized cotton gauzes for medical applications*. Carbohydrate Polymers, 2015. 127: p. 451-461.
113. <Novel food packaging systems with natural antimicrobial agents.pdf>.
114. Kasiri, M.B., *14 - Application of chitosan derivatives as promising adsorbents for treatment of textile wastewater*, in *The Impact and Prospects of Green Chemistry for Textile Technology*, I. Shahid ul and B.S. Butola, Editors. 2019, Woodhead Publishing. p. 417-469.
115. Zhang, W., X. Dai, and J. Zhou, *Properties of Cotton Fabric Modified with a Chitosan Quaternary Ammonium Salt Nanoparticle*. Fibres and Textiles in Eastern Europe, 2018. 26(4(130)): p. 116-121.
116. Fu, X., et al., *Chitosan derivatives with dual-antibacterial functional groups for antimicrobial finishing of cotton fabrics*. Carbohydrate Polymers, 2011. 85(1): p. 221-227.
117. Tiffner, M., et al., *Cationic Polymers Bearing Quaternary Ammonium Groups-Catalyzed CO₂ Fixation with Epoxides*. Topics in Catalysis, 2018. 61(15-17): p. 1545-1550.
118. Jaeger, W., J. Bohrisch, and A. Laschewsky, *Synthetic polymers with quaternary nitrogen atoms—Synthesis and structure of the most used type of cationic polyelectrolytes*. Progress in Polymer Science, 2010. 35(5): p. 511-577.
119. Stanger, K.J., J.-J. Lee, and B.D. Smith, *Dramatic acceleration of the Menshutkin reaction and distortion of halide leaving-group order*. The Journal of organic chemistry, 2007. 72(25): p. 9663-9668.
120. Purse, B.W., A. Gissot, and J. Rebek, *A Deep Cavitand Provides a Structured Environment for the Menshutkin Reaction*. Journal of the American Chemical Society, 2005. 127(32): p. 11222-11223.
121. Williams, S.R. and T.E. Long, *Recent advances in the synthesis and structure–property relationships of ammonium ionenes*. Progress in Polymer Science, 2009. 34(8): p. 762-782.
122. Fraise, A.P., P.A. Lambert, and J.-Y. Maillard, *Russell, Hugo & Ayliffe's Principles and Practice of Disinfection, Preservation & Sterilization*. 2008: John Wiley & Sons.
123. Codling, C.E., J.-Y. Maillard, and A.D. Russell, *Aspects of the antimicrobial mechanisms of action of a polyquaternium and an amidoamine*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2003. 51(5): p. 1153-1158.
124. Guan, Y., L. Qian, and H. Xiao, *Novel Anti-Microbial Host-Guest Complexes Based on Cationic β -Cyclodextrin Polymers and Triclosan/Butylparaben*. Macromolecular Rapid Communications, 2007. 28(23): p. 2244-2248.
125. Li, G., J. Shen, and Y. Zhu, *A study of pyridinium-type functional polymers. III. Preparation and characterization of insoluble pyridinium-type polymers*. Journal

- of applied polymer science, 2000. 78(3): p. 668-675.
126. Rawlinson, L.-A.B., et al., *Antibacterial Effects of Poly(2-(dimethylamino ethyl)methacrylate) against Selected Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria*. *Biomacromolecules*, 2010. 11(2): p. 443-453.
 127. Littunen, K., et al., *Synthesis of cationized nanofibrillated cellulose and its antimicrobial properties*. *European Polymer Journal*, 2016. 75: p. 116-124.
 128. Oyervides-Muñoz, E., et al., *EDC-Mediated Grafting of Quaternary Ammonium Salts onto Chitosan for Antibacterial and Thermal Properties Improvement*. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 2019. 220(8): p. 1800530.
 129. Kenawy, E.-R., et al., *Biologically active polymers: VII. Synthesis and antimicrobial activity of some crosslinked copolymers with quaternary ammonium and phosphonium groups*. *Reactive and Functional Polymers*, 2006. 66(4): p. 419-429.
 130. Arasoglu, T., S. Derman, and B. Mansuroglu, *Comparative evaluation of antibacterial activity of caffeic acid phenethyl ester and PLGA nanoparticle formulation by different methods*. *Nanotechnology*, 2015. 27(2): p. 025103.
 131. Wikler, M.A., *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard*. CLSI (NCCLS), 2006. 26: p. M7-A7.
 132. Sambasivudu, K., et al., *Synthesis and amphiphilic 4-vinyl pyridine and n-vinyl pyrrolidone copolymer beads*. *Journal of Applied Polymer Science*, 2006. 102(1): p. 192-197.
 133. Topuzogullari, M., *Microwave assisted quaternization of poly (4-vinylpyridine) with 1-bromohexane*. *Journal of Polymer Research*, 2018. 25(8): p. 188.
 134. Panov, V.P., E.D. Vorontsov, and V.P. Evdakov, *Spectroscopic Determination of the Extent of Protonation and Alkylation of Poly-4-Vinylpyridine Derivatives*. *Journal of Applied Spectroscopy (Zhurnal Prikladnoi Spektroskopii)*, 1975. 23(1): p. 111-116.
 135. Hansing, J., et al., *Particle diffusion in polymeric hydrogels with mixed attractive and repulsive interactions*. *Nano letters*, 2018. 18(8): p. 5248-5256.
 136. Tejero, R., et al., *Tailoring macromolecular structure of cationic polymers towards efficient contact active antimicrobial surfaces*. *Polymers*, 2018. 10(3): p. 241.
 137. Badawy, M.E.I., E.I. Rabea, and N.E.M. Taktak, *Antimicrobial and inhibitory enzyme activity of N-(benzyl) and quaternary N-(benzyl) chitosan derivatives on plant pathogens*. *Carbohydrate Polymers*, 2014. 111: p. 670-682.
 138. Venkatesh, M., et al., *Antimicrobial activity and cell selectivity of synthetic and biosynthetic cationic polymers*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2017. 61(10): p. e00469-17.
 139. Tiller, J.C., et al., *Designing surfaces that kill bacteria on contact*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001. 98(11): p. 5981-5985.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Damla GÖKKAYA
Doğum Tarihi ve Yeri : 1993, Aydın
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : damlagokkaya7@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

<i>Derece</i>	<i>Alan</i>	<i>Okul/Üniversite</i>	<i>Mezuniyet Yılı</i>
Lisans	Biyomühendislik	Yıldız Teknik Üniversitesi	2016
Lise	Fen	Ortaklar Ana. Öğr. Lisesi	1999

İŞ TECRÜBESİ

<i>Yıl</i>	<i>Firma/Kurum</i>	<i>Görevi</i>
2016	Tat Gıda Sanayi A.Ş. Sek Süt İşletmesi	Stajyer
2015	Sabancı Üniv. Moleküler. Biy. Gen. Biyomüh. Bölümü	Stajyer

YAYINLARI

Bildiri

1. Kadayıfçı M.Ş., Topuzogullari M., Gökçaya D., Atabey T., Arasoğlu T., Özmen M.M., "Core-crosslinked Block Copolymer Micelles for Antibacterial Applications", ANCON 2017, ANKARA, TÜRKİYE, 5 Ekim - 7 Kasım 2017, pp.124-124
2. Topuzogullari M. , Gokkaya D., Özmen M.M., "Polyelectrolyte Complexes of poly(4-vinylpyridine)-g-poly(ethyleneglycol) with C-myc Antisense Oligonucleotide as a Potential Non-viral Vector", 46th IUPAC World Polymer Congress, İSTANBUL, TÜRKİYE, 17-21 Temmuz 2016, pp.206-206

3. Gökkaya D., Topuzoğulları M., Ozmen M.M., Arasoğlu T. O., Trabzonlu K., Abdurrahmanoğlu S., “Kuarternize Edilmiş (4-vinilpiridin-ko-N-vinilpirolidon) Kopolimerinin Antibakteriyel Uygulamaları”, IV. Yařam Bilimleri Kongresi, KAYSERİ, TÜRKiYE, 22-23 şubat, pp. 29
4. Büyükbayraktar H.K., Gökkaya D., Pelit Arayıcı P., Karahan M., Topuzoğulları M., “İmmunojen Özellikli Nanopartiküler Sistemlerin Geliştirilmesi”, IV. Yařam Bilimleri Kongresi, KAYSERİ, TÜRKiYE, 22-23 şubat, pp. 33-34

