

T.C.  
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RAFT YÖNTEMİ İLE *N*-(2-HİDROKSİPROPİL)METAKRİLAMİD-*b*-4-  
VİNİLPİRİDİN (HPMA-*b*-VP) KOPOLİMERİNİN SENTEZİ VE  
KARAKTERİZASYONU

ZEYNEP ÖZDEMİR

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOMÜHENDİSLİK BÖLÜMÜ

DANIŞMAN  
YRD. DOÇ. DR. SEVİL DİNÇER

İSTANBUL, 2012

T.C.  
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RAFT YÖNTEMİ İLE N-(2-HİDROKSİPROPİL)METAKRİLAMİD-b-4-  
VİNİLPİRİDİN (HPMA-b-VP) KOPOLİMERİNİN SENTEZİ VE  
KARAKTERİZASYONU**

Zeynep ÖZDEMİR tarafından hazırlanan tez çalışması 17.02.2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Tez Danışmanı**

Yrd. Doç. Dr. Sevil DİNÇER  
Yıldız Teknik Üniversitesi

**Jüri Üyeleri**

Yrd. Doç. Dr. Sevil DİNÇER  
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. İbrahim IŞILDAK  
Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Sevgi GÜNGÖR  
İstanbul Üniversitesi

---

---

---

Bu alışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü' nün 2011-07-04-YULAP03 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

## ÖNSÖZ

---

Öğrenim ve tez çalışmam süresince bilgi ve deneyimleri ile bana yol göstererek farklı bakış açıları kazandıran değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Sevil Dinçer'e,

Çalışmalarım boyunca bilgi, yardım ve manevi desteğini esirgemeyen Araş. Gör. Murat Topuzoğulları ve Araş. Gör. Eray Dalgakıran'a,

Biyomühendislik Bölüm Başkanlığı, Öğretim Üyeleri, Araştırma Görevlileri ve bölüm çalışanlarına,

Bilgi ve arkadaşlıkları ile destek olan Ayşe Karagöz, Gürhan Uzunalan, Ayberk Akat, Ayşegül Erdemir ile diğer doktora ve yüksek lisans öğrencisi arkadaşlarıma,

Tez çalışmam için maddi destek sağlayan YTÜ BAP birimine,

FT-IR analizlerimi yapmam için olanak sağlayan Prof. Dr. Sabriye Pişkin'e,

Hayatımın her anında olduğu gibi bu süreçte de yanımda olan, maddi ve manevi destek veren aileme ve dostlarıma,

Sonsuz teşekkür ederim.

Ocak, 2012

Zeynep Özdemir

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ.....	viii
KISALTMA LİSTESİ .....	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
ÇİZELGE LİSTESİ .....	xiii
ÖZET.....	xiv
ABSTRACT .....	xvi
BÖLÜM 1	
GİRİŞ .....	1
1.1    Literatür Özeti .....	1
1.2    Tezin Amacı.....	3
1.3    Hipotez .....	4
BÖLÜM 2	
GENEL BİLGİLER.....	6
2.1    Yaşayan/Kontrollü Polimerizasyon (LP/CP) .....	6
2.2    Yaşayan/Kontrollü Radikal Polimerizasyon (LRP/CRP).....	9
2.2.1    Yaşayan/Kontrollü Radikal Polimerizasyonun Özellikleri.....	10
2.2.2    Radikal Polimerizasyon (RP) ile Yaşayan Radikal Polimerizasyonun (LRP) Arasındaki Farklar .....	12
2.2.3    LRP/CRP'nin Temel Prensipleri .....	13
2.2.4    LRP/CRP'nin Sınıflandırılması.....	13
2.3    Güncel LRP/CRP Örnekleri .....	15
2.3.1    Nitroksid Ortamlı Radikal Polimerizasyon (NMP) .....	16
2.3.2    Atom Transfer Radikal Polimerizasyon (ATRP) .....	19
2.3.3    Tersinir Katılma-Ayrışma Zincir Transfer Polimerizasyonu (RAFT) ....	22
2.3.3.1    RAFT'ın Tarihi.....	24
2.3.3.2    RAFT'ın Mekanizması .....	25

2.3.3.3	RAFT Ajanı Seçimi.....	27
2.3.3.4	RAFT Yöntemi ile Diblok Kopolimer Sentezi.....	28
2.3.4	NMP, ATRP, RAFT Yöntemlerinin Karşılaştırılması.....	28
2.4	Amfifilik Kopolimerler .....	31
2.4.1	Miselin Kabuk Kısmını Oluşturan Hidrofilik Polimerler.....	33
2.5	Mikrodalga ile Isıtma Prensibi .....	34

## BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOD.....	35	
3.1	DeneySEL Kısımda Kullanılan Malzeme ve Ekipmanlar.....	35
3.1.1	Kullanılan Kimyasallar.....	35
3.1.2	Kullanılan Cihazlar.....	35
3.2	N-[2-Hidroksi Propil Metakrilamid] (HPMA) Monomerinin Sentezi .....	36
3.3	Poli(HPMA) Homopolimerinin Sentezi .....	37
3.3.1	CTA Ajanı 2-Metil-2-[(dodesilsülfaniltiyokarbonil)sülfanil] propanoik Asid ile Poli(HPMA) Sentezi.....	38
3.3.2	CTA Ajanı 4-Siyano-4(tiyobenzoiltiy)pentanoik Asid ile Poli(HPMA) Sentezi.....	39
3.4	Poli(HPMA) sentezinde Mikrodalga Isıtma Etkisinin İncelenmesi .....	40
3.5	HPMA MakroCTA Ajanı ile Poli(HPMA-b-VP) Kopolimerinin Sentezi.....	42
3.6	Poli(HPMA-b-VP) Kopolimerinin Kuarternleştirilmesi.....	43
3.7	Homo- ve Kopolimerlerin Molekül Ağırlığı ve Yapısal Analizleri.....	44
3.8	Poli(HPMA-b-VP) Kopolimerinin Misel Oluşturma Kabiliyetinin İncelenmesi.....	44
3.9	Polimerin Yük ve Boyut Analizi .....	45
3.10	Misellere İlaç Yükleme Çalışmaları.....	45

## BÖLÜM 4

SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME .....	47	
4.1	MakroCTA poli(HPMA)'nın RAFT ile Sentezi ve Karakterizasyonu.....	47
4.1.1	CTA1 Varlığında MakroCTA poli(HPMA)'nın Sentezi ve Karakterizasyonu .....	47
4.1.2	CTA2 Varlığında MakroCTA poli(HPMA)'nın Sentezi ve Karakterizasyonu .....	54
4.1.3	CTA2 Varlığında Sentezlenen MakroCTA poli(HPMA)'nın Detaylı İncelenmesi.....	60
4.1.4	MakroCTA poli(HPMA)'nın Yapı Analizi.....	64
4.1.5	Mikrodalga Yöntemi ile Metanolde MakroCTA poli(HPMA) Sentezi.....	66
4.1.6	Mikrodalga Yöntemi ile DMF'de MakroCTA poli(HPMA) Sentezi.....	70
4.2	MakroCTA HPMA ile Poli(HPMA-b-VP) Kopolimerinin Sentezi .....	73
4.3	Poli(HPMA-b-VP) Kopolimerinin Kimyasal Yapı Analizi .....	77
4.4	Kopolimerin Misel Oluşturma Kabiliyetinin İncelenmesi .....	82
4.5	Kopolimerin Kuarternleştirilmesi.....	83
4.6	Misele İlaç Yükleme Çalışmaları.....	86

## BÖLÜM 5

SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....88

KAYNAKLAR ..... 90

### EK-A

HESAPLAMALAR .....102

ÖZGEÇMİŞ.....104

## SİMGE LİSTESİ

---

cm	Santimetre
g	Gram
DP	Polimerizasyon derecesi
k <sub>akt</sub> /k <sub>a</sub>	Aktivasyon hız sabiti
k <sub>deak</sub> /k <sub>d</sub>	Deaktivasyon hız sabiti
k <sub>p</sub>	Polimerizasyon hız sabiti
M	Molar
MHz	Megahertz
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
M <sub>n</sub>	Sayıca ortalama molekül ağırlığı
M <sub>w</sub>	Ağırlıkça ortalama molekül ağırlığı
nm	Nanometre
P	Pasif türler
P*	Aktif türler
°C	Santigrat derece
[M]	Monomer konsantrasyonu
[I]	Başlatıcı konsantrasyonu
Δ	Delta
μl	Mikrolitre



## KISALTMA LİSTESİ

---

AIBN	Azoisobütülonitril
ATRP	Atom Transfer Radikal Polimerizasyon
BPO	Benzoilperoksit
CMC	Critical Micelle Concentration
CTA	Chain Transfer Agent
CSIRO	Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation
DMF	Dimetilformamid
DNA	Deoksiribonükleik asid
EN	Erime Noktası
EPR	Enhanced Permeability and Retention Effect
FT-IR	Fourier Transform İnfrared(Kızılötesi) Spektroskopisi
GPC	Gel Permeation Chromatography
GTP	Grup Transfer Polimerizasyonu
H-NMR	Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
HPMA	Hidroksipropilmetakrilamid
ISMI	Industrial, Scientific, Medical and Instrumentations
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
LP/CP	Living Polymerization/ Controlled Polymerization
MADIX	Makromolekular Design via the İnterchange of Xanthates
MW	Mikrowave
MWD	Molecular Weight Distrubution
NMP	Nitroksid Mediated Polymerization
PDI	Poli Dispersite İndeksi
PEG	Polietilenglikol
PEGA	Polietilenglikolakrilat
PEGMA	Polietilenglikolmetakrilat
PEI	Polietilenimin
RAFT	Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer
ROMP	Ring Openinig Metathesis Polymerization
RP	Radikal Polimerizasyon
SFRP	Stable Free Radical Polymerization
TEMPO	Tetrametil-1,1-piperidiniloksi
THF	Tetrahidrofuran
VP	Vinilpiridin

## ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2. 1 Tersinir deaktivasyon (C katalist (aktivatör), D deaktivatör veya ürün).....	8
Şekil 2. 2 Dönüşümlü transfer.....	8
Şekil 2. 3 $[M]_0=1$ mol/L, $[I]_0=0.01$ mol/L değerleri için reaksiyon kinetiklerinde bimoleküler sonlanma ve yavaş başlama etkisinin şematik gösterimi (başlama ve sonlanma hız sabiti ilerleme hız sabitinden 100 kat daha küçüktür) .....	11
Şekil 2. 4 Kontrollü polimerizasyonun sınıflandırılmasında esas alınan 4 farklı mekanizma.....	15
Şekil 2. 5 NMP için dönüşümlü bağlanma/ayırılma mekanizması .....	17
Şekil 2. 6 Nitroksid Ortamlı Polimerizasyonun genel mekanizması .....	14
Şekil 2. 7 NMP de kullanılan nitroksid türevleri .....	19
Şekil 2. 8 ATRP dengesi.....	20
Şekil 2. 9 ATRP mekanizması; $M_t^n$ : Geçiş metali, L : Kompleks ligand, Pn : Polimer zinciri, X: Br veyaCl.....	21
Şekil 2. 10 Geleneksel ve yaşayan radikal polimerizasyon için tipik moleküler ağırlık dağılımı (veri polistirenin GPC analizindedir).....	23
Şekil 2. 11 Yaşayan/kontrollü radikal polimerizasyon ile elde edilen polimer yapıları...24	
Şekil 2. 12 RAFT/MADIX'e dayalı bilimsel yayınların yıllara göre sayıca dağılımı verilmektedir; (27 Mart 2009 tarihine kadar, Scifinder).....	25
Şekil 2. 13 Homopolimerizasyon( I ve II) ve makroCTA'nın zincir uzatma( III) mekanizmaları için öngörülen RAFT mekanizması.....	26
Şekil 2. 14 RAFT ajanlarının genel yapısı.....	27
Şekil 2. 15 RAFT ajanlarının Z grupları için soldan sağa doğru katılma oranı azalır, ayırılma oranı artar.....	27
Şekil 2. 16 RAFT'da ayırılma yeteneğine göre R grubunun sıralanması.....	28
Şekil 2. 17 Uç fonksiyonel polimerler ile misel oluşumu.....	32
Şekil 3. 1 HPMA sentezi ve elde edilen monomerin görüntüsü.....	37
Şekil 3. 2 Sırasıyla 2-Metil-2[(dodesilsülfaniltiokarbonil)sülfanil]propanoik asid ve 4-Siyano-4(tiyobenzoiltiyo)pentanoik asid.....	37
Şekil 3. 3 CTA1 ile sentezlenen Poli(HPMA)makro CTA homopolimerinin reaksiyonu.38	
Şekil 3. 4 CTA2 ile sentezlenen Poli(HPMA) makro CTA homopolimerinin oluşum reaksiyonu ve elde edilen polimerin görüntüsü.....	39
Şekil 3. 5 CTA2 ile sentezlenen makro CTA HPMA homopolimerinin reaksiyon düzeneği.....	40

Şekil 3. 6	Mikrodalga sentez ünitesi.....	41
Şekil 3. 7	MakroCTA HPMA ile poli(HPMA-b-VP) kopolimerinin sentezi.....	43
Şekil 3. 8	Kopolimerin VP üzerinden quarterleşmesinin gösterimi.....	44
Şekil 3. 9	Karvedilolün açık formülü (British Pharmacopeia 2006 pp. 1193-1194).....	46
Şekil 4. 1	CTA1 ile sentezlenen farklı CTA/I (3/1, 5/1, 10/1) oranlarının reaksiyon kinetiklerinin incelenmesi a)200/1 b) 400/1 c) 600/1 d) 800/1.....	49
Şekil 4. 2	CTA1 ile sentezlenen homopolimerlerin GPC kırılma indisi kromatogramları, a)200/1/0,33 b) 400/1/0,33 c) 600/1/0,33 d) 800/1/0,33 e) 400/1/0,2 f) 600/1/0,2 g) 800/1/0,2 h) 600/1/0,1 j) 800/1/0,1.....	54
Şekil 4. 3	CTA2 ile sentezlenen farklı CTA/I (3/1, 5/1, 10/1) oranlarının reaksiyon kinetiklerinin incelenmesi a)200/1 b) 400/1 c) 600/1 d) 800/.....	56
Şekil 4. 4	CTA2 ile sentezlenen makroCTA-poli(HPMA) örneklerinin GPC kırılma indisi kromatogramları, a)200/1/0,2 b) 200/1/0,33 c) 400/1/0,1 d) 400/1/0,5 e) 400/1/0,33 f) 600/1/0,2 g) 800/1/0,1 h) 800/1/0,2 j) 800/1/0,33.....	60
Şekil 4. 5	CTA2 RAFT ajanı ile sentezlenen M/CTA/I=800/1/0,33 oranında sentezlenen homopolimerin a) reaksiyon kinetiği b) Mn ve PDI değerleri ve c) Teorik Mn değerlerini göstermektedir.....	62
Şekil 4. 6	M/CTA/I=800/1/0,33 olan makroCTA homopolimerin fosfat tamponunda yapılan GPC analiz kromatogramları.....	64
Şekil 4. 7	MakroCTA HPMA'nın FT-IR spektrumu.....	65
Şekil 4. 8	MakroCTA HPMA'nın <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	66
Şekil 4. 9	Mikrodalga ünitesi kullanılarak sentezlenen [M]/[CTA]/[I]=400/1/0,33 oranındaki homopolimerin a)reaksiyon kinetiği ve b)moleküler ağırlık ve dağılımı.....	67
Şekil 4. 10	Mikrodalga ile sentezlenen [M]/[CTA]/[I]=400/1/0,33 oranındaki homopolimerin GPC kromatogramları.....	68
Şekil 4. 11	Mikrodalga ünitesi kullanılarak sentezlenen [M]/[CTA]/[I]=800/1/0,33 oranındaki homopolimerin a)reaksiyon kinetiği ve b)moleküler ağırlık ve dağılımı.....	69
Şekil 4. 12	[M]/[CTA]/[I]=400/1/0,33 oranındaki homopolimerin GPC kromatogramları.....	69
Şekil 4. 13	DMF ile mikrodalgada sentezlenen MakroCTA homopolimerin a)reaksiyon kinetiği, b)molekül ağırlığı ve ağırlık dağılımı c)Mn değerlerinin karşılaştırılması.....	72
Şekil 4. 14	DMF ile mikrodalgada sentezlenen MakroCTA homopolimerin GPC kromatogramı.....	72
Şekil 4. 15	Sentezlenen 200/1/0,2 oranındaki kopolimerin a)reaksiyon kinetiği, b)Mn değerleri ve moleküler ağırlık dağılımı ve c)farklı yöntemlerle saptanan Mn değerlerinin karşılaştırılması.....	75
Şekil 4. 16	Sentezlenen 200/1/0,33 oranındaki kopolimerin a)reaksiyon kinetiği, b)Mn değerleri ve moleküler ağırlık dağılımı ve c)farklı yöntemlerle saptanan Mn değerlerinin karşılaştırılması.....	76
Şekil 4. 17	200/1/0,2 oranında sentezlenen poli(HPMA-b-VP) ve makroCTA'nın GPC kromatogramları.....	77
Şekil 4. 18	200/1/0,2 oranındaki kopolimerin 2,3 ve 4. saat IR spektrumu.....	78
Şekil 4. 19	200/1/0,2 kopolimerin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	79

Şekil 4. 20	200/1/0,33 oranında sentezlenen kopolimerin FT-IR spektrumu.....	80
Şekil 4. 21	200/1/0,33 oranındaki kopolimerin <sup>1</sup> H-NMR spektrumları a)2.sa, b)4.sa ve c)6.sa.....	81
Şekil 4. 22	200/1/0,33 oranında sentezlenen kopolimerin log10 tabanında konsantrasyon değerine karşı ışık şiddeti grafiği.....	82
Şekil 4. 23	Kuarternleştirilen Kopolimerin yapısı.....	83
Şekil 4. 24	Kuarternleştirilen örneğin FT-IR analizi.....	84
Şekil 4. 25	Kopolimer örneklerinin a)pH'a göre boyut değişimi, kopolimer(b) kuarternleştirilen kopolimer(c)'in boyut dağılımları.....	85
Şekil 4. 26	Kopolimer ile kuarternler kopolimerin pH'ya göre zeta potansiyeli değişimi.....	86

## ÇİZELGE LİSTESİ

---

	Sayfa
Çizelge 2. 1	NMP, RAFT ve ATRP sistemlerinin karşılaştırılması.....30
Çizelge 4. 1	CTA1 ile sentezlenen homopolimerlerin deneysel veileri..... 50
Çizelge 4. 2	CTA2 ile sentezlenen homopolimerlerin deneysel verileri.....57
Çizelge 4. 3	CTA2 ile sentezlenen 800/1/0,33 oranında makroCTA homopolimerlerin deneysel verileri.....61
Çizelge 4. 4	Mikrodalga yöntemi sentezlenen makroCTA HPMA homopolimerler.... 66
Çizelge 4. 5	Mikrodalgada DMF ile sentezlenen $[M]/[CTA]/[I]=800/1/0,33$ .....70
Çizelge 4. 6	HPMA- <i>b</i> -VP kopolimerinin deneysel verileri.....73
Çizelge 4. 7	Etken madde yüklenen miselin boyut analizleri.....87

**RAFT YÖNTEMİ İLE N-(2-HİDROKSİPROPİL)METAKRİLAMİD-b-4-VİNİLPİRİDİN (HPMA-b-VP) KOPOLİMERİNİN SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU**

Zeynep ÖZDEMİR

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Sevil DİNÇER

Bu çalışma ile ilaç salım veya gen aktarım uygulamalarında kullanım potansiyeline sahip amfifilik blok kopolimerlerin yaşayan/kontrollü bir polimerizasyon yöntemi olan Tersinir Katılma-Ayrışma Zincir Transfer Polimerizasyonu (RAFT) ile sentezi ve karakterizasyonu amaçlanmıştır.

Amfifilik özellikteki polimerlerden oluşturulan taşıyıcı sistemler özellikle hidrofobik ilaçların hedefe aktarılmasında etkin yöntemler olarak karşımıza çıkmaktadır. Diğer taraftan, pozitif yüklü polimerik taşıyıcılar da ilaç salımında potansiyel olabileceği gibi, DNA ile etkileşerek hücre aktarımına olanak sağlamaktadır. Ancak bu çalışmalarda kullanılacak sentetik polimerin fizikokimyasal özellikleri çalışmanın etkinliği ve tekrarlanabilirliği açısından önemlidir. Bu nedenle monodisperse yakın özellikte polimerlerin sentezlenmesi için yeni yöntemler önem kazanmaktadır.

Yaşayan/kontrollü radikal polimerizasyon teknikleri molekül ağırlığı önceden tahmin edilebilen ve düşük polidispersite değerine sahip makromoleküler yapıların üretiminde kullanıldıklarından son zamanlarda yapılan çalışmalarda önem kazanmışlardır. Bu

yöntemlerden biri olan RAFT tekniği ile farklı yapılar da (blok, gradient, graft, yıldız), monodispers özellikte ve fonksiyonel gruplu polimerler sentezlenebilmektedir.

Bu özellikler göz önüne alınarak yapılan bu çalışmada polimer yapısının ve Mn'in kontrol edilebildiği RAFT polimerizasyon tekniği kullanılarak poli(HPMA-b-VP) kopolimeri sentezlenmiştir. Bunun için öncelikle HPMA monomeri sentezlenmiştir. Bu monomere uygun RAFT ajanı ve bu ajanın reaksiyonu kontrollü olarak ilerlettiği monomer/RAFT ajanı/başlatıcı oranı bir seri deneme yapılar ak saptanmıştır. Seçilen RAFT ajanı ve belirlenen monomer/RAFT ajanı/başlatıcı oranında poli(HPMA) homopolimeri RAFT polimerizasyon yöntemi ile sentezlenmiştir. Geleneksel yöntem ile yapılan sentez mikrodalga ısıtma sistemi kullanılarak da gerçekleştirilmiş ve mikrodalga enerjisinin reaksiyona etkisi incelenmiştir. Sonraki aşamada ise sentezlenen poli(HPMA) homopolimeri zincir ucunda taşıdığı RAFT ajanının fonksiyonel gruplarından dolayı makroCTA ajanı olarak kullanılarak vinil piridin monomeri ile poli(HPMA-b-VP) kopolimeri sentezlenmiştir. Sentezlenen homopolimer ve kopolimerlerin reaksiyon kinetikleri incelenmiş, GPC ve <sup>1</sup>H-NMR ile moleköl ağırlıkları, FT-IR ve <sup>1</sup>H-NMR ile yapısal olarak karakterize edilmişlerdir. Daha sonra, kopolimere pozitif yük kazandırmak için, alkil halojenür yardımıyla kuaternleşme reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, amfifilik özellikteki kopolimerin Zetasizer ile misel oluşturma kabileyeti incelenmiş, boyut ve yük analizleri yapılmıştır.

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde RAFT yöntemi ile poli(HPMA-b-VP) kopolimerinin kontrollü olarak başarılı bir şekilde sentezlendiği gözlemlenmiştir. Piridin halkasının kısmi kuaternleştirilmesi yükünde pozitif artma sağlanmıştır. Ayrıca gösterdiği misel oluşturma potansiyelinden dolayı ilaç/gen taşınmasında kullanım için uygun taşıyıcılar oldukları düşünölmekte ve bu amaçla çalışmalar yürütölmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Yaşayan/kontrollü polimerizasyon, RAFT, amfifilik kopolimer, HPMA, VP, ilaç salım, gen taşıma

***N*-(2-HYDROXYPROPYL)METHACRYLAMIDE-*b*-4-VINYLPYRIDINE (HPMA-*b*-VP) COPOLYMER SYNTHESIS VIA RAFT METHOD AND CHARACTERIZATION**

Zeynep ÖZDEMİR

Department of Bioengineering

MSc. Thesis

Advisor: Assist. Prof. Dr. Sevil DİNÇER

This study aimed at synthesis and characterization of amphiphilic block copolymers by one of the living/controlled polymerization methods, named as Reversible Additional-Fragmentation Chain Transfer Polymerization (RAFT), as potential carriers for gene or drug delivery.

The carrying systems formed by polymers which have amphiphilic properties came out as an effective method for the delivery of hydrophobic drugs to the cells. In addition, positively charged polymeric carriers allow DNA to enter cells as well as show great potential in drug delivery. However, physicochemical properties of synthetic polymers to be used in these studies are in great importance for efficiency and reproducibility. Therefore new methods for the synthesis of monodisperse polymers have been gaining significance in this area.

Living/Controlled radical polymerization techniques have a great deal of attention because of their versatility in the production of complex macromolecular architectures with pre-estimated molecular weights and very narrow molecular weight distribution. These methods allow us to synthesize polymers various architectures (block, gradient, graft, star), monodisperse and functional.



Here, poly(HPMA-b-VP) copolymer was synthesized via RAFT polymerization by which controlled structure and Mn are possible. First, N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide monomer was synthesized. Then suitable RAFT agent and monomer/RAFT agent/initiator ratio were determined by changing monomer/CTA/initiator ratios. Then poly(HPMA) homopolymer synthesized with chosen RAFT agent and ratio. In addition to the conventional heating, these reactions were also carried out by microwave heating and effect of microwave irradiation was investigated. In the following step, poly(HPMA-b-VP) copolymers were synthesized by using vinyl pyridine monomer and poly(HPMA) homopolymer as a macroCTA. Reaction kinetics of synthesized polymers were examined by using conversion (gravimetrically) and molecular weight data (by GPC). Structural and functional characterizations were determined by FT-IR and H-NMR. Then, quaternization was applied to the copolymers by using an alkyl halide to obtain permanent positive charge on the chains. In addition, the micelle formation capability, charge and size of amphiphilic polymers were examined by Zetasizer.

According to the results, poly(HPMA-b-VP) copolymer was successfully synthesized via RAFT method in a controlled molecular weight and narrow size distribution. It was shown that these amphiphilic polymers have micelle-forming ability and can be partially positively charged. Therefore, these polymers have a great potential to be used in drug or gene delivery. It has been planning to study the applications of these carriers to elucidate their effectiveness in corresponding systems.

**Key words:** Living/controlled polymerization, RAFT, amphiphilic copolymer, HPMA, VP, drug release, gene delivery

#### 1.1 Literatür Özeti

Özellikle kanser gibi hastalıkların tedavisinde üzerinde durulan yaklaşımlardan ikisi hücrelere ilaç veya gen aktarımıdır. Gen aktarımında, sonucun efektif olabilmesi için mutlaka bir taşıyıcıya ihtiyaç vardır. Bu amaçla virüsler ve virüs olmayan taşıyıcı alternatifleri sözkonusdur. Virüsler çok etkin olmalarına karşın, immünolojik dezavantajları sebebiyle viral olmayan taşıyıcıların tercihine yol açmışlardır. Viral olmayan taşıyıcıların yüksek miktarda DNA taşıma kapasitesine sahip olmaları, fizikokimyasal özelliklerinin belli olması, hücre dışı ve hücre içindeki engelleri geçebilmeleri için kapsamlı bir modifikasyon yelpazesi sunmaları [1] ve güvenli olmaları polimerik gen transfer sistemlerini viral olmayan vektörler içinde ön plana çıkarmaktadır [2-6].

ilaç taşıma sistemlerinde ise blok kopolimer miseller kullanılan taşıyıcı moleküller içinde önemli bir sınıf haline gelmişlerdir [7-10]. Bu sistemlerde, amfifilik blok kopolimerler kullanılmakta, miselin çekirdeğini hidrofobik segment oluşturmaktadır. Taşınan hidrofobik özellikteki ilaç molekülü miselin çekirdeğine hapsolmektedir. Bu alandaki çalışmalar miselin çekirdeğindeki etkileşimlerin metal-ligand koordinasyon bağı [11-13] ve elektrostatik etkileşimin [14,15] olabileceğini göstermiştir. Ayrıca, PEG-*blok*-poli(L-lizin) ve PEG-*blok*-poli(aspartik asit) gibi zıt yüklü polielektrolit segmentlere sahip blok kopolimerlerin, polielektrolit kompleksten meydana gelen bir çekirdeğe sahip misel oluşturdukları gösterilmiştir. Polielektrolit kompleksler, proteinler ve nükleik asitlerin de dahil olduğu sentetik ve biyolojik yüklü makromoleküllerin misellere

katılmasının yolunu açmıştır. Polielektrolit kompleksleri temel alarak, plazmid DNA ve oligonükleotidleri taşıyabilen blok kopolimer miseller viral olmayan DNA taşıma sistemleri olarak geliştirilmektedir [16, 17-20]. Ayrıca projede de kullanılacak olan HPMA biriminden elde edilen kopolimerlerin antikanser ilaçlar ile konjugasyonu diğer terapötik küçük moleküllere göre birçok avantaj sağlamaktadır [21]. Grubumuz tarafından daha önce bu konuda yapılan çalışmalarda viral olmayan vektörler olarak poli(N-izopropilakrilamid)-*b*-polietilenimin blok kopolimeri üretilmiş ve bu polimer daha sonra *c-myc* oligonükleotidlerin melanoma hücrelerine, plazmid DNA'nın da HeLa ve yumuşak kas hücrelerine aktarılmasında kullanılmıştır [22-24]. Ayrıca yine grubumuz tarafından misel oluşturabilen poli(laktat)/PEG/PEI ve poli(kaprolakton)/PEG/PEI polimerleri sentezlenmiştir. Bu polimerler ile melanoma hücrelerine *c-myc* antisens oligonükleotid aktarımları incelenmiştir.

Polimerik sistemlerin tüm avantajlarına karşın, polimerin molekül ağırlığı, morfolojisi ve kimyasal yapısındaki farklılıkların polimerin biyolojik ve fizikokimyasal özelliklerinin geniş bir aralıkta değişim göstermesine sebep olmakta [25] ve biyolojik uygulamalarda yapı-fonksiyon ve yapı-performans ilişkilerinin doğru olarak kurulmasını engellemektedir. Bu sebeple polimerin temel özelliklerinin (molekül ağırlığı, kimyasal yapı, vb.) uniform karakterde olması gerekmektedir [26].

RAFT polimerizasyonu uniform karakterde vinil esaslı polimer üretimi için kullanılan kontrollü polimerizasyon yöntemlerinden biridir. RAFT polimerizasyonunun Chiefari ve ark. tarafından 1998'de [27] literatüre sunulmasından beri bu konuda yapılan çalışma miktarı giderek artmaktadır ve yayınlanan bu çalışmaya 10 yıl gibi kısa bir sürede binden fazla sayıda atıf yapılması da [28] konunun önemini ortaya koymaktadır. Ayrıca Boyer ve arkadaşları yaptıkları derleme çalışmasında [26], RAFT yönteminin biyoygulamalarda kullanılan veya kullanılabilir hemen hemen tüm vinil esaslı polimerlerin üretimine uygun olduğunu, diğer kontrollü polimerizasyon yöntemlerine göre daha kolay olduğunu ve çok yönlü bir sentez platformu sunduğunu göstermişlerdir.

Gen terapi çalışlarında kullanılmak üzere optimum özelliklere sahip polimerin seçilmesi ve klinik çalışlarda kullanılması açısından uniform özellikte polimerlerle çalışılması çok önemlidir. Bu sebeple projede RAFT yöntemi kullanılarak uniform yapıda blok kopolimer üretilecektir. DNA taşıma potansiyeline sahip olacağını düşündüğümüz poli(4-vinilpiridin-*b*-(oligoetilenglikol metileter metakrilat)) blok kopolimeri ilk defa bu projede üretilecektir. Literatür incelendiğinde bu monomerler kullanılarak çeşitli kopolimerlerin üretildiği ama blok kopolimer olarak sentezlenmediği görülmektedir [29,30]. Ayrıca üretilen bu kopolimerlerin antibakteriyel özellikleri ve kan uyumluluğu incelenmiş ama gen terapi çalışlarında kullanılabilirliği hakkında bir çalışma yapılmamıştır.

Poli(4-vinilpiridin) gen terapi çalışlarında çeşitli monomerlerle kopolimerleri ve kısmen kuarternerleştirilmiş homopolimeri olarak kullanılmıştır. Ayrıca polivinilpiridin içeren blok kopolimerlerin pH'a karşı uyarı-cevap özelliğinin olduğu ve bu özelliğinin gen terapi ve kontrollü ilaç salım çalışlarında kullanılabileceği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [31-36]. HPMA ise non-immunojenik, non-toksik ve suda çözünebilir konjugatlar sunmakta ve gelişmiş geçirgenlik ve tutulma etkisi (EPR) sayesinde dokularda seçici birikme göstererek, sistemik toksisiteyi azaltmaktadır [37-41].

Bu çalışmada üretilen polimerin bugüne kadar üretilmiş diğer blok kopolimer gen taşıyıcı sistemler içinde önemli bir alternatif olacağı öngörülmektedir. RAFT polimerizasyonu sayesinde polimerin uçlarında fonksiyonel gruplar bağlanarak uygun hedefleyici molekülün bağlanmasına imkan sağlanacaktır. Bu veriler göz önünde bulundurulduğunda gen terapi veya ilaç salım çalışlarında kullanılmak üzere çok fonksiyonlu, üretimi ve modifikasyonu kolay, molekül ağırlığı/boyu kontrol edilebilen, monodispers, uygulamalarında tekrarlanabilir sonuçlar veren özgün bir polimer ortaya çıkacaktır.

## **1.2 Tezin Amacı**

İlaç salım ve DNA taşıma potansiyeli gösteren amfifilik blok kopolimerlerin RAFT polimerizasyonu ile sentezi ve karakterizasyonu amaçlanmıştır. Bu amaçla da N-(2-hidroksimetakrilamid ve vinilpiridin monomerleri kullanılarak kontrollü olarak ilerleyen polimerizasyon ile monodisperse yakın moleküler ağırlık dağılımı gösteren, uç

fonksiyonel gruplara sahip amfifilik blok kopolimerler elde edilmesi planlanmıştır. Böylece kanser gibi hastalıkların tedavisinde taşıyıcı olarak kullanılacak polimerik yapılar elde edilecek, sentezlenen polimerin dispersite özelliklerinden dolayı *in vivo* çalışmalarda etkinliği artacak ve taşıdığı fonksiyonel gruplar sayesinde modifiye edilerek hedefe yönelik taşıma uygulamalarının gerçekleştirilecektir.

### 1.3 Orijinal Katkı

Bu çalışma ile üretilen blok kopolimer daha önce de belirtildiği gibi ilaç veya DNA taşıma potansiyeli göstermektedir. Hazırlanacak blok kopolimerdeki vinil piridin birimlerinde herhangi bir modifikasyon yapılmadığında, hidrofilik HPMA ve hidrofobik VP birimlerinin bağlanması ile oluşan amfifilik yapı sebebiyle ilaç taşımaya uygun bir yapı elde edilmiş olacaktır. Pozitif yüklenecek şekilde modifiye edildiğinde ise DNA taşımaya uygun olacaktır. Böylelikle diğer gen taşıyıcı polimerlere önemli bir alternatif olacağı düşünülmektedir. Çünkü, DNA taşınımı sırasında, PVP bloğunun DNA ile kompleks oluşturup onu kondense edeceği, metabolizmada bozunmasını engelleyeceği, toplam net yükü nötr veya pozitif hale getirerek hücre içine girmesini kolaylaştıracağı, hücre içine girdiğinde de proton süngeri etkisi göstereceği düşünülmektedir. Polikasyonların homopolimerlerinin gen transfeksiyon etkinliğinin yüksek olduğu bilinmektedir.

PHPMA bloğu, polikasyon-DNA veya ilaç konjugatlarının yüksek tuz konsantrasyonuna sahip kanda agrege olmasını engelleyerek sirkülasyon süresini uzatacak ve sitotoksitesini düşürecektir.

RAFT polimerizasyonu sayesinde ise yapı kontrollü şekilde üretilecektir ve monodispers özellikte olduğundan biyolojik çalışmalarda yapı-fonksiyon ilişkisi daha doğru incelenebilecek ve elde edilecek sonuçların tekrarlanabilirliği daha yüksek olacaktır.

Çalışmada üretilen polimer daha önce üretilmemiştir ve var olan polimerik vektörler içinde önemli bir alternatif olacağı düşünülmektedir. Gen terapide kullanılmak üzere tasarlanan her türlü polimerik vektörün *in vivo* etkinliklerinin mutlaka incelenmesi gerekmektedir. Bu noktada da çalışmada kullanacağımız RAFT prosesinin önemi ortaya çıkmaktadır. RAFT yöntemi kullanılarak molekül ağırlığı ve bileşimi tam olarak bilinen

monodispers blok kopolimerler üretilecektir. Bu yöntemle üretilecek polimerlerin uniform karakterde olmaları sonucunda, proje sonrasında yapılacak *in vivo* çalışmalarda elde edilecek sonuçların güvenilirliği ve tekrarlanabilirliği önemli oranda artacaktır.

Ayrıca, elde edilecek polimerlerde RAFT yöntemi sebebiyle bulunan fonksiyonel gruplar uygulama bölgesine yönelik olarak ekstra modifikasyonlara izin verecektir. Bu da özellikle hedeflenmiş ilaç/gen transferi amacıyla organ veya bölge spesifik taşıyıcıların tasarlanmasında kolaylık sağlayacaktır.

Özetle, polimerlerin hazırlanma yöntemi, polimer türü tamamen özgün olup, ilaç/gen aktarımı olarak belirtilen uygulama alanındaki mevcut eksikliklere cevap vereceği düşünüldüğünden, çalışmanın yenilik taşıdığı söylenebilir.

#### 2.1 Yaşayan/Kontrollü Polimerizasyon

İlk olarak yaşayan anyonik polimerizasyonun ve daha sonra diğer yaşayan/kontrollü polimerizasyonların (Living/controlled polymerization, LP/CP) keşfinin polimer ve malzeme bilimi üzerinde önemli etkileri olmuştur. Bu durum, sentetik polimer kimyasının yanında polimer fiziğinde de etkili olup, nano yapıları morfolojiye sahip, tasarlanabilen moleküler yapıları iyi-tanımlanmış polimerlerin hazırlanmasına yeni bir yol açmıştır. Bu yöntemle üretilen polimerler termoplastik elastomerler, bağlayıcılar, sürfaktanlar, kişisel bakım ürünleri ve medikal bileşenler gibi birçok uygulamayla başarılı bir şekilde ticarileştirilmiştir. Bunların yanında kumaş, yüzey kaplama, plastik, boya, paketleme, kontak lens gibi çeşitli mamüllerin üretiminde de kullanılmaktadır. Bu bağlamda da yaşayan/kontrollü polimerizasyonla üretilen malzemelerin geniş market etkisine sahip uygulamalarının olacağı öngörülmektedir.

Yaşayan polimerizasyon konsepti ilk olarak Michael Szwarc tarafından 1956'da stirenin tetrahidrofuranda (THF) anyonik polimerizasyonu sırasında ortamdaki tüm monomer tükeninceye kadar polimer zincirinin büyüdüğünü bulmasıyla başlamıştır [42,43]. Bu bakımdan "yaşayan" ifadesi başlangıçtaki monomer tükendikten sonra ek monomer ilavesi ile polimer zincirinin ilerleyebilmesi anlamını taşımaktadır. Bu polimerizasyon sisteminde zincir kırılma reaksiyonları (sonlanma veya zincir transferi) olmamakta ve polimerizasyon işlemi monomerler tükenene kadar kontrollü olarak devam etmektedir. Sırasıyla monomer katılımı ile blok kopolimer oluşumu sağlanmaktadır. Oluşan polimerin molekül ağırlığı başlangıçtaki monomer/başlatıcı oranına bağlıdır. Bu yöntem

sayesinde molekül ağırlığı kontrol edilebilen, düşük polidispersite indeksine (PDI) sahip ve uç grup kontrollü polimerler sentezlenebilmektedir. IUPAC'ın Altın Kitabında ise “yaşayan polimerizasyon; zincir transferi ve zincir sonlanması olmayan zincir polimerizasyonu” olarak tanımlanmaktadır [44]. Bu bilgiye ek olarak, çoğu durumda zincir başlama oranı zincir ilerleme oranı ile karşılaştırıldığında zincir başlama oranı daha hızlı olduğundan polimerizasyon boyunca kinetik zincir taşıyıcıların sayısı aslında sabit olduğu da bildirilmektedir. Böyle bir proses de çok yakın moleküler ağırlık dağılımına (MWD) yol açmaktadır. Ayrıca yavaş başlama prosesi, MWD ve ulaşılan moleküler ağırlık üzerinde önemli etkiye sahiptir.

Radikal polimerizasyonda sonlanmayı tamamen bastırmak imkansızdır. Bu nedenle Swarc daha sonra tanımını değiştirip “oluşan polimerler yeterli derecede uzun bir süre bütünlüğünü koruyup, işlemcinin görevini tamamlamasına olanak sağladığında yaşayan polimerizasyondur ve sonuçları etkilememek şartıyla bazı ayrışma ve izomerizasyonlar oluşabilir” haline getirmiştir [45].

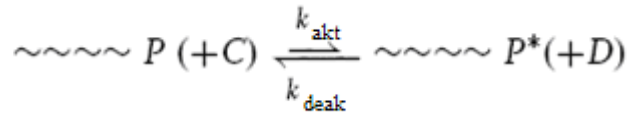
Kontrollü polimerizasyon terimi ise 1987’de polimer hazırlamada sentetik bir yöntem olarak tanımlanmıştır [46]. Bu yöntemle topolojik olarak iyi tanımlanmış (lineer, yıldız, tarak, halkasal v.b.), uç fonksiyonelliğine sahip, bileşim ve komonomerlerin düzenlenmesine olanak veren (statistik, periyodik, blok, graft, gradient), monomer konsantrasyonunun başlatıcı konsantrasyonuna oranından moleküler ağırlığı saptanabilen ve tasarlanmış kadar iyi MWD’na sahip polimerler üretilebilmektedir.

Yaşayan polimerizasyon her zaman kontrol edilememekte ve her kontrollü polimerizasyon da yaşayan olmamaktadır. İdeal durumda ise yaşayan polimerizasyon aynı zamanda da kontrollü olmalıdır. Radikal polimerizasyon gibi bazı sistemlerde sonlanmadan tamamen kaçınılamamakta fakat katkısı önemli derecede azaltılabilmektedir.

Yaşama özelliği 1956’da karboiyonik polimerizasyonda keşfedilmiştir. Yaşayan iyonik polimerizasyon sisteminde zincir uçları birbirini iten benzer elektrostatik yüklere sahiptir ve bu yüzden karşılıklı etkileşim ile sonlanma olmamaktadır. Bu özelliğinden dolayı moleküler yapı üzerinde mükemmel kontrole sahip bir sistemdir. Fakat bu sistemde bulunan aktif zincir suya, oksijene ve karbondioksite karşı aşırı reaktiftir ve

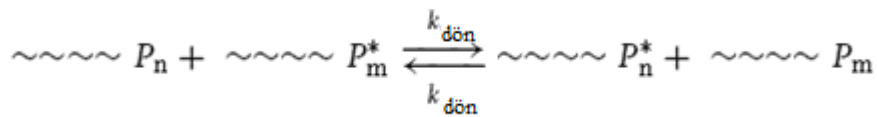


bunların polimerizasyon sisteminden uzaklaştırılması gerekmektedir. Yaşayan iyonik polimerizasyon için optimum reaksiyon sıcaklığı da oldukça düşüktür ve yalnızca kararlı iyon üretebilen (stiren v.b) monomerler yaşayan iyonik polimerizasyon prosesi ile polimerize edilebilmektedirler. Yaşayan karboiyonik polimerizasyon düzeyinde kontrole erişebilmek için diğer polimerizasyon yöntemleri üzerine birçok etki yapılmış ve yaklaşık 20 yıl sonra yaşayan katyonik halka açılma polimerizasyonu geliştirilmiştir. 1983'te grup transfer polimerizasyonu (GTP, anyonik polimerizasyona benzer bir procestir) ve 1984'te de yaşayan karbokasyonik polimerizasyon raporlanmıştır. 1986'da yaşayan halka açılma metatez polimerizasyonu (ROMP) ve 1990'larda çeşitli yaşayan/kontrollü radikal polimerizasyon mekanizmaları bildirilmiştir. Her yeni yaşayan/kontrollü sistemin ortak bir özelliği olarak, bu sistemlerin tersinir deaktivasyon prosesi (Şekil 2.1) veya tersinir transfer yoluyla dinamik bir denge halinde bulunan aktif ve inaktif (dormant) türlere sahip olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 2.1 Tersinir deaktivasyon (C katalist (aktivatör), D deaktivatör veya ürün)

Tersinir deaktivasyon, aktif türlerin (iyonlar, iyon çiftleri veya radikaller), P\*, genellikle kovalent olan inaktif türlerle (dormant türler), P, dinamik olarak dengede olduğu bir procestir.



Şekil 2.2 Dönüşümlü transfer

Dönüşümlü transfer (Şekil 2.2) ise aktif polimer zinciri ile hareketsiz birim arasındaki bimoleküler reaksiyondur, tek farkı polimerizasyon derecesindedir ve iki zincir ucunda direkt değişime neden olmaktadır [47].

Bugünkü yaşayan polimerizasyon yöntemleri;

- Anyonik polimerizasyon
- Katyonik polimerizasyon

- Yaşayan serbest radikal polimerizasyon
- Halka açılması metatez polimerizasyonu
- Grup transfer radikal polimerizasyonu ve
- Yaşayan Ziegler-Natta polimerizasyonudur.

Ancak, bu sistemler, yaşayan polimerizasyon konsepti ile temelde uyumsuz olan kaçınılmaz sonlanmaların varlığı nedeniyle, gerçek yaşayan polimerizasyondan ziyade, kontrollü radikal polimerizasyon veya yaşayan/kontrollü radikal polimerizasyon olarak tanımlanmaktadır.

## **2.2 Yaşayan/Kontrollü Radikal Polimerizasyon (LRP/CRP)**

Yaşayan veya kontrollü radikal polimerizasyon (LRP/CRP), yaşayan iyonik polimerizasyon ile geleneksel serbest radikal polimerizasyonun avantajlarının birleşiminden oluşmaktadır. Bu yöntemle ılımlı reaksiyon koşulları altında kontrollü yapıda ve fonksiyonallitede polimerler üretilebilmektedir.

Geleneksel serbest radikal polimerizasyon (RP) birçok vinil monomerini polimerleştirmede uygulanabildiğinden dolayı yüksek molekül ağırlıklı polimerlerin hazırlanması için önemli bir ticari prosestir. Radikalik polimerizasyonda serbest radikaller zincir büyümesinde aktif merkezlerdir. İyonik polimerizasyonla karşılaştırıldığında çok zor reaksiyon koşulları gerektirmemektedir, oksijene karşı hassas fakat suya karşı toleranslıdır ve geniş bir sıcaklık aralığında yürütülebilmektedir (-80'den 250°C'ye ) [48]. Radikalik yol ile birçok monomer kolayca kopolimerize edilebilir, böylece özellikleri birleşen komonomerin oranına bağlı olan sınırsız sayıda kopolimerler yapılabilir. Makromoleküler yapıdaki bazı anahtar faktörler, zayıf kontrol, moleküler ağırlık (MW), polidispersite, son grup fonksiyonelliği, zincir yapısı ve bileşim vb, RP'ü sınırlamaktadırlar. Tamamen kontrollü yapısal parametrelere sahip iyi tanımlanmış polimerler iyonik yaşayan polimerizasyonla sentezlenmiştir ancak iyonik yaşayan polimerizasyon sıkı reaksiyon koşulları gerektirmektedir ve az sayıda monomere uygulanabilmektedir [49-51]. Bu sebepten dolayı hazırlanmak istenilen iyi tanımlanmış blok, graft kopolimerler, yıldız, tarak, ağ (network), uç fonksiyonel

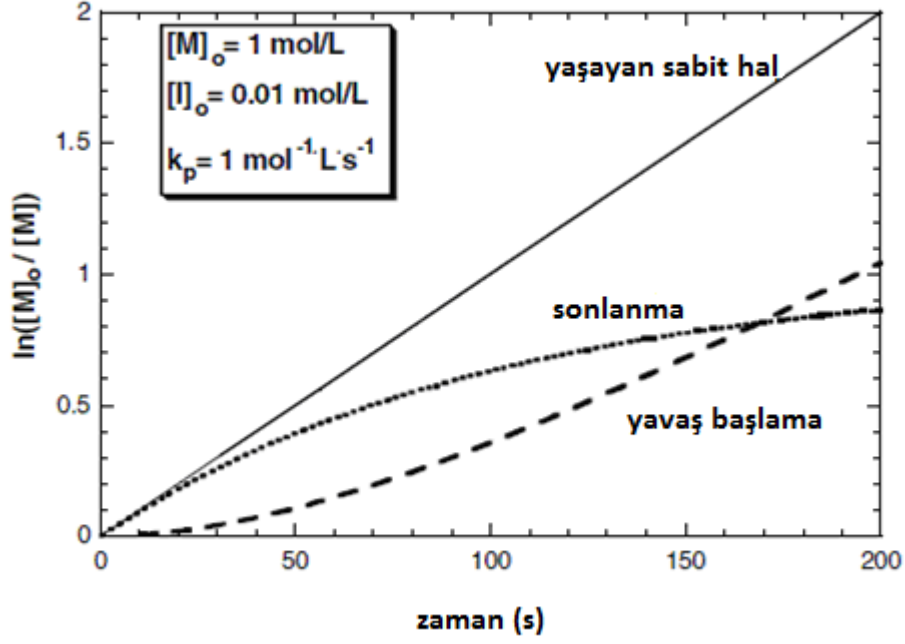
polimerler ve diğler birçok materyal ılımlı reaksiyon koşullarında ve iyonik polimerizasyondan daha geniş aralıkta monomerlerle uygulanabilmektedir [52].

Yaşayan polimerizasyon ilk olarak Szwarc [43] tarafından, zincir kırılma reaksiyonları (transfer ve sonlanma) olmadan gerçekte zincir büyüme prosesi olarak tanımlanmıştı. Bu polimerizasyon, son grup kontrolü ve sırasıyla monomer katılımı ile blok kopolimer sentezini sağlanmaktadır. Ayrıca moleküler ağırlık (Mw) kontrolü ve yakın moleküler ağırlık dağılımı (MWD) sağlanmaktadır. Bu amaçlara ulaşmak için gerekli ön şartlar ise başlatıcı polimerizasyonun erken aşamalarında tükenmeli ve farklı reaktivitedeki türler arasındaki değışim en az çoğalma kadar hızlı olmalıdır [54-56]. Eğer polimerizasyon bu son kriteri taşıyorsa kontrollü polimerizasyon terimi kullanılmaktadır [57]. Bu terim RP gibi zincir kırılma reaksiyonlarının devam ettiği, MW ve MWD'nin kontrolünün sağlandığı sistemler için önerilmektedir. Ayrıca "kontrollü" terimi hangi özelliğın kontrollü hangilerinin kontrolsüz olduğunu belirtmemekte, "yaşayan" terimi ise radikal polimerizasyon gibi zincir kırılma proseslerinin kesinlikle olduğu iyi tanımlanmış polimerlerin sentez prosesini belirtmektedir [58,59]. Yaşayan/kontrollü terimi ise bu sistemin esasını tanımlamaktadır [57].

### **2.2.1 Yaşayan/Kontrollü Radikal Polimerizasyonun Özellikleri**

Diğler yaşayan polimerizasyon yöntemlerinin birçoğu (akrilatların karbokatyonik halka açılması, grup transferi ve anyonik polimerizasyonu) gibi LRP'un da özelliklerinden biri aktif ve pasif (dormant) türler arasındaki dengedir [60]. Aktif ve pasif türler arasındaki değışim reaksiyonun yavaşlamasını sağlamakta aynı zamanda da büyüyen bütün zincirler sonlanmayı minimize etmek için radikal konsantrasyonunu düşük tutmaktadır.

İdeal olarak yaşayan sistemler, tükenen monomerin başlatıcıya olan konsantrasyon oranından polimerizasyon derecesinin saptandığı  $DP_n = \Delta[M]/[I]_0$ , Poisson dağılımına sahip polidispersitede ( $DP_w/DP_n \approx 1 + 1/DP_n$ ) ve uç fonksiyonlu polimerlerin sentezine olanak sağlan sistemlerdir. Deneysel olarak bu tür sistemleri incelemek için en iyi yol polimerizasyon kinetiklerini, moleküler dağılımlarını, polidispersitelerini ve fonksiyonlitede değışimlerini takip etmektir.



Şekil 2.3  $[M]_0=1$  mol/L,  $[I]_0=0.01$  mol/L değerleri için reaksiyon kinetiklerinde bimoleküler sonlanma ve yavaş başlama etkisinin şematik gösterimi (başlama ve sonlanma hız sabiti ilerleme hız sabitinden 100 kat daha küçüktür).

**İyi derecede kontrol edilen bir sistemin sağlaması gerektiği:**

1- Eğer monomer konsantrasyonuna karşı reaksiyon birinci dereceden ise yarı-logaritmik koordinatlarda lineer kinetik bölge ( $\ln([M]_0/[M])$ 'e karşı zaman) Şekil 2.3'de gösterildiği gibi bulunmaktadır. Böyle bir bölgede hızlanma olması, reaksiyon için yavaş başlamayı göstermekte, yavaşlama ise katalistin sonlanması veya deaktivasyonu göstermektedir. Düz çizgi ise aktif bölgelerin sabit miktarını göstermekte ve kararlı hal koşullarında bulunmaktadır. Transfer adımının kinetik üzerine etkisi yoktur.

2- Dönüşümle birlikte moleküler ağırlık ( $M_w$ ) lineer olarak değişmektedir  $\Delta[M]/[I]_0$  oranından saptanan düşük  $M_w$  değeri transferi, yüksek  $M_w$  değeri ise etkisiz başlama veya zincir eşleşmesini göstermektedir. Düz çizgi ise tüm zincirlerin sabit sayısını gösterir.

3- Polidispersite ( $M_w/M_n$ ) yavaş başlama ve yavaş değişimli sistemler için dönüşümle birlikte azalmalıdır. Polidispersite zincir kırılma reaksiyonlarının katkısı belirgin olduğunda artmaktadır.

4- Uç fonksiyonlitesi yavaş başlama ve değişimden etkilenmemekte fakat zincir kırılma reaksiyonları arttığında azalmaktadır.

#### **Geleneksel radikal polimerizasyonun sınırlamaları:**

İyonik polimerizasyonla karşılaştırıldığında RP'un esas dezavantajı büyüyen radikaller arasında meydana gelen difüzyon-kontrollü sonlanmalardır. Sonlanma 2.dereceden, ilerleme 1.derecedendir, büyüyen radikal konsantrasyonuna bağlı olarak, radikal konsantrasyonu çok düşük tutulduğunda uygun moleküler ağırlıkta polimer zinciri yapmak mümkündür. Çoğunlukla monomerin %90'dan fazlası polimere dönüştüğünde %20 den az başlatıcı tükenmektedir. Yavaş ve sürekli başlama, dönüşen monomerin başlatıcıya olan konsantrasyon oranından polimerizasyon derecesi saptanabilen, iyi tanımlanmış düşük polidispersiteli ve kontrollü topolojiye (yıldız, tarak) ve bileşime (blok, graft) sahip polimerlerin sentezini engellemektedir.

Geleneksel serbest radikal polimerizasyonda sürekli olarak radikaller oluşmakta (başlama) ve kaybolmaktadır (sonlanma) ve buna bağlı olarak da göreceli polidispers polimerlerin oluşumuna yol açmaktadır. Serbest radikal polimerizasyonda bağımsız bir zincirin uzaması ise saniyeler almaktadır.

Uzayan zincirin ömrü çok kısadır 1s gibi. Bu sürede yaklaşık olarak 1000 monomer birimi sonlanmadan önce oluşan radikallere eklenmektedir. Bir saniyede blok kopolimer oluşturmak için diğer monomer dizisini eklemek ise zordur.

#### **2.2.2 Radikal Polimerizasyon (RP) ile Yaşayan Radikal Polimerizasyon (LRP) Arasındaki Farklar**

Mekanik olarak yaşayan/kontrollü polimerizasyonla geleneksel serbest radikal polimerizasyon arasındaki en belirgin fark dönüşümlü aktivasyon/deaktivasyon prosesinin bulunmasıdır.

LRP ve RP arasındaki esas benzerlik, zincir büyümesinde serbest radikalın katılımıdır. Bu olay aynı kemo-, regio-, ve stereoselektiviteye yol açar.

LRP ve RP arasındaki esas fark ise LRP' de aktivasyon ve deaktivasyon arasındaki denge oranında LRP'de oluşan serbest radikal konsantrasyonu sabittir fakat RP'de bu

konsantrasyon sabit değildir. LRP de başlama, aktivasyon ve deaktivasyon oranı sonlanmadan çok daha fazladır. Bu da tüm zincirlerin aynı anda başlamasını sağlar ve bu yüzden çeşitli polimer yapılarında kontrol sağlamaktadır. Aktif ve pasif türler arasındaki değişim büyüyen zincirin ömrünü RP'da ~1 saniyeden LRP'da >>1sa. kadar genişletir. Bu da makromoleküler mühendisliğin birçok özelliğini, fonksiyonallite kontrolü, topoloji ve bileşim gb., sağlamaktadır.

### **2.2.3 LRP/CRP'nin Temel Prensipleri**

LRP'de tüm zincirler aynı anda büyümeye başlar ve fonksiyonelliğini reaksiyonun sonuna kadar korumaktadır. RP da ise tüm zincirler sonlanmakta ve tüm monomerler tükense bile başlama asla tamamlanmamaktadır. Bu yüzden LRP de 3 temel koşul bulunmaktadır;

**1-**Başlama düşük monomer dönüşümünde tamamlanmalıdır.

**2-**Transfer etkilerinden kaçınmak için göreceli olarak düşük Mw (DP <1000) hedeflenmelidir. Bu da büyüyen zincirlerin yüksek konsantrasyonunu gerektirmektedir. (Örn. >10<sup>-2</sup>M bulk polimerizasyon için)

**3-**Büyüyen radikallerin konsantrasyonu ([P\*]<10<sup>-7</sup>), sonlanmadan önce yeterli derecede yüksek Mw'li zincirlerin büyümesini sağlayacak kadar düşük olmalıdır.

Tüm LRP sistemlerinin en önemli özelliği büyüyen radikaller ile dormant türler arasındaki değişimdir. Dengenin yönü ve dinamiği, oluşan polimerin polidispersitesini ve moleküler ağırlığını etkilediği gibi gözlemlenen oranı da belirlemektedir. Dormant türlerin yapısına ve değişimin kimyasına bağlı olarak LRP sistemleri kategoriye ayırmak mümkündür.

### **2.2.4 LRP/CRP'nin Sınıflandırılması**

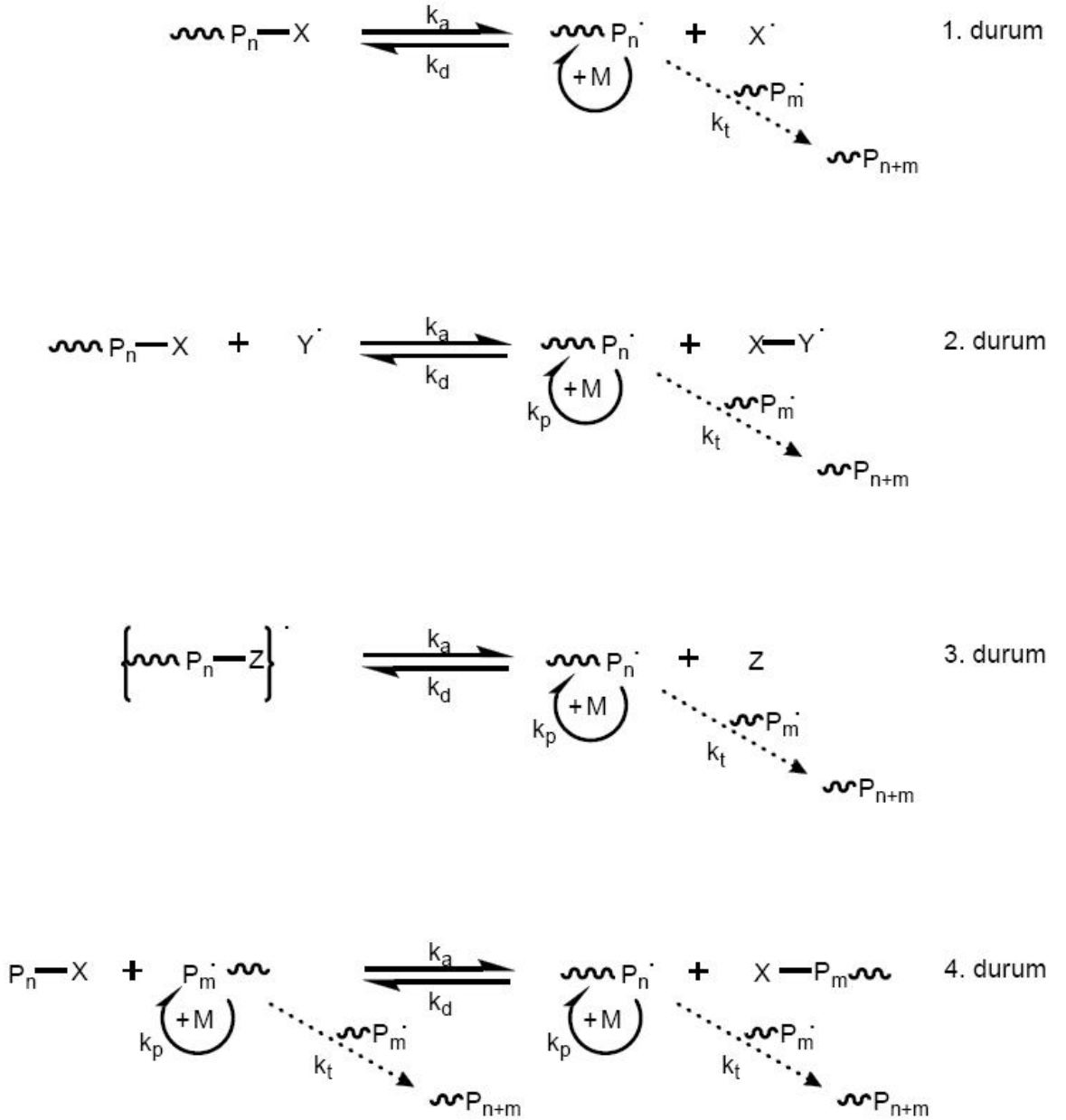
Pratik olarak tüm yaşayan/kontrollü polimerizasyon (LRP/CRP) teknikleri hareketsiz türler ile aktif türler (büyüyen serbest radikaller) arasında kurulan dinamik denge prensibine dayalı olarak çalışmaktadır. LRP/CRP'leri bu hareketsiz grupların yapısına göre sınıflandırmak daha basit olsa da mekanizmaya dayalı olarak sınıflandırma yapmak, elde edilen polimerlerin molekül ağırlıkları ve polidispersiteleri ile kullanılan

reaktanların konsantrasyonları arasında ilişkinin kurulmasını sağladığından daha uygun olmaktadır. Bu yüzden LRP/CRP'ler Şekil 2.4' de de gösterildiği gibi dört farklı mekanizmaya göre sınıflandırılmaktadır [61]. Buna göre; çok sayıda monomere uygulanabilen en verimli ve en önemli yaşayan/ kontrollü radikal polimerizasyon teknikleri; nitroksid ortamlı radikal polimerizasyon (nitroxide mediated radical polymerization – NMRP), metal katalizörlü atom transfer radikal polimerizasyonu (atom transfer radical polymerization – ATRP) ve diğer dejenere transfer prosesleri ile birlikte tersinir katılma – bölünme zincir transfer polimerizasyonu (reversible addition – fragmentation chain transfer polymerization – RAFT) olmak üzere üç sınıfta toplanmaktadır [62,63].

Şekil 2.4'te verildiği gibi tüm mekanizmalarda; hareketsiz türler, monomerlerle (M)  $k_p$  çoğalma hız sabiti ile reaksiyona giren aktif türleri ( $P_n^*$ ) oluşturmak üzere aktivasyon hız sabiti ( $k_a$ ) ile tersinir olarak aktive edilmektedir. Çoğalan radikaller,  $k_d$  deaktivasyon hız sabitiyle deaktive olabilmekte ya da  $k_t$  sonlanma hızı ile diğer büyüyen radikaller ile sonlanmaktadırlar. Bütün LRP/CRP'lerde, radikallerin konsantrasyonu oldukça düşük tutulduğundan, polimer özelliklerini de önemli ölçüde etkilemediğinden, ortamda az da olsa oluşan sonlanmalar bazen ihmal edilebilmektedir. Bu mekanizmalara göre ;

- 1.durum : NMRP
- 2.durum : ATRP
- 3.durum : RAFT
- 4.durum : Dejenaratif sistemi

yansıtmaktadır [61].



Şekil 2.4 Kontrollü polimerizasyonun sınıflandırılmasında esas alınan 4 farklı mekanizma.

### 2.3 Güncel LRP/CRP Örnekleri

Makromoleküllerin sentezlerinde yaşanan anyonik polimerizasyona kıyasla daha toleranslı deneysel koşullar sağlaması ve uygulanabildiği monomer çeşitliliğinden dolayı son yıllarda LRP tekniklerinin kullanımı hızla artmıştır. Nitroksidli Serbest Radikal Polimerizasyon (NMP) [63-65] Atom Transfer Radikal Polimerizasyon (ATRP) [66-76] ve



Tersinir Katımlı-Ayrışmalı Zincir Transferi (RAFT) [77-84] bilinen en başarılı ve gelecek vadeden üç LRP tekniğidir.

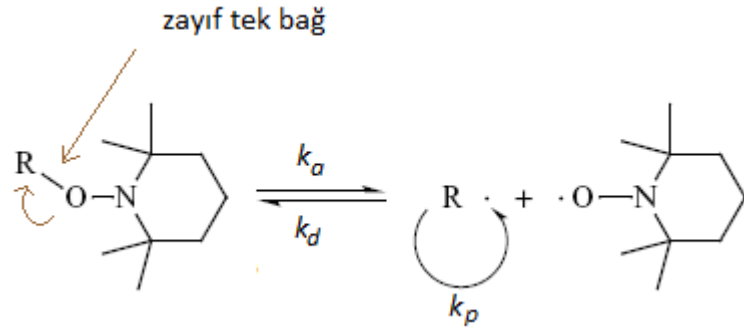
### **2.3.1 Nitroksid Ortamlı Radikal Polimerizasyon (NMP)**

Nitroksid Ortamlı Polimerizasyon (NMP), Kararlı Serbest Radikal Polimerizasyon (SFRP) olarak da bilinmektedir ve yaşayan/kontrollü polimerizasyonun çok yönlü metotlarından biridir. NMP temelde nitroksil radikalleri (nitroksidler) veya alkoksiaminlerin kullanımına dayanmaktadır.

NMP'nin gelişimi başlatıcı mekanizmalarının çalışmasına dayanmaktadır. NMP yöntemi gelişmeden önce, nitroksidler radikal temizleyiciler olarak bilinmekte ve farklı türevleri polimer stabilizasyonunda yaygın olarak kullanılmaktaydı. 1979-1990 periyodunda radikal türevli başlatıcılarla monomerlerin reaksiyonlarına yönelik, radikal ayırıcı olarak nitroksidlerin kullanıldığı bir çok çalışma yapılmıştır [85,86]. Bu çalışmalarda bazı koşullarda nitroksid tarafından çoğalan radikallerin ayrılma mekanizmasının dönüşümlü olduğu gözlemlenmiştir. Rizzardo ve Solomon farklı vinil polimerlerinin polimerizasyonu için ilk kez alkoksiaminleri kullanmışlardır [87]. Ancak sadece düşük molekül ağırlıklı polimerler elde edilebilmiştir. Daha sonra ise Georges ve ark. düşük polidispersite (<1.5) değerine sahip yüksek molekül ağırlıklı ( $M_n < 50,000$ ) polistireni benzoil peroksit (BPO) ve 2,2,6,6-tetrametil-1,1-piperidiniloksi (TEMPO) nitroksil radikali ile elde etmiştir [88].

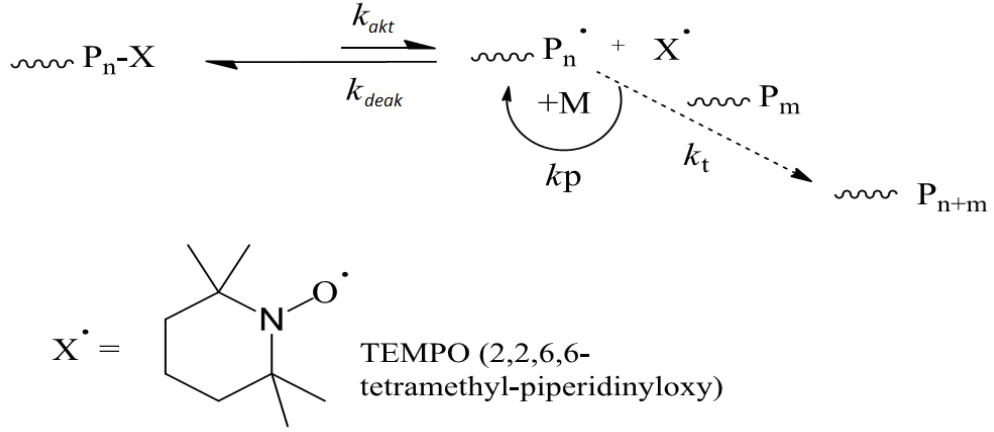
Kararlı serbest radikal polimerizasyonu arasında yer alan nitroksid üzerinden yürüyen polimerizasyon (NMP), reaksiyon ortamına kararlı bir serbest nitroksid radikalinin ilave edilmesiyle yürütülmektedir [89]. Kararlı serbest nitroksid radikalinin kararlılığı (stabilitesi) ise, radikalın elektronik yapısına bağlıdır. N – O bağı üzerinde çiftleşmemiş elektronun delokalizasyonu, radikale termodinamik kararlılık sağlamaktadır [90]. Polimerizasyon sisteminde, nitroksid radikali, tuzak kurucu madde olarak davranmakta ve çoğalan diğer radikaller ile birleşerek gevşek bir bağ oluşturmaktadır. Oluşan bu bağ, daha yüksek sıcaklıklarda tersinir olarak homolitik ayrışmaya maruz kalmaktadır [91]. Ayrıca bu kararlı radikaller monomerlerden ziyade büyüyen karbon merkezli radikallerle reaksiyona girmeyi tercih ettiğinden, tersinir kapatıcı reaksiyon zincir ucundaki radikal konsantrasyonunu şiddetli şekilde azaltmaktadır. Bu azalan radikal

konsantrasyonundan dolayı sonlanma reaksiyonu bastırıldığı (minimize edildiği) için, yaşayan polimerizasyon karakteri önem kazanmaktadır [92].



Şekil 2.5 NMP için dönüşümlü bağlanma/ayırılma mekanizması

NMRP'nin mekanizmasının temeli etkin olmayan bir alkoksiamin oluşturmak üzere, aktif polimer radikallerinin TEMPO (2, 2, 6, 6 - tetramethylpiperidinyl-1-oxy) gibi kararlı bir nitroksid radikali ile tersinir olarak deaktivasyonudur. Bu sistemde, polimer büyümesi, kontrollü olarak gerçekleşmektedir. Monomer ardı ardına meydana gelen aktivasyon ve deaktivasyon reaksiyonları arasında polimer radikallerine eklenmektedir. Şekil 2.5' de gösterilen denge reaksiyonu, büyük ölçüde etkin olmayan alkoksiaminlerin oluşumuna olanak sağlamaktadır. Bu durumda, aktif radikallerin konsantrasyonu klasik serbest radikal polimerizasyonundan daha düşüktür. Sonuç olarak; sonlanma, aktif radikallerin konsantrasyonuna göre ikinci mertebeden olduğu için, bimoleküler radikal sonlanma hızı çoğalma hızından daha fazla baskı altına alınmaktadır. Bu şartlar altında, polimer radikalleri yaşayan tarzda büyümekte ve dar molekül ağırlık dağılımlı (polidispersite) ve önceden tahmin edilebilir molekül ağırlıklı polimerlerin üretimi mümkün olmaktadır [93].

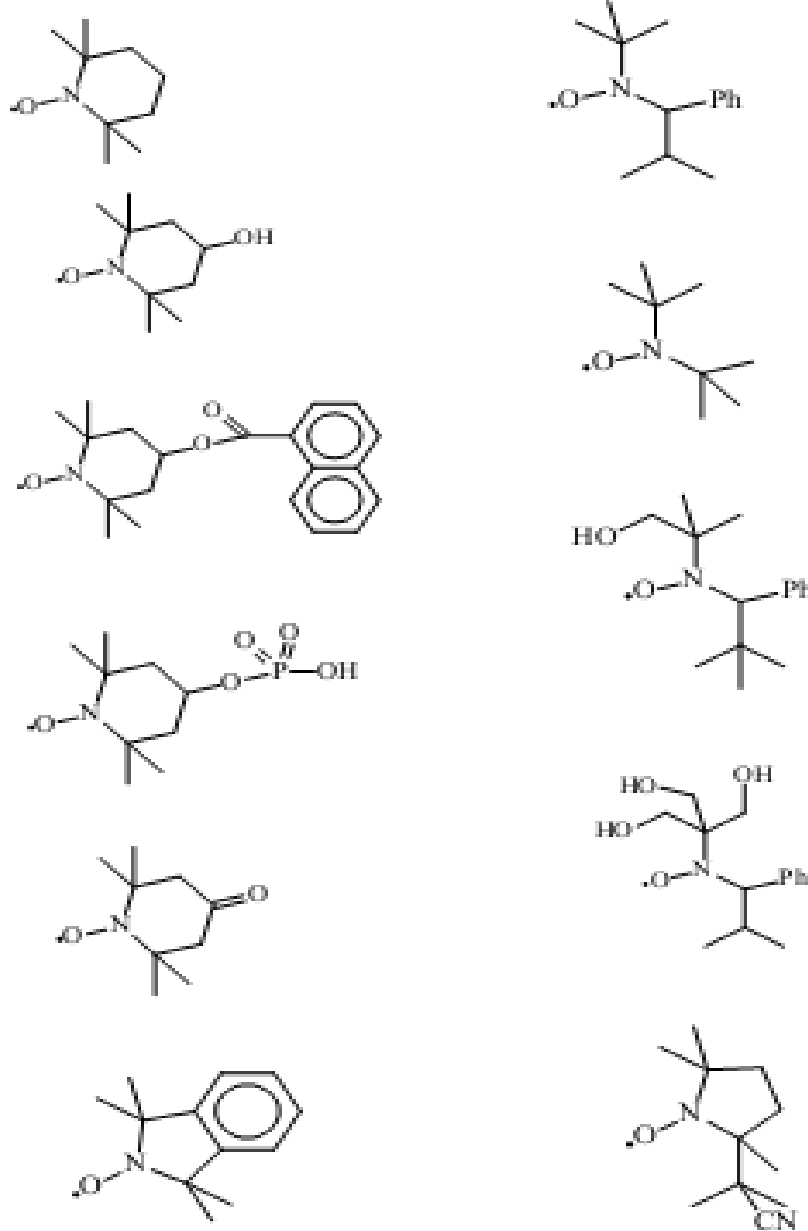


Şekil 2.6 Nitroksid Ortamlı Polimerizasyonun genel mekanizması

NMP de iki başlatıcı sistemi uygulanmaktadır. Birincisi nitroksid (örn. TEMPO) ve BPO veya azoisobütilonitril (AIBN) gibi geleneksel radikal başlatıcıların kullanıldığı bimoleküler sistemdir. Alkoksiamin nitroksidden in situ şekilde oluşur ve radikaller geleneksel başlatıcılar kullanılarak oluşturulur. İkinci ise alkoksiaminlerin nitroksid ve başlatıcı radikale ayrıştığı tek moleküler sistemdir. Hawker ve ark. [94] bu yöntemden yararlanmış ve bu başlatıcıları tarif etmek için “unimer” terimini kullanmışlardır.

Bugün NMP de geniş aralıkta nitroksid ve alkoksiamin türlerinden faydalanılmaktadır. Deneysel ve teorik çalışmalar nitroksid/alkoksiamin yapılarıyla polimerizasyon sonucunun ilgili olduğunu göstermekle birlikte kinetik ve mekanizmalarının anlaşılmasını sağlamaktadır.

Literatürde stiren gibi vinil monomerlerinin serbest radikal polimerizasyonunda, kararlı serbest radikal olarak TEMPO temelli başlatıcıların ya da TEMPO içeren sistemlerin kullanılması halinde, polimerizasyonun yaşayan proses özelliğine sahip olduğunu gösteren bir çok çalışma yer almaktadır [95-98]. Bu şekilde TEMPO varlığında gerçekleştirilen proses, polidispersitesi düşük, molekül ağırlığı kontrol altına alınabilen polimerlerin üretilmesini olanak sağlamaktadır [99]. TEMPO, ortamda bulunan serbest radikallerin çoğunluğuna difüzyon kontrollü olarak tuzak kurmakta ve kapatıcı vasıta gibi davranmaktadır. TEMPO gibi kararlı bir serbest nitroksid radikali kullanılarak oluşturulan tersinir sonlanma kavramı yaşayan polimerlerin üretimi için kullanılmaktadır [100]. NMP de kullanılan çeşitli nitroksid türevleri şekilde verilmiştir.



Şekil 2.7 NMP de kullanılan nitroksid türevleri

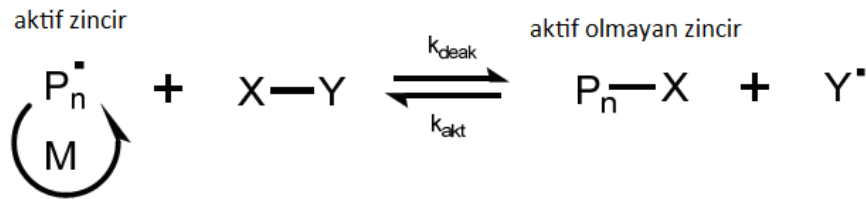
### 2.3.2 Atom Transfer Radikal Polimerizasyon (ATRP)

Günümüzde ATRP deneysel kurulumunun kolay olması, ucuz ve kolaylıkla ulaşılabilir katalizörlerin (genellikle alifatik aminlerle oluşturulan bakır kompleksleri, ya da pridin bazlı ligandlar ki bunların çoğu ticari olarak mevcuttur) ve basit, ticari olarak mevcut kolayca hazırlanabilen başlatıcıların kullanılması sebebiyle (sıklıkla alkil halojenür) oldukça ilgi çeken başarılı ve çok kullanılan kontrollü radikal polimerizasyon metotlarından biridir [101,102]. İlk kez birbirinden bağımsız olarak Matyjaszewski

[103], Wang ve Sawamoto tarafından 1995'te tanıtılmıştır [104,105]. Organik kimyada kullanılan Atom transfer radikal eklenmesi [Atom transfer radical addition (ATRA)] yöntemine dayanmaktadır.

Atom transfer radikal polimerizasyon ismini polimer zincirlerinin aynı anda büyümesini sağlayan temel başlangıç reaksiyon olan atom transfer basamağından almaktadır. ATRP uygun katalizörün (geçiş metal bileşiği ve ligandları) tasarlanması ile gelişmiştir, uygun yapıli başlatıcı kullanılmaktadır, moleküler ağırlık dönüşümü birlikte lineer olarak artmaktadır ve polidispersite de yaşayan polimerizasyon konseptine uygundur [104]. Bu da birçok radikalik yolla polimerize edilebilen monomerin zincir yapısı, birleşimi ve uç fonksiyonelliği üzerinde kontrolü sağlamaktadır [106,107].

Atom transfer radikal polimerizasyonunun mekanizması, kararlı serbest radikal polimerizasyon sisteminden biraz farklı olarak gerçekleşmektedir (Şekil 2.8). ATRP nin temeli, elektron transfer prosesine dayanır ki bu proses hareketsiz türler ile çoğalan türler arasında tersinir (pseudo) halojen homolitik transferini içermektedir [108].

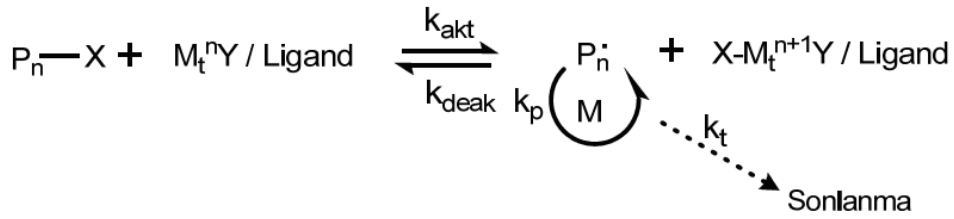


Şekil 2.8 ATRP dengesi

ATRP sisteminde başlatıcı (alkil halojenür), ligandlı düşük oksidasyon dercesinde metal halojenür kompleksi ve monomer bulunmaktadır. ATRP sisteminde tersinir atom ya da grup transferiyle deaktivasyon ve bimoleküler aktivasyon prosesi söz konusudur. Geçiş metali (amin ligand ile kompleks halde metal bileşiği) ve alkil halojenür arasındaki redoks reaksiyonu ile karbon-halojen bağının dönüşümlü olarak homolitik ayrılmasına dayanır. Tanımlanan bu sistemler için, deaktivatör (X-Y) geçiş metal kompleksidir.

Bu gösterimde Y daha yüksek oksidasyon durumunda olan metaldir. Y\* ise daha düşük oksidasyon durumundadır ve monomere göre inerttir. ATRP'de kullanılan geçiş metal türü, okside türü ve karbon merkezli radikal (aktif radikal) oluşturmak için organik halojenürden, halojen atomunu çıkarmaktadır [109].

ATRP'nin tekrarlanan aktivasyon ve deaktivasyon doğasını gösteren mekanizma daha detaylı olarak Şekil 2. 9' da verilmektedir.



Şekil 2.9 ATRP mekanizması;  $M_t^n$  : Geçiş metali, L : Kompleks ligand,  $P_n$  : Polimer zinciri, X: Br veya Cl

ATRP'de stirenler, metakrilatlar, metakrilamidler, vinilpiridin, akrilonitril, vinilasetat ve vinil klorid gibi çoğu monomer başarılı bir şekilde homopolimerize edilebilmiştir. Bunun yanında ATRP hidroksil, amino, amido, eter ve ester gibi çoğu fonksiyonel gruba karşıda toleranslıdır.

ATRP uygulandığı çeşitli metallerle başarılı sonuçlar vermiştir. Uygulandığı metallerden bazıları Ti, Mo, Fe, Co, Ni, Pd ve Cu'dur. Farklı koşullarda çoğu monomere başarılı uygulamalarından dolayı Cu en etkili metal olarak belirlenmiştir.

ATRP sisteminde, çoğunlukla geçiş metali olarak Cu, Fe ve Ru kullanılırken başlatıcı olarak da bir alkil halojenür (genellikle Bromür veya klorür) kullanılmaktadır [110-112]. Reaksiyon ortamında, katalizör olarak, Cu(I)Br'in uygun bir amin ligandı ile oluşturulan kompleksi kullanılmaktadır. Buradaki ligandın görevi Cu(I)Br'nin ortamda çözünür halde kalmasını sağlamak ve onun redoks potansiyelini düşürmektir.

Alkil halojenürle, CuBr-L kompleksinin etkileşmesinde, halojenür, atom halinde yani radikal olarak alkil grubundan kopmakta ve geride polimerizasyonu başlatan alkil radikali bırakmaktadır. Böylece CuBr<sub>2</sub>-L kompleksi meydana gelmektedir. Oluşan alkil radikali ortamdaki monomerle polimerleşmeyi başlatmaktadır. Fakat bir anda büyüyen zincirin ucundaki radikale CuBr<sub>2</sub>-L kompleksinden ayrılan brom, radikal halde katılmaktadır. Yani büyüyen zinciri deaktive etmektedir. Uçtaki halojenür, yukarıda belirtilen mekanizmayla tekrar aktif hale gelmektedir [113]. Burada, aktivasyon hızında ( $k_{\text{akt}}$ ) oluşan aktif radikaller,  $k_p$  hızıyla çoğalmakta ve tersinir olarak deaktive ( $k_{\text{deak}}$ ) olmaktadır, aynı zamanda sonlanmaktadır ( $k_t$ ). Reaksiyon ilerlerken kalıcı radikal etkisinin sonucu olarak radikal sonlanma azaltılırken, zincir uzunluğu ve denge,

hareketsiz türlere doğru etkili bir şekilde kaymaktadır ( $k_{akt} \ll k_{deak}$ ) [114,115]. Reaksiyonun bütününde bu aktivasyon-deaktivasyon adımları sürekli tekrar etmekte ve bu da polimerizasyonun kontrollü olarak yürümesini sağlamaktadır.

### 2.3.3 Tersinir Katılma-Ayrışma Zincir Transfer Polimerizasyonu (RAFT)

Tersinir Katılma-Ayrışma Zincir Transfer (RAFT) prosesi serbest radikal polimerizasyon alanında yapılan yeniliklerden biridir ve en güncel yaşayan/kontrollü serbest radikal polimerizasyon yöntemidir.

RAFT prosesi NMP ve ATRP ile karşılaştırıldığında temelde farklı bir mekanizma olan dejeneratif zincir transferine dayanmaktadır ve kontrolü sağlamak için sürekli radikal etki (PRE) yapmaz.

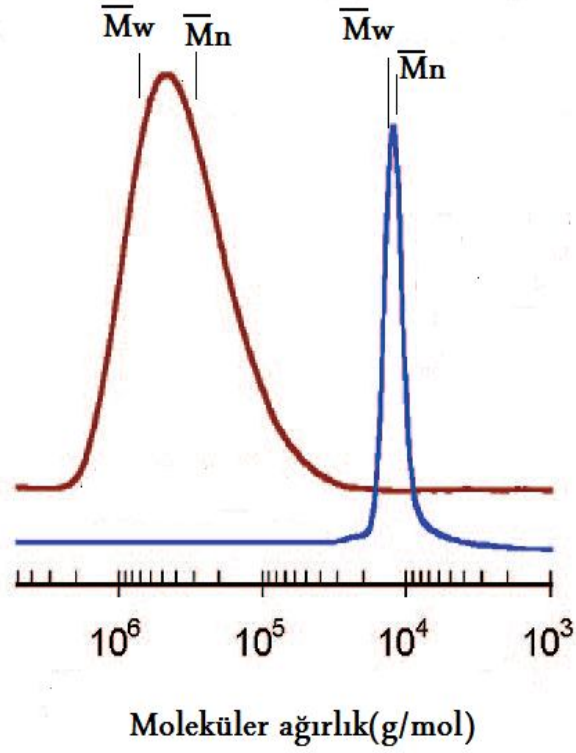
İdeal bir RAFT polimerizasyonunun temel özellikleri aşağıdaki gibi özetlenebilir;

- RAFT polimerizasyonu seçilen uygun RAFT ajanının serbest radikal polimerizasyona eklenmesi ile uygulanmaktadır. Serbest radikal polimerizasyonla aynı monomerler, başlatıcılar, çözücüler ve sıcaklıklar kullanılmaktadır.
- RAFT polimerizasyonu yaşayan polimerizasyon özelliği göstermektedir. Tüm zincirler polimerizasyonun başında büyümeye başlamakta ve monomer tükeninceye kadar devam etmektedir. Molekül ağırlığı dönüşümle birlikte lineer olarak artmaktadır. Aktif gruplar zincir uçlarında kalmaktadır.
- RAFT polimerizasyonunda moleküler ağırlık Eşitlik 2.1 kullanılarak saptanabilmektedir.

$$\overline{M}_n = \frac{[M]_0 \times M_{w_{monomer}} \times \rho}{[CTA]_0} + M_{w_{CTA}} \quad (2.1)$$

Eşitlik 2.1  $\overline{M}_n$  teorik olarak sayıca ortalama molekül ağırlığı,  $[M]_0$  ve  $[CTA]_0$  monomer ve RAFT ajanının başlangıç konsantrasyonları,  $\rho$  dönüşüm,  $M_{w_{monomer}}$  ve  $M_{w_{CTA}}$  monomer ve RAFT ajanının moleküler ağırlıkları (g/mol).

- Yakın moleküler ağırlık dağılımı sağlanmaktadır ve genelde polidispersite <1.20'dir (Şekil 2.10)

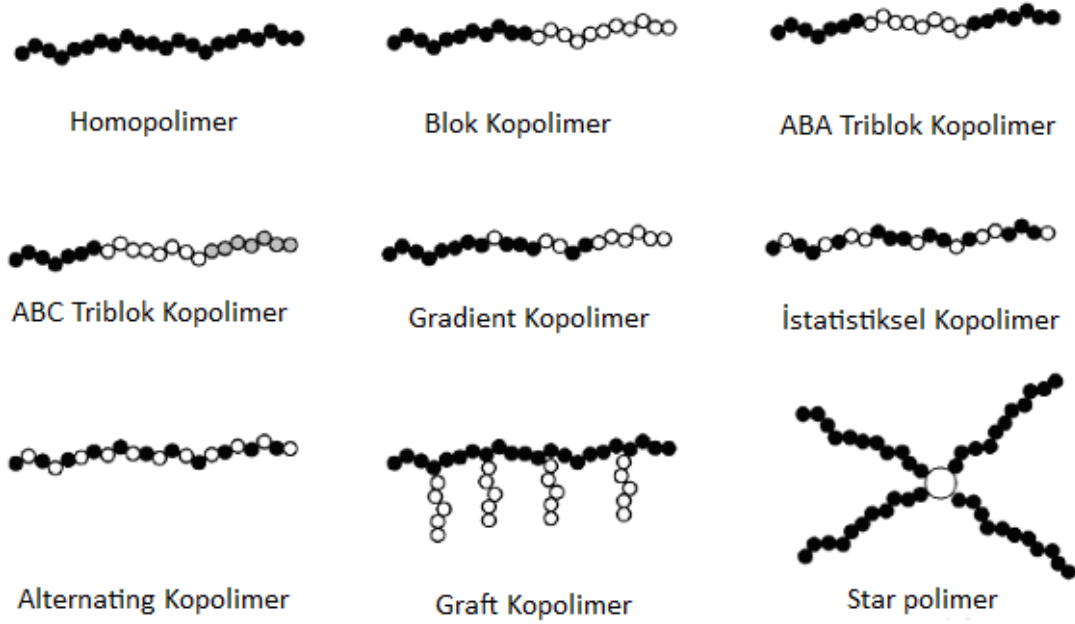


Şekil 2.10 Geleneksel ve yaşayan radikal polimerizasyon için tipik moleküler ağırlık dağılımı (veri polistirenin GPC analizindedir)

- Blok, star ve kompleks moleküler yapılar ulaşılabilir (Şekil 2.11)
- Polimerler tiyokarbonil tiyo uç grubu bulundurduğundan dolayı genelde pembe veya sarı renklidir. Renk kaybı olması RAFT uç grubunun azaldığını göstermektedir.

Kullanılan monomer ve reaksiyon koşullarına göre uygun RAFT ajanı seçilerek yukarıda yer alan maddelerin hepsi veya çoğu başarılılabılır [117].





Şekil 2.11 Yaşayan/kontrollü radikal polimerizasyon ile elde edilen polimer yapıları

### 2.3.3.1 RAFT'ın Tarihi

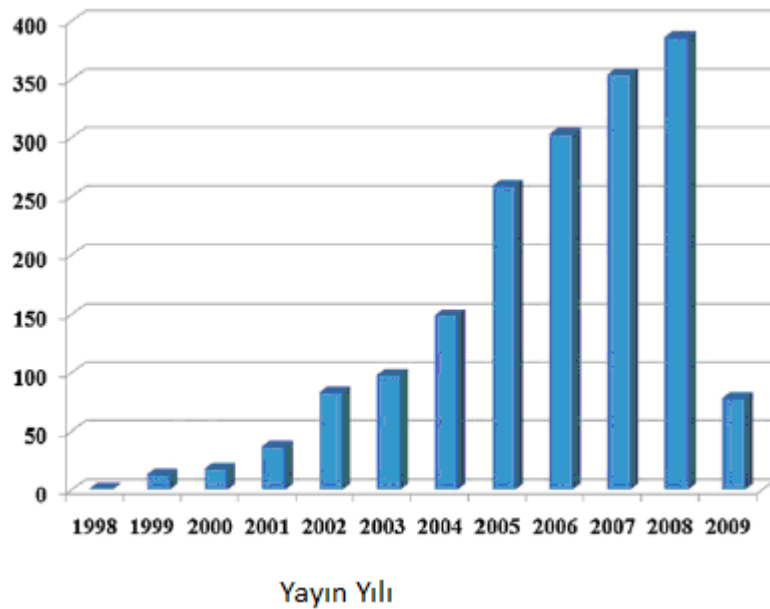
Genel olarak RAFT kısaltması ile adlandırılan yöntem dönüşümlü eklemeli-ayrışmalı zincir transfer reaksiyonu veren tiyokarboniltiyo bileşiği  $[ZC(=S)SR]$  varlığında uygulanan radikal polimerizasyondur. Bu metod 1988'de Avusturalya Devlet Bilimsel ve Endüstriyel Araştırma Organizasyonu (CSIRO) tarafından geliştirilmiştir [118]. Eş zamanlı olarak Fransada başka bir grup araştırmacı RAFT ajanı olarak Ksantat kullanarak "Ksantat değişimi ile makromoleküler dizayn (MADIX)" olarak adlandırdıkları benzer mekanizmalı bir proses yayınlamışlardır [119,120].

İlk radikal eşleşmeli-ayrışmalı proses 1970'lerin başında organik kimya alanında gözlemlenmiştir. Ksantat esterini içeren dönüşümlü eklemeli-ayrışmalı kimyasal proses de aslında organik kimyadan bilinmekteydi. Bu proses alkollerin deoksijenasyonunda uygulanan Barton-Mc Combie prosesinin temelini oluşturmaktadır [121-123]. Ayrıca polimerlerde eklemeli-ayrışmalı transfer ajanları ile moleküler ağırlık kontrolü ve uç grup fonksiyonlitesinde direkt kullanımı 1980'lerin ortasını bulmuştur [124].

1988'de Zard ve ark. ksantat ester ve dönüşümlü zincir transferini alkil radikaller için uygun kaynak olarak görmüş ve bu sentesi monomere tekli katılımlarda kullanmışlardır

[125]. RAFT ve MADIX olarak ortaya çıkan iki proses de daha önceden geliştirilmiş olan bu proseslere dayanmaktadır. Polimerizasyon dönüşümlü eklemeli-ayrışmalı zincir transfer prensibine uğramakta bu da yaşayan polimerizasyonun bazı özelliklerini göstermektedir [126].

Tiyokarboniltiyo RAFT ajanının kullanıldığı yaşayan radikal polimerizasyon ilk 1988’de patent yayınında prosesi ile birlikte tanımlanmıştır. RAFT yönteminin popülaritesi 1988’den beri artmaktadır. RAFT buluşu 2003 yılı kimya ve ilgili bilimler dalında en çok alıntı yapılanlar arasında dokuzuncu sırada yer almıştır [127]. Şekil 2.12 RAFT ile ilgili makalelerin yıllara göre dağılımını(2009 Mart’a kadar) göstermektedir. RAFT prosesi alanına olan araştırma ilgisinin halen güçlü bir şekilde sürdüğü açıkça görülmektedir.

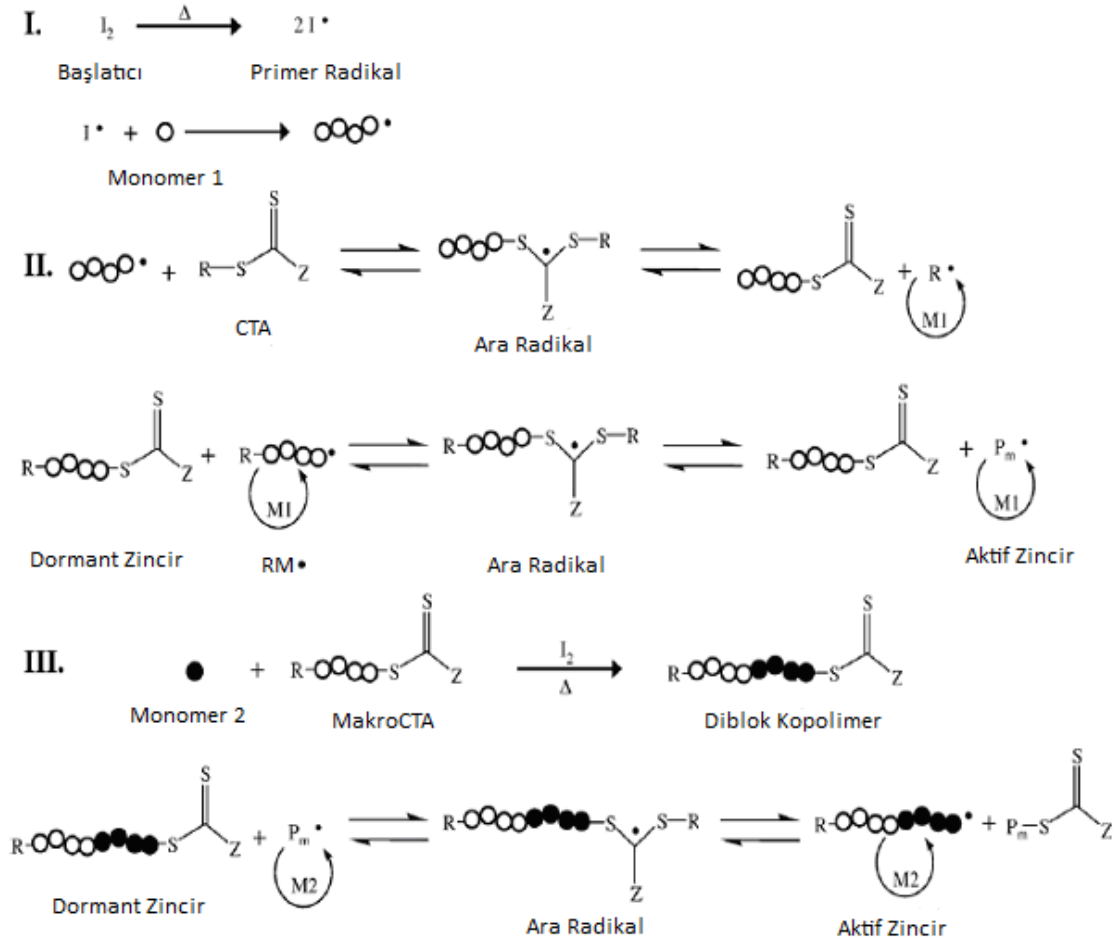


Şekil 2.12 RAFT/MADIX’e dayalı bilimsel yayınların yıllara göre sayıca dağılımı verilmektedir; (27 Mart 2009 tarihine kadar, Scifinder)

### 2.3.3.2 RAFT’ın Mekanizması

RAFT prosesi serbest radikal polimerizasyonun üstüne RAFT ajanı olarak adlandırılan tiyokarbonil tiyo grubu  $[RSC(Z)=S]$  taşıyan bileşiğin reaksiyona katılması ile geliştirilmiştir. Bu RAFT ajanı yüksek oranlarda radikale katılarak prosesin kontrolünde önemli rol oynamaktadır. RAFT polimerizasyon mekanizmasının anahtar özelliği bir dizi ekleme-ayrılma dengesinden oluşmasıdır. Başlama ve radikal-radikal sonlanma

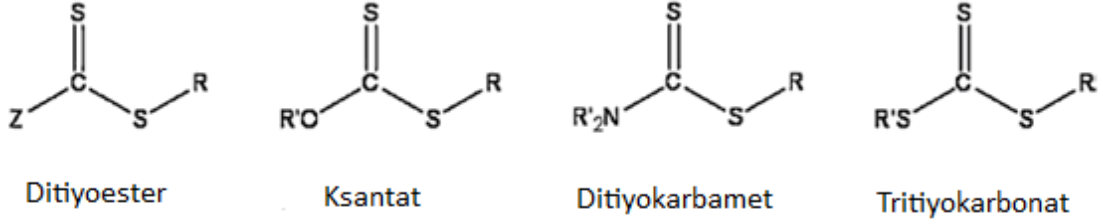
geleneksel radikal polimerizasyondaki gibidir. Termal, foto veya diğer radikal başlatıcılar ile sistemde radikal oluşur oluşmaz, yeni bir monomer birimine eklenmeden çok daha hızlı bir şekilde RAFT ajanına eklenmekte böylece ortamda yarı kararlı radikal ( $P_n^*$ ) oluşmaktadır, bu radikal-radikal sonlanmayı engellemektedir, oluşan bu ürün sonunda yeni bir radikale ( $R^*$ ) ve tiyokarboniltiyo fonksiyonel gruba sahip kısa polimer zincirine  $[P_nS(Z)C=S]$  ayrılmaktadır. Bu türler genel olarak makroRAFT ajanı olarak adlandırılırlar. Sonraki adımlarda da makroRAFT ajanı başka ekleme-ayırılma basamaklarına uğrayarak monomer tükenene kadar polimer büyümektedir (Şekil 2.13). Aktif çoğalan türler ile aktif olmayan polimerik tiyokarbonil tiyo bileşiği arasındaki denge tüm zincirlerin büyümesi için eşit olasılık sağlayarak yakın polidispersiteli polimerler oluşmasına olanak verir.



Şekil 2.13 Homopolimerizasyon (I ve II) ve makroCTA'nın zincir uzatma (III) mekanizmaları için öngörülen RAFT mekanizması

### 2.3.3.3 RAFT Ajanı Seçimi

Literatürde çeşitli RAFT ajanlarının kullanımı bildirilmiştir, bunlar tiyokarbonatlar, ksantatlar, ditiyokarbametler ve diğer bileşikler içermektedir (Şekil 2.14). RAFT ajanının etkinliği monomeri polimerize edebilmesine bağlı ve serbest radikal olarak ayrılan Z ve R gruplarının özelliklerine bağlıdır, bunlar tiyokarbonil çifte bağını aktifleyerek veya deaktifleyerek oluşan radikalin kararlılığını değiştirirler [128-131].

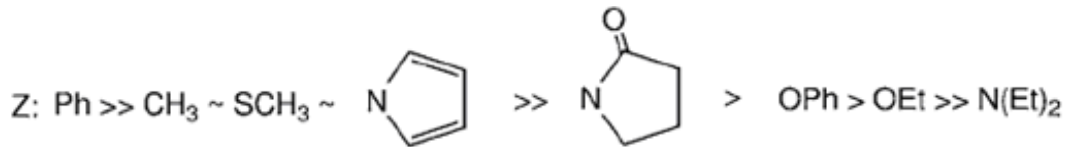


Şekil 2.14 RAFT ajanlarının genel yapısı

Etkili bir RAFT polimerizasyonu için:

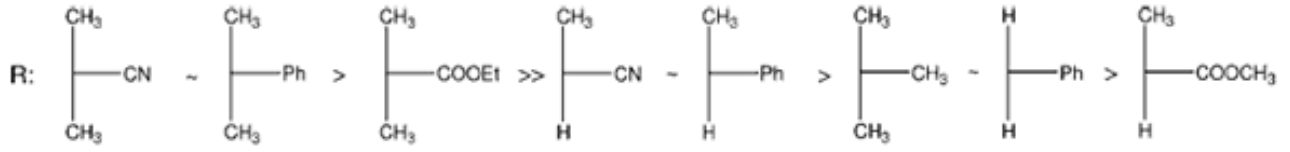
- RAFT ajanları reaktif C=S çifte bağına sahip olmalıdır
- Oluşan radikal hızlıca ayrılmalı ve yan reaksiyon vermemelidir
- Oluşan yarı radikal ürüne doğru ayrılmalıdır
- Reaksiyon sırasında ortaya çıkan radikaller etkili bir şekilde yeniden polimerizasyonu başlatabilmelidirler.

C=S çift bağına radikal katılması substütiye Z grubundan etkilenmektedir. Bu oran Z grubu aril, alkil(ditiyoester) veya S-alkil(tritiyokarbonat) olduğunda yüksek Z=O-alkil(ksantat) veya N,N-dialkil (ditiyokarbamat) olduğunda düşüktür. Genel olarak zincir transferkatsayısı Şekil2.15'de de gösterildiği gibi şu şekilde azalmaktadır; ditiyobenzoat>tritiyokarbonat≈ditiroalkonat>ditiyokarbonat>ditiyokarbomet



Şekil 2.15 RAFT ajanlarının Z grupları için soldan sağa doğru katılma oranı azalır, ayrılma oranı artar.

Ayrılmanın istenilen yönde etkili bir şekilde olması için substitüye R grubu atak yapan radikale göre iyi bir homolitik ayrılan grup olmalıdır.



Şekil 2.16 RAFT'da ayrılma yeteneğine göre R grubunun sıralanması

### 2.3.3.4 RAFT ile Diblok Kopolimer Sentezi

RAFT polimerizasyonu blok kopolimer sentezi için en uygun yöntemlerden biri olarak bilinmektedir. RAFT polimerizasyonu tiyokarbonil tiyo grubunun tutulması ile yürütülmekte ve bu da ikinci tür bir monomerin ilavesi ile AB formunda diblok kopolimerin sentezine olanak sağlamaktadır (Şekil 2.13) [132]. Daha yüksek dereceli blokların (ABA, ABC gb.) eldesi farklı monomerlerin sırasıyla katılımı ile mümkündür. RAFT polimerizasyonunda blok kopolimer yapımında ilk oluşan blok ikinci oluşan bloğa göre iyi bir homolitik ayrılan grup olmalıdır. Örneğin metakrilat-akrilat veya stiren-metakrilat dibloğu sentezinde metakrilat bloğu ilk olarak hazırlanmalıdır [133,134]. Stiren veya akrilatın büyüyen radikalleri metakrilat büyüyen radikale göre çok zayıf ayrılan gruplardır.

### 2.3.4 NMP, ATRP ve RAFT Yöntemlerinin Karşılaştırılması

Günümüzde kontrollü radikal polimerizasyon yöntemleri arasında en etkili olan üç yöntem NMP, ATRP ve RAFT'dır. Her bir yöntemin avantajları olduğu gibi dezavantajları veya kısıtlamaları da bulunmaktadır. Her bir yöntemin avantaj ve kısıtlamaları dört temel özelliğin karşılaştırılması üzerinden gösterilmektedir.

Bunlar;

- Polimerize edilebilir monomer aralıkları
- Tipik reaksiyon şartları (sıcaklık, zaman, kirliliklere olan hassaslık vs.)
- Transfer edilebilir uç grup/atomların yapısı
- Katalizör, hızlandırıcı gibi çeşitli katkıları vs.dir.

Çizelge 2.1 ' de bu üç sistemin özellikleri karşılaştırılmıştır. Bu özelliklere göre, nitroksid ortamlı sistemlerin (NMRP) en önemli avantajı sistemde herhangi bir metalin kullanılmaması ve herhangi bir katalizör kullanımını gerektirmemesidir. Ancak reaksiyon diğer sistemlere göre daha yüksek reaksiyon sıcaklıklarında gerçekleşmektedir. Ayrıca kararlı bir serbest nitroksid radikali olan TEMPO nispeten küçük denge sabitinden dolayı stiren ve kopolimerlere başarılı bir şekilde uygulanabilmesine rağmen akrilat ve metakrilat için kullanıldığında doymamış oligomer/polimerler veya zayıf kontrollü polimerler üretmektedir. Bu sebeple bu tür monomerler için farklı nitroksid radikalleri geliştirilmektedir. RAFT polimerizasyon tekniğinin diğer yöntemlere göre en önemli avantajı radikal olarak polimerleştirilebilen tüm monomerler için potansiyel olarak kullanılabilmesidir. RAFT sistemi ile çok daha az reaktif monomerlerin polimerizasyonu ve yüksek molekül ağırlıklı polimerlerin hazırlanması mümkün olmaktadır. Katalizör dejenaratif transfer için gerekmemektedir. Katalizörün rolü radikal başlatıcı tarafından oynanmaktadır. Bu aynı zamanda şu anlama gelmektedir: başlatıcılar bazı arzu edilmeyen uç grupları içermektedir ve sonlanma miktarı parçalanmış başlatıcıların miktarı ile kontrol edilmektedir. Dejenaratif transferin potansiyel dezavantajı her zaman sonlanma için düşük molekül ağırlıklı bir radikalin bulunmasıdır. Buna karşılık, ATRP ve NMRP sistemlerinde yeterli dönüşümlerde sadece uzun zincirler bulunmakta ve bu yüzden daha yavaş bir şekilde sonlanmaktadır. Sülfür içeren bileşiklerin bazı sınırlamalarından dolayı yeni etkin transfer edilebilir gruplar için araştırmalar devam etmektedir [135]. ATRP yöntemi ise, geniş bir monomer ve sıcaklık aralığı için başarılı bir şekilde uygulanmaktadır. ATRP, uç grupların maliyeti ve daha kolay katalizör uzaklaştırılması nedeniyle düşük molekül kütle fonksiyonlu polimerlerin üretimi için özellikle uygun olmaktadır. Aynı zamanda zor blok kopolimerlerin ve uç fonksiyonelliğe sahip hibritlerin sentezi için de çok yararlıdır. Ancak reaksiyon için katalizörün bulunması gerekmektedir ve bu katalizör, reaksiyon ortamına girebilmelidir. ATRP sisteminin dezavantajı ise, reaksiyon sisteminde kullanılan bu katalizörün geri dönüşümünü ya da uzaklaştırılmasını gerektirmesidir [136].

Her bir sistemin kendi içinde avantaj ve dezavantajlara sahip olduğu açıkça görülmektedir. ATRP özel fonksiyonel gruplara sahip düşük molar kütleli polimerler ve

diğer yöntemlerle sentezlenemeyen bazı blok polimerlerin sentezi için uygundur. NMP metallarin ve kükürt gibi bazı elementlerin olmadığı durumlar için en ideal olandır. RAFT ise yüksek molekül ağırlıklı polimerler ve az reaktif monomerler için en uygun sistemdir.

Çizelge 2.1 NMP, RAFT ve ATRP sistemlerinin karşılaştırılması

Özellik	Sistem		
	NMP	ATRP	RAFT
Monomer	*TEMPO için stiren *Yeni nitroksidler için akrilatlar& akrilamidler *NO metaakrilatlar	*Aktif çift bağ içeren hemen hemen bütün monomerler *NO vinil asetat	*Hemen hemen bütün monomerler
Şartlar	*Yüksek sıcaklık (TEMPO için >120 °C) *Su bazlı sistemlerle çalışılabilir *Oksijene duyarlı	*Geniş sıcaklık aralığı *Oksijene ve M <sub>t</sub> li inhibitörlere tolerans	*Daha az reaktif monomerler için yüksek sıcaklıklar *Su bazlı sistemlerle çalışılabilir *Oksijene duyarlı
Uç gruplar	*Alkoksiaminler * Dönüşüm için radikal kimyası gerekir *Termal olarak kararsız * pahalı	*alkil (pseudo) tuzları *Ucuz & bulunabilir *Termal ve foto olarak kararlı *çapraz çoğalma için halojen değişimi	*Ditiyoesterler, iyodidler, metaakrilatlar *Pahalı *Termal olarak ve foto olarak daha az kararlı *Koku/renk
katkılar	*Yok *NMP açil bileşikleriyle hızlandırılabilir	*Geçiş metal katalizörü *Uzaklaştırılmalı veya geri dönüşüm yapılmalı	*Klasik radikal başlatıcıları *Uç fonksiyonalitesini azaltabilir *Çok fazla yeni zincir üretebilir

## 2.4 Amfifilik Blok Kopolimerler

Amfifilik kopolimerler farmasötik uygulamalarla, sürekli salım teknolojilerinden gen taşınmasına kadar yaygınca kullanılmaktadır. Terapötik ajanların taşınmasında özgün kimyasal yapılarından dolayı amfifilk blok kopolimerlerden yararlanılmaktadır. Amfifilk blok kopolimerler hidrofobik bir bloğa bağlı hidrofilik bir bloktan oluşmaktadır. Sulu çözeltilerde kritik misel konsantrasyonunda veya üzeri değerlerde kopolimerin özelliklerinden dolayı nanoboyutta çekirdek/kabuk yapısında polimerik miseller oluşur.

Miselizasyonda hidrofobik çekirdek alanı hidrofobik ilaçlar için koruyucu hazne olarak davranır, bu ilaçlar kimyasal, fiziksel veya elektrostatik olarak yüklenebilir; bu çekirdek kısmı oluşturan bloğun fonksiyonalitesine ve çözünene bağlıdır. Her bir amfifilik blok kopolimer ilaç dağıtımına göre uzun sirkülasyon süresi, hedeflenen kısmı tanıma ve ilaç salım profilinde modifikasyonlar gibi belirli avantajlara sahiptir.

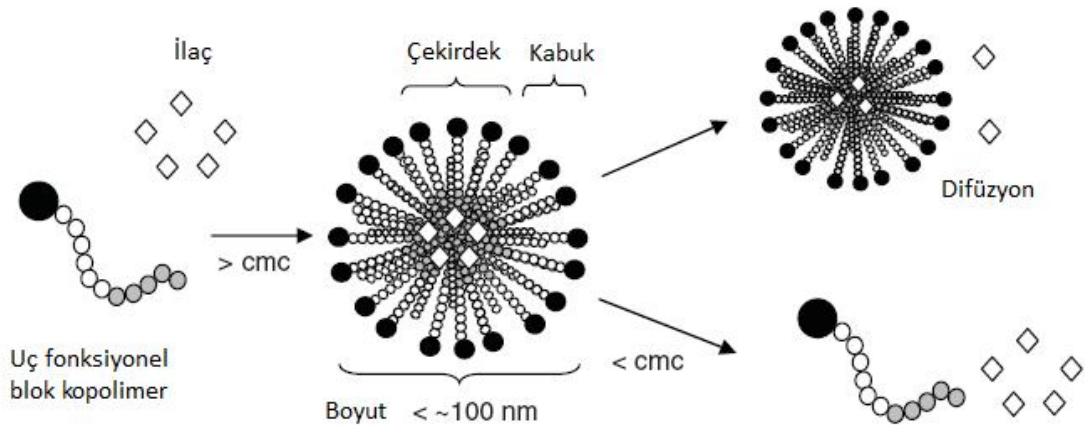
Önemli terapötik ajanların çoğu suda zayıf çözünürlük gösterirlerki bu ajanların taşınmasında oldukça zordur. Etkili taşıma sistemlerinin gelişimi ilaçların başarısı için oldukça önemlidir. Standart formülasyon tekniklerine ek olarak polimerik miseller çözünürlüştürme, stabilizasyon ve zorlu ajanların taşınmasında kullanılabilirler.

Amfifilik blok kopolimerlere dayalı misellerin fonksiyonel özellikleri hidrofobik ilaçların dağıtımını ve enkapsülasyon için bu miselleri ideal kılmaktadır. Amfifilik blok kopolimerlerin en az iki farklı kimyasal yapıya sahip alanları bulunmaktadır ve bu kimyasal yapı bir bloğun seçici olarak çözündüğü çözücüde zincir etkileşiminin sonucu olarak faz ayırımına uğmaktadırlar. Bu proses nanoboyutta supramoleküler çekirdek/kabuk yapılarının oluşumuyla sonuçlanmaktadır. Amfifilik blok kopolimerlerin misel olarak toplanması hidrofilik ve hidrofobik bloklar ile çevreleyen ortam arasındaki ilişkilerle açıklanabilmektedir. Misel oluşturma prosesi esnasında hidrofilik kısım çekirdek ve dış su fazı arasındaki kısmı oluştururken hidrofobik blok çekirdek alanı oluşturmaktadır. Bu yüzden hidrofobik çekirdek su fazı ve hidrofilik kabuk arasında arayüzey gibi davranan hidrofilik kabuk tarafından sabitleştirilir. Polimerik misellerin sağladığı bu özgün yapı suda çözünürlüğü zayıf olan bileşikler için nano boyutta depo veya stabilizatör vazifesi görmektedir. Polimerik misellerin ilaç taşıyıcı olarak kullanılması yoğun ilgi görmektedir [136-138].



Amfifilik polimerlerin kendinden toplanması miseller, polimerzomlar, silindir gibi agregatların oluşumunu sağlamaktadır. Agregatın tipini genelde polimerin molekül kütlesi ile bloklar arasındaki oran ve çevresel koşullar (sıcaklık, iyonik şiddet, pH değeri) belirlemektedir [139-143]. Adı geçen bu yapıların yanında amfifilik kopolimerler tarak ve yıldız şeklinde de olabilirler. Tüm bu yapılar içinde miseller en yaygın olarak çalışılanlardır.

Bu yapıların küçük boyutları uzun sirkülasyon ömürlü taşıyıcılar olmalarını sağlamaktadır. Diğer bir özellikleri ise blok kopolimerlerin uç gruplarından dolayı yüksek yüzey fonksiyonlitesine sahip olmalarıdır. Amfifilik blok kopolimerlerden oluşan misellerin avantajları düşük molekül ağırlıklı sürfaktanların aksine kritik misel konsantrasyonu (cmc) olarak ifade edilen artan stabilitelileridir(Şekil 2.17).



Şekil 2.17 Uç fonksiyonel polimerler ile misel oluşumu

Polimerin yapısı ve oluşan agregat arasındaki hassas ilişki, blok uzunluğu ve moleküler kütle dağılımı açısından iyi tanımlanmış polimer yapılarını gerektirmektedir. RAFT polimerizasyonu önceden molekül ağırlığı tahmin edilebilen amfifilik yapıların sağlanmasında ideal bir tekniktir. İlk blok monomerin RAFT ajanı varlığında polimerizasyonu ile oluşmaktadır. Sonraki adımda bu polimer ikinci bloğu oluşturacak olan diğer monomer ile birlikte çözünmekte ve polimerizasyon yeniden başlatılmaktadır. İkinci adım ek RAFT ajanı gerektirmez, birinci adımda hazırlanan polimer RAFT ajanı gibi davranır bu yüzden makro-RAFT ajanı olarak adlandırılmaktadır.

### 2.4.1 Miselin kabuk kısmını oluşturan hidrofilik polimerler

PEG birçok özelliğinden dolayı ilaç salımında altın standart olarak değerlendirilmektedir. PEG direkt polimerizasyon ile hazırlanamamakta, RAFT ajanları ile modifiye edilerek kullanılmaktadır. Bütil akrilatlar [144], 1,1,2,2-tetrahidroflorodesil akrilatlar [144], N,N-dimetil akrilamid [145], N-akrilosüksinimid [145] gibi farklı monomerlerin eklenmesi ile polimerize edilmiştir. Makro-RAFT ajanlarının kullanımı ile blok kopolimerler tek polimerizasyon sonrasında oluşturulmuşlardır. Bu yaklaşım PEG kaplı misellerin hazırlanmasında başarıyla uygulanmıştır [146,147]. Alternatif olarak vinil fonksiyonel PEG (PEG-akrilat PEGA), PEG metakrilat (PEGMA), metil eter PEG-MEMA veya PEGMEA olarak uygulanabilmektedir.

Poli(N-(2-hidroksipropil) metakrilamid) PHPMA ,PEG'e benzer olarak immünojenik olmayan ve uzun sirkülasyon özelliklerinden dolayı alternatif bir polimerdir [148]. Kontrollü olarak RAFT ile polimerize edilebilmektedir [149]. HPMa ve N-(3-(dimetilamino)propil) metakrilamid'in blok kopolimerinden siRNA için ilaç taşıyıcı sistemler olarak PHPMA kaplı miseller oluşturulmuştur [150]. Bunun yanında HPMa ve tiyol reaktif bloklar içeren iyi tanımlanmış amfifilik blok kopolimerler doxorubicin taşınmasında misel olarak kullanılmışlardır [151].

### Miseller Sistemlerin Avantajları ve Dezavantajları

İlaç taşıyıcıları olarak polimerik miseller oldukça önemli avantajlara sahiptirler:

Sulu ortamda çözünürlüğü iyi olmayan ilaçların çözünürlüğünü ve buna bağlı olarak da ilaçların biyoyararlanımını artırır. İlacın toksisitesini / istenmeyen diğer yan etkilerini azaltır veya yok eder. Miseller formda olma ilacı (öncelikle çözünürlüğü iyi olmayan ilacı) biyolojik çevrenin etkisi altındaki inaktivasyon olasılığından iyi bir şekilde korur. PEG gibi hidrofilik bir blok varlığından dolayı yeteri kadar uzun süre vücutta (kanda) kalabilirler. Boyutlarının küçük olması nedeniyle sızıntılı damarlanma olan vücut bölgelerinde birikebilirler. Dış yüzeye (kabuğa) spesifik bir ligand eklenmesi ile hedeflendirilebilirler. Büyük miktarlarda kolayca ve tekrarlanabilir bir şekilde hazırlanabilirler .

## 2.5 Mikrodalga Enerjisi ile Isıtma Prensibi

Mikrodalga terimi ile elektromanyetik spektrumun 300 megahertz (MHz)'den 300 Ghz'e kadar uzanan bölümü anlaşılır. Mikrodalga frekansları üç ayrı bölgeye ayrılmaktadır. Bu bölgeler sırasıyla düşük frekans (300 MHz-3 GHz), orta frekans, (3 GHz-30 GHz) ve yüksek frekanstır (30 GHz- 300 GHz).

Mikrodalga ile ısıtma olayı termal iletme dayanmaz. Mikrodalga enerjisi, termal iletisi olmayan maddeler için uygun bir yöntemdir. Mikrodalga alanına konulan ve mikrodalgayı absorbe eden madde, bu enerjiyi kendi içinde ısı enerjisine çevirir. Klasik yiyecek pişirme yöntemine göre en önemli üstünlüğü ısının fırının içinde değil, yiyeceğin içinde oluşması ve yiyeceğin pişmesi için çok kısa bir sürenin gerekmesidir.

Mikrodalgalar, iletişim alanında yoğun bir uygulamaya sahiptir, bununla beraber endüstriyel, bilimsel, tıbbi ve aletsel (ISMI: Industrial, Scientific, Medical and Instrumentations) uygulamalar için belirli frekanslara müsaade edilmektedir. Mikrodalga (MW) enerjisi uygulaması organik bileşiklerin sentezinde ilk defa 1986 kullanılmıştır.

Mallakpour ve arkadaşları poli(amid-imid) polikondenzasyon reaksiyonunu mikrodalga etkisiyle gerçekleştirmişlerdir. Mikrodalga iyonik olmayan elektromanyetik bir enerjidir ve direkt olarak ısıtılacak bölgeye nüfuz eder. Bir maddenin mikrodalga ile ısıtım altında ısınma karakteristiği dielektrik özelliklerine bağlıdır. Kullanılan çözücülerin yüksek dielektrik sabitine sahip olması gereklidir. Dielektrik sabiti ise moleküllerin elektrik alanında polarize olabilme yeteneğini gösterir. Mikrodalga aktivasyonu konveksiyonel olmayan bir enerji kaynağıdır ve bu yüzden organik reaksiyonlarda hızlı ve etkili bir ısınma sağlamaktadır. Neredeyse her çeşit organik reaksiyonlarda mikrodalga flaş ısıtma ile yüksek bir verim sağlanmıştır. Polimerik materyallerin ve monomerlerin sentezi için mikrodalga ısıtmasının seçiciliği göz önüne alınmalıdır.

Mikrodalga ile ısıtmanın avantajlarını kısaca şu şekilde sıralanabilir:

- Reaksiyon süresini kısaltır.
- Yan reaksiyon ve ara ürün oluşumunu azaltır.
- Verimi yükseltir ve tekrarlanabilirliği sağlar.
- Hızlı ve homojen bir ısıtma sağlar ve bozunmayı azaltır [152].

### MATERYAL ve METOD

#### 3.1 Deneysel Kısımda Kullanılan Malzeme ve Ekipmanlar

##### 3.1.1 Kullanılan Kimyasallar

Sodyum karbonat (%99,5, Sigma-Aldrich), Amino-2-propanol (%93, Aldrich), Diklorometan (>99,5, Sigma-Aldrich), Sodyum sülfat susuz (%99, Carlo Erba), Metakrilol klorid (>%97, Fluka), Aseton (>99, Riedel-de-Haën), Methanol (%99,7, Fluka), 2,2-azobis(isobutilonitril) (AIBN), 2-Metil-2[(dodesilsülfaniltiokarbonil)sülfanil]propanoik asid (%97, Strem chemicals) 4-Siyano-4(tiyobenzoiltiyo)pentanoik asid (%97, Strem chemicals), 4-Vinil piridin (%95, Aldrich), Dietileter(%99,5, Sigma-Aldrich), Dimetilformamid (DMF, %99,8, Carlo Erba), Metil 6-bromo hekzonoat (%96, Acros Organics), Monobazik sodyum fosfat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , %98-100,5 Riedel-de Haën), Dibazik sodyum fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , >%99, Fluka), sodyumklorür (% 99,5, Carlo Erba, sodyum azid (Applichem).

##### 3.1.2. Kullanılan Cihazlar

Hassas Terazı (Ohaus EP214C)

Kontak Termometre (HEIDOLPH,EKT Hei-Con)

Isıtıcılı Manyetik Karıştırıcı (Heidolph MR 3001)

Soğutmalı Santrifüj (SIGMA, 2-16PK)

Mikrodalga Sentez Cihazı (Milestone Microsynth)

pH Metre (WTW, 315i)

Jel Geçirgenlik Kromatografisi (Gel Permeation Chromatography-GPC) (Viscotek TDA 302)

Fourier Transform Infrared Spektrofotometresi(FT-IR) (Perkin-Elmer Spectrum One)

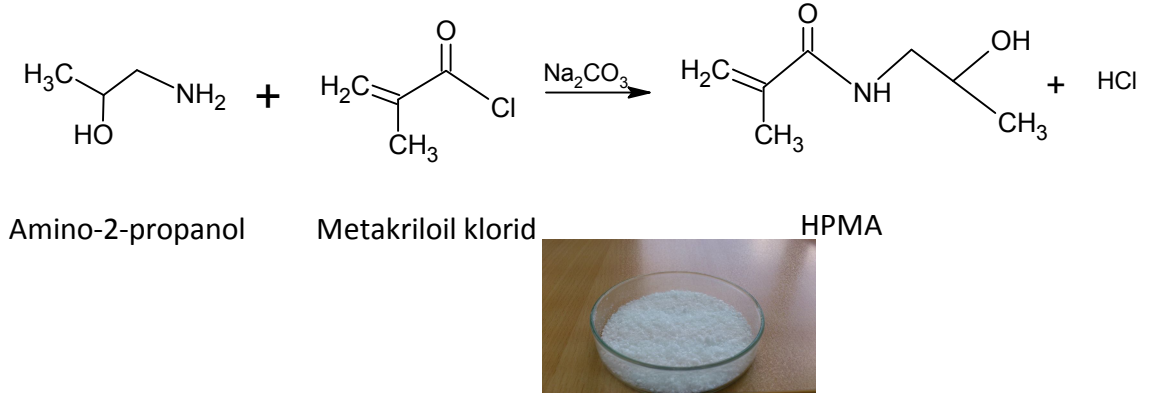
Nükleer Manyetik Rezonans (<sup>1</sup>H-NMR) Spektroskopisi (Bruker)

Zetasizer Nano ZS (Malvern)

UV-VIS Spektrofotometre (Jasco V-530)

### **3.2 N-[2-Hidroksi Propil Metakrilamid] (HPMA) Monomerinin Sentezi**

HPMA sentezi literatürde yer alan Kopeček ve ark.'nın çalışmalarına göre yapılmıştır [180]. Buna göre, 36 g susuz sodyum karbonat (0,34 mol) ve 24,90 ml amino-2-propanol (0,30 mol) cam reaksiyon balonunda 85ml diklorometan içerisinde karıştırılmıştır. Karışımın sıcaklığı buz banyosu ile 0°C'ye getirilmiştir. Temiz bir erlende 29,2 ml metakriloil klorür (0,29 mol) 40ml diklorometan içerisinde çeker ocak altında karıştırılmıştır. Bu karışım daha önce hazırlanıp 0°C'ye getirilen kısma şiddetli bir biçimde karıştırma altında, damla damla yaklaşık 1 saat boyunca eklenmiştir. Ekleme bittikten sonra 15°C de yarım saat karıştırılmış ve 10 g susuz sodyum sülfat karışıma eklenerek bir müddet daha karıştırılmaya devam edilmiştir. Katı kısım kaba süzgeç kağıdı ile süzülerek ayrıldıktan sonra süzütünün hacmi yarıya ininceye kadar vakum altında buharlaştırılmıştır. HPMA çözücü olan diklorometandan -20°C de kristallendirilerek elde edilmiş ve asetondan rekristalizasyonla saflaştırılmıştır. Elde edilen HPMA'nın erime noktası tayin edilmiştir( E.N:67°C , verim %55). Şekil 3.1 HPMA oluşum reaksiyonunu göstermektedir. HPMA beyaz toz kristal şeklindedir.

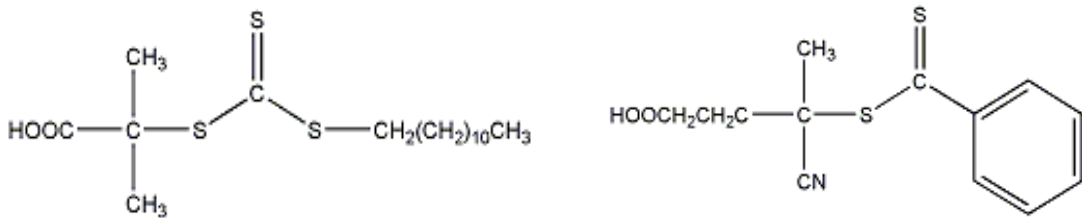


Şekil 3.1 HPMA sentezi ve elde edilen monomerin görüntüsü

### 3.3 Poli(HPMA) Homopolimerinin Sentezi

HPMA monomeri sentezlendikten sonra RAFT yöntemi ile homopolimerizasyon için önce literatürden uygun olabileceği düşünülen RAFT ajanları seçilmiş ve iki ayrı RAFT ajanı ile denemeler yapılmıştır. Monomer/RAFT ajanı ( $[M]_0/[CTA]_0$ ) ve RAFT ajanı/başlatıcı ( $[CTA]_0/[I]_0$ ) konsantrasyonları değiştirilerek yapılan taramalar ile çalışan oranlar saptanmıştır. CTA ajanı olarak 2-Metil-2[(dodesil sülfaniltiokarbonil) sülfanil] propanoik asid ve 4-Siyano-4(tiyobenzoiltiyo) pentanoik asid kullanılmıştır. CTA ajanlarının molekül şekilleri Şekil 3. 2’de görülmektedir.

Polimerizasyon, metanol ortamında, radikal başlatıcı olarak AIBN kullanılarak, 70°C’de CTA ajanı ile gerçekleştirilmiştir. Polimerizasyon işleminden önce örnekler septum kapakla kapalı ortamda 30 dk azot gazına tabi tutulmuştur. Monomer/CTA başlangıç oranı farklı dört ayrı oran denenmiştir ( $[M]_0/[CTA]_0 = 200:1, 400:1, 600:1, 800:1$ ). Her bir sistem için başlatıcı ve CTA oranı da üç farklı oranda incelenmiştir ( $[CTA]_0/[I]_0 = 3:1, 5:1, 10:1$ ).

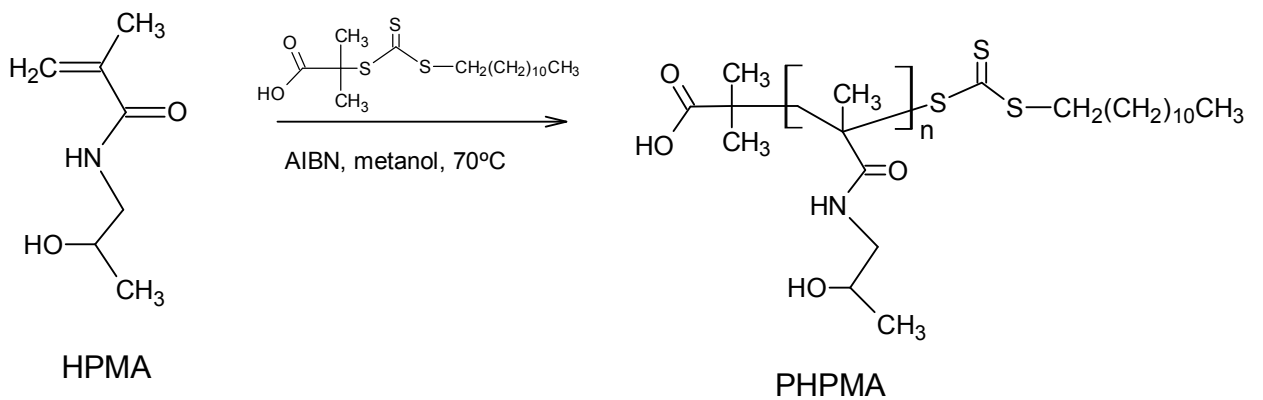


Şekil 3. 2 Sırasıyla 2-Metil-2[(dodesilsülfaniltiokarbonil)sülfanil]propanoik asid ve 4-Siyano-4(tiyobenzoiltiyo)pentanoik asid

### 3.3.1 CTA ajanı 2-Metil-2[[dodesilsülfaniltiokarbonil)sülfanil]propanoik asid ile poli(HPMA) Sentezi

Başlangıç oranları ( $[M]_0/[CTA]_0 = 400:1$  ve ( $[CTA]_0/[I]_0 = 3:1$  olan poli(HPMA) makro CTA ajanı sentezlemek için örnek miktar hesapları EK A'da verilmiştir. Elimizdeki CTA ajanı az olduğunda her bir reaksiyon ortamına 10mg CTA ajanı koyulacak şekilde miktarlar CTA ajanı baz alınarak hesaplanmıştır. Burada kullanılan ajana CTA1 kodu verilmiştir.

HPMA (1.55 g, 10.8 mmol), CTA1 ajanı (2-Metil 2[[dodesilsülfaniltiokarbonil) sülfanil] propanoik asid) (10 mg, 0.027 mmol) ve AIBN (1.47 mg, 0,009 mmol) septa kapakla kapalı cam kapta 10 ml metanol içinde çözünmüştür. Septa kapakla kapalı tüpte yarım saat azot gazına tutulduktan sonra daha önceden 70°C'ye getirilmiş yağ banyosunda reaksiyona koyulmuştur. Şekil 3.3 polimerizasyon reaksiyonunu göstermektedir. Saat başı örnek alınarak dietileterle çöktürülmüş ve 4°C'de santrifüjlenmiştir. Örnekler kuruduktan sonra metanol ile tekrar çözünüp eterle çöktürülerek kalan safsızlıklardan arındırılmıştır. Bu işlemler her bir oran için uygulanmıştır. Örneklerin dönüşümleri gravimetrik olarak hesaplanmış ve reaksiyon kinetiği incelenmiştir. Moleküler ağırlığı ve dağılımı GPC ile saptanmıştır. GPC analizleri su fazlı Tosoh TSK Gel G3000PWXL (30cmx7,8mm) kolon kullanılarak 25°C'de 0,8ml/dk'lık akış hızında PBS çözeltisi kullanılarak yapılmıştır.

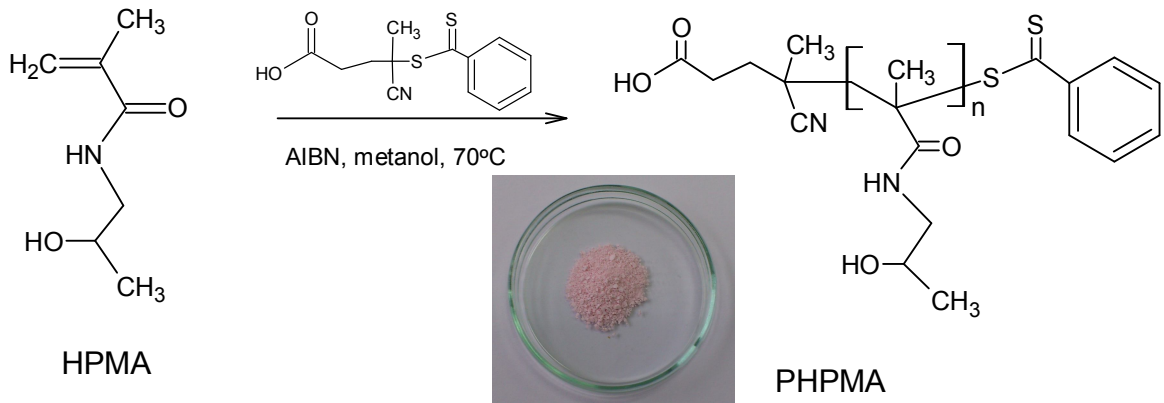


Şekil 3. 3 CTA1 ile sentezlenen Poli(HPMA) makro CTA homopolimerinin reaksiyonu

### 3.3.2. CTA ajanı 4-Siyano-4(tiyobenzoiltiyo)pentanoik asid ile poli(HPMA) Sentezi

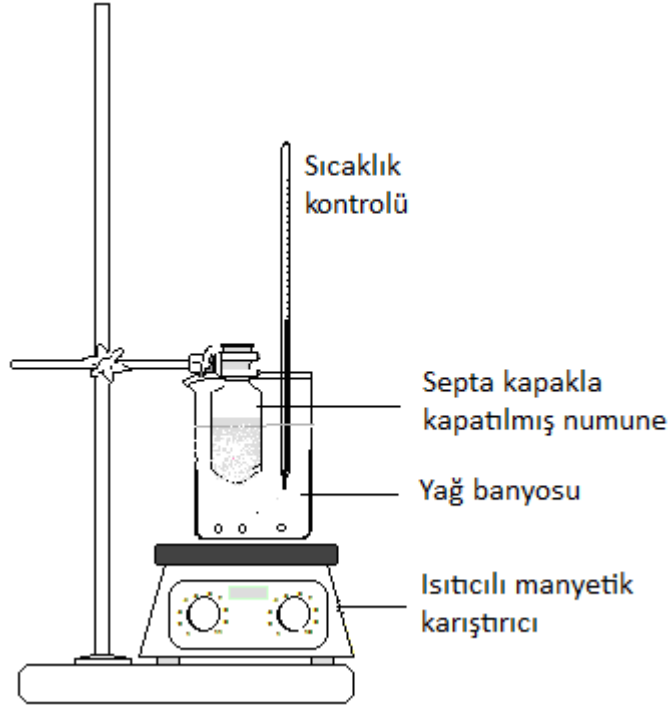
Başlangıç oranları ( $[M]_0/[CTA]_0 = 800:1$  ve  $[CTA]_0/[I]_0 = 3:1$  olan poli(HPMA) makro CTA ajanı için örnek hesaplama EK A'da verilmiştir. Miktarlar yine CTA ajanı baz alınarak yapılmıştır. Bu kısımda kullanılan CTA ajanına da CTA2 kodu verilip tezin ileriki bölümlerinde de bu şekilde kullanılmıştır.

HPMA (4,099 g, 28,63 mmol), CTA2 ajanı(4-Siyano-4(tiyobenzoiltiyo)pentanoik asid) (10mg, 0.0358mmol) ve AIBN (1,96 mg, 0,0012 mmol) septa kapakla kapalı cam kapta 10 ml metanol içinde çözülmüştür. Kabin ağzı kapalı bir şekilde yarım saat azot gazına tutulduktan sonra 70°C'ye ayarlanmış yağ banyosunda reaksiyona koyulmuştur. Şekil 3.4 polimerizasyon reaksiyonunu, Şekil 3.5 ise örnek bir reaksiyon düzeneğini göstermektedir. Saat başı örnek alınarak dietileterle çöktürülmüş ve 4°C'de santrifüj edilmiştir. Örnekler kuruduktan sonra metanol ile tekrar çözünüp dietileter ile çöktürülmüştür. Bu işlemler her bir oran için uygulanmıştır. Örneklerin dönüşümleri gravimetrik olarak hesaplanmış ve reaksiyon kinetiği incelenmiştir. Moleküler ağırlığı ve dağılımı GPC ile saptanmıştır. GPC analizleri Tosoh TSK Gel G3000PWXL (30cmx7,8mm) kolon kullanılarak 25°C'de 0,8 ml/dk'lık akış hızında PBS çözeltisi kullanılarak yapılmıştır.



Şekil 3. 4 CTA2 ile sentezlenen Poli(HPMA) makro CTA homopolimerinin oluşum reaksiyonu ve elde edilen polimerin görüntüsü

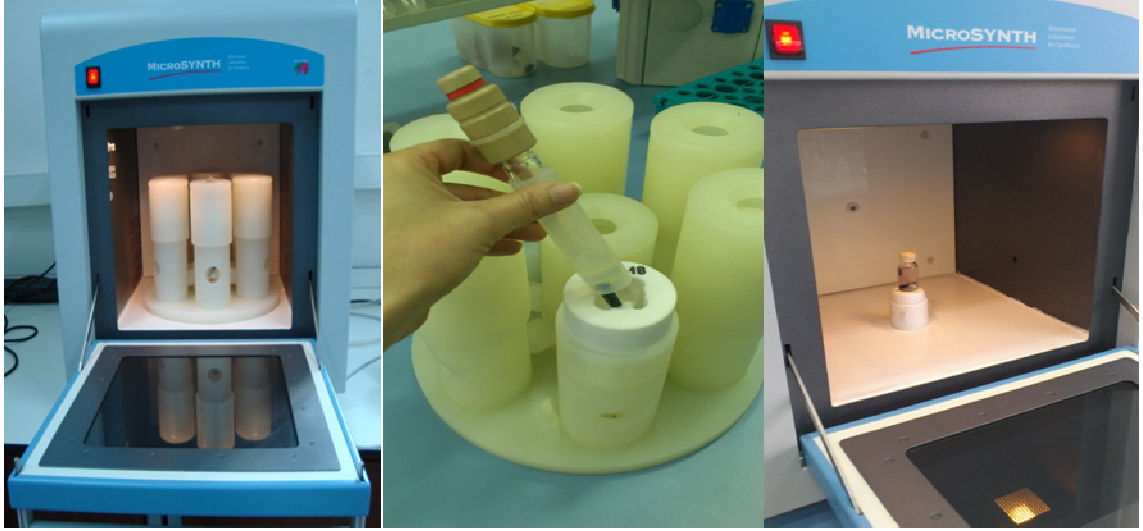




Şekil 3. 5 CTA2 ile sentezlenen makro CTA HPMA homopolimerinin reaksiyon düzeneği

### 3.4 Poli(HPMA) sentezinde mikrodalga ile ısıtma etkisinin incelenmesi

Çalışmanın bu bölümünde, mikrodalga ile ısıtmanın reaksiyon süresine, dönüşüme ve oluşan ürünün molekül ağırlığına etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. CTA2 ajanı ile denenen oranlardan kontrollü polimerizasyonun sağlandığı Monomer/CTA oranı 400/1 ve 800/1 ile CTA/başlatıcı oranı 3/1 olan oranların mikrodalga yöntemi sentezi gerçekleştirilmiştir. Numuneler geleneksel yöntem ile aynı şekilde hazırlanmıştır (Örnek hesaplama EK A'da verilmiştir).



Şekil 3. 6 Mikrodalga sentez ünitesi

HPMA (2,05 g, 14,32 mmol), CTA2 ajanı (4-Siyano-4(tiyobenzoiltiyo)pentanoik asid) (10mg, 0.0358mmol) ve AIBN (1,96mg, 0,0012 mmol) kapalı cam reaksiyon kabında 5 ml metanol içinde çözülmüştür. Kabın ağzı kapalı bir şekilde yarım saat azot gazı altında kaldıktan sonra 70°C'de 300 Watt güce ayarlanmış mikrodalga enerjisi ile, belirli dakikalarda örnek alınarak yarım saat mikrodalga sentez ünitesinde tutulmuştur. Alınan örnekler hemen dietileterle çöktürülmüş ve santrifüj edilmiştir. Örnekler kuruduktan sonra metanol ile tekrar çözünüp dietileter ile çöktürülmüştür. Bu işlemler her bir oran için uygulanmıştır. Örneklerin gravimetrik yöntemle dönüşümleri saptanmış ve reaksiyon kinetiği incelenmiştir ve GPC analizleri 0,8 ml/dk'lık akış hızı altında PBS çözeltisi ile 25°C'de yapılmıştır.

Diğer taraftan, mikrodalga sentez cihazında çözücü olarak metanol kullanılarak sentezlenen Monomer/CTA oranı 800/1 ile CTA/başlatıcı oranı 3/1 olan deneme, çözücü etkisini incelemek ve mikrodalgada metanolün buharlaşmasından kaynaklanan sorunlardan kaçınmak için çözücü olarak dimetilformamid (DMF) kullanılarak aynı şekilde sentezlenmiştir.

HPMA (4,099 g, 28,63 mmol), CTA2 ajanı (4-Siyano-4(tiyobenzoiltiyo)pentanoik asid) (10 mg, 0.0358 mmol) ve AIBN (1,96 mg, 0,0012 mmol) septa kapakla kapalı cam kaptaki 10ml DMF içinde çözülmüştür. Kabın ağzı kapalı bir şekilde yarım saat azot gazına tutulduktan sonra 70°C'de 300 Watt güce ayarlanmış mikrodalga enerjisine maruz bırakılmıştır. Beş dakikalık aralıklarla örnek alınarak yarım saat mikrodalga sentez

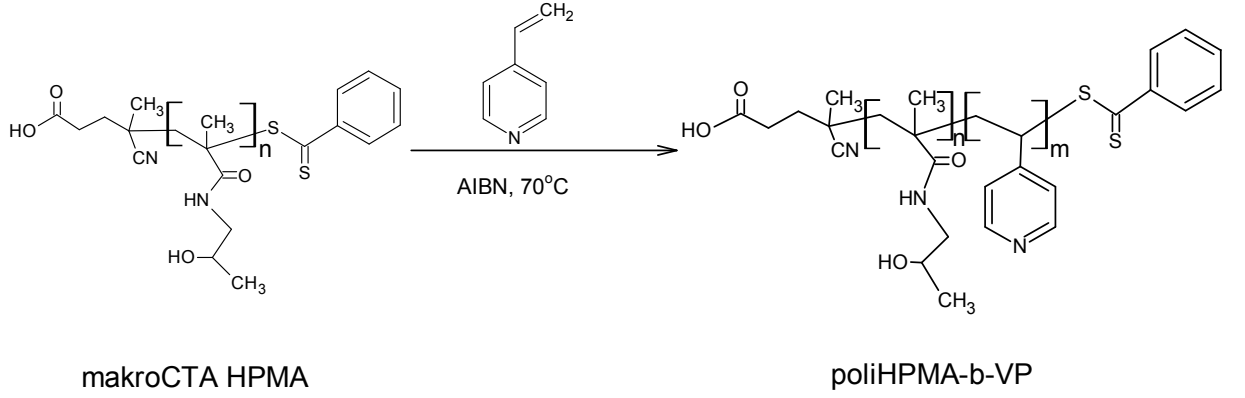
ünitesinde tutulmuştur. Örnekler alındıkları zaman dietileterle çöktürülmüş ve 4°C'de santrifüj edilmiştir. Örnekler kuruduktan sonra DMF ile tekrar çözünüp dietileter ile çöktürülmüştür. Örneklerin gravimetrik yöntemle dönüşümleri saptanmış ve reaksiyon kinetiği incelenmiştir. GPC analizleri 0,8ml/dk'lık akış hızı altında PBS çözeltisi ile 25°C'de Tosoh TSK Gel G3000PWXL (30cmx7,8mm) kolon ile yapılmıştır.

### **3.5 HPMA MakroCTA ajanı ile Poli(HPMA-b-VP) Kopolimerinin Sentezi**

Bir önceki bölümde farklı CTA ajanları kullanılarak sentezlenen homopolimer makroCTA'ların kontrollü olarak polimerize olup olmadıkları GPC ile analiz edilmiş, süre ile doğru orantılı olarak artan molekül ağırlığının elde edildiği CTA tipi ve oranlar değerlendirilmiştir. Buna göre, blok kopolimerizasyon için, CTA2 ile yapılan, monomer/CTA oranı 800/1, CTA/başlatıcı oranı 3/1 olan makroHPMA homopolimerinin, ~20000 molekül ağırlığına ulaşılan 4.saati uygun görülmüştür. Bu numuneden çok miktarda sentezlenmiş ve blok kopolimer basamağına geçilmiştir.

Blok kopolimer için monomer/CTA oranı 200/1 ve CTA/başlatıcı oranı 3/1 ve 5/1 olan reaksiyon denemeleri yapılmıştır (Bunlar için örnek hesaplama EK A'da verilmiştir). Bu reaksiyonda CTA ajanı olarak homopolimer halde olan ve ucuna CTA2 ajanı takılmış olan makroCTA pHPMA (Mw~20000) kullanılmıştır.

MakroCTA ajanı (400 mg, 0,0187 mmol), 4-vinil piridin (3,7 mmol, 393,73 mg) cam reaksiyon kabında metanol içerisinde çözünmüştür. Daha sonra AIBN (0,00624 mmol, 1,025 mg) eklenerek iyice karıştırılmış ve septa kapakla kapalı halde yarım saat azot gazından geçirilmiştir. Daha önceden 70°C ye getirilerek ayarlanmış olan yağ banyosunda reaksiyona koyulmuştur. Reaksiyon boyunca 2.,4. ve 6. saatlerde enjektör ile örnek alınarak dietileter ile çöktürülmüş ve santrifüj edilmiştir. Reaksiyon Şekil 6'da görülmektedir. Örnekler kuruduktan sonra metanol ile çözünmüş ve tekrar dietileter ile çöktürülmüştür. Örneklerin gravimetrik yöntemle dönüşümleri saptanmış ve reaksiyon kinetiği incelenmiştir. GPC analizleri Phenomenex Phenogel 5µ-10 (300cmx4,6mm) kolonda 0,2ml/dk'lık akış hızı altında DMF çözeltisi ile 50°C'de yapılmıştır. Numunelerin yapı ve fonksiyonel grup analizleri IR-spektroskopisi (FT-IR) ve Nükleer Manyetik Rezonans (<sup>1</sup>H-NMR) ile incelenmiştir.

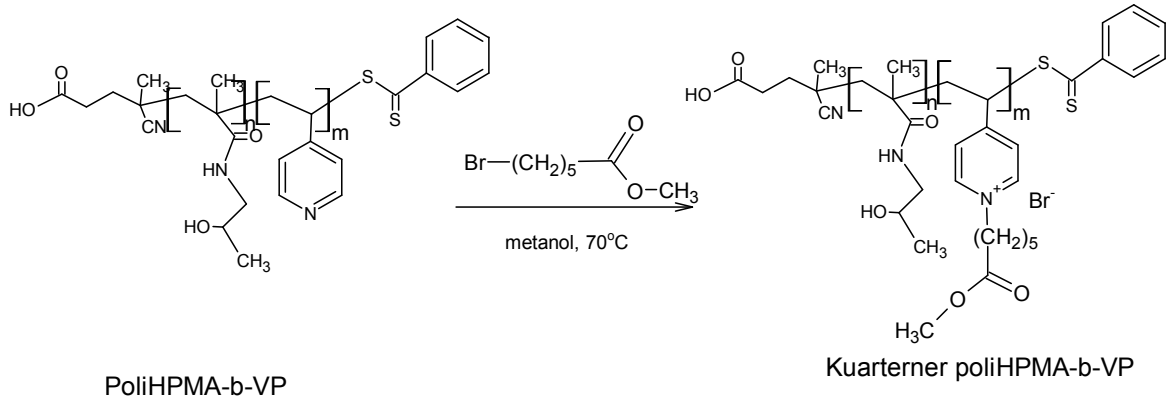


Şekil 3. 7 MakroCTA HPMA ile poli(HPMA-b-VP) kopolimerinin sentezi

### 3.6 Poli(HPMA-b-VP) Kopolimerinin Kuarternleştirilmesi

RAFT polimerizasyon yöntemi ile sentezlenen poli(HPMA-b-VP) kopolimerlerinin yapısındaki vinil halkasının taşıdığı N atomu kısmi olarak pozitif yüklüdür. Bu kopolimerin ileriki ilaç salım ve gen taşınması uygulamalarında etkinliğini arttırmak için kuarternleşme olarak bilinen kalıcı pozitif yüklü hale getirilebilmektedir. Bu işlem için literatürden uygun yöntem bulunup alkil halidler ile kuarternleşme işlemi gerçekleştirilmiştir.

Kuarternleştirme işlemi için ~25000 molekül ağırlığındaki poli(HPMA-b-VP) kopolimeri (60mg, ~0,114 mmol VP birimi içermekte) içerisindeki VP miktarının beş katı oranında metil 6-bromo hekzonoat (0,57 mmol, 94,45 µl), 2ml metanol içerisinde 70°C' de 24sa tutularak gerçekleştirilmiştir. Süre sonunda alınan örnek dietileter ile çöktürülüp 4°C'de santrifüj edilmiş ve kurutulmuştur. Deneye ait reaksiyon Şekil 3. 8'de görülmektedir. Kuarternleştirilen örneklerin FT-IR spektrumları alınarak yapısı incelenmiştir. Ayrıca Zetasizer cihazı ile de boyut ve yük analizi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3. 8 Kopolimerin VP üzerinden kuarternleşmesinin gösterimi

### 3.7 Homo- ve Kopolimerlerin Molekül Ağırlığı ve Yapısal Analizleri

Sentezlenen homopolimer ve kopolimerlerin molekül ağırlığı ve dağılımı jel geçirgenlik kromatografi (GPC) yöntemiyle, Viscotek TDA 302 GPS sisteminde (120 µl enjeksiyon) ışık saçılması (LS) ve kırılma indisi (RI) dedektörleri ile su fazlı ve organik fazlı olmak üzere iki ayrı kolon sistemi kullanılarak saptanmıştır. Tosoh TSK Gel G3000PWXL (30cmx7,8mm) kolonda hareketli faz olarak PBS (pH=7, 0,15M NaCl, 0,02M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, %0,05 NaN<sub>3</sub>) 0,8ml/dk akış hızı altında ve 25°C'de analiz gerçekleştirilmiş, PEO (Mn 10kDa) standart olarak alınmıştır. Organik faz için Phenomenex Phenogel 5µ-10 (300cmx4,6mm) kolonda 0,2ml/dk akış hızı altında DMF kullanılarak 50°C'de analiz edilmiş ve standart olarak PS (99kDa) kullanılmıştır.

Sentezlenen homopolimer ve kopolimerin yapı ve kimyasal grup analizleri FT-IR ve <sup>1</sup>H-NMR spektroskopisi ile tespit edilmiştir. FT-IR spektrumları Perkin Elmer Spectrum One FTIR Spektrometresi ile ATR metodu yoluyla 650-4000cm<sup>-1</sup> aralığında alınmıştır. <sup>1</sup>H-NMR spektrumları Bruker marka NMR cihazı ile DMSO çözeltisinde alınmıştır.

### 3.8 Poli(HPMA-b-VP) Kopolimerinin Misel Oluşturma Kabiliyetinin İncelenmesi

Sentezlenen poli(HPMA-b-VP) kopolimerinin taşıdığı hidrofobik (VP) ve hidrofilik (HPMA) kısımlarından dolayı kendiliğinden misel oluşturan yapıda tasarlanmışlardır. Bu amaçla Zetasizer cihazı ile fosfat tamponunda belirli konsantrasyonlarda (0,0001-10 mg/ml) tarama yapılarak misel oluşturabildikleri konsantrasyon olan Kritik Misel

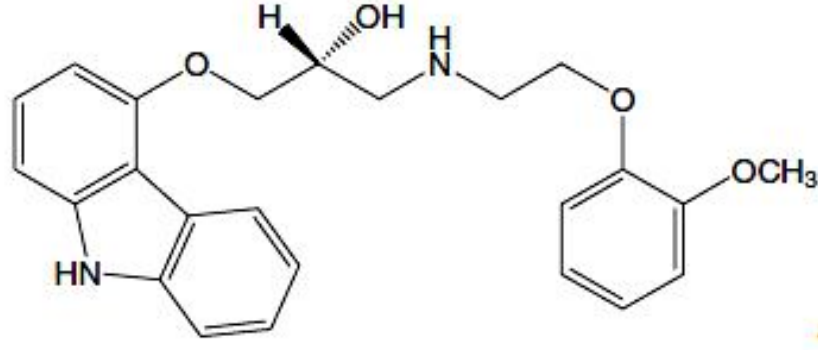
Konsantrasyonu (cmc) saptanmıştır. Farklı VP zincir uzunluğuna sahip polimerlerinde aynı şekilde cmc değerleri saptanmıştır.

### **3.9 Polimerlerin Yük ve Boyut Analizi**

Bu kısımda kopolimerin ve kuarternleştirilen kopolimerin boyut ve yük analizleri farklı pH'larda gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla Malvern marka Zetasizer Nano ZS cihazı kullanılmıştır. 633nm'lik 4.0mW'lık He-Ne lazeri bulunan cihaz dinamik ışık saçılması yöntemiyle, bir sıvıda çözünmüş parçacıkların boyutu, elektroforetik ışık saçılması yöntemiyle de yine bir sıvıda çözünmüş parçacıkların zeta potansiyelini analiz eder. Tüm lmler  $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$  hassaslığında,  $25^{\circ}\text{C}$ 'de ve farklı pH'larda (3-12) gerçekleştirilmiştir. Tüm rnekler, ölçümden hemen önce 0,22  $\mu\text{m}$ 'lik enjektör filtresinden geçirilmiş, lmler, Malvern firmasından satın alınan kapiler küvetlerde gerçekleştirilmiştir. Boyut ölçümlerinde kullanılan parametreler şöyledir: viskozite: 0,8872 cP; kırılma indisi: 1,330. Adım sayısı ve süreleri otomatik olarak seçilmiştir. Zeta potansiyel ölçümlerindeki parametreler ise şöyledir; viskozite: 0,8872 cP; kırılma indisi: 1,330; dielektrik sabiti: 79;  $f(\text{ka})$ , 1,50 (Smoluchowski) şeklinedir. lm süreleri ve voltaj seçimi otomatiğe ayarlanmıştır. Farklı pH'larda elde edilen yük ve boyutlar değerlendirmek üzere grafiğe geçirilmiştir.

### **3.10 Misellere İlaç Yükleme**

Sentezlenen amfifilik kopolimerin taşıdığı misel oluşturma kapasitesinden dolayı etkin madde yükleme çalışmaları yapılmıştır. Etkin madde olarak hipertansiyon, anjina pektoris, kronik kalp yetmezliği ve koroner kalp hastalığı tedavisinde kullanılan hidrofobik bir ilaç olan "karvedilol" kullanılmıştır. Kapalı formülü  $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4$  olan karvedilolün açık formülü şekil 3. 9'da gösterilmiştir.



((2*RS*)-1-(9*H*-karbazol-4-iloksi)-3-[[2-(2-metoksifenoksi)etil]amino]propan-2-ol)

Şekil 3. 9 Karvedilolün açık formülü (British Pharmacopeia 2006 pp. 1193-1194)

İlaç yükleme çalışmalarında iki yöntem denenmiştir. Bunlar mikroemülsiyon yöntemi ve diyaliz yöntemidir. Mikroemülsiyon ve diyaliz yöntemleri için polimer: ilaç miktarları 1:0,25, 1:0,1 ve 1:0,025 oranlarında hazırlanmıştır. Mikroemülsiyon yönteminde 1:0,25 oranında deneme için 25 mg polimer tartılarak ve 10 ml ultra saf suda manyetik karıştırıcıda karıştırılarak çözülmüştür. Ardından 7,5 mg karvedilol hassas tartılarak 10 ml metanol içinde çözülmüştür. Daha sonra polimer çözeltisine karvedilol çözeltisi damla damla eklenerek metanolün manyetik karıştırıcıda 400 devir/dk'da 48 saat uçması beklenmiştir. Misellere yüklenmeyen karvedilol partiküllerini uzaklaştırmak için 0,20 µm'lik rejenere selüloz filtre ile filtrasyon uygulanmıştır. Diyaliz yönteminde ise 2,5mg polimer ve 0,75mg karvedilol 1ml metanol içinde çözünerek teflon diyaliz aparatında 1kDa'luk diyaliz membranı kullanılarak 200ml saf suya karşı 2 gün diyaliz edilmiştir. Aynı şekilde 0,20 µm'lik rejenere selüloz filtre ile yüklenmeyen partiküller uzaklaştırılmıştır. Filtrasyon işlemi uygulanan örneklerin Zetasizer ile boyut ölçümleri yapılmıştır.

İlaç yüklendiği düşünülen örneklerin içindeki karvedilol miktarı seyreltme yöntemi ile misel yapısı bozularak 245nm'de UV ile ölçüm alınarak saptanmaya çalışılmıştır.

---

### SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME

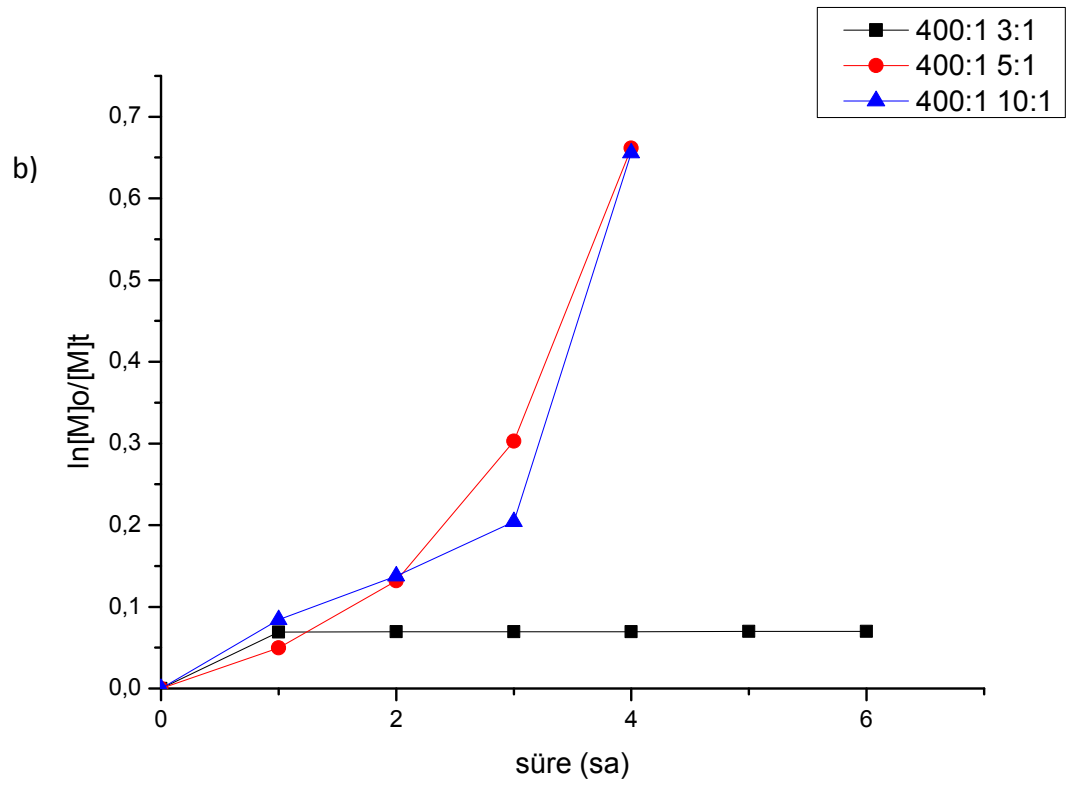
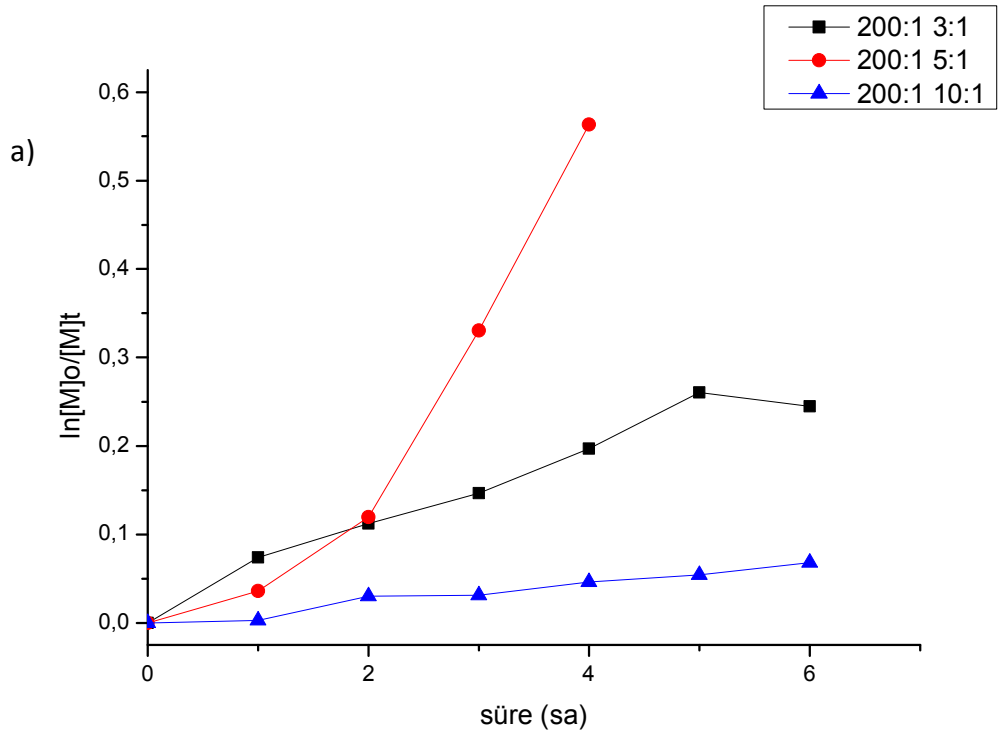
#### 4.1 MakroCTA poli(HPMA)'nın RAFT ile sentezi ve karakterizasyonu

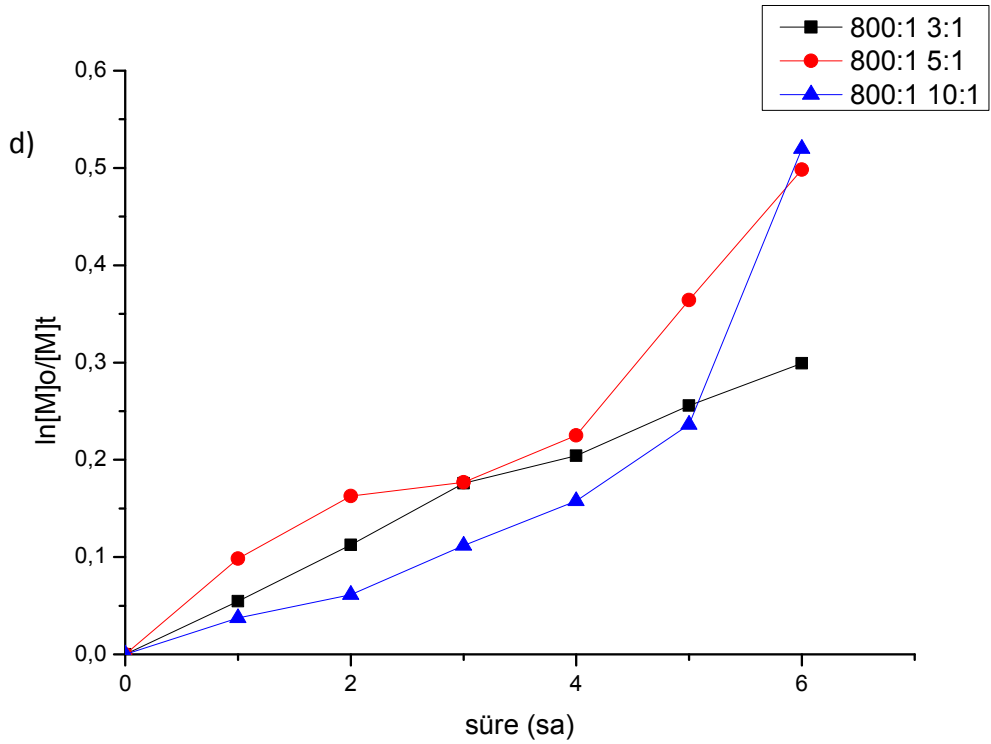
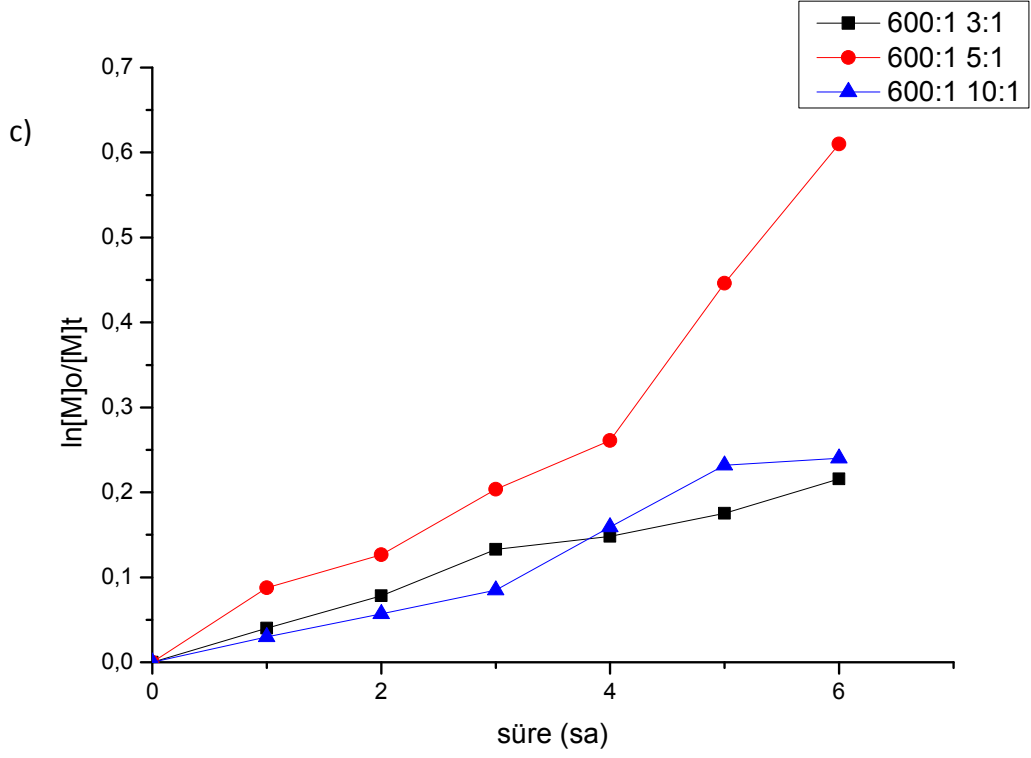
Kontrollü olarak RAFT polimerizasyonunun yürütülmesinde uygun RAFT ajanı kullanımı ile birlikte monomer/RAFT ajanı ve RAFT ajanı/başlatıcı oranları da reaksiyonu etkileyen önemli parametrelerdir. Bu nedenle ilk olarak uygun görülen RAFT ajanları (CTA1 ve CTA2) ile kontrollü reaksiyonun sağlandığı oranlar saptanincaya kadar bir dizi oran taraması yapılmış ve sentezlenen örneklerin dönüşümleri ve molekül ağırlıkları incelenerek, reaksiyonlar izlenmiş ve optimum koşullar belirlenmiştir.

##### 4.1.1 CTA1 varlığında makroCTA-poli(HPMA) Sentezi ve Karakterizasyonu

Çalışmanın ilk bölümünde makroCTA olarak davranacak homo poli(HPMA) sentezlenmesi amaçlanmıştır. Öncelikle CTA1 kullanılarak, M/CTA/I oranı 200/1/0,33, 400/1/0,33, 600/1/0,33, 800/1/0,33, 200/1/0,2, 400/1/0,2, 600/1/0,2, 800/1/0,2 ve 200/1/0,1, 400/1/0,1, 600/1/0,1, 800/1/0,1 şeklinde değiştirilmiş ve reaksiyon süresince elde edilen dönüşüm ve molekül ağırlıkları analiz edilmiştir. Şekil 4. 1 kinetik incelemeleri göstermektedir.







Şekil 4. 1 CTA1 ile sentezlenen farklı CTA/I (3/1, 5/1, 10/1) oranlarının reaksiyon kinetiklerinin incelenmesi a)200/1 b) 400/1 c) 600/1 d) 800/1

Şekil 4.1 de verilen dönüşüm zaman grafiklerine göre, genellikle zamanla artan bir eğilim gözlemlenmektedir. Ancak, RAFT reaksiyonunun beklendiği şekilde ilerlediğinin anlaşılabilmesi için bu grafikler yeterli olmamaktadır. Bu sonuçlar ile birlikte molekül ağırlığında da lineer bir artış gözlemlenmelidir [153]. Molekül ağırlıklarının da incelenmesi sonrasında, reaksiyonların RAFT veya sadece serbest radikal olduğuna karar verilecektir.

Çizelge 4. 1 CTA1 ile sentezlenen homopolimerlerin deneysel verileri

<b>[M]/[CTA]/[I]</b>	<b>süre(sa)</b>	<b>% dönüşüm</b>	<b>Mn(teorik)</b>	<b>Mn(deneysel)</b>	<b>PDI</b>
200/1/0,33	1	7,11	2369,15	19268	1,3
	2	10,63	3408,64	15361	1,15
	3	13,65	4273,44	14787	1,6
	4	17,89	5487,61	12595	1,11
	5	22,92	6928	13800	1,13
400/1/0,33	2	6,7	4201,85	37485	1,34
	3	6,7	4030,04	26386	1,22
	4	6,7	4201,85	22191	1,11
	5	6,7	4201,85	21605	1,08
	6	6,7	4030,04	21112	1,12
600/1/0,33	2	7,54	6842,09	125662	1,26
	3	12,44	11051,59	77212	1,6
	4	13,77	12194,16	95326	1,36
	5	16,1	14195,82	80710	1,53
	6	19,41	17039,37	82243	1,53
800/1/0,33	2	10,65	12563,57	44646	2,21
	3	16,12	18829,12	136229	1,56
	4	18,47	21520,91	121000	1,61
	5	22,56	26205,76	132226	1,5
	6	25,86	29985,71	133452	1,49
200/1/0,2	1	3,53	1375,48	- *	- *
	2	11,28	3594,77	- *	- *
	3	28,15	8425,66	- *	- *

	4	43,08	12701,02	- *	- *
400/1/0,2	2	12,35	7437,72	69317	1,1
	3	26,14	15335,53	42137	1,13
	4	48,41	28090	37078	1,22
	24	157,31	90281,67	59805	1,15
600/1/0,2	1	8,39	7572,31	54793	1,22
	2	11,89	10579,09	50588	1,14
	3	18,41	16180,29	54220	1,27
	4	22,97	20097,7	45864	1,24
	5	36,01	31300,1	47520	1,27
	6	45,68	39607,4	64737	1,27
800/1/0,2	2	15,03	17580	137146	1,36
	3	16,22	18943,67	102028	1,48
	4	20,15	23445,25	76661	1,12
	5	30,54	35346,37	60444	1,23
	6	39,24	45311,7	63527	1,22
200/1/0,1	1	0,27	441,95	- *	- *
	2	2,96	1212,25	- *	- *
	3	3,06	1240,89	- *	- *
	4	4,53	1661,84	- *	- *
	5	5,29	1879,47	- *	- *
	6	6,6	2254,61	- *	- *
400/1/0,1	1	8,07	1212,25	- *	- *
	2	12,86	1240,89	- *	- *
	3	18,47	1661,84	- *	- *
	4	48,09	1879,47	- *	- *
600/1/0,1	1	2,94	2890,32	- *	- *
	2	5,83	5373,07	- *	- *
	3	8,15	7366,13	145978	1,12
	4	14,7	12993,1	76413	1,15
	5	20,71	18156,18	63508	1,25
	6	21,37	18723,17	61575	1,21
800/1/0,1	1	3,69	4591,3	84148	1,39
	2	5,95	7180	82960	1,47
	3	10,58	12483,38	130582	1,44

4	14,59	17076,6	86437	1,45
5	21,04	24464,69	101599	1,36
6	40,57	46835,13	136295	2,45

\*:GPC ile analizi yapıp kromatogramları düzgün olmadığı için molekül ağırlığı hesaplanamayan örnekler.

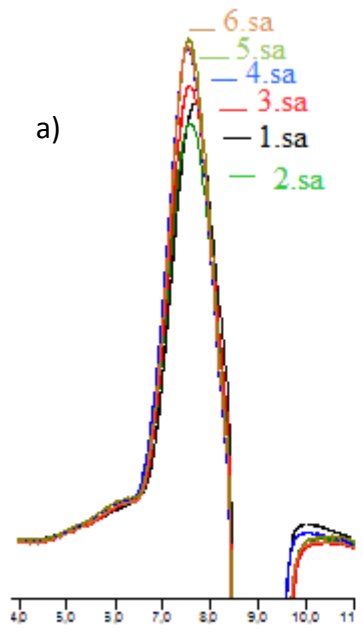
Polimerlerin GPC analizleri Materyal ve Metod'da belirtildiği gibi, su fazlı kolonda, hareketli faz olarak 0,8ml/dk akış hızında PBS kullanılarak kırılma indisi (RI) dedektörler ile 25°C'de gerçekleştirilmiştir. Şekil 4. 2 GPC kromatogramlarını vermektedir.

CTA/I oranı 3/1 olan örnekler için; M/CTA oranı 200/1, 400/1 ve 600/1 iken molekül ağırlığında lineer artmadan ziyade azalma gözlenmiştir. Yalnızca 800/1 oranında molekül ağırlığında hafif artış görülmektedir.

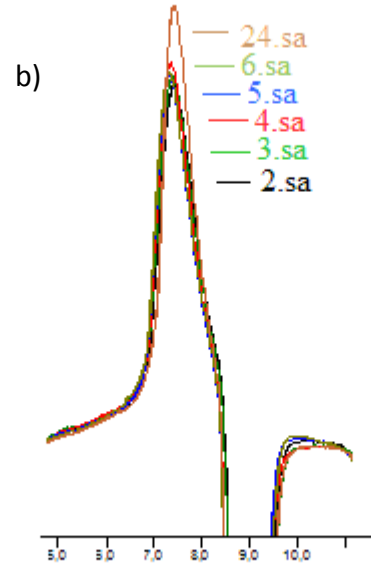
CTA/I oranı 5/1 olan örnekler için; M/CTA oranı 800/1, 400/1 ve 600/1 iken yine molekül ağırlığı azamaktadır. 200/1 oranında sentezlenmiş polimerlerin GPC kromatogramları düzgün olmadığı için hesaplama yapılamamıştır.

CTA/I oranı 10/1 olan örnekler için; M/CTA oranı 200/1 ve 800/1 olan polimerler dönüşümlerine göre bir miktar elde edilmiş gibi görünmesine rağmen, molekül ağırlığı GPC kromatogramlarının düzgün olmayışı sebebiyle hesaplanamamıştır. 600/1 orandaki polimerlerde elde edilen molekül ağırlıkları dönüşümle birlikte paralel olarak artmamaktadır. 800/1 oranında ise 4. saat hariç molekül ağırlığı artmaktadır.

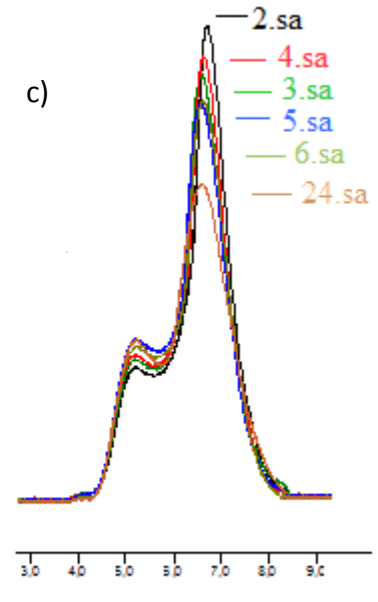
Buna göre, Şekil 4. 2 ve Çizelge 4. 1 birlikte değerlendirildiğinde, molekül ağırlığı düzgün olarak artmamaktadır. Ayrıca PDI değerleri de genellikle çok yüksektir.



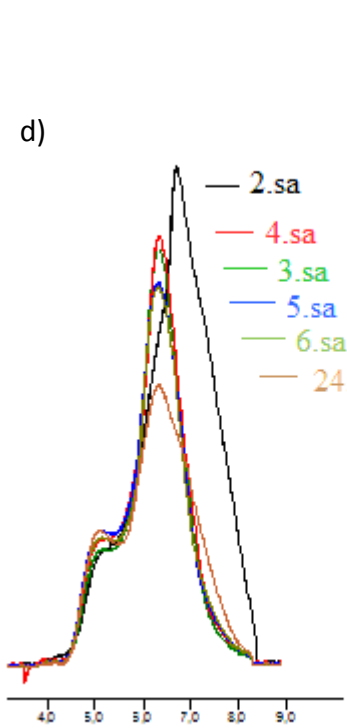
Alıkonma hacmi (ml)



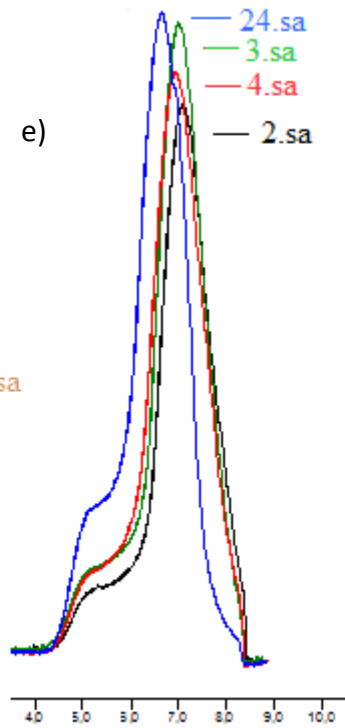
Alıkonma hacmi (ml)



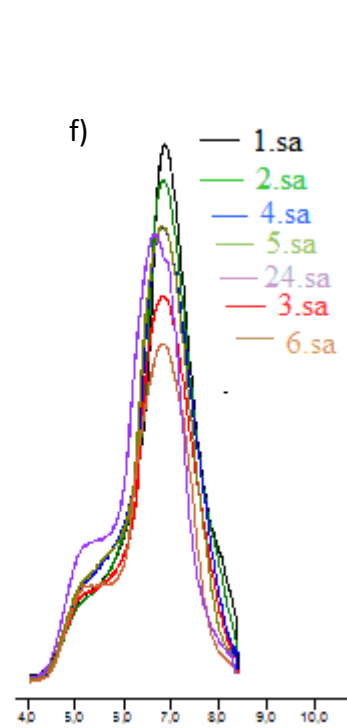
Alıkonma hacmi (ml)



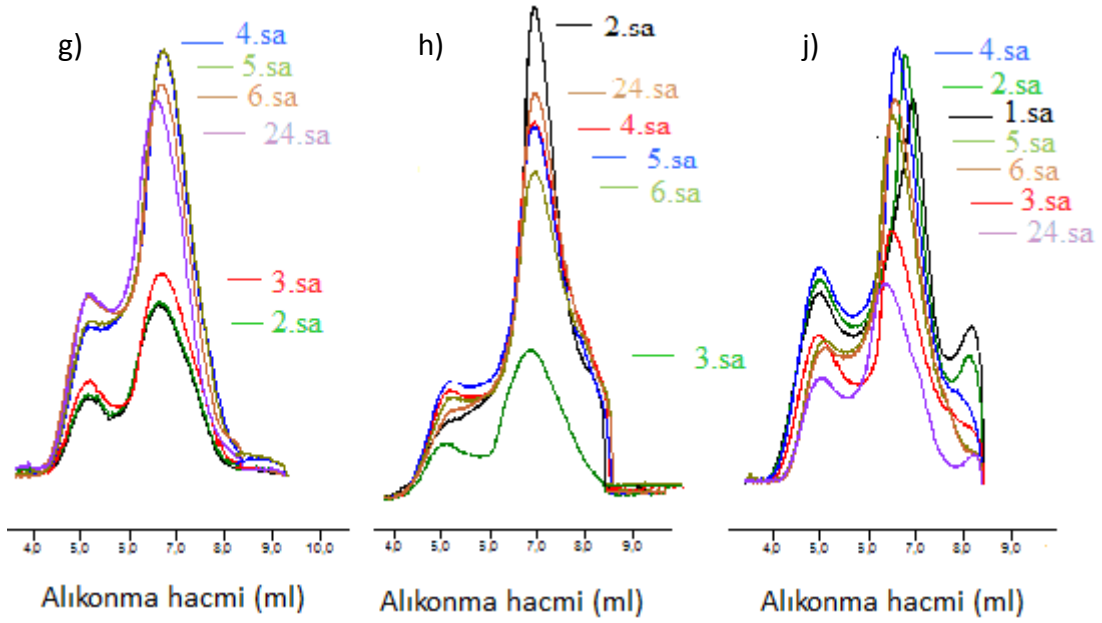
Alıkonma hacmi (ml)



Alıkonma hacmi (ml)



Alıkonma hacmi (ml)

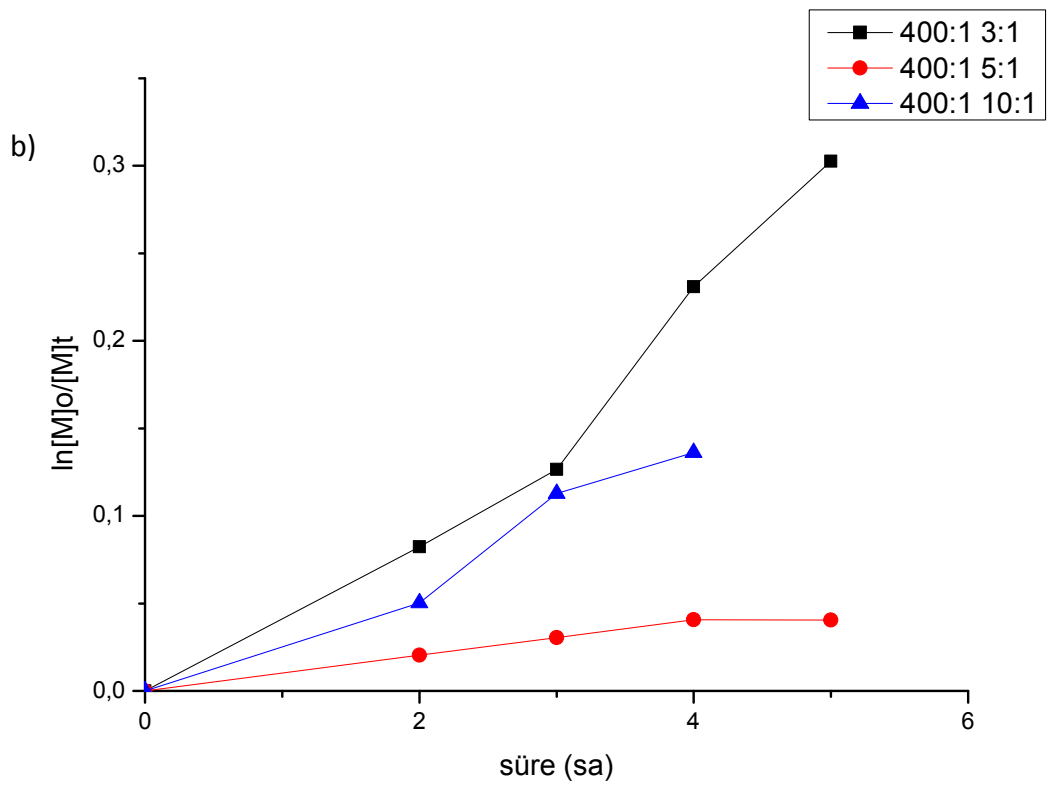
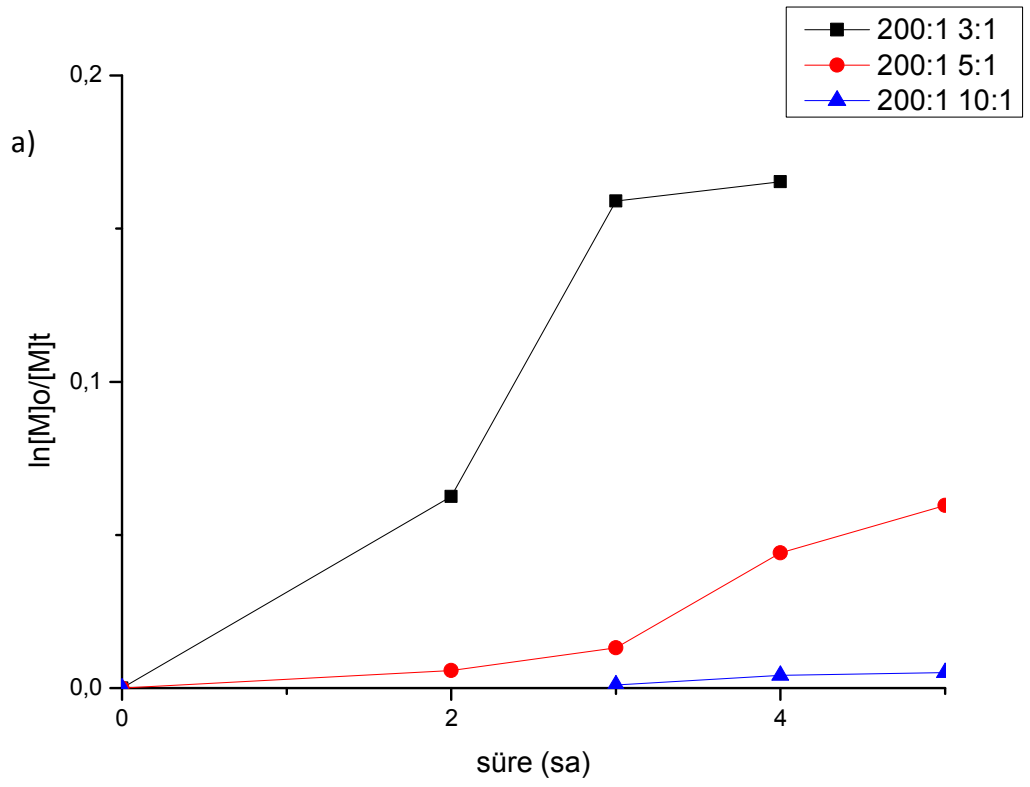


Şekil 4. 2 CTA1 ile sentezlenen homopolimerlerin GPC kırılma indisi kromatogramları, a) 200/1/0,33 b) 400/1/0,33 c) 600/1/0,33 d) 800/1/0,33 e) 400/1/0,2 f) 600/1/0,2 g) 800/1/0,2 h) 600/1/0,1 j) 800/1/0,1

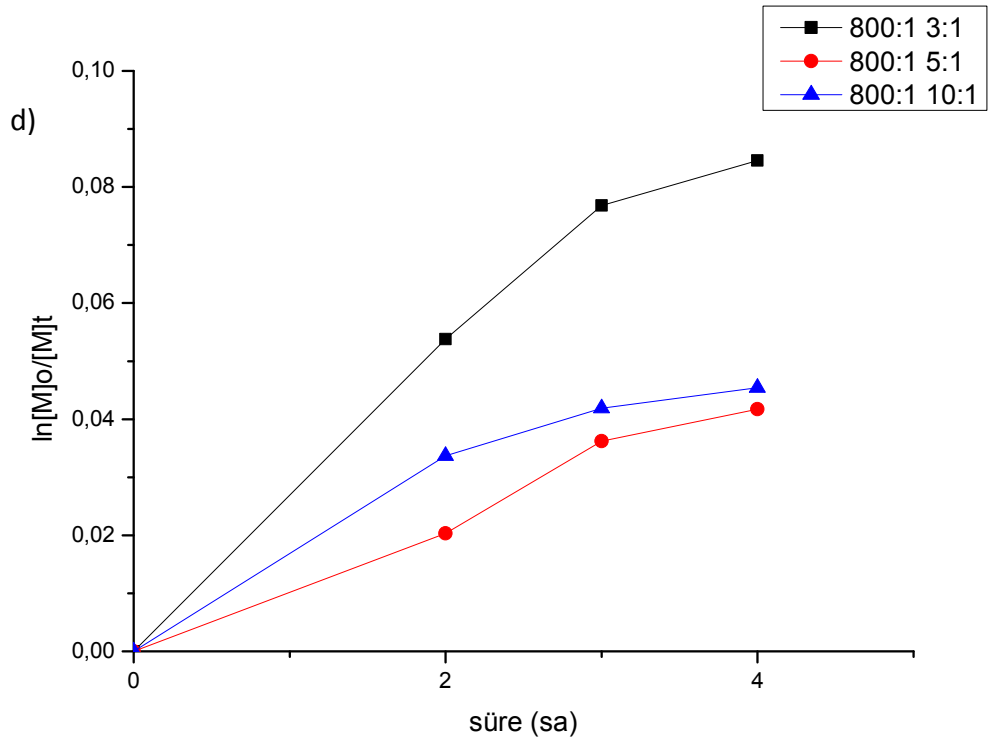
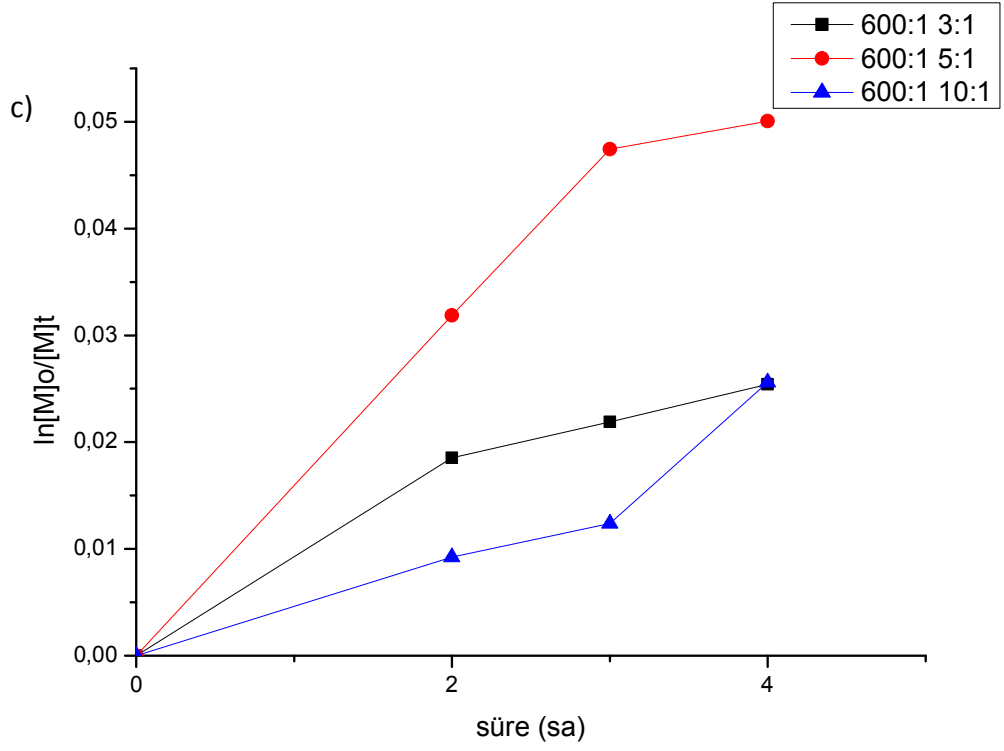
CTA1 ajanı kullanılarak HPMA'nın homopolimerinin sentezlenmesinde, ilk olarak elde edilen reaksiyon kinetik eğrileri reaksiyonu kontrollü olarak ilerlemiş gibi göstermesine rağmen GPC ile elde edilen ortalama moleküler ağırlık değerlerinin süre ile azalması reaksiyonun denenen oranlarda istenilen kontrollü polimerizasyon ile değil serbest radikal polimerizasyon ile ilerlediğini göstermektedir [154]. Bu nedenle CTA ajanı değiştirilerek reaksiyonun kontrollü olarak ilerlemesi sağlanan oran saptanıncaya kadar taramaya devam edilmiştir.

#### 4.1.2 CTA2 varlığında makroCTA-poli(HPMA) Sentezi ve Karakterizasyonu

CTA1 ajanı ile istenilen sonuç alınamadığından CTA2 ajanı ile çalışmaya devam edilmiş ve aynı M/CTA/I (200/1/0,33, 400/1/0,33, 600/1/0,33, 800/1/0,33, 200/1/0,2, 400/1/0,2, 600/1/0,2, 800/1/0,2 ve 200/1/0,1, 400/1/0,1, 600/1/0,1, 800/1/0,1) oranlarında denemeler yapılmıştır. Oran tarama sonuçlarının kinetik incelemeleri ve GPC sonuçları aşağıda verilmektedir.







Şekil 4. 3 CTA2 ile sentezlenen farklı CTA/I (3/1, 5/1, 10/1) oranlarının reaksiyon kinetiklerinin incelenmesi a) 200/1 b) 400/1 c) 600/1 d) 800/1

Şekil 4. 3 de verilen dönüşüm zaman grafikleri de yine zamanla lineere yakın bir sonuç göstermektedir. Bu sonuç molekül ağırlığı artışı ile de desteklenerek RAFT polimerizasyonuna uygun olarak ilerleyen sentezler saptanacaktır.

Çizelge 4. 2 CTA2 ile sentezlenen homopolimerlerin deneysel verileri

[M]/[CTA]/[I]	süre(sa)	% dönüşüm	Mn(teorik)	Mn(deneysel)	PDI
200/1/0,1	3	0,19	333,79	- *	- *
	4	0,81	511,33	- *	- *
	5	1,01	569,6	- *	- *
200/1/0,2	2	1,13	602,97	- *	- *
	3	2,61	1026,78	- *	- *
	4	8,64	2753,53	61479	1,313
	5	11,57	3592,56	39456	1,039
200/1/0,33	2	12,14	3755,79	17414	1,092
	3	29,4	8698,36	9105	1,092
	4	30,48	9007,63	8568	1,012
400/1/0,1	2	9,8	5892,04	11960	1,038
	3	21,34	12501,22	10096	1,029
	4	25,48	14872,28	10670	1,068
400/1/0,2	2	4,05	2598,9	31957	1,098
	3	6,02	3727,15	13183	1,054
	4	7,96	4838,23	13168	1,045
	5	7,98	4849,68	10108	1,055
400/1/0,33	2	15,82	9339,81	10689	1,068
	3	23,8	13910,12	12637	1,068
	4	41,27	23915,53	16795	1,055
	5	52,28	30221,18	18829	1,048
600/1/0,1	2	3,68	3440,79	- *	- *
	3	4,92	4506,05	- *	- *
	4	10,02	8887,36	- *	- *
600/1/0,2	2	7,84	7014,57	11926	1,086
	3	11,58	10227,53	10284	1,192
	4	12,2	10760,16	10206	1,03
600/1/0,33	2	7,34	6585,03	- *	- *

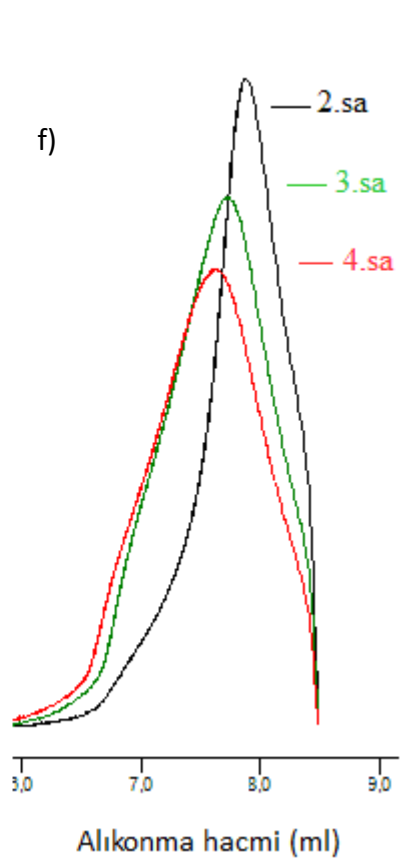
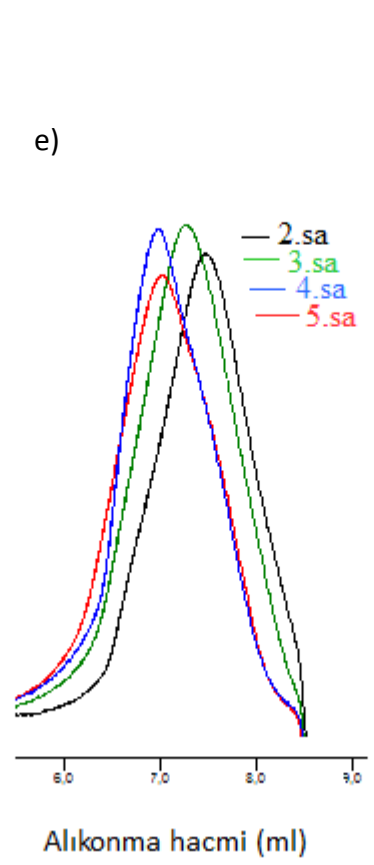
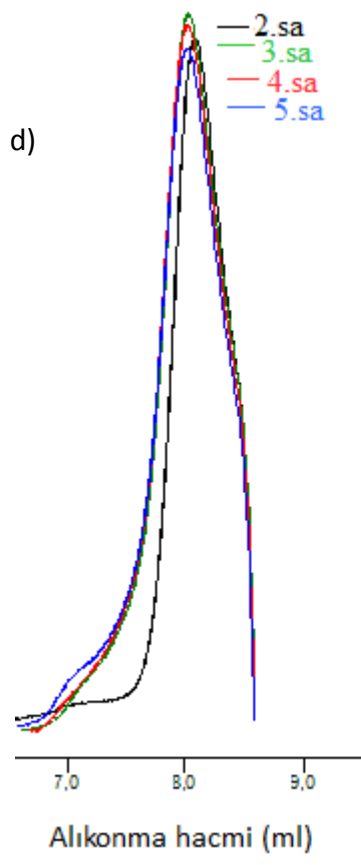
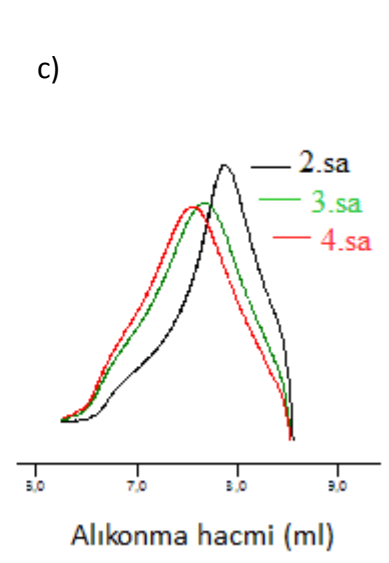
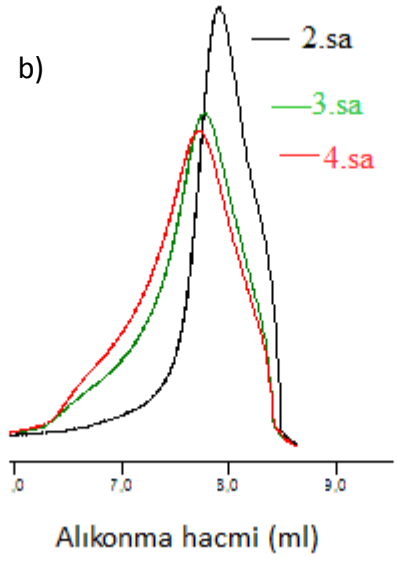
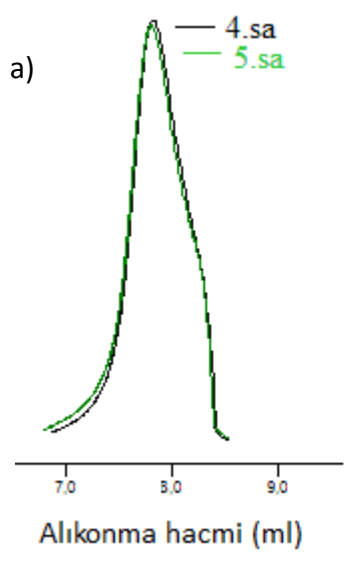
	3	8,66	7719,01	- *	- *
	4	10,04	8904,54	- *	- *
800/1/0,1	2	13,24	15445	12674	1,459
	3	16,41	19076,05	11340	1,2
	4	17,7	20553,67	12788	1,075
800/1/0,2	2	8,04	9448,72	11296	1,065
	3	14,21	16556,08	11985	1,048
	4	16,33	18984,41	13701	1,041
800/1/0,33	2	20,95	24276,35	14247	1,059
	3	29,59	34172,95	17703	1,051
	4	32,44	37437,45	21088	1,038

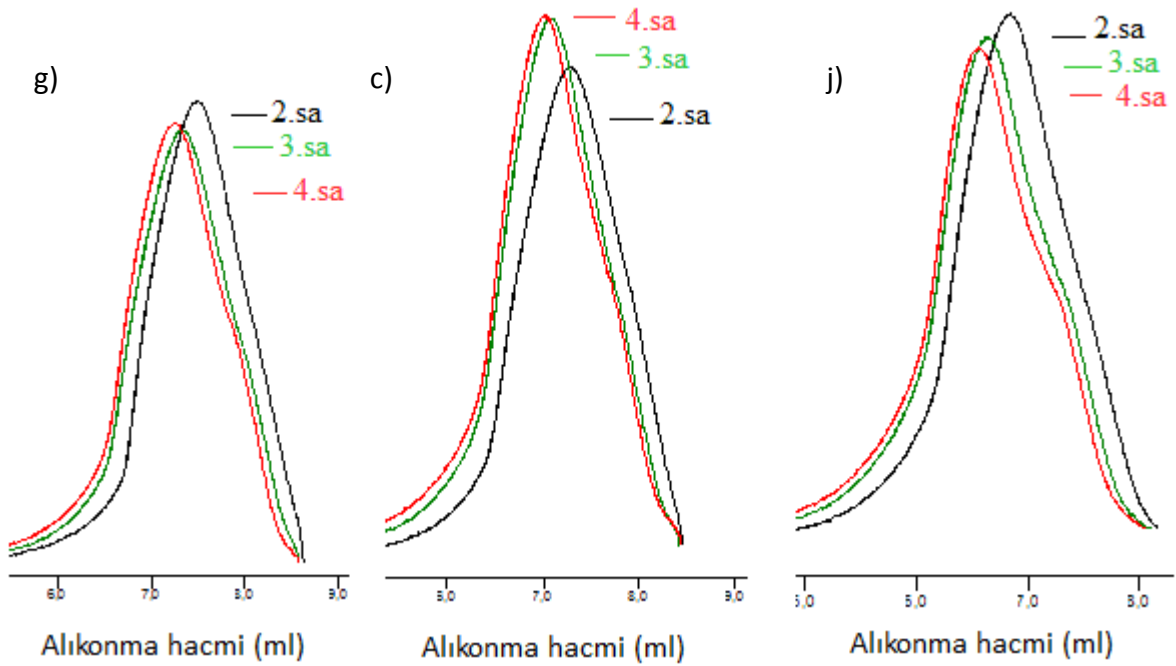
\*:GPC ile analizi yapıp kromatogramları düzgün olmadığı için molekül ağırlığı hesaplanamayan örnekler.

CTA/I oranı 3/1 olan örnekler için; M/CTA oranı 400/1 ve 800/1 iken molekül ağırlığında lineer artma gözlenmiştir. PDI değerleri de 1'dir. 600/1 oran için düzgün GPC kromatogramları elde edilememiş, 200/1 için ise molekül ağırlığında azalma gözlenmiştir.

CTA/I oranı 5/1 olan örnekler için; M/CTA oranı 200/1, 400/1 ve 600/1 iken yine molekül ağırlığı azalmaktadır. 800/1 oranında sentezlenmiş polimerlerin molekül ağırlıkları çok az artmıştır.

CTA/I oranı 10/1 olan örnekler için; 200/1 ve 600/1 oranlarının GPC kromatogramları düzgün elde edilemediğinden hesap yapılamamış, diğer oranlarda da artma gözlenmemiştir. Şekil 4. 4 GPC kromatogramlarını vermektedir.





Şekil 4. 4 CTA2 ile sentezlenen makroCTA-poli(HPMA) örneklerinin GPC kırılma indisi kromatogramları, a)200/1/0,2 b) 200/1/0,33 c) 400/1/0,1 d) 400/1/0,5 e) 400/1/0,33 f) 600/1/0,2 g) 800/1/0,1 h) 800/1/0,2 j) 800/1/0,33

Yapılan bu oran denemelerinin GPC kromatogramları ve molekül ağırlığı grafikleri incelenmiş, 400/1/0,33, 800/1/0,2 ve 800/1/0,33 oranlarında polimerizasyon işleminin kontrollü olarak ilerlediği saptanmıştır. Bu denemelerin arasından 800/1/0,33 oranı seçilerek bu oranda sentezlenen makroCTA HPMA ile devam edilmiştir.

CTA2 RAFT ajanının çalıştığı saptandığı oranlardan biri olan 800/1/0,33 oranındaki polimerizasyon işleminin kinetiği daha uzun süreler için detaylı incelenmiştir.

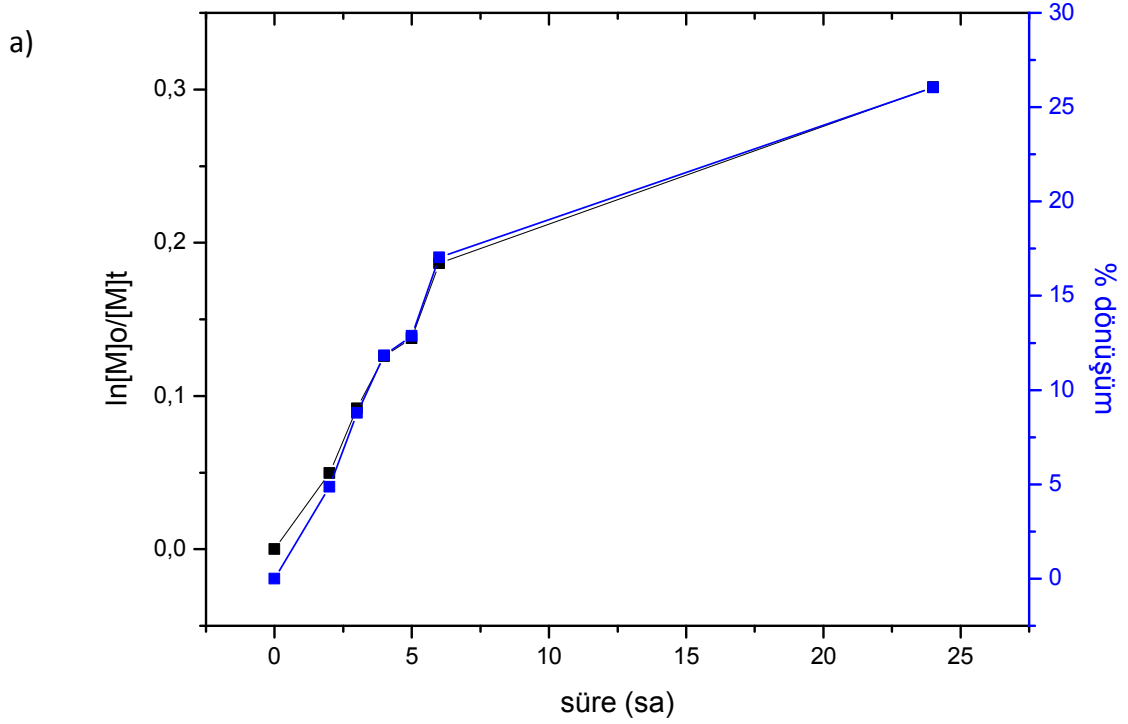
#### 4.1.3 CTA2 varlığında sentezlenen makroCTA-poli(HPMA)'nın detaylı incelenmesi

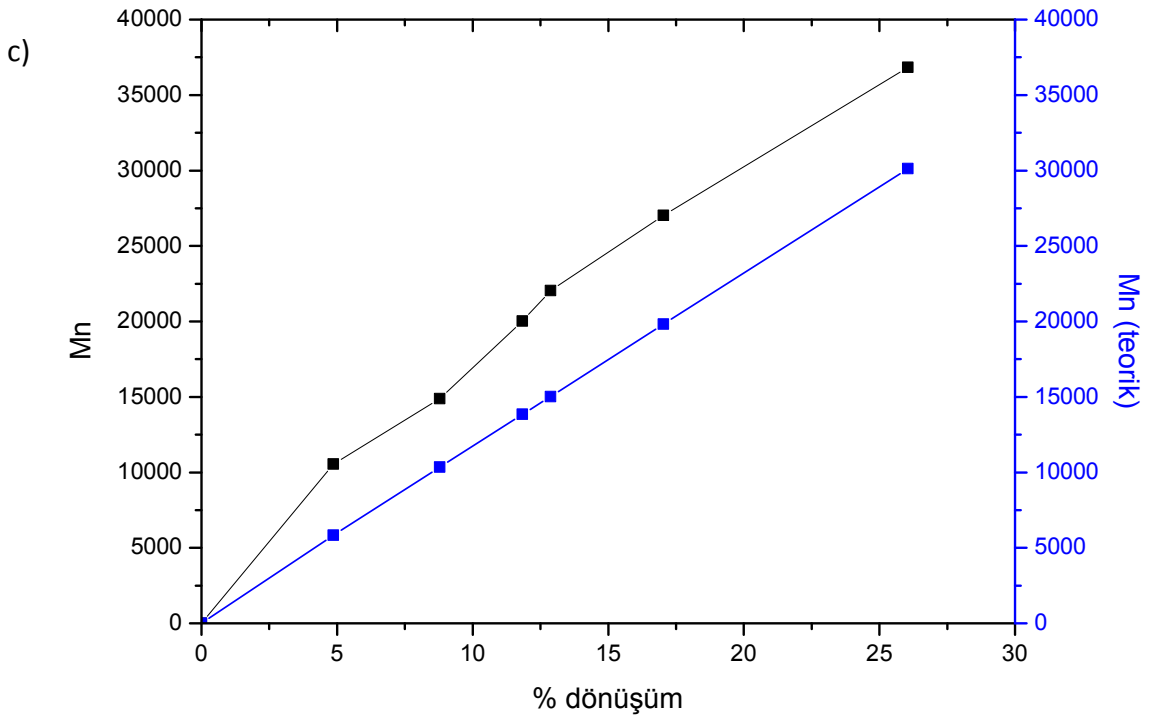
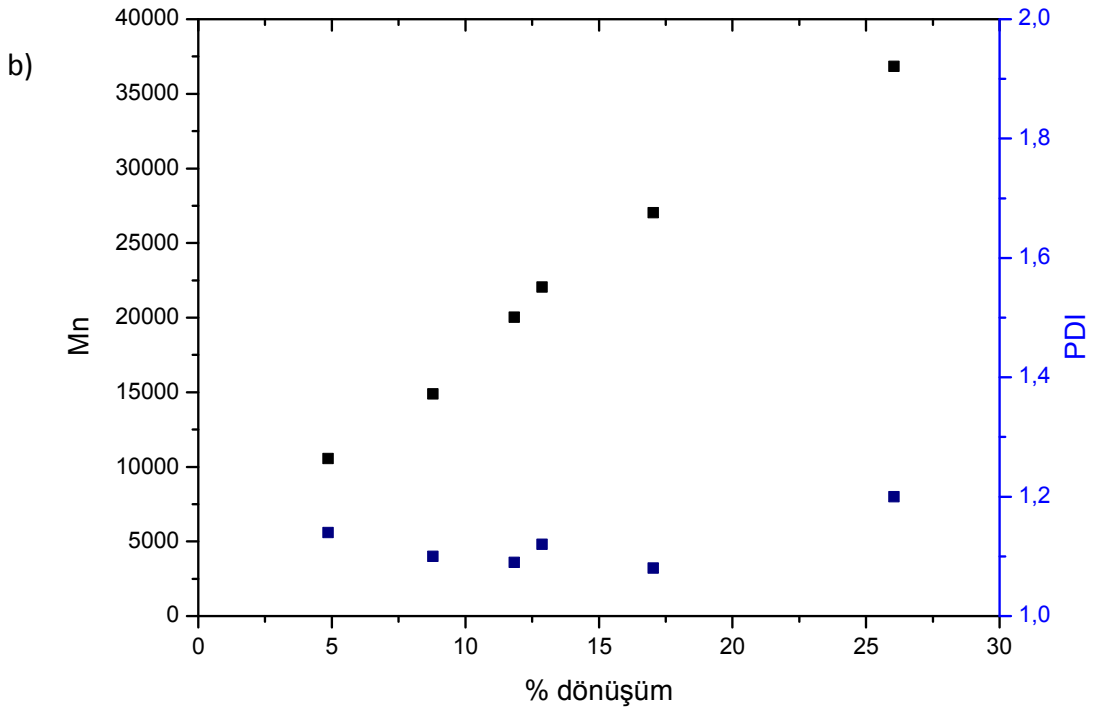
Bir önceki bölümden elde edilen sonuçlar ışığında, 800/1/0,33 oranında, 2., 3., 4., 5., 6. ve 24. saatlerde reaksiyona devam edilmiş ve numuneler alınarak analiz edilmiştir. Çizelge 4. 3'de belirtilen saatlerde elde edilen dönüşüm, molekül ağırlığı ve PDI değerlerini göstermektedir.

Çizelge 4. 3 CTA2 ile sentezlenen 800/1/0,33 oranında makroCTA homopolimerlerin deneysel verileri

süre(sa)	% dönüşüm	Mn(teorik)	Mn(deneysel)*	PDI*
2	4,86	5846,22	10,548	1,14
3	8,79	10347,80	14,886	1,10
4	11,84	13841,39	20,013	1,09
5	12,87	15021,19	22,033	1,12
6	17,04	19820,59	27,033	1,08
24	26,05	30118,09	36,842	1,20

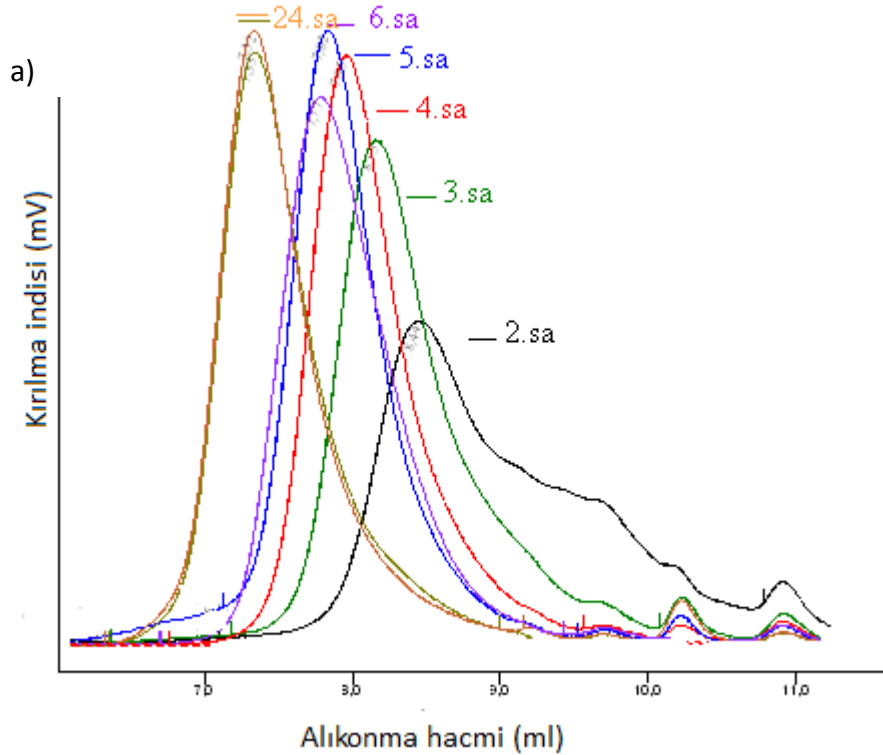
\*: GPC de fosfat tamponunda su fazlı kolon ile elde edilen analiz verileri



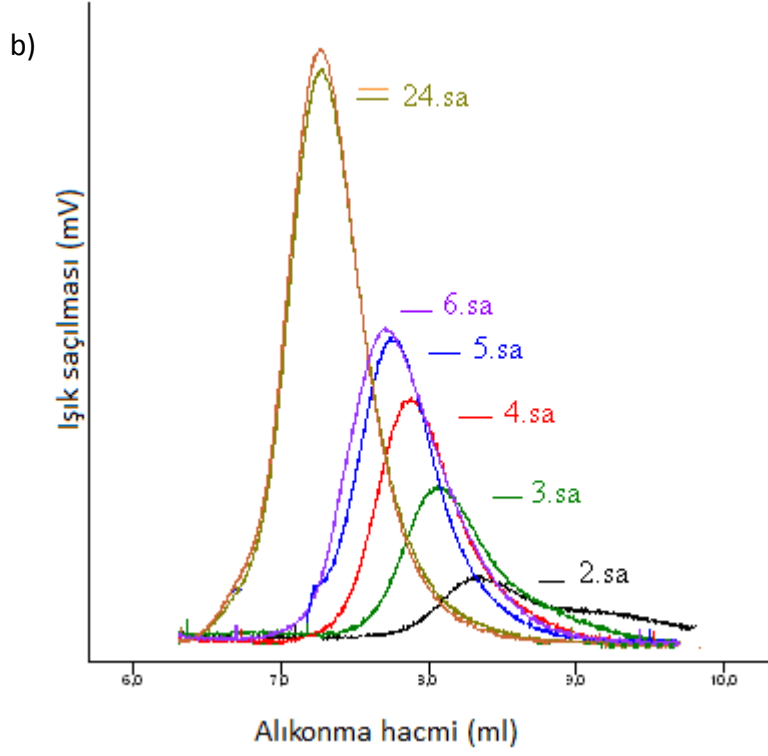


Şekil 4. 5 CTA2 RAFT ajanı ile sentezlenen M/CTA/I=800/1/0,33 oranında sentezlenen homopolimerin a) reaksiyon kinetiği b) Mn ve PDI değerleri ve c) Teorik Mn değerlerini göstermektedir.

Reaksiyon kinetiğine bakıldığında zaman ile birlikte lineer olarak ilerlediği gözlemlenmektedir (Şekil 4. 5(a)). Sonlara doğru lineerlikten eğriye dönmesi ortamdaki RAFT polimerizasyonunun sonlanmaya başladığını göstermektedir. Kontrollü olarak RAFT polimerizasyonunun gerçekleştiği Çizelge 4. 3 ve Şekil 4. 5(b)' deki verilerde molekül ağırlığının zamanla birlikte lineer olarak artmasından da açıkça gözlemlenebilmektedir. Bununla birlikte polimerizasyon işlemi boyunca PDI değerlerinin 1,2'den düşük olması da reaksiyonun kontrollü olarak ilerlediğinin ve monodisperse yakın polimerler sentezlendiğinin bir diğer göstergesidir. Şekil 5. 5(c)' de verilen deneysel ve teorik  $M_n$  değerlerinden de birbirlerini yine lineer olarak takip ettikleri ancak % dönüşüm değerleri gravimetrik olarak hesaplandığı için oluşan kütle kayıplarından teorik molekül ağırlığı değerinin deneysel olarak elde edilen verilerden biraz düşük olduğu gözlemlenmektedir.





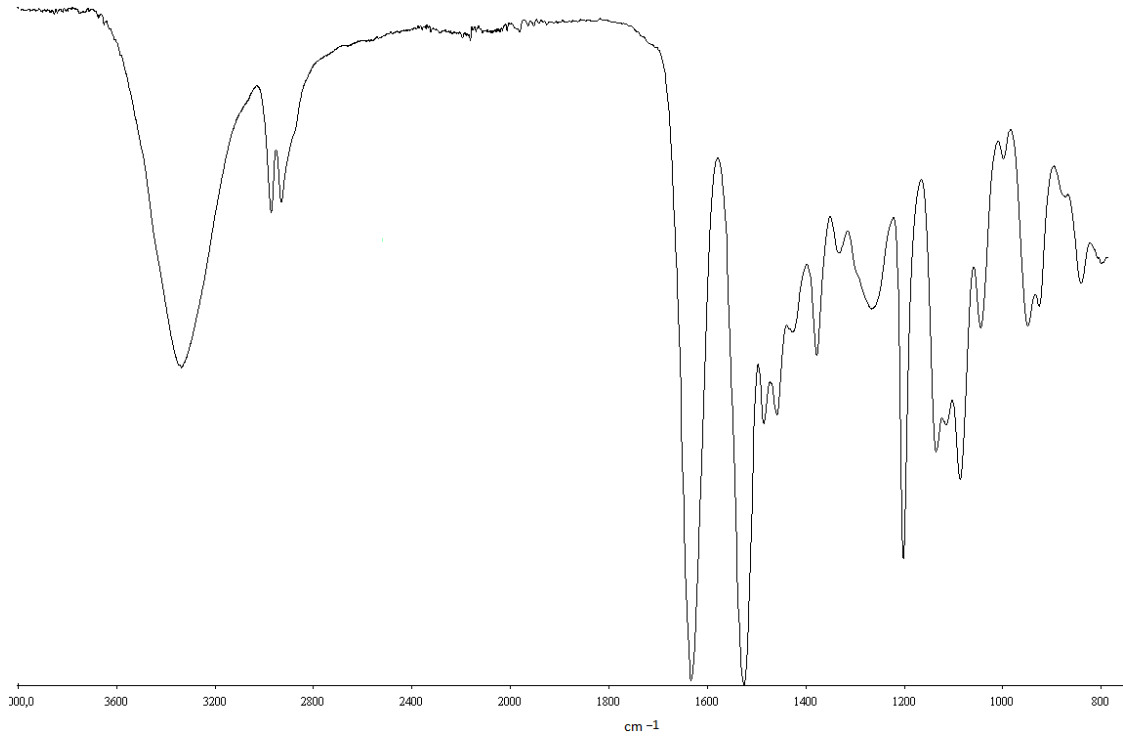


Şekil 4. 6 M/CTA/I=800/1/0,33 olan makroCTA homopolimerin fosfat tamponunda yapılan GPC analiz kromatogramları

Şekil 4. 6'da sentezlenen homopolimer makroCTA'nın GPC analizlerinden de görüldüğü gibi kromatogramlarda saatle birlikte sola doğru kayma ve alanda artma söz konusudur. Buda GPC kolonundan geçen maddenin bir öncekinden daha önce kolondan çıktığını yani daha büyük molekül ağırlığında olduğunu göstergesidir.

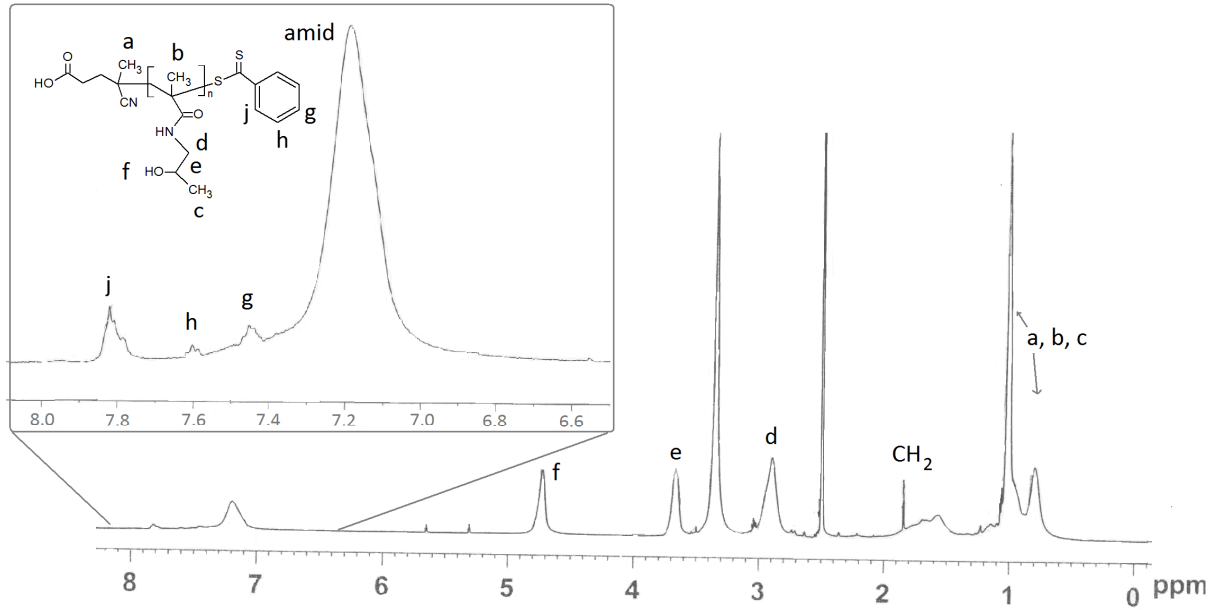
#### 4.1.4 MakroCTA HPMA'nın yapı analizi

Sentezlenen homopolimerin kimyasal olarak yapısının aydınlatılabilmesi için FT-IR ve <sup>1</sup>H-NMR spektrumları alınmıştır. Spektrumlar incelenerek yapıdaki fonksiyonel gruplar tanımlanarak tespit edilmiştir.



Şekil 4. 7 MakroCTA HPMA'nın FT-IR spektrumu

RAFT ile sentezlenen homopolimer HPMA'nın Şekil 4. 7'de verilen FT-IR spektrumuna bakıldığında, 2800-3000cm<sup>-1</sup> arasında OH gerilmesi, 1630-1700cm<sup>-1</sup>'de C=O(amid) gerilmesi, 3200-3600cm<sup>-1</sup> arasında sekonder amidin NH gerilmesi geniş bir pik olarak gözlemlenmektedir. Homopolimerin Şekil 4. 8'de verilen <sup>1</sup>H-NMR spektrumundan ise yapıdaki fonksiyonel gruplar ile birlikte homopolimer zincirinin ucuna eklenmiş olan RAFT ajanının fonksiyonel gruplarına ait piklerde gözlemlenebilmektedir. 0,7-1,0 ppm arasında CH<sub>3</sub> gruplarının, 1,3-2,0 ppm arasında CH<sub>2</sub> gruplarının, 2,8-3,0 ppm arasında HPMA'nın N atomuna bağlı CH<sub>2</sub> grubunun, 3,6-3,8 ppm arasında yine HPMA'nın OH grubunun bağlandığı CH<sub>2</sub> grubunun, 4,6-4,85 ppm arasında OH grubunun ve 7,0-7,4 ppm arasında amid grubunun pikleri gözlemlenmektedir, bunun yanında 7,4-7,85 ppm arasında RAFT ajanın aromatik fenil grubundaki CH<sub>2</sub> gruplarından kaynaklanan üç ayrı pik görülmektedir [155].



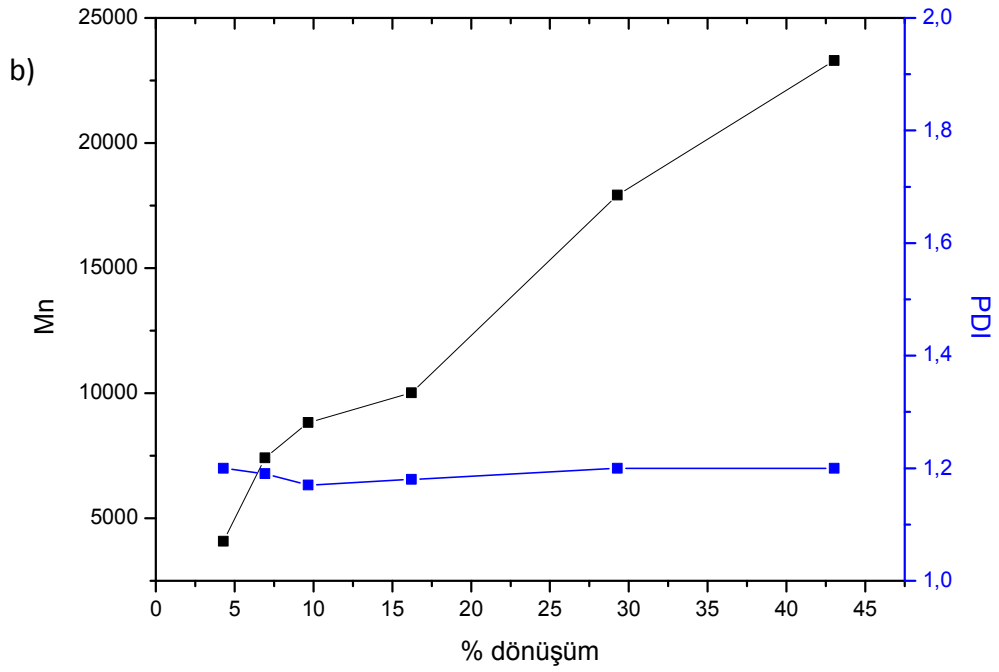
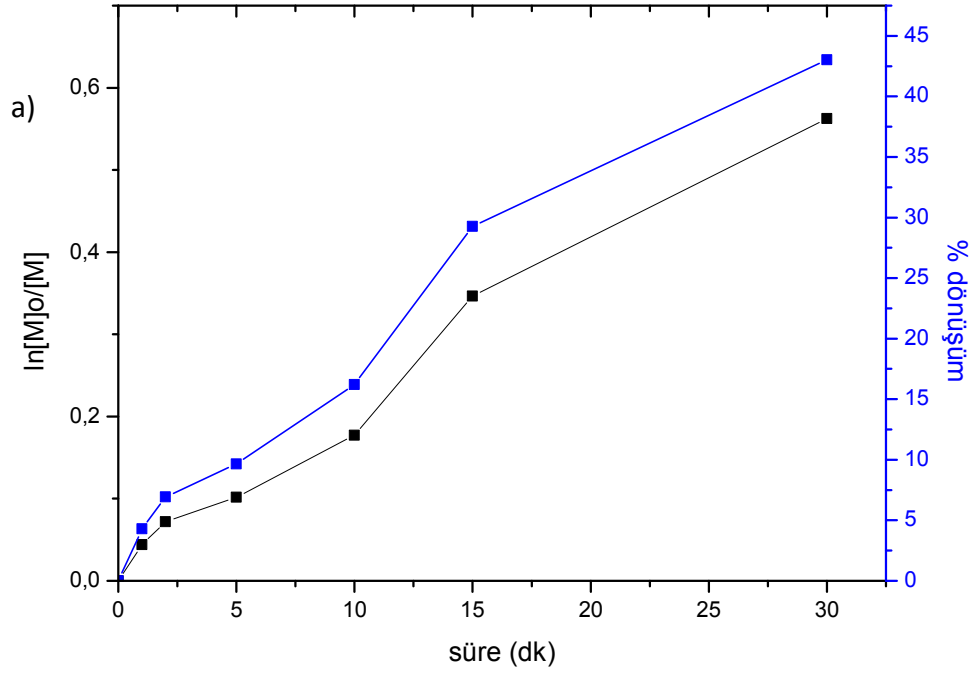
Şekil 4. 8 MakroCTA HPMA'nın <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

#### 4.1.5 Mikrodalga yöntemi ile metanolde makroCTA-poli(HPMA) sentezi

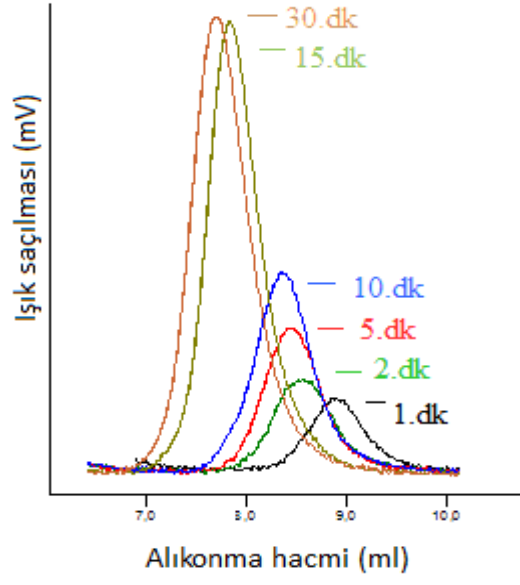
Çalıştığı saptanan 800/1/0,33 ve 400/1/0,33 oranlarının sentezi mikrodalga ünitesi kullanılarak aynı oranlarda ve reaksiyon koşullarında çözücü olarak metanol kullanılarak 200 Watt enerji ile belirli dakikalarda örnek alınarak 70°C' de sentezlenmiştir. Geleneksel yöntem ile saatleri bulan sentez süresi mikrodalga yöntemi ile çok daha kısa sürelerle, dakikalara düşmüştür.

Çizelge 4. 4 Mikrodalga yöntemi sentezlenen makroCTA HPMA homopolimerler

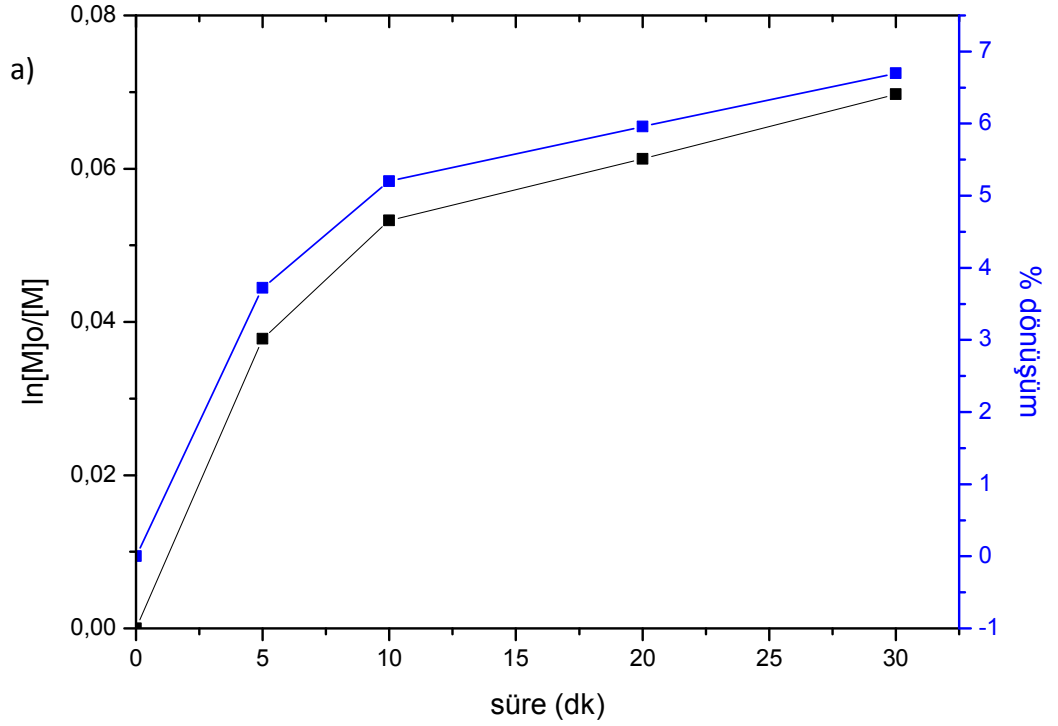
[M]/[CTA]/[I]	süre (dk)	% dönüşüm	Mn(teorik)	Mn(deneysel)	PDI
400/1/0,33	1	4,29	5193,32	4078	1,2
	2	6,93	8217,28	7414	1,19
	5	9,66	11344,33	8824	1,17
	10	16,22	18858,42	10011	1,18
	15	29,27	33497,59	17915	1,2
	30	43,02	49533,3	23297	1,2
800/1/0,33	5	3,72	4540,42	4616	1,2
	10	5,2	6235,67	7066	1,2
	20	5,96	7106,2	9103	1,19
	30	6,7	7953,83	12011	1,2

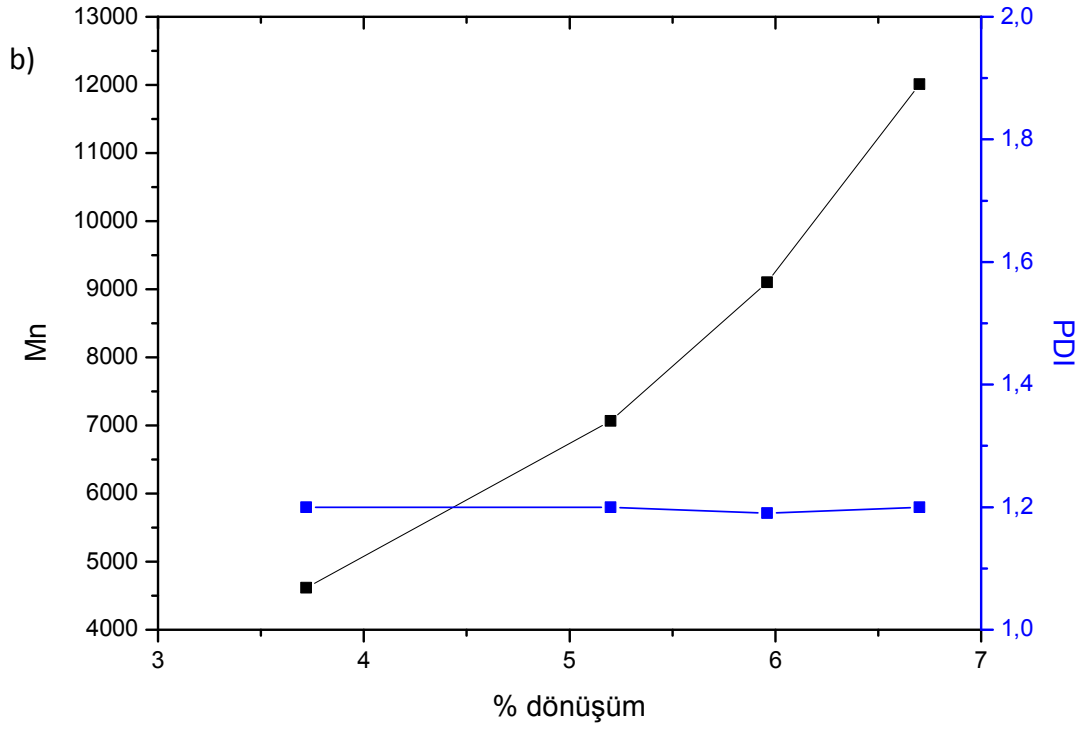


Şekil 4. 9 Mikrodalga ünitesi kullanılarak sentezlenen  $[M]/[CTA]/[I]=400/1/0,33$  oranındaki homopolimerin a)reaksiyon kinetiği ve b)moleküler ağırlık ve dağılımı

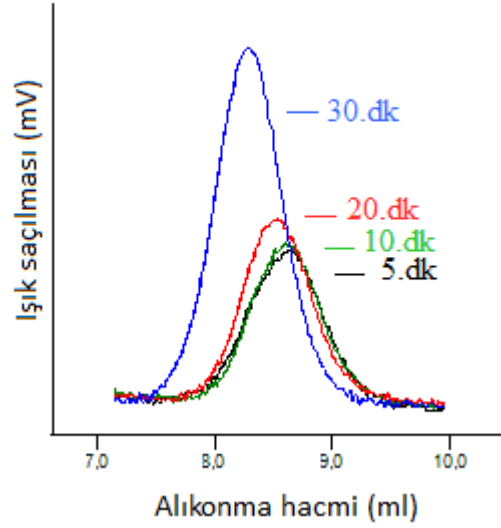


Şekil 4. 10 Mikrodaga ile sentezlenen  $[M]/[CTA]/[I]=400/1/0,33$  oranındaki homopolimerin GPC kromatogram





Şekil 4. 11 Mikrodalga ünitesi kullanılarak sentezlenen  $[M]/[CTA]/[I]=800/1/0,33$  oranındaki homopolimerin a)reaksiyon kinetiği ve b)moleküler ağırlık ve dağılımı



Şekil 4. 12  $[M]/[CTA]/[I]=800/1/0,33$  oranındaki homopolimerin GPC kromatogramları

Mikrodalga sentez cihazı ile makroCTA HPMA sentezi iki oran için denenmiş ikisinde de kontrollü olarak ilerleyen RAFT polimerizasyonu ile Şekil 4. 9-4. 12 ve Çizelge 4. 4'den de görüldüğü gibi kontrollü moleküler ağırlık artışı ve düşük PDI indeksine sahip homopolimerler elde edilmiştir. Ancak mikrodalgada sentez sırasında 70°C sıcaklığa hemen çıkılması metanol ile çalışırken verim hatalarına ve reaksiyona etki edebilecek çözücünün buharlaşma yolu ile kaybına neden olabileceğinden kaynama noktası daha yüksek olan başka bir çözücü ile de deneme yapılmıştır.

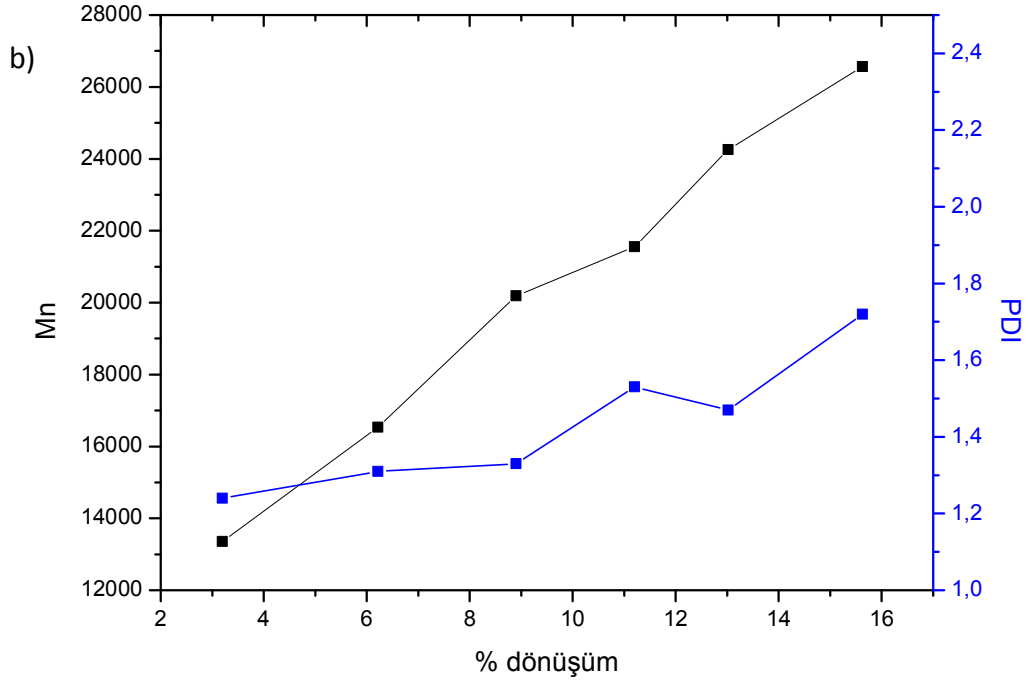
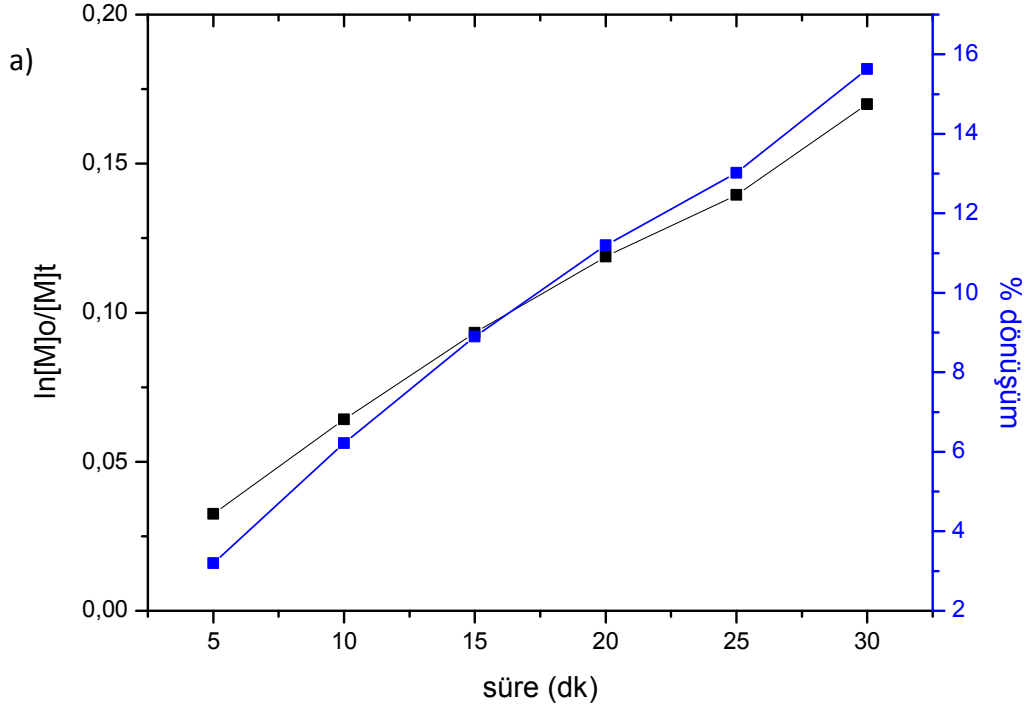
#### 4.1.6 Mikrodalga yöntemi ile DMF'de makroCTA-poli(HPMA) sentezi

Çözücü olarak metanolün kullanıldığı ve mikrodalga ışıması ile sentezlenen örnek karşılaşılan metanolün buharlaşma durumundan dolayı çözücü değiştirilerek tekrar denenmiştir. Çözücü olarak dimetilformamid (DMF) kullanılarak aynı koşullar altında  $[M]/[CTA]/[I]=800/1/0,33$  oranı denenmiştir.

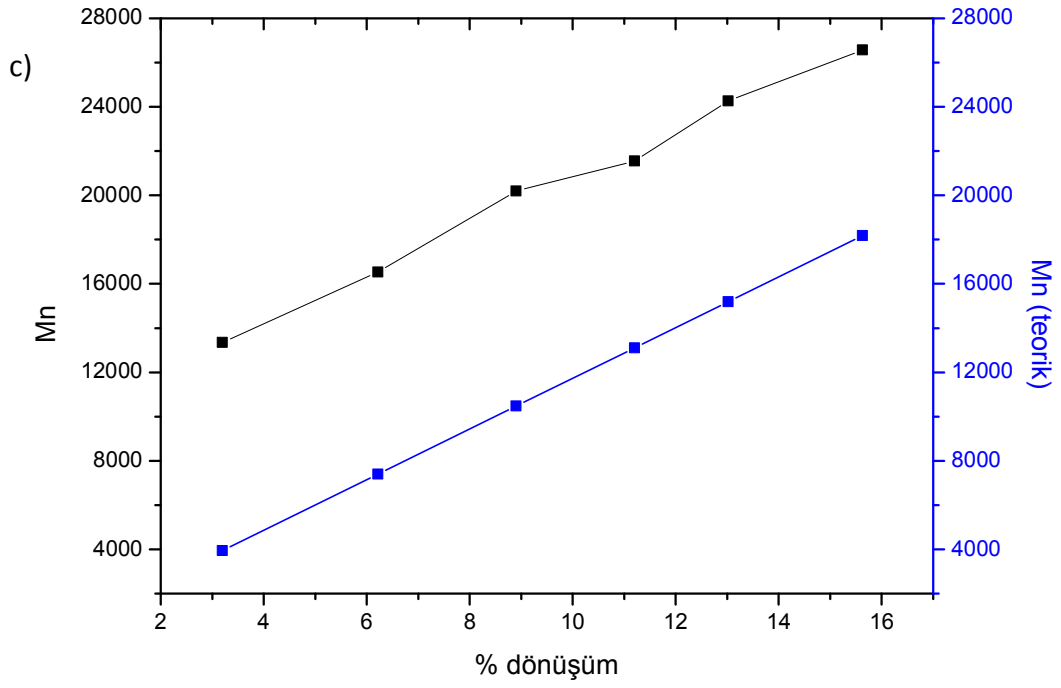
Çizelge 4. 5 Mikroalgada DMF ile sentezlenen  $[M]/[CTA]/[I]=800/1/0,33$

Süre(dk)	% dönüşüm	Mn(teorik)	Mn(deneysel)*	PDI*
5	3,2	3944,56	13358	1,24
10	6,22	7404,02	16535	1,31
15	8,9	10473,8	20191	1,33
20	11,2	13108,31	21555	1,53
25	13,02	15193,01	24259	1,47
30	15,63	18182,6	26564	1,72

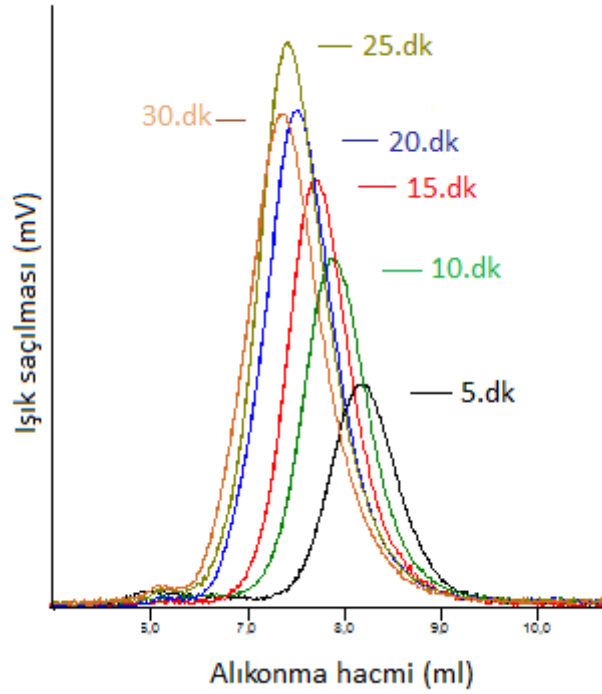
\*: GPC de fosfat tamponunda akıcı faz olarak PBS kullanılan kolon ile elde edilen analiz verileri







Şekil 4. 13 DMF ile mikrodalgada sentezlenen MakroCTA homopolimerin a)reaksiyon kinetiği, b)molekül ağırlığı ve ağırlık dağılımı c)Mn değerlerinin karşılaştırılması



Şekil 4. 14 DMF ile mikrodalgada sentezlenen MakroCTA homopolimerin GPC kromatogramı

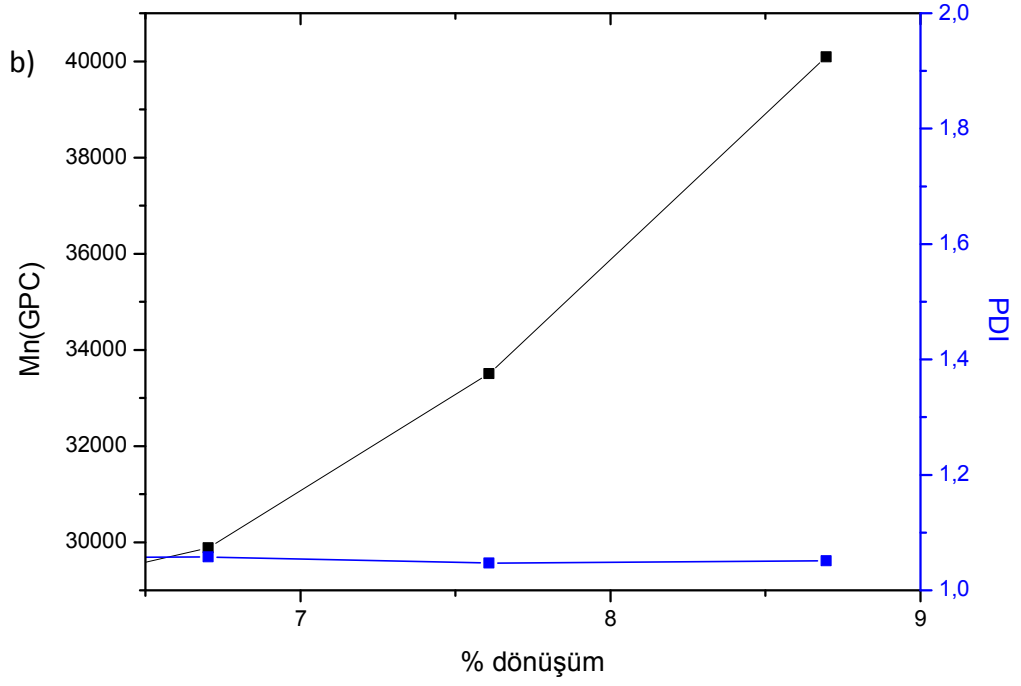
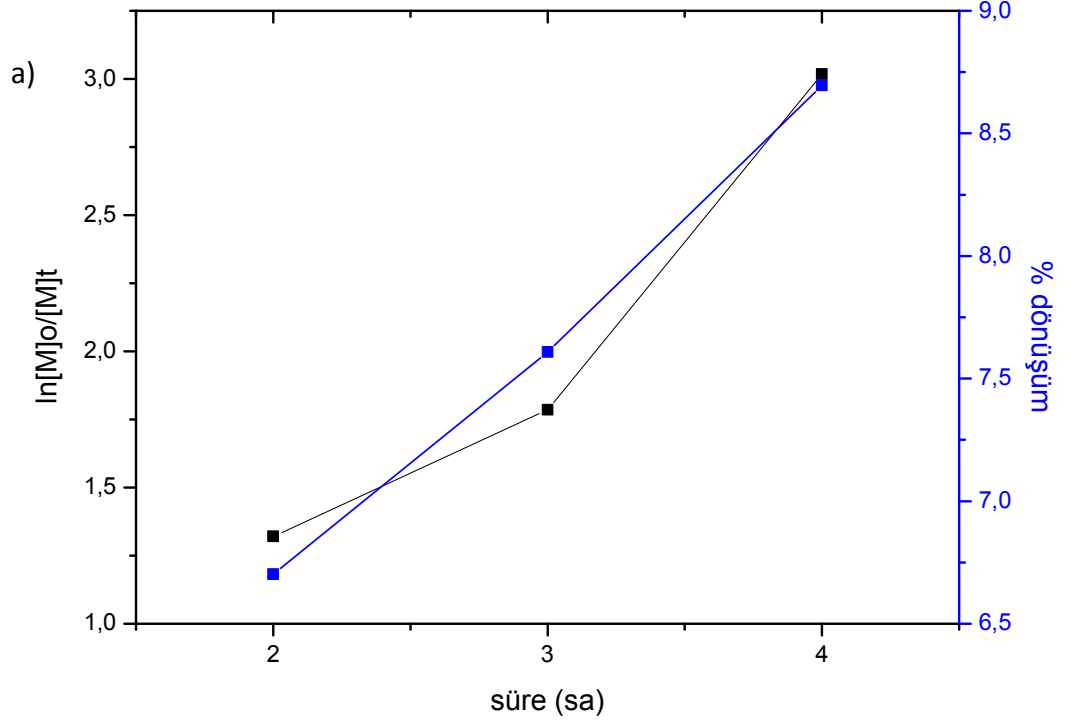
Mikrodalgada çözücü değiştirilerek yapılan sentezde kullanılan DMF ile elde edilen analiz sonuçları Çizelge 4. 5 ve Şekil 4. 13 de verilmektedir. Bu sonuçlardan reaksiyonun kontrollü bir şekilde ilerleyerek molekül ağırlığının dönüşümle birlikte lineer olarak artışı gözlemlenmektedir. Ayrıca Şekil 4.14 de verilen GPC ışık saçılma kromatogramlarından da süre ile birlikte piklerde büyüme ve sola kayma gözlemlenmektedir. Ancak molekül ağırlığında gözlemlenen bu kontrollü artışla birlikte PDI değerinde de süre ile birlikte artış gözlemlenmiştir. Bu da mikrodalga enerjisinin polimer sentezinde uzun sürede sentezlenen bu polimer için olumsuz etki yaratarak PDI indeksi yüksek yani monodispersitesi düşük polimer sentezine neden olmuştur [156].

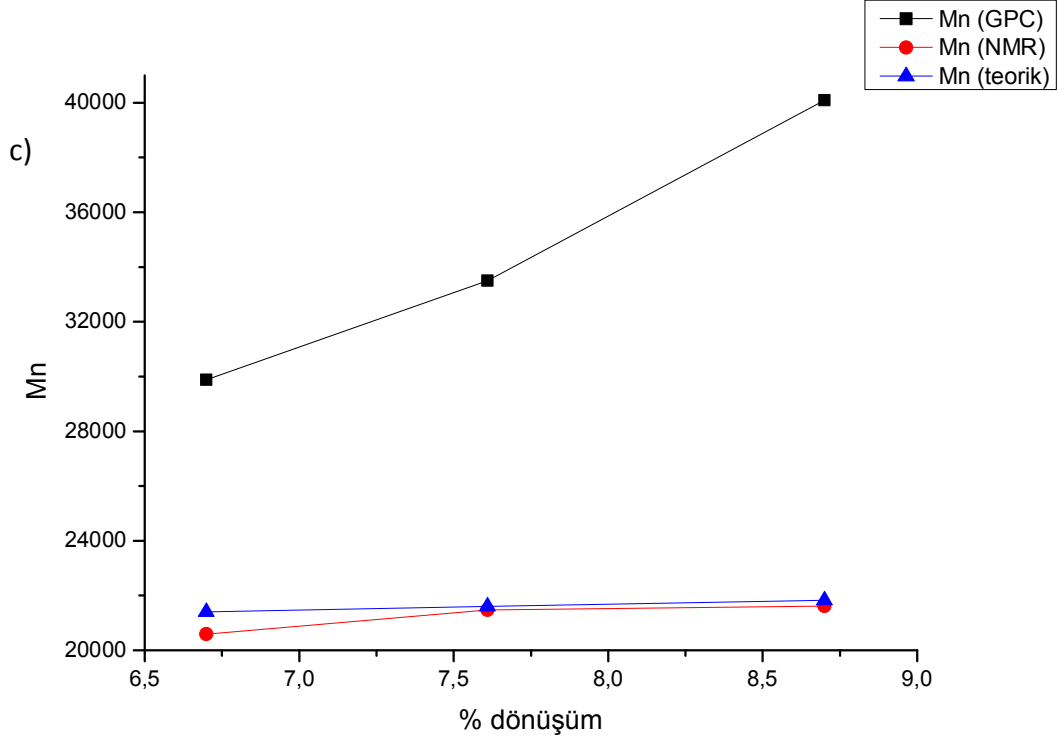
#### 4.2 MakroCTA HPMA ile poli(HPMA-*b*-VP) kopolimerinin sentezi

MakroCTA HPMA homopolimeri sentezlendikten sonra belirli Mn değerlerinde olan örneklerden molekül ağırlığı ~20000 olan homopolimer seçilerek vinilpiridin (VP) monomerlerinin yine kontrollü olarak eklenmesi ile [M]/[CTA]/[I]=200/1/0,2 ve 200/1/0,33 oranlarında kopolimer sentezi yapılmıştır.

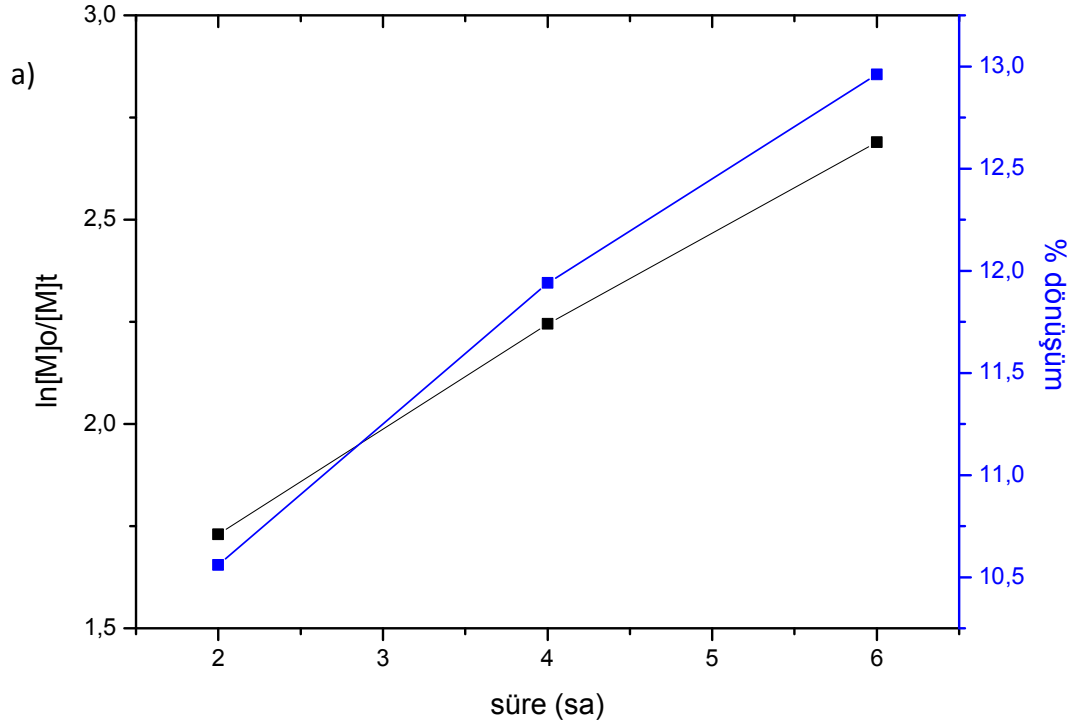
Çizelge 4. 6 HPMA-*b*-VP kopolimerinin deneysel verileri

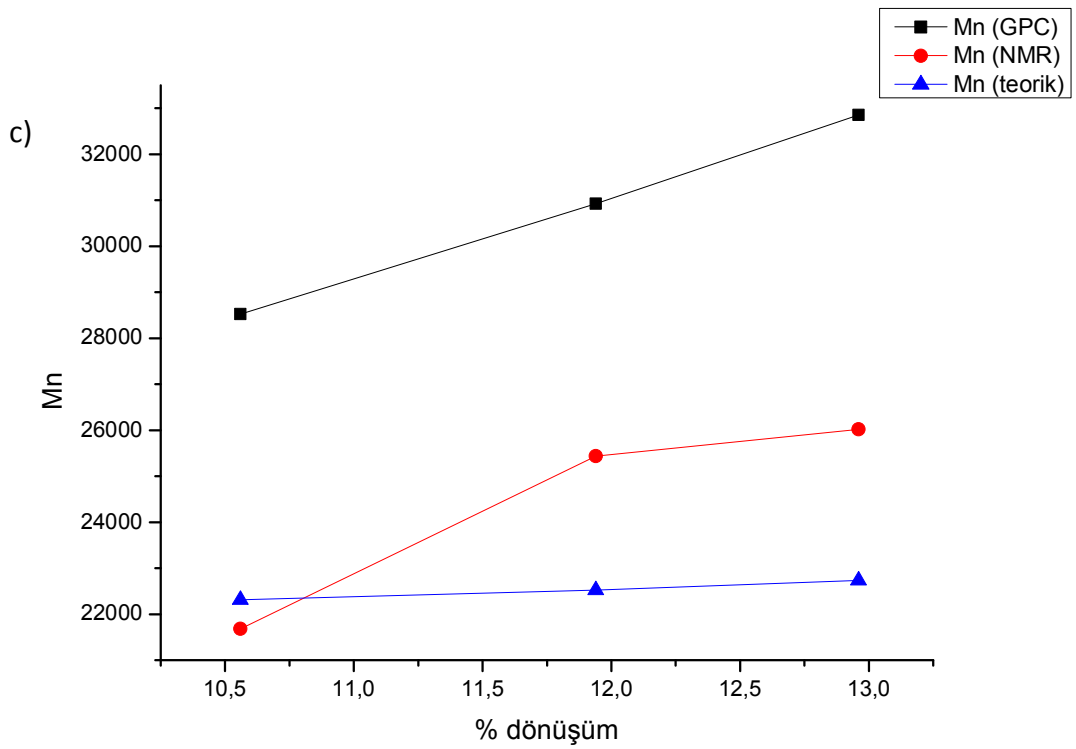
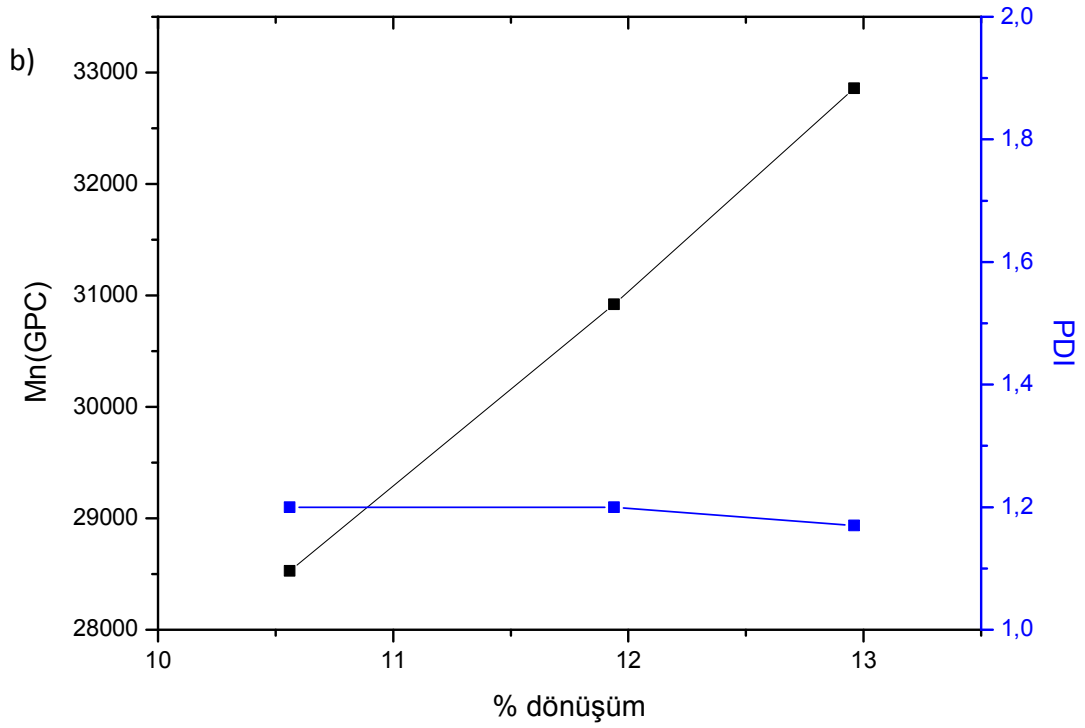
[M]/[CTA]/[I]	süre(sa)	% dönüşüm	Mn(teorik)	Mn(GPC)	Mn(NMR)	PDI
200/1/0,2	2	6,70	21408,90	29885	20587,73	1,058
	3	7,61	21600,23	33506	21468,80	1,047
	4	8,70	21829,44	40091	21614,95	1,051
200/1/0,33	2	10,56	22313	28527	21678,39	1,20
	4	11,94	22523	30921	25433,63	1,20
	6	12,96	22734	32857	26021,24	1,17



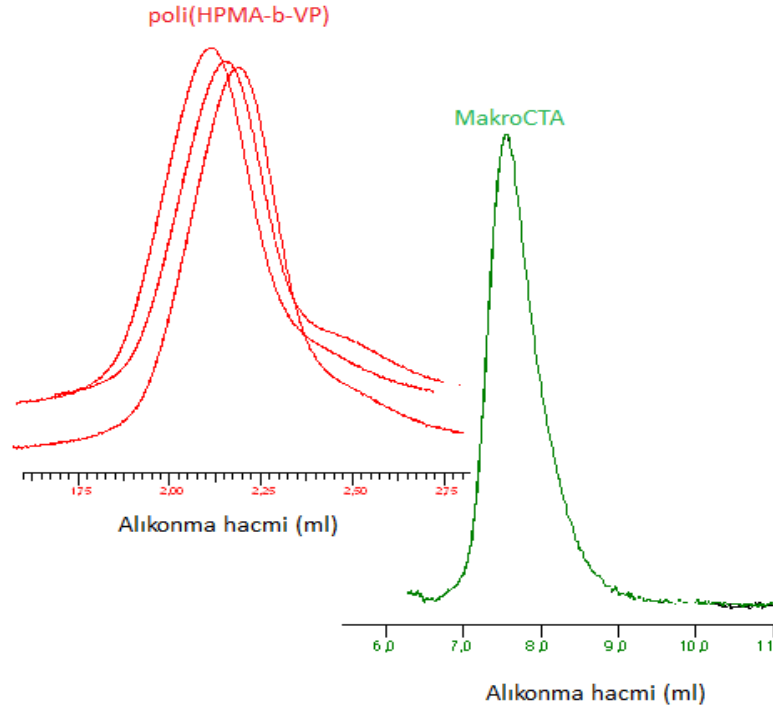


Şekil 4. 15 Sentezlenen 200/1/0,2 oranındaki kopolimerin a)reaksiyon kinetiği, b)Mn değerleri ve moleküler ağırlık dağılımı ve c)farklı yöntemlerle saptanan Mn değerlerinin karşılaştırılması





Şekil 4. 16 Sentezlenen 200/1/0,33 oranındaki kopolimerin a)reaksiyon kinetiği, b)Mn değerleri ve moleküler ağırlık dağılımı ve c)farklı yöntemlerle saptanan Mn değerlerinin karşılaştırılması

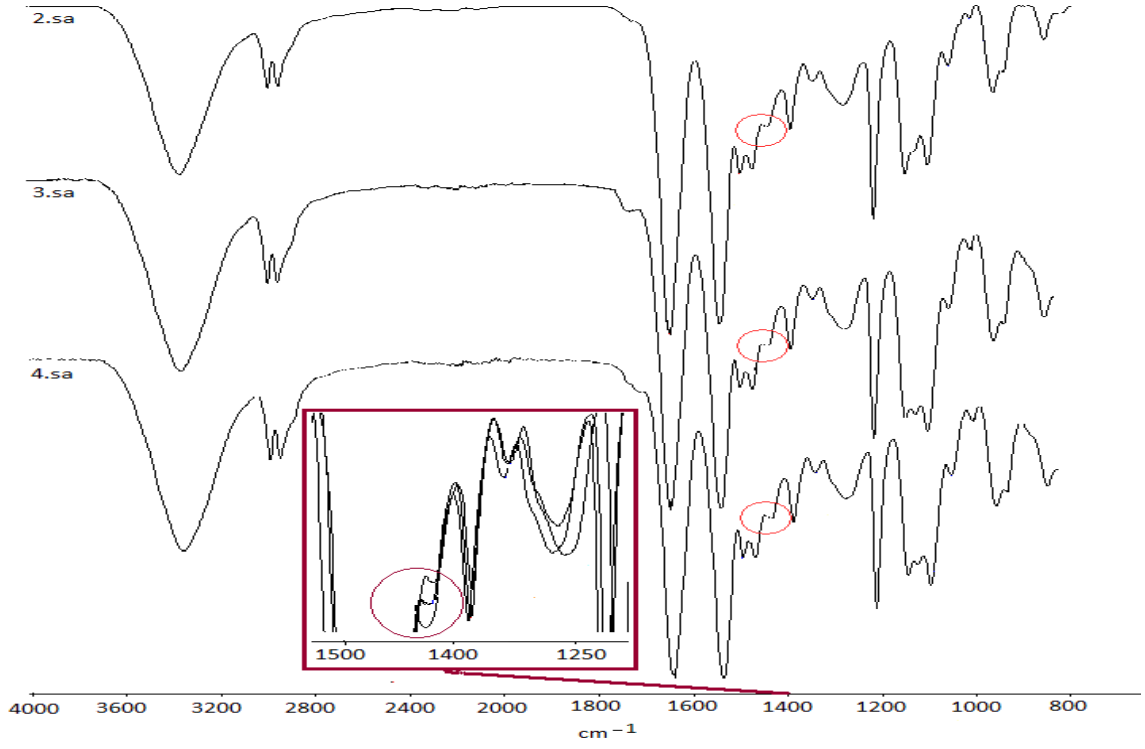


Şekil 4. 17 200/1/0,2 oranında sentezlenen poli(HPMA-b-VP) ve makroCTA'nın GPC kromatogramları

Önceden sentezlenen inaktif durumdaki makroCTA homopolimer kullanılarak poli(HPMA-b-VP) kopolimeri makroCTA'nın yaşayan özelliğinden faydalanılarak kontrollü bir biçimde sentezlenmiştir. Kopolimerizasyon işleminin kontrollü olarak ilerlediği Çizelge 4. 6 ve Şekil 4. 15 ve 4. 16'dan gözlemlenebilmektedir. Ayrıca GPC ile saptanan,  $M_n$  değerleri yanında Çizelge 4. 6' da gravimetrik ve  $^1\text{H-NMR}$  yöntemleri ile hesaplanan  $M_n$  değerleri de yer almaktadır ve elde edilen sonuçlardan teorik olarak saptanan değer ile  $^1\text{H-NMR}$  spektrumlarından elde edilen değerlerin birbirine yakın olduğu gözlemlenmektedir.

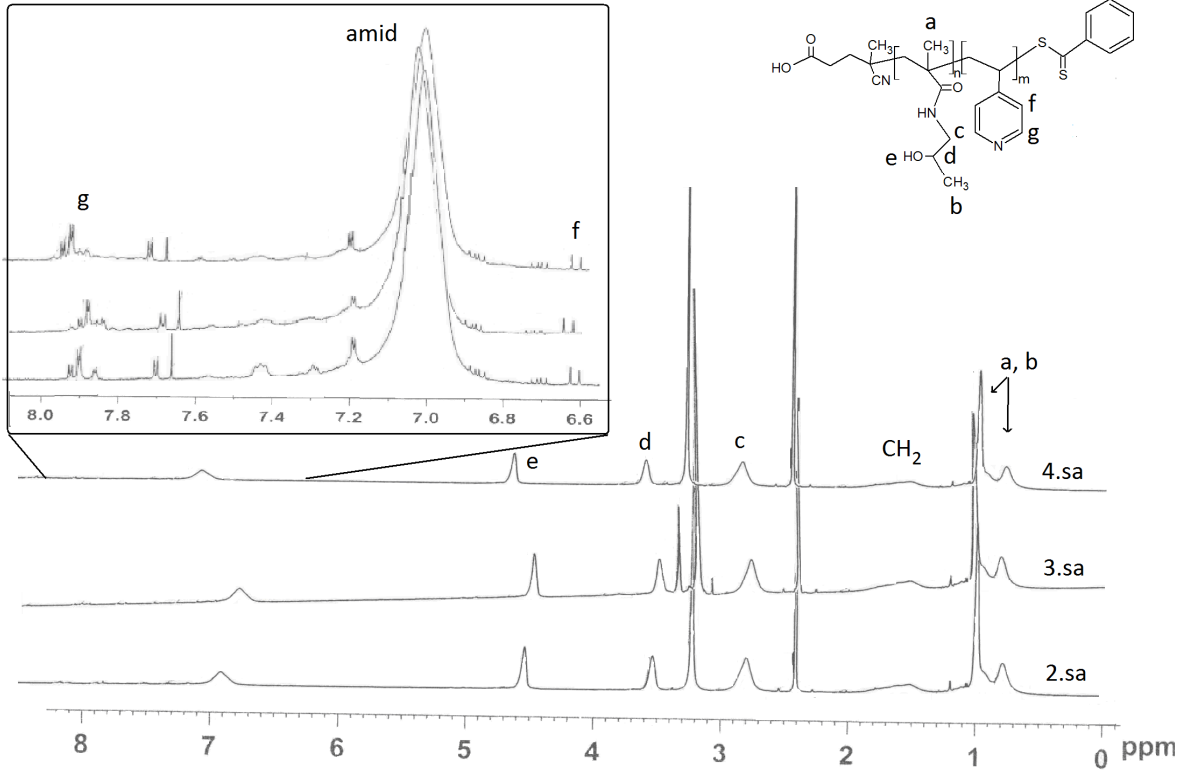
#### 4.3 Poli(HPMA-b-VP) kopolimerinin kimyasal yapı analizi

Sentezlenen kopolimerlerin kimyasal olarak FT-IR ve  $^1\text{H-NMR}$  ile yapılan analiz sonuçlarında da vinilpiridine ait fonksiyonel gruplar aranarak, yapı analizi yapılmıştır.



Şekil 4. 18 200/1/0,2 oranındaki kopolimerin 2,3 ve 4. saat IR spektrumu

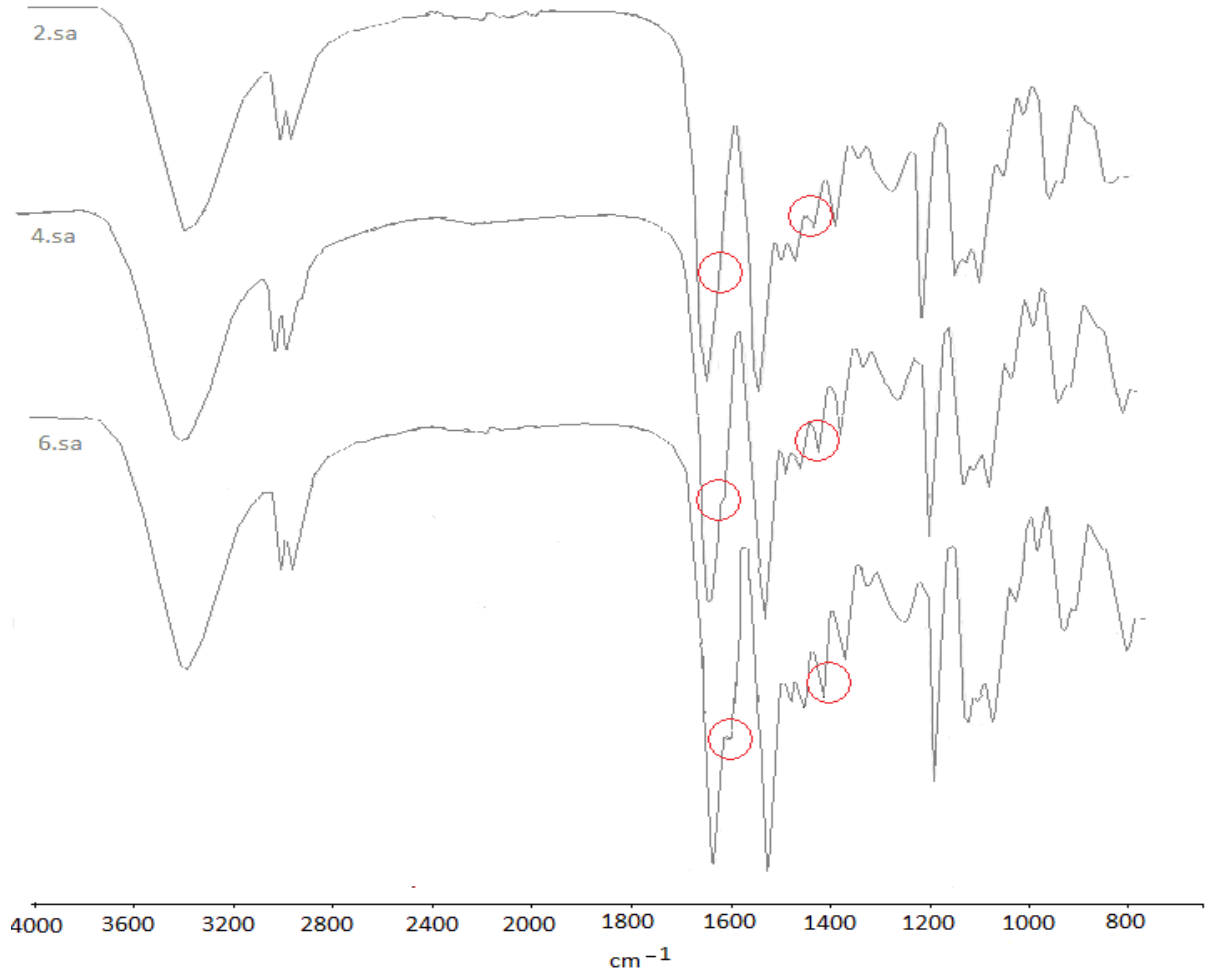
200/1/0,2 oranındaki poli(HPMA-b-VP) kopolimerinin Şekil 4. 18 de verilen FT-IR spektrumundan  $1420\text{ cm}^{-1}$  de görülen vinilpiridin karakteristk pikinin şiddetinin süre ile birlikte arttığı gözlenmektedir. Bu da yapıda vinilpiridin oranının süreyle arttığına göstergesidir.



Şekil 4. 19 200/1/0,2 kopolimerin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

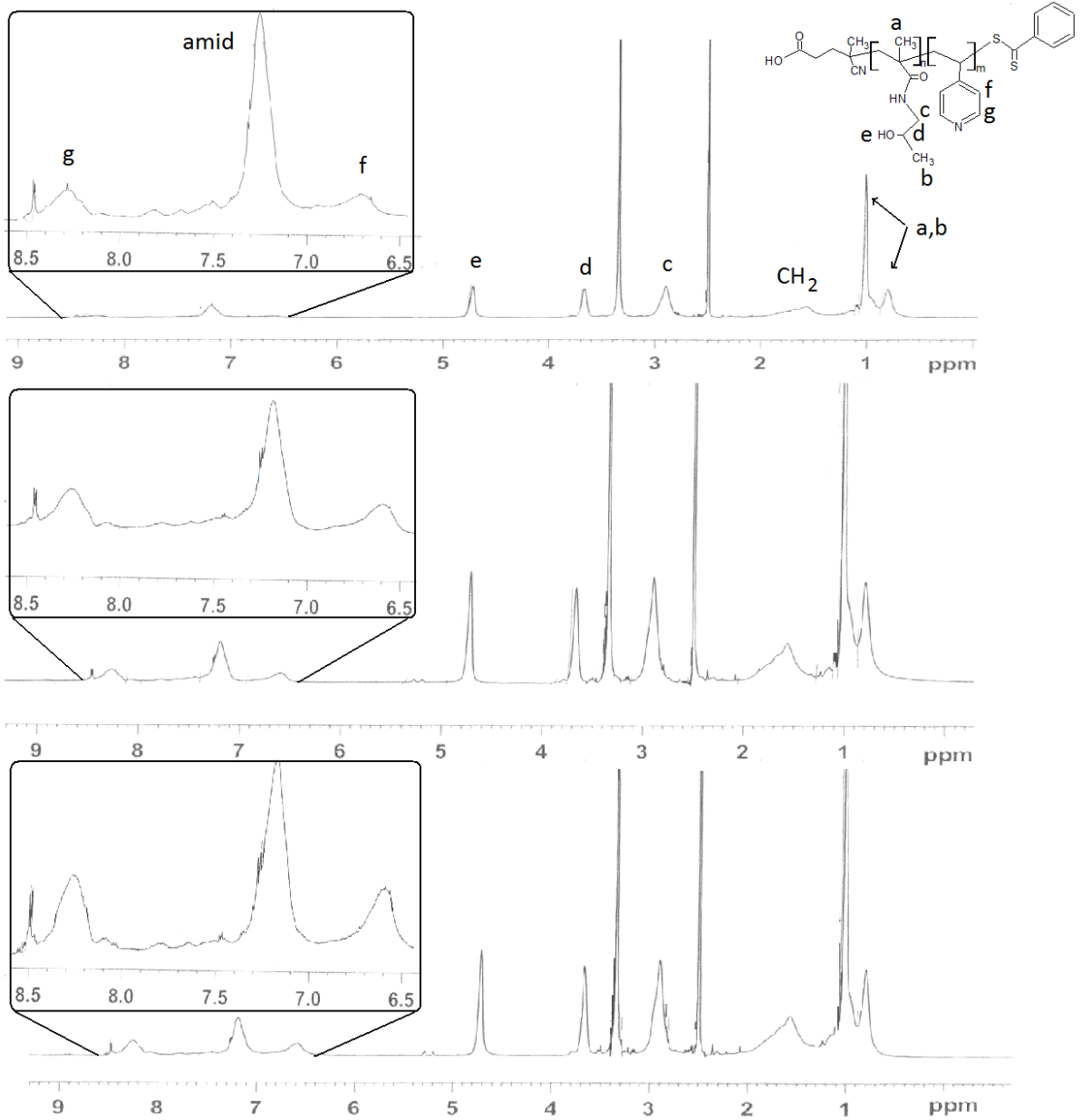
Şekil 4. 19'da verilen <sup>1</sup>H-NMR spektrumunda da 6,5-6,6 ppm ve 8,0-8,6ppm arasında görülen vinilpiridin piklerinden yapıda HPMA'ya oranla daha az miktarda vinilpiridin bulunduğu gözlemlenmektedir.





Şekil 4. 20 200/1/0,33 oranında sentezlenen kopolimerin FT-IR spektrumu

Kopolimere ait Şekil 4. 20'de verilen FT-IR spektrumundan  $1420\text{ cm}^{-1}$  ve  $1600\text{ cm}^{-1}$  de piridin halkasına ait piklerin şiddetinde zamanla birlikte artış görülmektedir. 200/1/0,33 oranında sentezlenen kopolimerde 200/1/0,2 oranında sentezlenen polimere göre piklerinin şiddetlerindeki artışın daha fazla olduğu da gözlemlenen sonuçlardan bir diğeridir.

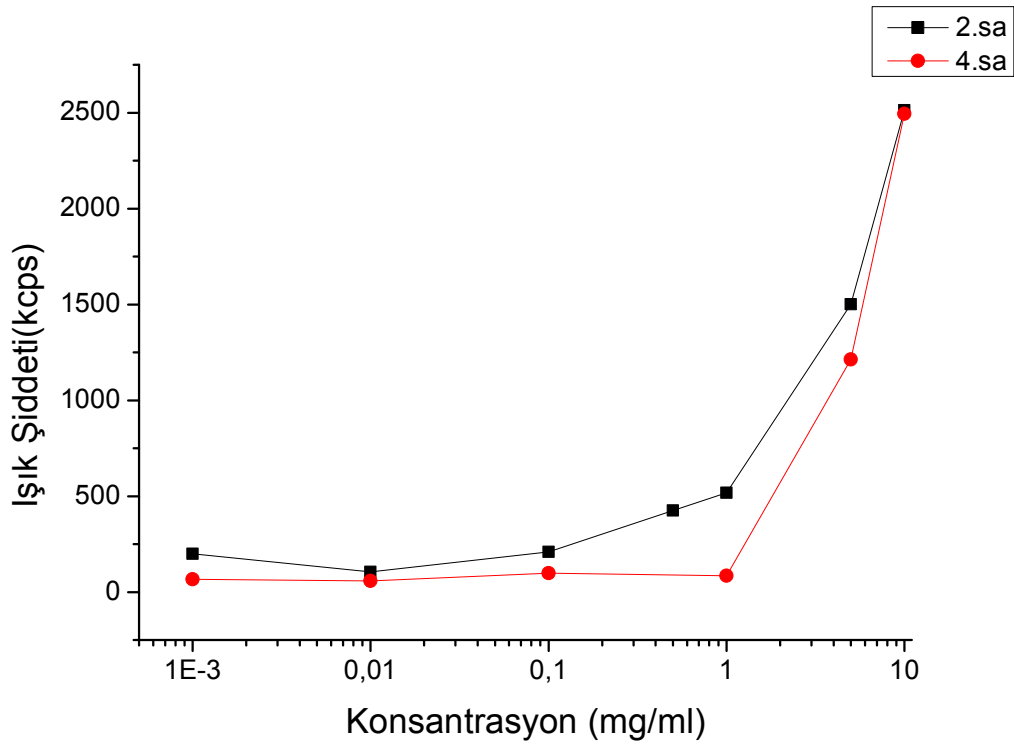


Şekil 4. 21 200/1/0,33 oranındaki kopolimerin <sup>1</sup>H-NMR spektrumları a)2.sa, b)4.sa ve c)6.sa

Sentezlenen 200/1/0,33 oranındaki kopolimerin Şekil 4.21 de verilen <sup>1</sup>H-NMR spektrumundan da 6,5-7,0ppm ve 8,0-8,5ppm arasında görülen vinilpiridinin piridin halkasına ait piklerdeki artıştan yapıda bulunduğu ve zamanla arttığı gözlemlenmektedir [157]. Bu piklerin yanında CTA ajanına ait piklerde 7,4-7,8ppm arasında gözlemlenmektedir. Bu da yapıda zincir ucunda RAFT ajanlarının varlığını koruduğunu göstermektedir.

#### 4.4 Kopolimerin Misel Oluşturma Kabiliyetinin İncelenmesi

Sentezlenen kopolimerin yapısında bulundurduğu hidrofilik ve hidrofobik gruplardan dolayı misel oluşturabilen yapıda olduğu öngörülmektedir. Bu nedenle içinde bulunduğu çözücüdeki yüzey gerilimini kırarak bir araya gelip misel oluşturabildikleri konsantrasyonun saptanması amacıyla Zetasizer cihazı ile farklı konsantrasyonlarda yapılan analiz sonuçlarından Şekil 4. 22 de görüldüğü gibi CMC değeri, ışık şiddetindeki ani artışın olduğu nokta yani yaklaşık 1mg/ml olarak saptanmıştır.



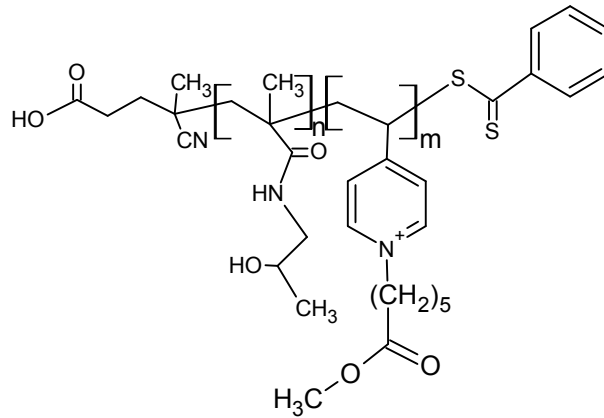
Şekil 4. 22 200/1/0,33 oranında sentezlenen kopolimerin log10 tabanında konsantrasyon değerine karşı ışık şiddeti grafiği.

Yapısında Mn=20000'lik HPMA bulduran kopolimerin farklı saatlerle birlikte farklı VP zincir uzunluğuna sahip örneklerinin CMC grafiklerinden yaklaşık aynı konsantrasyonda misel oluşturmaya başladığı gözlenmektedir.

#### 4.5 Kopolimerin Kuarternleştirilmesi

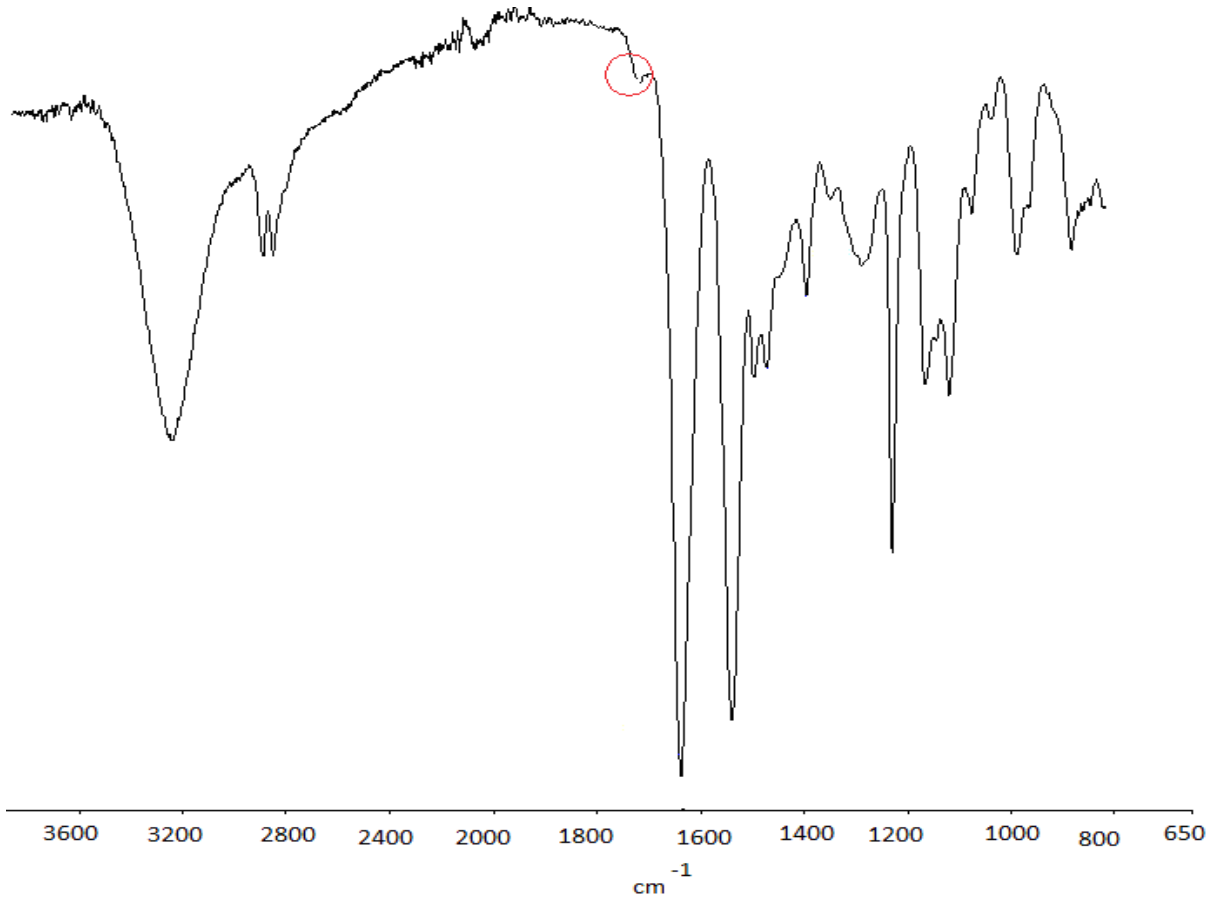
Çalışmada elde edilen kopolimer amfifilk yapısı gereği ilaç taşımada kullanım potansiyeline sahiptir. Bununla birlikte, yapıya kalıcı pozitif yük kazandırıldığında, kopolimerin hem ilaç etkileşim davranışları, misel oluşturma kabiliyetleri değişecek hem de negatif yüklü biyomoleküller ile (DNA gibi) etkileşimi daha rahat sağlanacaktır. Bu nedenle yapıda kalıcı pozitif yük yaratmak amacıyla vinil piridin halkası kuarternleştirilmiştir.

Yapıda bulunan vinilpiridin grubuna alkil halid bağlanması ile yapıda oluşan değişikliği gözlemek için FT-IR spektrumu alınmıştır [158]. Şekil 4. 24 de verilen spektrumdan da görüldüğü gibi yapıdaki C=O ester bağının artması ile  $1700\text{cm}^{-1}$  de bu fonksiyonel gruba ait pik gözlemlenmektedir.



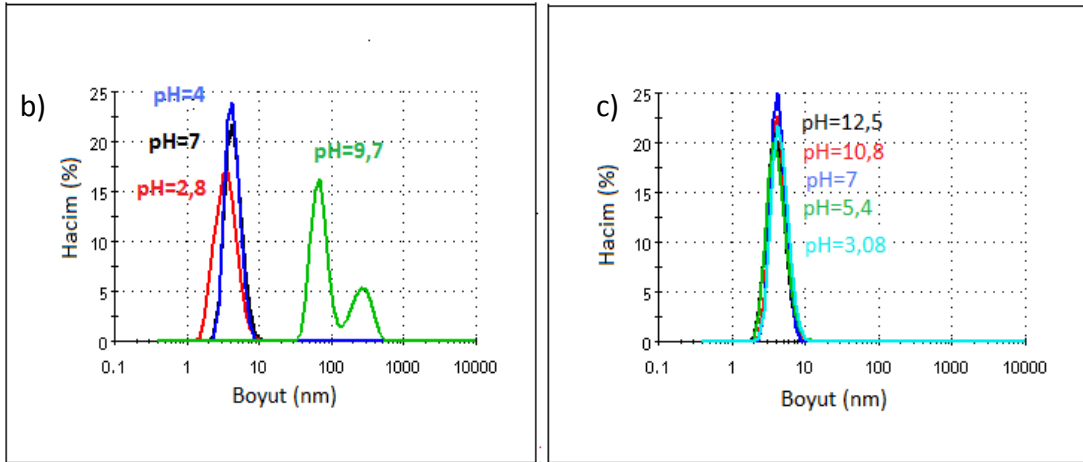
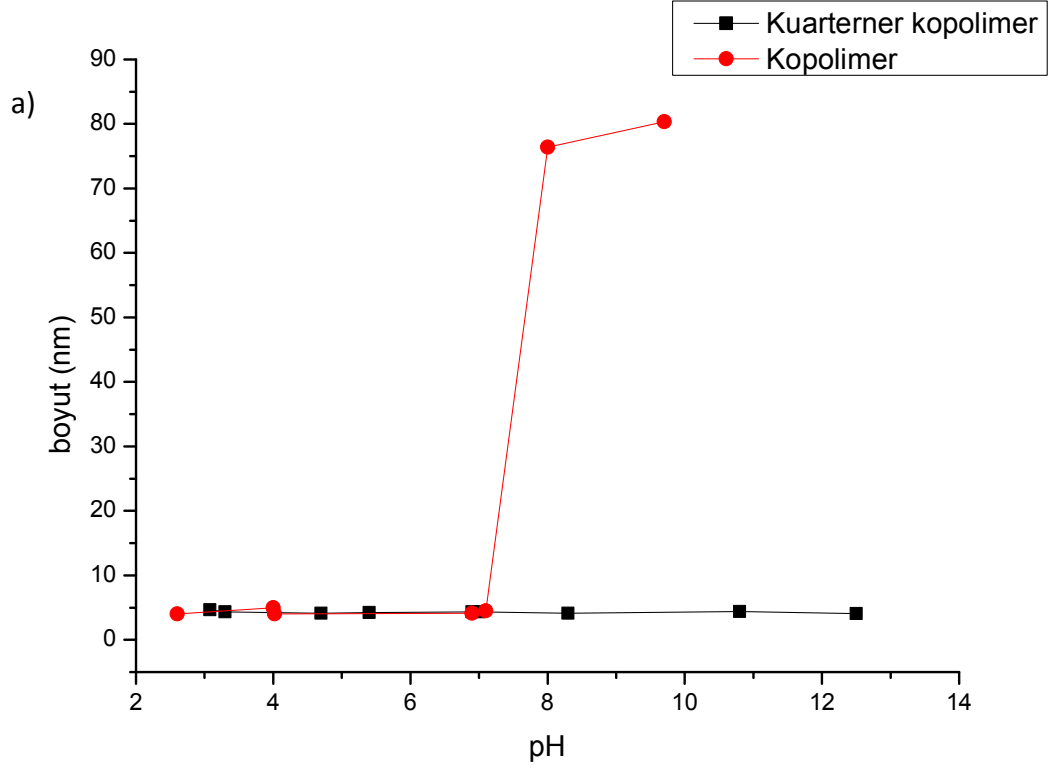
Kuarternler poli(HPMA-b-VP)

Şekil 4. 23 Kuarternleştirilen kopolimerin yapısı



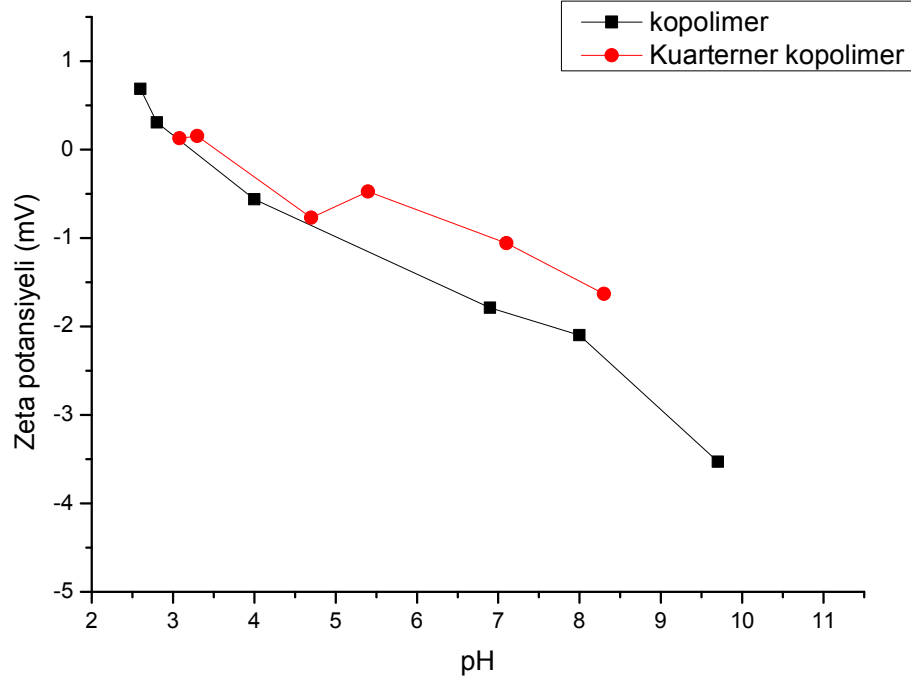
Şekil 4. 24 Kuarternleştirilen örneğin FT-IR analizi

Vinil piridin halkasındaki N atomunun kalıcı olarak 4 bağ yapması ile birlikte kuarternleşme sağlanmıştır ve bu yapıdaki kopolimerin taşıdığı grup neticesinde misel oluşturma kabiliyeti değişmektedir. Bu değişimin gözlemlenmesi amacıyla farklı pH değerlerinde yapılan Zetasizer boyut analizlerinden, Şekil 4. 25 de gözlemlendiği gibi kopolimer misel oluşturma kabiliyetini korurken kuarternleşen örnekte durum farklıdır. Bu durum VP bağının pozitif yüklenmesi sonucu, zincirlerin bir araya gelmesini önlediği ve misel benzeri yapının oluşmadığı şeklinde yorumlanabilir.



Şekil 4. 25 Kopolimer örneklerinin a)pH'a göre boyut değişimi, kopolimer(b) kuarternleştirilen kopolimer(c)'in boyut dağılımları

Kuarternleştirilen örnekteki N atomu kalıcı olarak 4.bağını yaptığı için pozitif yükle yüklenmesi beklenmektedir, bu nedenle kopolimerin farklı pH değerlerinde zeta analizi yapılmıştır. Şekil 4. 26 da verilen grafikte gözlemlendiği gibi kopolimeri belirli pH değerlerinde pozitif hale getirmekle birlikte yükünde bir miktar artış gözlenmektedir.



Şekil 4. 26 Kopolimer ile kuarterner kopolimerin pH'ya göre Zeta potansiyeli değişimi

Tüm bu analiz dataları değerlendirildiğinde sentezlenen poli(HPMA-b-VP) kopolimerinin misel oluşturma kapasitesinden dolayı ideal bir ilaç taşıyıcı sistem olarak düşünülmekte ve bunun ile ilgili çalışmalar devam etmektedir.

#### 4.6 Misele ilaç yükleme çalışmaları

İlaç yükleme yöntemlerinden denenen iki oran olan mikroemülsiyon ve diyaliz yöntemleri ile karvedilol yükleme çalışmaları sonucunda elde edilen veriler Çizelge 4. 7' de verilmiştir.

Çizelge 4. 7 Etken madde yüklenen miselin boyut analizleri

Yöntem	Oran	Misel boyutu(nm)	İlaç yüklendikten sonraki misel boyutu(nm)
Mikroemülsiyon	1:2,5	15	22,69
	1:0,1	15	22,33
	1:0,25	15	7,93
Diyaliz	1:2,5	15	23,56
	1:0,1	15	16,84

Karvedilol yüklendiği düşünölen örenklerin içindeki ilaç miktarlarını saptamak için belirli oranlarda (10 ila 100 katı arasında) seyreltme yapılarak UV spektrometre ile 245nm’de ölçüm yapılmıştır.

UV ile yapılan ölçümlerde ilk örnek 245nm’de belirli bir absorpsiyon verirken metanol ile seyreltilen diğer örneklerde absorpsiyon görülmemektedir. Denenen oranlarda etkili olarak ilaç yüklenme sonuçları elde edilememiştir. Bunun için polimer: ilaç oranı ve çözücüler değiştirilerek denemeye devam edilecektir. Ayrıca ilacın UV’de görülememesinde ikinci bir etmen olarak oda sıcaklığında çözücünün buharlaşma sürecinde ilacın özelliklerini kaybetmiş olabileceği ihtimal dahilinde yer almaktadır.



## SONUÇLAR ve ÖNERİLER

---

Bu çalışmada HPMA monomerinden yola çıkılarak RAFT yöntemi ile önce poli(HPMA) homopolimeri sentezlenmiş daha sonra vinilpiridin ile poli(HPMA-b-VP) kopolimeri elde edilmiştir.

- Poli(HPMA) homopolimerinin elde edilmesinde uygun RAFT ajanı CTA2 olarak saptanmış ve reaksiyonun  $[M]/[CTA]/[I] = 400/1/0,33$ ,  $800/1/0,2$  ve  $800/1/0,33$  oranlarında kontrollü olarak ilerlediği belirlenmiştir.
- Kontrollü polimerizasyonun sağlandığı  $800/1/0,33$  oranında polimer daha detaylı olarak incelenmiş ve dönüşümle birlikte  $M_n$  değerinin lineer olarak arttığı ve düşük polidispersiteli polimerler elde edilmiştir.
- Geleneksel ısıtma yöntemi ile gerçekleştirilen reaksiyon mikrodalga ısıtma sistemi kullanılarak iki farklı çözücünde gerçekleştirilmiştir. Çözücü olarak metanol ve DMF'in kullanıldığı sistemlerde metanolde daha düşük PDI değerleri elde edilirken DMF'de  $M_n$  değerinin dönüşümle daha lineer olarak arttığı gözlemlenmiştir. Bu da çözücü seçiminin reaksiyon ilerlemesi ve sentezlenen polimerin kalitesi üzerindeki etkisini göstermektedir. Mikrodalga ısıtmanın da uzun sürelerde polimer üzerinde bozucu etki gösterdiği anlaşılmıştır.
- RAFT yöntemi ile sentezlenen  $20000 M_n$ 'li homopolimer örneği zincir uçlarında taşıdığı RAFT ajanına ait R ve Z fonksiyonel grupları sayesinde makroCTA olarak kullanılmış  $[M]/[CTA]/[I]=200/1/0,2$  ve  $200/1/0,33$  oranlarında reaksiyona sokularak poli(HPMA-b-VP) kopolimeri sentezlenmiştir.
- Yapılan denemelerden oran değişiminin polimer sentezi üzerindeki etkisi GPC,FT-IR ve  $^1H$ -NMR analizlerinden belirlenmiştir.

- Sentezlenen kopolimerin vinilpiridin bloğundaki piridin halkalarında bulunan N atomunun bir kısmı alkil halidler ile reaksiyona sokularak pozitif yüklü hale getirilmiş bunun sonucunda da kopolimerin yükünde pozitif yönde bir artış gözlemlenmiştir. Bu da sentezlenen kopolimeri DNA taşınmasında potansiyel hale getirmektedir.
- Sentezlenen amfifilik özellikteki kopolimerin misel oluşturma potansiyeli gösterdiği belirlenmiş ve saptanan CMC konsantrasyonunda hidrofobik ilaç olan karvedilol ile ilaç yükleme çalışmaları yapılmıştır.
- Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde yapılan bu yüksek lisans çalışmasının, ilaç/ gen taşıma ve hedefleme uygulamalarında kullanılabilecek alternatif ve özgün bir polimer olan poli(HPMA-b-VP) amfifilik kopolimerinin RAFT yöntemi ile düşük PDI değerlerinde ve istenilen Mn değerinde sentezlenebileceği tespit edilmiştir.

## KAYNAKLAR

- 
- [1] Jeong J.H., Kim S.W. ve Park T.G.,(2007). "Molecular design of functional polymers for gene therapy", *Progress in Polymer Science*, 32:1239-74.
  - [2] Marshall E., (1999). "Clinical trials: gene therapy death prompts review of adenovirus vector", *Science*, 286: 2244–5.
  - [3] Marshall E., (2000)."FDA halts all gene therapy trials at Penn.", *Science*, 287: 565-7.
  - [4] Marshall E., (2002). "Clinical research. Gene therapy a suspect in leukemia-like disease", *Science*, 298: 34-5.
  - [5] Kaiser J., (2003). "Gene therapy. Seeking the cause of induced leukemias in X-SCID trial", *Science*, 299, 495.
  - [6] Pişkin E., Dincer S. ve Turk M., (2004). "Gene delivery: intelligent but just at the beginning", *Journal of Biomaterials Science-Polymer Edition*, 15(9): 1181-202.
  - [7] Kataoka K., Yokoyama M., Kwon G.S., Okano T. ve Sakurai Y., (1993). "Block copolymer micelles as vehicles for drug delivery", *Journal of Controlled Release*, 24: 119-32.
  - [8] Kataoka K., Harada A. Ve Nagasaki Y., (2001). "Block copolymer micelles for drug delivery: design, characterization and biological significance", *Advanced Drug Delivery Reviews*, 47: 113-31.
  - [9] Allen C., Maysinger D. ve Eisenberg A., (1999). "Nano-engineering block copolymer aggregates for drug delivery", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 16: 3–27.
  - [10] Kwon G.S. ve Kataoka K., (1995). "Block copolymer micelles as long-circulating drug vehicles", *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 16: 295-309.
  - [11] Yokoyama M., Okano T., Sakurai Y., Suwa S. ve Kataoka K., (1996). "Introduction of cisplatin into polymeric micelle", *Journal of Controlled Release*, 39: 351-6.
  - [12] Nishiyama N., Yokoyama M., Aoyagi T., Okano T., Sakurai Y. ve Kataoka K., (1999). "Preparation and characterization of self-assembled polymer–metal complex micelle from cis-dichlorodiammineplatinum(II) and poly(ethylene

- glycol)–poly( $\alpha,\beta$ -aspartic acid) block copolymer in an aqueous medium”, *Langmuir*, 15: 377-83.
- [13] Nishiyama N., Kato Y., Sugiyama Y. ve Kataoka K., (2001). “Cisplatin-loaded polymer–metal complex micelle with time-modulated decaying property as a novel drug delivery system”, *Pharmaceutical Research*, 18: 1035-41.
- [14] Harada A. ve Kataoka K., (1995). “Formation of polyion complex micelles in an aqueous milieu from a pair of oppositely-charged block copolymers with poly(ethylene glycol) segments”, *Macromolecules*, 28: 5294-9.
- [15] Kabanov A.V., Bronich T.K., Kabanov V.A., Yu K. ve Eisenberg A., (1996). “Soluble stoichiometric complexes from poly(N-ethyl-4-vinylpyridium) cations and poly(ethyleneoxide)-block-polymethacrylate anions”, *Macromolecules* 29: 6797-802.
- [16] Kakizawa Y. ve Kataoka K., (2002) “Block copolymer micelles for delivery of gene and related compounds”, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54: 203-22.
- [17] Kataoka K., Togawa H., Harada A., Yasugi K., Matsumoto T. ve Katayose S., (1996). “Spontaneous formation of polyion complex micelles with narrow distribution form antisense oligonucleotide and cationic block copolymer in physiological saline”, *Macromolecules*, 29: 8556-7.
- [18] Woflert M.A., Schacht E.H., Toncheva V., Ulbrich K., Nazarova O. ve Seymour L.W., (1996). “Characterization of vector for gene therapy formed by self-assembly of DNA with synthetic block co-polymers”, *Human Gene Therapy*, 7: 2123-33.
- [19] Katayose S. ve Kataoka K., (1997). “ Water-soluble polyion complex associates of DNA and poly(ethylene glycol)-poly(L-lysine) block copolymer”, *Bioconjugate Chemistry*, 8: 702-7.
- [20] Katayose S. ve Kataoka K., (1998). “ Remarkable increase in nuclease resistance of plasmid DNA through supramolecular assembly with poly(ethylene glycol)–poly(L-lysine) block copolymer”, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 87: 160-3,
- [21] Twan L., (2010). “Improving the efficacy of combined modality anticancer therapy using HPMA copolymer-based nanomedicine formulations”, *Advanced Drug Delivery Reviews* 62: 203–230.
- [22] Dinçer S., Oskay E.K., Piskin A.K., Zeybek N.D. ve Piskin E., (2010). “Growth inhibition of SK-MEL-30 human melanoma cells by antisense c-myc oligonucleotides delivered by poly(N-isopropylacrylamide)/poly(ethyleneimine) copolymer”, *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 4 (4): 284-90.
- [23] Türk M., Dincer S. ve Piskin E., (2007). “Smart and cationic poly(NIPA)/PEI block copolymers as non-viral vectors: in vitro and in vivo transfection studies”, *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 1(5): 377-88.

- [24] Türk M., Dinçer S., Yuluğ I.G. ve Pişkin E., (2004). "In vitro transfection of HeLa cells with temperature sensitive polycationic copolymers", *Journal of Controlled Release*, 96: 325.
- [25] Ali M., (2006). "Brocchini S., Synthetic approaches to uniform polymers, *Advanced Drug Delivery Reviews*", 58 (15): 1671-87,
- [26] Boyer C., Bulmus V., Davis T.P., Admiral V., Liu J. ve Perrier S., (2009). "Bioapplications of RAFT Polymerization", *Chemical Reviews*, 109: 5402–36.
- [27] Chiefari J., Chong Y.K., Ercole F., Krstina J., Jeffery J., Le T.P.T., Mayadunne R.T.A., Meijs G.F., Moad C.L., Moad G., Rizzardo E. ve Thang S.H., (1998). "Living Free-Radical Polymerization by Reversible Addition–Fragmentation Chain Transfer: The RAFT Process", *Macromolecules*, 31(16): 5559-62.
- [28] 45.06 Haziran 2010 tarihi itibarıyla Science Citation Index veritabanına göre ilgili makaleye 1593 adet atıf bulunmaktadır.
- [29] Allison B.C., Applegate B.M. ve Youngblood J.P., (2007). "Hemocompatibility of Hydrophilic Antimicrobial Copolymers of Alkylated 4-Vinylpyridine", *Biomacromolecules*, 8: 2995-9.
- [30] Stratton T.R., Rickus J.L. ve Youngblood J.P., (2009). "In Vitro Biocompatibility Studies of Antibacterial Quaternary Polymers", *Biomacromolecules*, 10: 2550–5.
- [31] Borchert U., Lipprandt U., Bilanz M., Kimpfler A., Rank A., Peschka-Süss R., Schubert R., Lindner P. ve Förster S., (2006). "pH-Induced Release from P2VP-PEO Block Copolymer Vesicles", *Langmuir*, 22: 5843-7.
- [32] Juan A.S., Letourneur D. ve Izumrudov V.A., (2007). "Quaternized Poly(4-vinylpyridine)s as Model Gene Delivery Polycations: Structure-Function Study by Modification of Side Chain Hydrophobicity and Degree of Alkylation", *Bioconjugate Chemistry*, 18:922-8.
- [33] Li Y.-Y., Dai Y., Zhang X.-Z. ve Zhuo R.-X., (2008). "The tuned-morphology studies of the complexes between poly(N-isopropylacrylamide)-b-poly(vinylpyridine) and poly(N-isopropylacrylamide-co-hydroxyethyl methacrylate)-b-poly(vinylphenol)", *Journal of Colloid and Interface Science*, 328: 211–5.
- [34] Martin T.J., Prochazka K., Munk P. ve Webber S.E., (1996). "pH-Dependent micellization of poly(2-vinylpyridine)-block-poly(ethylene oxide)", *Macromolecules*, 29: 6071-3.
- [35] Zeng J., Shi K., Zhang Y., Sun X., Deng L., Guo X., Du Z. ve Zhang B., (2008). "Synthesis of poly(N-isopropylacrylamide)-b-poly(2-vinylpyridine) block copolymers via RAFT polymerization and micellization behavior in aqueous solution", *Journal of Colloid and Interface Science*, 322: 654–9.
- [36] Izumrudov V.A., Domashenko N.I., Zhiryakova M.V. ve Davydova O.V., (2005). "Interpolyelectrolyte reactions in solutions of polycarboxybetaines, 2: influence of alkyl spacer in the betaine moieties on complexing with polyanions", *Journal of Physical Chemistry B*, 109: 17391-9.

- [37] David A., (2010). "Carbohydrate-based Biomedical Copolymers for Targeted Delivery of Anticancer Drugs" , *Isr. J. Chem.* 50: 204 – 219.
- [38] Maeda H., Wu J., Sawa T., Matsumora Y. ve Hori K., J.,( 2000). *Controlled Release* , 65: 271.
- [39] Ulbrich K. ve SUBR V., (2000). "Polymeric drugs based on conjugates of synthetic and natural macromolecules I. Synthesis and physico-chemical characterisation " , *Journal of Controlled Release* 64: 63–79.
- [40] Ofek P. ve Miller K.,(2010) "Design of Multifunctional Polymer Therapeutics for Cancer Theranostics" , *Isr. J. Chem.* 50: 185 – 203.
- [41] Etrych T. ve Sirova M., (2008). "HPMA Copolymer Conjugates of Paclitaxel and Docetaxel with pH-Controlled Drug Release", *Molecular Pharmaceutics*, 7: 1015–1026.
- [42] Szwarc, M., Levy, M. ve Milkowich, R. , (1956). "Polymerization Initiated By Electron Transfer To Monomer. A New Method Of Formation Of Block Polymers", *J. Am. Chem. Soc.*, 78(11): 2656-2657
- [43] Szwarc, M., (1956)" *Living Polymers*", *Nature*, 176: 1168.
- [44] IUPAC Gold Book. <http://goldbook.iupac.org/L03597.html>, (Haziran 2009).
- [45] Szwarc, M. , (1992).*Makromol. Chem. Rapid Commun.*, 13:141.
- [46] Matyjaszewski, K. ve Müller, A.H.E. (1987) *Polym. Prepr.*, 38(1):6.
- [47] Edited by Axel H.E. Muller and Krzysztof Matyjaszewski, (2009)," *Controlled and Living Polymerizations*" WILEY-VCH
- [48] a) G. Moad ve D. H. Solomon, (1995). "The Chemistry of Free Radical Polymerization, Oxford", Elsevier,; b) K. Matyjaszewski ve S. G. Gaynor, (2000), in *Applied Polymer Science*, C. D. Craver and C. E. Carraher, Jr., Pergamon Press, Oxford , 929.
- [49] M. Szwarc, (1968). "Carbanions, Living Polymers and Electron Transfer Processes", *Interscience: New York*.
- [50] H. L. Hsieh ve R. P. Quirk,( 1996). "Anionic Polymerization, Principles and Practical Applications". *MarcelDekker, New York*.
- [51] Matyjaszewski K., (1996). "Cationic Polymerizations: Mechanisms, Synthesis and Applications". *MarcelDekker: New York*.
- [52] Webster, O.W., (1991)." *Living Polymerization Methods*", *Science*, 251(4996): 887-893.
- [53] a) R. Quirk ve B. Lee, (1992). *Polym. Int.* 27: 359; b) K. Matyjaszewski, (1995). *J. Phys. Org. Chem.* 8: 197.
- [54] K. Matyjaszewski ve C.-H. Lin, (1991). *Makromol. Chem. Macromol. Symp.* 47: 221.
- [55] G. Litvinienko and A. H. E. Muller, (1997)., *Macromolecules* 30: 1253.

- [56] K. Matyjaszewski ve A. H. E. Muller, (1997). *Polym. Prepr. (Am. Chem. Soc., Div. Polym. Chem.)* 38(1): 6.
- [57] K. Matyjaszewski, (1994). *J. Macromol. Sci., Pure Appl. Chem.* A31: 989.
- [58] K. Matyjaszewski and P. Sigwalt, (1994). *Polym. Int.* 35: 1.
- [59] K. Matyjaszewski, (2001). *Macromol. Symp.* 174: 51.
- [60] Matyjaszewski, K., (2000). "Controlled/living radical polymerization, progress in ATRP, NMP and RAFT", ACS symposium series 768, Carnegie Mellon University.
- [61] Sugino, Y., Yamamoto, K., Miwa, Y., Sakaguchi, M. ve Shimada, S., (2003), "Controlled grafting of poly(styrene -ran-n-butyl methacrylate) to isotactic polypropylene with nitroxide-mediated polymerization", *epolymers*, 7: 1-8.
- [62] Editorial, (2006), "50 years of living polymerization", *Prog. Polym. Sci.*, 31: 1039-1040.
- [63] Hawker, C. J., Bosman, A.W., ve Harth, E., (2001). "New Polymer Synthesis by Nitroxide Mediated Living Radical Polymerizations", *Chem. Rev.*, 101(12): 3661-3688.
- [64] Georges, M. K., Veregin, R. P. N., Kazmaier, P. M., ve Hamer, G. K. , (1993). "Narrow Molecular Weight Resins by a Free-Radical Polymerization Process", *Macromolecules*, 26(11): 2987-2988.
- [65] Hawker, C. J. , Barclay, G. G., Orellana, A. , Dao, J. , ve Devonport, W. , (1996). "Initiating Systems for Nitroxide-Mediated "Living" Free Radical Polymerizations": Synthesis and Evaluation, *Macromolecules*, 29(16): 5245-5254,
- [66] Kato, M. , Kamigaito, M., Sawamoto, M., ve Higashimura, T., (1995). "Polymerization of Methyl Methacrylate with the Carbon Tetrachloride/Dichlorotris(triphenylphosphine)ruthenium(II)/Methylaluminum Bis(2,6-di-tert-butylphenoxide) Initiating System: Possibility of Living Radical Polymerization", *Macromolecules*, 28(5): 1721-1723.
- [67] Wang, J. S. ve Matyjaszewski, K. , (1995). "Controlled Living Radical Polymerization: Atom Transfer Radical Polymerization in the Presence of Transition-Metal Complexes", *J. Am. Chem. Soc.*, 117(20): 5614-5615.
- [68] Wang, J. S., ve Matyjaszewski, K., (1995). "Controlled/'living' Radical Polymerization. Halogen Atom Transfer Radical Polymerization Promoted by a Cu(I)/Cu(II) Redox Process", *Macromolecules*, 28(23): 7901-7910.
- [69] Percec, V., ve Barboiu, B., (1995). "'Living' Radical Polymerization of Styrene Initiated by Arenesulfonyl Chlorides and CuI(Bpy)<sub>n</sub>Cl", *Macromolecules*, 28(23): 7970-7972.
- [71] Kamigaito, M., T. Ando ve M. Sawamoto, (2001), "Metal-Catalyzed Living Radical Polymerization", *Chem. Rev*, 101: 3689.

- [72] Nanda, A. K. ve K. Matyjaszewski,(2003). "Effect of [PMDETA]/[Cu(I)] Ratio, Monomer, Solvent, Counterion, Ligand, and Alkyl Bromide on the Activation Rate Constants in Atom Transfer Radical Polymerization", *Macromolecules*, 36: 1487.
- [73] Uegaki, H., Y. Kotani, M. Kamigaito ve M. Sawamoto, (1998). "NiBr<sub>2</sub>(Pn-Bu<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-Mediated Living Radical Polymerization of Methacrylates and Acrylates and Their Block or Random Copolymerizations", *Macromolecules*, 31: 6756.
- [74] Haddleton, D. M., C. B. Jasieczek, M. J. Hannon ve A. J. Shooter,( 1997) "Atom Transfer Radical Polymerization of Methyl Methacrylate Initiated by Alkyl Bromide and 2-Pyridinecarbaldehyde Imine Copper(I) Complexes", *Macromolecules*, 30: 2190-2193.
- [75] Chambard, G., B. Klumperman, ve A. L. German,( 2000). "Effect of Solvent on the Activation Rate Parameters for Polystyrene and Poly(butylacrylate) Macroinitiators in Atom Transfer Radical Polymerization", *Macromolecules*, 33: 4417-4421.
- [76] Inoue, Y. ve K. Matyjaszewski,(2004). "New Amine-Based Tripodal Copper Catalysts for Atom Transfer Radical Polymerization", *Macromolecules*,37: 4014.
- [77] A. E. Acar, M. B. Yagci ve L. J. Mathias,(2000). "Adventitious Effect of Air in Atom Transfer Radical Polymerization: Air-Induced (Reverse) Atom Transfer Radical Polymerization of Methacrylates in the Absence of an Added Initiator", *Macromolecules*, 33: 7700-7706.
- [78] Chiefari, J., Chong, Y. K., Ercole, F., Krstina, J., Jeffery, J., Le, T. P. T., Mayadunne, R. T. A., Meijs, G. F., Moad, C. L., Moad, G., Rizzardo, E., ve Thang, S. H. (1998). "Living Free-Radical 122 Polymerization by Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer: The RAFT Process", *Macromolecules*, 31(16): 5559-5562.
- [79] Chong, Y.K., Le, T.P.T., Moad, G., Rizzardo, E., ve Thang, S.H., (1999). "A More Versatile Route to Block Copolymers and Other Polymers of Complex Architecture by Living Radical Polymerization: The RAFT Process", *Macromolecules*, 32(8): 2071-2074.
- [80] Mayadunne, R.T.A., Rizzardo, E., Chiefari, J., Chong, Y.K., Moad, G. ve Thang, S.H., (1999). "Living Radical Polymerization with Reversible Addition-fragmentation Chain Transfer (Raft Polymerization) Using Dithiocarbamates as Chain Transfer Agents", *Macromolecules*, 32 (21): 6977-6980.
- [81] Chiefari, J., Y. K. Chong, F. Ercole, J. Krstina, J. Jeffery, T. P. Le, R. T. Mayadunne, G. F. Meijs, G. Moad, C. L. Moad, E. Rizzardo ve S. H. Thang,( 1998). "Living Free-Radical Polymerization by Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer: The RAFT Process", *Macromolecules*, 31: 5559-5562.
- [82] Moad, G. , J. Chiefari, B. Y. Chong, J. Krstina, R. T. Mayadunne, A. Postma, E. Rizzardo ve S. H Thang,(2000). "Living free radical polymerization with reversible additionfragmentation chain transfer (the life of RAFT)", *Polym. Int.*, 49: 993.



- [83] Moad, G., Y. K. Chong, A. Postma, E. Rizzardo ve S.H.Thang, ( 2005). "Advances in RAFT polymerization: the synthesis of polymers with defined end-groups", *Polymer*,46: 8458-8468.
- [84] Barner-Kowollik, C., T. P. Davis, J. P. A. Heuts, M. H. Stenzel, P. Vana ve M. J. J. Whittaker,(2003). "RAFTing down under: Tales of missing radicals, fancy architectures, and mysterious holes", *Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, 41: 365-375.
- [85] Rizzardo, E. ve Solomon, D. H.,(1979). "A new method of investigating the mechanism of radical polymerization", *Polym. Bull.*, 1: 529–534.
- [86] Moad, G. ve Solomon, D. H.,( 2006). "The Chemistry of Radical Polymerization",Elsevier: Oxford, U.K. 2: 138-140
- [87] Solomon, D. H.; Rizzardo, E. ve Cacioli, P. (1986). "Polymerization process and polymers produced thereby". US4581429, *Chem. Abstr.* 221335: 102.
- [88] Fischer, H. , ( 2001). "The persistent radical effect: A principle for selective radical reactions and living radical polymerizations", *Chem. Rev.*, 101: 3581–3610.
- [89] Shim, S.E., Oh, S., Chang, Y. H., Jin, M.J. ve Choe, S., (2004). "Solvent effect on TEMPO-mediated living free radical dispersion polymerization of styrene", *Polymer*, 45: 4731-4739.
- [90] Cuatrecasas-Diaz, R. , Albores-Velasco, M., Saldivar-Guerra, E. ve Jimenez, F.B. , (2004). "Nitroxide mediated polymerization using diphenyl aza butane N-oxides. A study of electronic effects and of the [nitroxide] / [initiator] ratio on the polymerization control", *Polymer*, 45: 815 – 824.
- [91] Abrol, S., Caulfield, M.J., Qiao G.G. ve Solomon, D.H., (2001). "Studies on microgels. 5. Synthesis of microgels via living free radical polymerization", *Polymer*, 42: 5987 –5991.
- [92] Tunca, U., Karliga, B, Ertekin, S., Ugur, A. L., Sirkecioğlu, O. ve Hizal, G., (2001). "Synthesis of asymmetric difunctional initiators and their use in the preparation of block copolymers via ATRP and SFRP", *Polymer*, 42: 8489 – 8493.
- [93] Ma, W. J., Smith, J. A., McAuley, K.B., Cunningham, B.K. ve Georges, M.K., (2003)." Nitroxide - mediated radical polymerization of styrene in miniemulsion : model studies of alkoxyamine – initiated systems", *Chemical Engineering Science*, 58: 1163 – 1176.
- [94] Hawker, C. J.; Barclay, G. G.; Orellana, A.; Dao, J. ve Devonport, W. ,( 1996). "Initiating systems for nitroxide-mediated " living " free radical polymerizations: Synthesis and evaluation", *Macromolecules*, 29: 5245–5254.
- [95] Hawker, C.J., Bosman, A.W. ve Harth, E., (2001)." New polymer synthesis by nitroxide mediated living radical polymerizations (review)", *Chem.Rev.*, 101 (12): 3661-3688.

- [96] Hawker, C.J. ve Hedrick, J. L., (1995). "Accurate control of chain ends by novel living free – radical polymerization process", *Macromolecules*, 28: 2993 – 2995.
- [97] Georges, M. K. , Veregin, R. P. N. , Kazmaier, P. M. ve Hamer, G. K. , (1993). "Narrow molecular weight resins by a free-radical polymerization process", *Macromolecules*, 26 (11): 2987-2988.
- [98] Miura, Y., Ichikawa, A. ve Taniguchi, I., (2003). "Living radical polymerization of styrene mediated by spiro ring – substituted piperidinyl - N – oxyl radicals. The effect of the spiro rings on the control of polymerization", *Polymer*, 44,:5187 – 5194.
- [99] Connolly, T. J. ve Scaiano, J. C. , (1997). "Reactions of the "stable" nitroxide radical TEMPO relevance to "living" free radical polymerizations and autopolymerization of styrene", *Tetrahedron Letters*, 38 (7): 1133–1136.
- [100] Veregin R. P. N. , Odell P. G., Michalak L. M. ve Georges, M. K. , (1996). "The Pivotal role of excess nitroxide radical in living free radical polymerizations with narrow polydispersity", *Macromolecules*, 29: 2746-2754.
- [101] Matyjaszewski, K. ve Spanswick, J., (2005). "Controlled/living radical polymerization", *Materials Today*, 8: 26-33.
- [102] Haiden, G., Wenyan, H., Dongliang, Z., Fanghong, G., Chunlin, L. ve Yang, Y., (2008). "Studies on the development of branching in ATRP of styrene and acrylonitrile in the presence of divinylbenzene", *Polymer*, 49: 4101-4108.
- [103] Wang, J. S., ve Matyjaszewski, K., (1995). "Controlled/'living' Radical Polymerization. Halogen Atom Transfer Radical Polymerization Promoted by a Cu(I)/Cu(II) Redox Process", *Macromolecules*, 28(23): 7901-7910.
- [104] Wang, J. S. ve Matyjaszewski, K. , (1995). "Controlled Living Radical Polymerization - Atom-Transfer Radical Polymerization in the Presence of Transition-Metal Complexes", *Journal of the American Chemical Society*, 117(20): 5614-5615.
- [105] Kato, M., K. Masami, M. Sawamoto, ve T. Higashimura, (1995). "Polymerization of Methyl Methacrylate with the Carbon Tetrachloride / Dichlorotris-(triphenylphosphine) ruthenium(II) / Methylaluminum Bis(2,6-di-tert-butylphenoxide) Initiating System: Possibility of Living Radical Polymerization", *Macromolecules*, 28: 1721-1723.
- [106] Patten, T. E. ve Matyjaszewski, K., (1998), "Atom Transfer Radical Polymerization and the Synthesis of Polymeric Materials" *Advanced Materials*, 10(12): 901.
- [107] Patten, T.E. ve Matyjaszewski, K., (1999), "Copper(I)-Catalyzed Atom Transfer Radical Polymerization", *Accounts of Chemical Research*, 32(10): 895-903.
- [108] Singleton, D. A., Nowlan, D. T., III, Jahed, N. ve Matyjaszewski, K., (2003). "Isotope effects and the mechanism of atom transfer radical polymerization", *Macromolecules*, 36: 8609-8616.

- [109] Li, I. , Howell, B. A., Matyjaszewski, K., Shigemoto, T., Smith, P. B. ve Priddy, D. B., (1995). "Kinetics of decomposition of 2,2,6,6-tetramethyl-1-(1-phenylethoxy)piperidine and its implications on nitroxyl-mediated styrene polymerization", *Macromolecules*, 28: 6692.
- [110] De Boer, B. , Simon, H.K. , Werts, M .P. L. , Van der Vegte, E. W. ve Hadziioannou, G., (2000). "Living free radical photopolymerization initiated from surface-grafted iniferter monolayers", *Macromolecules*, 33: 349 – 356.
- [111] Luo, N., Hutchison, J. B., Anseth, K. S. ve Bowman, C. N., (2002). "Surface-initiated photopolymerization of poly(ethylene glycol) methyl ether methacrylate on a diethyldithiocarbamate-mediated polymer substrate", *Macromolecules*, 35: 2487-2493.
- [112] Wang, J. S. ve Matyjaszewski, K. , (1995). "Controlled living radical polymerization – Atom transfer radical polymerization in the presence of transition – metal complexes", *J. Am. Chem. Soc.*, 117: 5614-5615.
- [113] a)Gazi M., (2007). "Yeni multi-hidroksi fonksiyonlu polimerlerin sentezi ve seçimli bor bağlayıcı olarak kullanılması", Doktora tezi, İ.T.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul. b) Alemdar N.(2009). "Kontrollü/yaşayan serbest radikal polimerizasyonu ile stirenlenmiş yağ üretimi ", Doktora tezi, İ.T.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [114] Fischer, H., (2001). "The persistent radical effect: A principle for selective radical reactions and living radical polymerizations", *Chem. Rev.*, 101: 3581-3610.
- [115] Vana, P., Davis, T. P. ve Barner-Kowollik, C., (2002). "Easy access to chain-length-dependent termination rate coefficients using RAFT polymerization", *Macromolecular Rapid Communications*, 23: 952-956.
- [116] Tang, W., Tsarevsky, N. V. ve Matyjaszewski, K., (2006), "Determination of Equilibrium Constants for Atom Transfer Radical Polymerization", *Journal of the American Chemical Society*, 128: 1598-1604.
- [117] Andrew Gregory ve Martina H. Stenzel, (2011). "The use of reversible addition fragmentation chain transfer polymerization for drug delivery systems", *Expert Opin. Drug Deliv.* , 8(2):1-33.
- [118] Chiefari, Y. K. Chong, F. Ercole, J. Krstina, J. Jeffery, T. P. Le, R. T. A. Mayadunne, G. F. Meijs, C. L. Moad, G. Moad, E. Rizzardo ve S. H. Thang, (1998), *Macromolecules* 31: 5559–5562.
- [119] P. Corpart, D. Charmot, T. Biadatti, S. Z. Zard ve D. Michelet,(1999), WO 9858974 1998 ,*Chem. Abstr.* 130: 82018
- [120] D. Charmot, P. Corpart, H. Adam, S.Z. Zard, T. Biadatti ve G. Bauhadir, (2000). *Macromol. Symp.* , 150: 23.
- [121] D. H. R. Barton ve S.W. McCombie,( 1975). *J. Chem. Soc. Perkin Trans.1*: 1574.
- [122] J. E. Forbes ve S.Z. Zard, (1989). *Tetrahedron Lett.* 30:4367.
- [123] D. H. R. Barton, S. I. Parekh ve C. L. Tse,(1993). *Tetrahedron Lett.*, 34: 2733.

- [124] Cacioli, P.; Hawthorne, D. G.; Laslett, R. L.; Rizzardo, E. ve Solomon, D. H., (1986), "Copolymerization of  $\omega$ -unsaturated oligo(methyl methacrylate): New macromonomers". *J. Macromol. Sci., Pure Appl. Chem.*, A23: 839–852.
- [125] P. Delduc, C. Tailhan ve S. Z. Zard, (1988). *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 308–310.
- [126] J. Krstina, G. Moad, E. Rizzardo, C. L. Winzor, C. T. Berge ve M. Fryd, (1995), *Macromolecules* 28: 5381–5385.
- [127] T. P. Le, G. Moad, E. Rizzardo ve S. H. Thang, (1998). *Int. Pat.* 9801478 ,*Chem. Abstr.* 128:115390f
- [128] E. Rizzardo, J. Chiefari, R. T. A. Mayadunne, G. Moad ve S. H. Thang, (2000). *ACS Symp. Ser.*, 768: 278.
- [129] Moad, J. Chiefari, J. Kristina, A. Postma, R. T. A. Mayadunne, E. Rizzardo ve S. H. Thang, (2000). *Polym. Int.*, 49: 993.
- [130] Y. K. Chang, J. Kristina, T. P. T. Le, G. Moad, A. Postma, E. Rizzardo ve S. H. Thang, (2003). *Macromolecules*, 36: 2256.
- [131] J. Chiefari, R. T. A. Mayadunne, C. L. Moad, G. Moad, E. Rizzardo, A. Postma, M. A. Skidmore ve S. H. Thang, (2003). *Macromolecules*, 36: 2273.
- [132] A. Goto, K. Sato, Y. Tsujii, T. Fukuda, G. Moad, E. Rizzardo ve S. H. Thang, (2001). *Macromolecules*, 34: 402.
- [133] B. Y. K. Chang, T. P. T. Le, G. Moad, E. Rizzardo ve S. H. Thang, (1999). *Macromolecules*, 32: 2071.
- [134] Matyjaszewski, K. ve Spanswick, J., (2005), "Controlled/living radical polymerization", *Materials Today*, 8: 26-33.
- [135] Matyjaszewski, K., (2000), "Controlled/living radical polymerization, progress in ATRP, NMP and RAFT", *Carnegie Mellon University, ACS symposium series* 768
- [136] Jones M-C ve Leroux J-C.(1999). "Polymeric micelles: A new generation of colloidal drug carriers". *Eur J Pharm Biopharm* 48: 101-111.
- [137] Rosler A, Vandermeulen GW ve Klok H-A. (2001). "Advanced drug delivery device via self-assembly of amphiphilic block copolymers". *Adv Drug Deliv Rev* 53: 95-108.
- [138] Katoka K., Kwon G., Yokoyama M., Okano T. ve Sakurai Y.(1992). "Block copolymer micelles as vehicles for drug delivery". *J Control Release* 24:119-132
- [139] Discher BM, Hammer DA ve Bates FS,(2000). "Polymer vesicles in various media". *Curr Opin Colloid Interface Sci*;5(1-2):125-31.
- [140] Fredrickson GH ve Bates FS., (1996). "Dynamics of block copolymers: theory and experiment". *Annu Rev Mater Sci*,26: 501-50.

- [141] Allen C., Maysinger D. ve Eisenberg A. (1999). "Nano-engineering block copolymer aggregates for drug delivery". *Colloids Surf B Biointerface*, 16(1-4):3-27.
- [142] Discher DE. ve Eisenberg A. (2002) "Polymer vesicles", *Science*;297(5583):967-973.
- [143] Soo PL. ve Eisenberg A., (2004). Preparation of block copolymer vesicles in solution. *J Polym Sci B Polym Phys* ;42(6):923-938.
- [144] Ma Z. ve Lacroix-Desmazes P., (2004). "Synthesis of hydrophilic/CO<sub>2</sub>-philic poly(ethyleneoxide)-b-poly (1,1,2,2-tetrahydroperfluorodecyl acrylate) block copolymers via controlled/ living radical polymerizations and their properties in liquid and supercritical CO<sub>2</sub>" *J Polym Sci A Polym Chem*;42(10):2405-2415.
- [145] Li YT, Lokitz BS. ve McCormick CL.,(2006). "RAFT synthesis of a thermally responsive ABC triblock copolymer incorporating N-acryloxysuccinimide for facile in situ formation of shell cross-linked micelles in aqueous media", *Macromolecules*;39(1):81-89.
- [146] Li Y, Lokitz BS. ve Armes SP. (2006). "Synthesis of reversible shell cross-linked micelles for controlled release of bioactive agents". *Macromolecules*;39(8):2726-2728.
- [147] Zhu J-L, Cheng H. ve Jin Y. (2008) "Novel polycationic micelles for drug delivery and gene transfer". *J Mater Chem*;18(37):4433-4441.
- [148] Kopecek J. ve Kopeckova P., (2010). "HPMA copolymers: origins, early developments, present, and future". *Adv Drug Deliv Rev*;62(2):122-149.
- [149] Scales CW, Vasilieva YA. ve Convertine AJ., (2005). "Direct, controlled synthesis of the nonimmunogenic, hydrophilic polymer, poly(N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide) via RAFT in aqueous media", *Biomacromolecules*;6(4):1846-1850.
- [150] Scales CW, Huang F. ve Li N, (2006). "Corona-stabilized interpolyelectrolyte complexes of siRNA with nonimmunogenic, hydrophilic/cationic block copolymers prepared by aqueous RAFT polymerization", *Macromolecules*;39(20):6871-6881.
- [151] Jia Z, Wong L. ve Davis TP, (2008). "One-pot conversion of RAFT-generated multifunctional block copolymers of HPMA to doxorubicin conjugated acid- and reductant-sensitive crosslinked micelles", *Biomacromolecules*; 9(11): 3106-3113.
- [152] Karagöz A., 2009, "Misel oluşturabilen, biyouyumlu, biyobozunur,pozitif yüklü polimerik malzemelerin sentezi ve karakterizasyonu", Yüksek lisans tezi, YTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [153] Matyjaszewski K. ve Davis T.P., (2002). "Handbook of radical polymerization",Wiley,362.
- [154] Moad G., Rizzardo E. ve Thang S.H., (2005), "Living radical polymerization by the RAFT process", *Aust. J. Chem.*, 58: 379-410.

- [155] Alidedeolu A.H., York A.W., McCormick C.L. ve Morgan S., (2009), "Aqueous RAFT polymerization of 2-aminoethyl methacrylate to produce well-defined, primary amine functional homo- and copolymers", Journal of polymer science,Part A, 47: 5405-5415.
- [156] Yıldız, K. ve Alp, A. (2005), " Metalurjik Proseslerde Mikrodalga Kullanımı", Cilt/Sayı: 24/125, Sakarya Üniversitesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği, Sakarya.
- [157] Mendrek S., Mendrek A., Adler H. -J. , Dworak A. ve Kuckling D., (2009), "Synthesis and characterization of pH sensitive poly(glycol)-b-poly(4-vinylpyridine) block copolymers", Journal of polymer science part A, 47:1782-1794.
- [158] Gao B.J., Cao X. ve Jiu H.F., (2002), "Quaternization of acrylamide/vinylpyridine copolymers and some properties", ACTA polymer sinica, 4: 487-492.

---

**HESAPLAMALAR**
**CTA1 (2-Metil-2[(dodesilsülfaniltiokarbonil)sülfanil]propanoik asid) ile poli HPMA sentezi için hesaplamalar:**

Başlangıç oranları:  $([M]_o/[CTA]_o) = 400/1$  ve  $([CTA]_o/[I]_o) = 3/1$  için

1 mol CTA1 ajanı 364,63 g olduğundan 10 mg CTA1 0,027 mmol

Monomer/CTA1 = 400/1  $\implies$  Monomer 10,8 mmol = 1,546 g HPMA

CTA1/I = 3/1  $\implies$  Başlatıcı 0,009 mmol = 1,47 mg AIBN

**CTA2 (4-Siyano-4(tiyobenzoiltiyo)pentanoik asid) ile poli HPMA sentezi için hesaplamalar:**

Başlangıç oranları  $([M]_o/[CTA]_o) = 800/1$  ve  $([CTA]_o/[I]_o) = 3/1$  için

1 mol CTA2 ajanı 279,38 g olduğundan 10 mg CTA1 0,0358 mmol

Monomer/CTA2 = 800/1  $\implies$  Monomer 28,63 mmol = 4,099 g HPMA

CTA1/I = 3/1  $\implies$  Başlatıcı 0,0012 mmol = 1,96 mg AIBN

**Poli(HPMA) sentezinde mikrodalga ısıtmanın etkisinin incelenmesi**

Monomer/CTA oranı 400/1 ve 800/1 ile CTA/başlatıcı oranı 3/1 için

1 mol CTA2 ajanı 279,38 g olduğundan 10 mg CTA1 0,0358 mmol

Monomer/CTA2 = 400/1  $\implies$  Monomer 14,32 mmol = 2,05 g HPMA

CTA1/I = 3/1  $\implies$  Başlatıcı 0,0012 mmol = 1,96 mg AIBN

**Mikrodalga ile ısıtmada çözücü etkisi;**

1 mol CTA2 ajanı 279,38 g olduğundan 10 mg CTA1 0,0358 mmol

Monomer/CTA2 = 800/1  $\implies$  Monomer 28,63 mmol = 4,099 g HPMA

CTA1/I = 3/1  $\implies$  Başlatıcı 0,0012 mmol = 1,96 mg AIBN

### **MakroCTA ajanı ile Poli HPMA-b-VP Kopolimerinin Sentezi**

Monomer/CTA oranı 200/1 ve CTA/başlatıcı oranı 3/1 ve 5/1 için

1 mol makroCTA  $\sim$ 20000 olduğundan 400mg makroCTA 0,0187 mmol

Monomer/makroCTA=200/1  $\implies$  Monomer 3,7 mmol=393,73 mg 4-VP

CTA/l=3/1  $\implies$  Başlatıcı 0,00624 mmol=1,025 mg AIBN

### **Poli HPMA-b-VP Kopolimerinin Kuarternleştirilmesi**

$\sim$ 25000 HPMA-b-VP( $\sim$ 20000 HPMA,  $\sim$ 5000 VP)  $\implies$  (VP)/(poliHPMA-b-VP)= 0,2

60 mg kopolimer içerisinde  $\implies$  12 mg VP (  $M_n = 105.14g$ ) =0,114 mmol VP

5 katı Metil 6-bromo hekzonoat 0,57 mmol ( $M_n = 209,08$ ,  $d=1,316g/cm^3$ ) = 94,35  $\mu$ l  
alkil halid



## ÖZGEÇMİŞ

---

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı Soyadı** :Zeynep ÖZDEMİR  
**Doğum Tarihi ve Yeri** :07.02.1987/Of  
**Yabancı Dili** :İngilizce  
**E-posta** :zeynepozdemir34@gmail.com

### ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lisans	Kimya	İstanbul Üniversitesi	2009
Lise	Sayısal Bilimler	Prof.Faik Somer Lisesi(YDA)	2005

### İŞ TECRÜBESİ

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
2008	Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Lab.	Stajer
2008	DYO Boya Fabrikası Kalite-Kontrol Lab.	Stajer

## **Bildiri**

1. 2011 Z. Özdemir, M. Topuzoğulları, S. Dinçer, "Synthesis of Alternating and Amphiphilic P(4-VP-co-PEGMA) Copolymers", 17th International Biomedical Science and Technology Symposium
2. 2010 Z.Özdemir, S. Dinçer, Z. Rızaev, "Synthesis and Characterization of poly(NIPA-co-MA)/clay Nanocomposites by Microwave Heating", 16<sup>th</sup> International Biomedical Science and Technology Symposium

## **Proje**

1. 2011-06-01 RAFT Yöntemiyle N-(2-Hidroksipropil) Metakrilamid (HPMA)-  
2012-06-01 Vinilpiridin(VP) Kopolimerinin Sentezi ve Karakterizasyonu  
BAP Projesi
2. 2010-12-01 RAFT yöntemiyle potansiyel DNA taşıyıcısı olarak PVP-b-PEG  
2011-12-01 (polivinilpiridin-b-poli(etilenglikol metileter metilakrilat))  
kopolimerlerinin sentezi ve karakterizasyonu  
TÜBİTAK Projesi