

**KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**İLAÇ SALIM SİSTEMLERİ İÇİN
YENİ POLİ(DİİZOPROPİL GLİKOLİD)-PEG BLOK
KOPOLİMERLERİNİN SENTEZLERİ VE ÖZELLİKLERİ**

MEHMET ONUR ARICAN

KOCAELİ 2014

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İLAÇ SALIM SİSTEMLERİ İÇİN
YENİ POLİ(DİİZOPROPİL GLİKOLİD)-PEG BLOK
KOPOLİMERLERİNİN SENTEZLERİ VE ÖZELLİKLERİ

MEHMET ONUR ARICAN

Yrd.Doç.Dr. Olcay MERT
Danışman, Kocaeli Üniv.

Prof.Dr. Sibel ZOR
Jüri Üyesi, Kocaeli Üniv.

Prof.Dr. H. Yıldırım ERBİL
Jüri Üyesi, Gebze Teknik Üniv.


.....


.....


.....

Tezin Savunulduğu Tarih: 19.12.2014

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu çalışmada 3,6-diizopropil-1,4-diokzan-2,5-dion ve PEG kullanılarak A-B ve A-B-A tipi yeni poli(diizopropil glikolid)-PEG blok kopolimerleri sentezlendi. Bu kopolimerlerin fiziksel değişimleri esas alınarak ısıya hassaslık özellikleri incelendi ve kopolimerlere paklitaksel antikanser ilacı yüklenerek ilaçların salım çalışmaları yapıldı.

Çalışmanın her aşamasında eleştirileriyle ve önerileriyle beni destekleyip yönlendiren, benim için emeğini ve bilgisini bir an olsun esirgemeyen danışmanım Yrd.Doç.Dr. Olcay MERT'e tezimin yürütülmesindeki desteklerinden ve dostane yaklaşımlarından ötürü derin saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Bir dönem danışmanlığımı da yapan, yakın ilgi ve desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden her fırsatta yararlanmama olanak sağlayan değerli hocam Doç.Dr. Asgar KAYAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamı 112T865 numaralı proje ile destekleyen TÜBİTAK'a teşekkürü bir borç bilirim.

Bölüm sekreterimiz Meryem ÜNER'e, bölüm teknisyenlerimiz Akif ŞAFAKLI ve Merve PALA'ya yardımları için teşekkür ederim.

Değerli arkadaşım Seda ÇETİNTAŞ'a tezin formatında yaptığı yardımları için ve de gösterdiği yakın dostluk için ne kadar teşekkür etsem de yeterli gelmeyeceğini vurgulamak ve bir kez daha teşekkür etmek isterim.

Tezimin değerlendirilmesinde emeklerini esirgemeyen değerli jüri üyeleri Prof.Dr. H. Yıldırım ERBİL ve Prof.Dr. Sibel ZOR'a teşekkürlerimi ifade ederim.

Beni her zaman ve her koşulda özveriyle, güvenle destekleyip bu duruma gelmemi sağlayan biricik annem Güler ARICAN'a, babam Adnan ARICAN'a ve de desteğini hiçbir zaman eksik etmeyen kardeşim Merve ARICAN'a ve son olarak annem ve babamdan hiçbir zaman ayırt etmediğim halam Reyhan HAYAR'a ve eniştem Ali Nail HAYAR'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Aralık - 2014

Mehmet Onur ARICAN

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iv
TABLOLAR DİZİNİ	vii
SİMGELER DİZİNİ VE KISALTMALAR	viii
ÖZET.....	ix
ABSTRACT	x
GİRİŞ	1
1. GENEL BİLGİLER.....	3
1.1. Isıya Hassas Biyobozunur Polimerler	3
1.1.1. PLLA homopolimerleri ve PLLA-PEG kopolimerleri.....	3
1.1.2. PLGA homopolimerleri ve PLGA-PEG kopolimerleri	6
1.1.3. PCL homopolimerleri ve PCL-PEG kopolimerleri	8
1.1.4. Poli(disübstitüye glikolid) homopolimerleri ve poli(disübstitüye glikolid)-PEG kopolimerleri.....	12
2. MALZEME VE YÖNTEM.....	16
2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	16
2.2. Kullanılan Çözücüler.....	16
2.3. Kullanılan Cihazlar.....	17
2.3.1. Elementel analiz.....	17
2.3.2. Azaltılmış toplam reflektans-fourier dönüşümlü kızılötesi spektrofotometresi (ATR-FTIR)	17
2.3.3. Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi (NMR).....	17
2.3.4. Jel geçirgenlik kromatografisi (GPC).....	17
2.3.5. Diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC)	17
2.3.6. Termogravimetrik analiz (TGA).....	18
2.3.7. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC).....	18
2.4. Yöntem	18
2.4.1. L-2-hidroksi-3-metilbütanoik asit sentezi.....	18
2.4.2. L-3,6-diizopropil-1,4-diokzan-2,5-dion (L-diizopropil glikolid) sentezi	19
2.4.3. PDIPG-MePEG diblok kopolimer sentezi	20
2.4.4. PDIPG-PEG-PDIPG triblok kopolimer sentezi	21
2.4.5. Kopolimerlerin ısıya hassaslık özelliklerinin incelenmesi	22
2.4.6. Fosfat tampon çözeltisinin (PBS) hazırlanması.....	23
2.4.7. Paklitaksel antikanser ilacının kopolimer jellerinin içerisine yüklenmesi ve ilaç salım çalışmaları.....	23
2.4.8. HPLC analizi.....	24
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	25
3.1. L-2-Hidroksi-3-metilbütanoik Asit (1).....	25
3.2. L-Diizopropil Glikolid (2) Monomerinin Sentez ve Karakterizasyonu	27
3.3. Yeni PDIPG-MePEG (3) Diblok Kopolimerlerinin Sentez ve Karakterizasyonları	31

3.4. Yeni PDIPG-PEG-PDIPG (8) Triblok Kopolimerlerinin Sentez ve Karakterizasyonları	36
3.5. Kopolimerlerin Termal Karakterizasyonu.....	41
3.6. Kopolimerlerin Jel-Sol Geçiş Sıcaklıklarının Belirlenmesi	46
3.7. Diblok ve Triblok Kopolimerlerin İlaç Salım Çalışmaları.....	49
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	52
KAYNAKLAR	54
EKLER.....	60
KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER	80
ÖZGEÇMİŞ	81

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	L- ve D-Laktidlerin yapıları.....	3
Şekil 1.2.	PLLA (A ve B) ve PDLA (C ve D) polimerlerinin sentezleri	4
Şekil 1.3.	L-laktid polimerizasyon koordinasyon-yerleştirme mekanizması.....	5
Şekil 1.4.	Jel-sol geçiş eğrileri. (a) PEG-PLLA diblok kopolimerlerinin molekül ağırlıkları: karolar 5000-720, daireler 5000-1000, üçgenler 5000-1730, kareler 5000-1960. (b) PEG-PLLA-PEG triblok kopolimerlerinin molekül ağırlıkları: daireler 5000-2040-5000, üçgenler 5000-3000-5000, kareler 5000-5000-5000.....	6
Şekil 1.5.	Laktid ve glikolid monomerlerini kullanarak PLGA'nın sentezi	6
Şekil 1.6.	PLGA'nın hidrolizi	7
Şekil 1.7.	(a) PLGA-PEG diblok ve (b) PLGA-PEG-PLGA triblok kopolimeri	8
Şekil 1.8.	PCL'nin sentezi.....	8
Şekil 1.9.	PCL'nin bozunması sırasında polimerik zincirlerin kırılması.....	9
Şekil 1.10.	Bovin serum albumininin kontrol ve test malzemeleri üzerine adsorpsiyonu	11
Şekil 1.11.	Çeşitli glikolid türevleri	12
Şekil 1.12.	(a) DHG monomeri sentezi, (b) MePEG-PDHG sentezi.....	14
Şekil 1.13.	Dipropargil glikolid sentez şeması	14
Şekil 1.14.	Fonksiyonel glikolid polimer ve kopolimerlerin sentezi için 'klik' kimyası yöntemi.....	15
Şekil 2.1.	L-2-hidroksi-3-metilbütanoik asit sentezi.....	18
Şekil 2.2.	L-3,6-diizopropil-1,4-diokzan-2,5-dion sentezi.....	19
Şekil 2.3.	PDIPG-MePEG diblok kopolimer sentezi	20
Şekil 2.4.	PDIPG-PEG-PDIPG triblok kopolimer sentezi.....	21
Şekil 2.5.	Temsili bir örnek için ısıya hassaslık özelliklerinin incelenmesi	23
Şekil 2.6.	Jelden ilaç salımının temsili resmi.....	24
Şekil 3.1.	1 bileşiği.....	25
Şekil 3.2.	L-2-hidroksi-3-metilbütanoik asit ATR-FTIR spektrumu.....	25
Şekil 3.3.	L-2-hidroksi-3-metilbütanoik asit ¹ H NMR spektrumu.....	26
Şekil 3.4.	L-2-hidroksi-3-metilbütanoik asit ¹³ C NMR spektrumu	27
Şekil 3.5.	2 bileşiği.....	27
Şekil 3.6.	L-diizopropil glikolid monomerinin ATR-FTIR spektrumu	28
Şekil 3.7.	L-diizopropil glikolid monomerinin ¹ H NMR spektrumu	29
Şekil 3.8.	L-diizopropil glikolid monomerinin ¹³ C NMR spektrumu.....	30
Şekil 3.9.	3 bileşiği.....	31
Şekil 3.10.	Halka açılması polimerizasyonu koordinasyon-yerleştirme mekanizması	32
Şekil 3.11.	3 bileşiğinin ATR-FTIR spektrumu.....	33
Şekil 3.12.	3 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	34
Şekil 3.13.	3 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	35
Şekil 3.14.	3 bileşiğinin GPC kromatogramı (Tablo 3.2 No: 3)	36
Şekil 3.15.	8 bileşiği.....	36

Şekil 3.16.	8 bileşiğinin ATR-FTIR spektrumu.....	38
Şekil 3.17.	8 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	39
Şekil 3.18.	8 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	40
Şekil 3.19.	8 bileşiğinin GPC kromatogramı (Tablo 3.4 No: 8)	41
Şekil 3.20.	MePEG homopolimerinin TGA eğrisi.....	42
Şekil 3.21.	PDIPG-MePEG diblok 12 kopolimerinin TGA eğrisi.....	42
Şekil 3.22.	PEG homopolimerinin TGA eğrisi	43
Şekil 3.23.	PDIPG-PEG-PDIPG triblok 13 kopolimerinin TGA eğrisi.....	43
Şekil 3.24.	PDIPG-MePEG diblok kopolimerlerinin DSC termogramları.....	44
Şekil 3.25.	PDIPG-PEG-PDIPG triblok kopolimerlerinin DSC termogramları.....	45
Şekil 3.26.	Kopolimerlerin camsı geçiş sıcaklıkları	46
Şekil 3.27.	Polimerin sol (a) ve jel (b) görünümü.....	47
Şekil 3.28.	PDIPG-MePEG 4, 5 kopolimerlerinin jel-sol geçiş eğrileri	48
Şekil 3.29.	PDIPG-PEG-PDIPG 11, 12 kopolimerlerinin jel-sol geçiş eğrileri	49
Şekil 3.30.	Paklitakselin kalibrasyon grafiği	49
Şekil 3.31.	Paklitaksel için tipik bir HPLC kromatogramı	50
Şekil 3.32.	Paklitaksel antikanser ilacının salım eğrileri	51
Şekil A.1.	4 bileşiğinin ATR-FTIR spektrumu.....	61
Şekil A.2.	5 bileşiğinin ATR-FTIR spektrumu.....	62
Şekil A.3.	6 bileşiğinin ATR-FTIR spektrumu.....	62
Şekil A.4.	7 bileşiğinin ATR-FTIR spektrumu.....	63
Şekil A.5.	9 bileşiğinin ATR-FTIR spektrumu.....	63
Şekil A.6.	10 bileşiğinin ATR-FTIR spektrumu.....	64
Şekil A.7.	11 bileşiğinin ATR-FTIR spektrumu.....	64
Şekil A.8.	12 bileşiğinin ATR-FTIR spektrumu.....	65
Şekil A.9.	13 bileşiğinin ATR-FTIR spektrumu.....	65
Şekil B.1.	4 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	66
Şekil B.2.	4 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	66
Şekil B.3.	5 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	67
Şekil B.4.	5 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	67
Şekil B.5.	6 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	68
Şekil B.6.	6 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	68
Şekil B.7.	7 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	69
Şekil B.8.	7 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	69
Şekil B.9.	9 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	70
Şekil B.10.	9 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	70
Şekil B.11.	10 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	71
Şekil B.12.	10 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	71
Şekil B.13.	11 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	72
Şekil B.14.	11 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	72
Şekil B.15.	12 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	73
Şekil B.16.	12 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	73
Şekil B.17.	13 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	74
Şekil B.18.	13 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	74
Şekil C.1.	4 bileşiğinin GPC kromatogramı	75
Şekil C.2.	5 bileşiğinin GPC kromatogramı	75
Şekil C.3.	6 bileşiğinin GPC kromatogramı	76

Şekil C.4.	7 bileşiminin GPC kromatogramı	76
Şekil C.5.	9 bileşiminin GPC kromatogramı	77
Şekil C.6.	10 bileşiminin GPC kromatogramı	77
Şekil C.7.	11 bileşiminin GPC kromatogramı	78
Şekil C.8.	12 bileşiminin GPC kromatogramı	78
Şekil C.9.	13 bileşiminin GPC kromatogramı	79

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1.1.	Sentetik biyobozunur polimerlerin özellikleri	7
Tablo 1.2.	PCL'nin özellikleri	9
Tablo 1.3.	Polimer filmlerin yüzeylerin üzerinde bağlanan ve çoğalan endotel hücrelerin sayısı	11
Tablo 1.4.	1 saatlik büyütmeden sonraki kontrol ve test malzemelerine tutunan pıhtı hücrelerinin sayısı.....	12
Tablo 1.5.	Süstitüye poli(glikolid)'lerin özellikleri	13
Tablo 2.1.	PDIPG-MePEG sentezi için deneysel koşullar.....	21
Tablo 2.2.	PDIPG-PEG-PDIPG sentezi için deneysel koşullar	22
Tablo 2.3.	Jel-sol geçiş sıcaklığının belirlenmesi için test edilen kopolimer konsantrasyonları	22
Tablo 2.4.	Aynı yükleme oranlarında paklitaksel ilacı ile jel hazırlanması.....	23
Tablo 3.1.	2 bileşiği (C ₁₀ H ₁₆ O ₄) için hesaplanan ve bulunan elementel analiz değerleri	30
Tablo 3.2.	PDIPG-MePEG diblok kopolimerlerinin molekül ağırlıkları.....	33
Tablo 3.3.	3 bileşiği için GPC kromatogramı değerleri	36
Tablo 3.4.	PDIPG-PEG-PDIPG triblok kopolimerlerinin molekül ağırlıkları.....	37
Tablo 3.5.	8 bileşiği için GPC kromatogramı değerleri	41
Tablo 3.6.	4 bileşiğinin jel-sol geçiş sıcaklıklarının belirlenmesi.....	47
Tablo 3.7.	5 bileşiğinin jel-sol geçiş sıcaklıklarının belirlenmesi.....	47
Tablo 3.8.	11 bileşiğinin jel-sol geçiş sıcaklıklarının belirlenmesi.....	47
Tablo 3.9.	12 bileşiğinin jel-sol geçiş sıcaklıklarının belirlenmesi.....	48
Tablo C.1.	4 bileşiği için GPC kromatogramı değerleri	75
Tablo C.2.	5 bileşiği için GPC kromatogramı değerleri	75
Tablo C.3.	6 bileşiği için GPC kromatogramı değerleri	76
Tablo C.4.	7 bileşiği için GPC kromatogramı değerleri	76
Tablo C.5.	9 bileşiği için GPC kromatogramı değerleri	77
Tablo C.6.	10 bileşiği için GPC kromatogramı değerleri	77
Tablo C.7.	11 bileşiği için GPC kromatogramı değerleri	78
Tablo C.8.	12 bileşiği için GPC kromatogramı değerleri	78
Tablo C.9.	13 bileşiği için GPC kromatogramı değerleri	79

SİMGELER DİZİNİ VE KISALTMALAR

ϵ	: Kopma anında uzama, (%)
E	: Young modülü, (GPa)
T_d	: Bozunma sıcaklığı, ($^{\circ}\text{C}$)
T_g	: Camı geçiş sıcaklığı, ($^{\circ}\text{C}$)
T_m	: Erime sıcaklığı, ($^{\circ}\text{C}$)
η	: İntrensik viskozite, ($\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$)
η_{inh}	: İherent viskozite, ($\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$)
ρ	: Yoğunluk, ($\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$)
σ	: Çekme dayanımı, (MPa)

Kısaltmalar

^{13}C NMR	: Carbon Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (Karbon Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi)
^1H NMR	: Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (Proton Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi)
DIPG	: Diizopropil glikolid
DLA	: D-laktid
DSC	: Differential Scanning Calorimetry (Diferansiyel Taramalı Kalorimetri)
FDA	: Food and Drug Administration (Gıda ve İlaç İdaresi)
FTIR	: Fourier Transform Infrared Spectroscopy (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi)
GA	: Glikolid
GPC	: Gel Permeation Chromatography (Jel Geçirgenlik Kromatografisi)
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)
KÇS	: Kritik Çözelti Sıcaklığı
LA	: Laktid
LLA	: L-laktid
MePEG	: Poli(etilen glikol) Metil Eter
NMR	: Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi)
PCL	: Poli(ϵ -kaprolakton)
PDIPG	: Poli(diizopropil glikolid)
PDLA	: Poli(D-laktid)
PEG	: Poli(etilen glikol)
PLA	: Poli(laktid)
PLGA	: Poli(laktid-ko-glikolid)
PLLA	: Poli(L-laktid)
PTSA	: p-Toluensülfonik Asit Monohidrat
TGA	: Thermogravimetric Analysis (Termogravimetrik Analiz)

İLAÇ SALIM SİSTEMLERİ İÇİN YENİ POLİ(DİİZOPROPİL GLİKOLİD)-PEG BLOK KOPOLİMERLERİNİN SENTEZLERİ VE ÖZELLİKLERİ

ÖZET

Bu çalışmada; literatürde çokça çalışılan PEG bazlı poli(laktid), poli(laktid-koglikolid) ve poli(ϵ -kaprolakton) gibi poliester kopolimerlerine alternatif yeni biyomalzemelerin sentezi ve karakterizasyonu ve de bu biyomalzemelerin kontrollü ilaç salım sistemlerinde kullanımı gerçekleştirildi.

Çalışmanın ilk bölümünde L-3,6-diizopropil-1,4-diokzan-2,5-dion monomerinin sentezi iki basamakta yapıldı. L-2-amino-3-metilbütanoik asit başlangıç maddesi kullanılarak L-2-hidroksi-3-metilbütanoik asit ürününün sentezi 0 °C'de su içerisinde gerçekleştirildi ve karakterizasyonu spektroskopik (ATR-FTIR, NMR) teknikler kullanılarak yapıldı. Ardından, L-2-hidroksi-3-metilbütanoik asidin kondensasyonu ile L-3,6-diizopropil-1,4-diokzan-2,5-dion monomerinin sentezi, toluen içerisinde ve p-toluensülfonik asit monohidrat katalizörü (PTSA) varlığında reflaks sıcaklığında gerçekleştirildi ve karakterizasyonu ATR-FTIR, NMR ve elementel analiz teknikleri kullanılarak yapıldı.

Çalışmanın ikinci bölümünde halka açılması polimerleşmesi yöntemi ile yeni biyobozunur ve biyoyumlu poli(diizopropil glikolid)-poli(etilen glikol) metil eter (PDIPG-MePEG) diblok ve poli(diizopropil glikolid)-poli(etilen glikol)-poli(diizopropil glikolid) (PDIPG-PEG-PDIPG) triblok kopolimerleri eriyik polimerleşme ile sentezlendi ve karakterizasyonları spektroskopik (ATR-FTIR, NMR), kromatografik (GPC) ve termal (DSC, TGA) metotlar kullanılarak yapıldı.

Çalışmanın üçüncü bölümünde jel-sol çalışmaları gerçekleştirildi. Burada her bir PDIPG-MePEG ve PDIPG-PEG-PDIPG bileşeninin uzunluğu polimer sentezi sırasında özenle seçilip, kopolimerin 40-42 °C'de enjeksiyona hazır olması (sol) ve soğutmayla da vücut sıcaklığında jel oluşturması sağlandı.

Çalışmanın dördüncü ve son bölümünde ise antikanser ilacı olarak seçilen paklitaksel, üretilen kopolimer jellerinin içerisine etkin bir şekilde yüklendi ve bu ilacın jellerden salım çalışmaları yapıldı. Jellerden difüzyon yoluyla salınan ilaç miktarları HPLC ile incelendiğinde antikanser ilacın uzun bir süre boyunca sürekli salım gösterdiği bulundu.

Anahtar Kelimeler: Biyobozunurluk, Isıya Hassaslık, İlaç Salım Sistemleri, Sübstitüye Glikolid.

SYNTHESIS AND PROPERTIES OF NOVEL POLY(DIISOPROPYL GLYCOLIDE)-PEG BLOCK COPOLYMERS FOR DRUG DELIVERY SYSTEMS

ABSTRACT

In this work; synthesis, characterization of novel biomaterials, which are alternative to commonly studied polyester copolymers such as PEG based poly(lactide), poly(lactide-co-glycolide) and poly(ϵ -caprolactone) in literature, and usage of these biomaterials in controlled drug delivery systems are studied.

Firstly, synthesis of L-3,6-diisopropyl-1,4-dioxane-2,5-dione monomer was performed in two steps. L-2-hydroxy-3-methylbutanoic acid was synthesized using L-2-amino-3-methylbutanoic acid as starting material in water at 0 °C, and its characterization was performed by spectroscopic (ATR-FTIR, NMR) methods. Then, synthesis of L-3,6-diisopropyl-1,4-dioxane-2,5-dione was carried out condensation of L-2-hydroxy-3-methylbutanoic acid in presence of p-toluensulfonic acid monohydrate catalyst (PTSA) in toluene at reflux temperature and its characterization was performed by ATR-FTIR, NMR and elemental analysis methods.

Secondly, novel biocompatible and biodegradable poly(diisopropyl glycolide)-poly(ethylene glycol) methyl ether (PDIPG-MePEG) diblock and poly(diisopropyl glycolide)-poly(ethylene glycol)-poly(diisopropyl glycolide) (PDIPG-PEG-PDIPG) triblock copolymers were synthesized by ring opening polymerization method with melt polymerization, and their characterizations were performed by spectroscopic (ATR-FTIR, NMR), chromatographic (GPC), and thermal (DSC, TGA) methods.

Thirdly, gel-sol experiments were studied. Each of PDIPG-MePEG and PDIPG-PEG-PDIPG component's length was chosen with care during the polymer synthesis, copolymers were ready to injection at 40-42 °C (sol) and forming gels by cooling at body temperature.

Lastly, paclitaxel which was selected as an anticancer drug was loaded into produced copolymer gels effectively, and release studies from the gels was performed. When the amount of drug released from the gels by diffusion was examined with HPLC, the anticancer drug showed prolonged release during long period.

Keywords: Biodegradability, Thermosensitivity, Drug Delivery Systems, Substituted Glycolide.

GİRİŞ

İlaç salım sistemleri pek çok disiplinler arası bilimin yaptığı çeşitli uygulamalarla günümüzde multi-milyar dolarlık bir endüstri haline gelmiştir ve şüphesiz ki geleceğin çok önemli araştırma alanlarından biri olmaya devam edecektir. Kontrollü ilaç salım sistemleri, belirli bir zaman periyodu içerisinde en etkin tedaviyi sağlamak için çeşitli yöntemler kullanılarak ilacı belirli bir seviyede tutmak şeklinde basitçe ifade edilebilir. Diğer taraftan geleneksel metotlar ile tedavi edici seviyeden düşük dozlar ile etkin bir tedavi sağlanamazken daha yüksek dozlar toksikliğe sebebiyet verir. Geleneksel metot olarak telakki edilen anlık yüksek salım veren tekli dozlar (tabletler vs.) başlangıçta maksimum seviyeyi aşır devamında minimum etkisiz seviyeye geçer. Bu yüzden geleneksel yolla tedavinin devamı için çoklu doz ilaç verilmesine ihtiyaç duyulur. Sonuç olarak günümüzde özellikle kanser araştırmalarında kontrollü ilaç salım sistemleri geleneksel yöntemlerin yerini hızla alarak etkin tedavi için kullanılmaya başlanmıştır [1].

Lokal bölgelere ilaç salımı son yıllarda oldukça cazip hale gelmiştir. Çünkü ilacın hastaya salımı sırasında sistemik toksisiteye sebep olmaksızın ilaç konsantrasyonu bir hayli artmaktadır. Geleneksel ilaç salım sistemlerinde ise ilaç genellikle ağızdan ya da intravasküler (damar içi) enjeksiyon yoluyla alınmaktadır. Bu yüzden ilaç sistemik kan sirkülasyonuna girer. Diğer yandan lokal bölgeye yapılan ilaç salımının amacı, vücuttaki sağlıklı dokuları güvende tutarak hastalıklı dokulardaki ilacı konsantre etmektir. Böylelikle daha etkili terapi ve daha az yan etki sağlanmış olur [2].

Isıya hassas biyobozunur polimerler biyomedikal alanda birçok olanaklar sunmaktadır ve kendi yapıları içinde ince bir hidrofobik-hidrofilik dengeye sahiptirler. Kritik çözelti sıcaklığı (KÇS) çevresinde küçük sıcaklık değişimleri zincirleri genişletir veya daraltır. KÇS, polimer çözeltisinin faz ayrımı gösterdiği bir sıcaklık olarak tanımlanabilir. Isıya hassas polimerler, KÇS üstünde veya altında hacimce ani bir değişikliğe uğrar. Böylece bu tip polimerleri enjekte edilebilen ilaç

salım sistemlerinde kullanmak mümkündür [3, 4]. Bu özellikteki polimerler, kontrollü ilaç salım ve doku mühendisliği gibi biyomedikal uygulamalar için çok önemlidir [1, 3-9]. N-izopropilakrilamid [10, 11] ve poli(etilen oksit)–poli(propilen oksit)–poli(etilen oksit)’in [12] homopolimerleri ve kopolimerleri ısıya hassas polimerlerin tipik örnekleridir. Ancak bu polimerlerin ilaç salımında kullanımları biyobozunur olmamaları nedeniyle problemlidir [3]. İlaç salım sistemlerinde kullanılan biyobozunur polimerlerin pek çoğu enjekte edilebilen nano ve mikrokürecikler veya implant şeklindedir. Bununla birlikte bu sistemler organik çözücüler kullanılarak karmaşık imalat süreçlerini gerektirir. Ayrıca katı form implantlar için cerrahi girişime ihtiyaç duyulur. Bu da dokuda irritasyon ve zarara sebebiyet verir. Hazırlanması ve uygulaması daha basit ve zararsız olan, aynı zamanda ısı ile 40-42 °C’de enjeksiyona hazır olabilen (sol) ama soğutmayla da vücut sıcaklığında (37 °C) jel oluşturabilen, lokal bölgelerdeki tümörlerin tedavisinde kullanabilecek yeni poli(diizopropil glikolid)-PEG bazlı biyomalzemelerin hazırlanması bu tezin kapsamını oluşturmaktadır.

Buradan yola çıkılarak yapılan bu çalışmanın ilk bölümünde ısıya hassas biyobozunur polimerlerle ilgili genel bilgilerden bahsedilmektedir. İkinci bölümde deneysel çalışmalarda kullanılan malzemeler ve yöntem anlatılmaktadır. Üçüncü bölümde elde edilen verilere dayalı sonuçlar bildirilmektedir. Son bölümde de sonuçların değerlendirilmesi ve çalışma ile ilgili öneriler sunulmaktadır.

Bu çalışmanın amacı uygun süstitüye glikolid ve PEG kullanarak A-B ve A-B-A tipi yeni poli(diizopropil glikolid)-PEG blok kopolimerlerinin halka açılması polimerleşmesi yöntemi ile sentezi ve karakterizasyonu, fiziksel değişimleri esas alarak ısıya hassaslık özelliklerinin incelenmesi, kopolimerlere antikanser ilaçların (paklitaksel gibi) yüklenmesi ve ilaçların salım çalışmalarını içermektedir. Bu hedeflerle erişilmek istenen sonuç çokça kullanılan PEG bazlı poli(laktid) (PLA), poli(laktid-ko-glikolid) (PLGA), poli(ϵ -kaprolakton) (PCL) kopolimerlerine daha iyi bir alternatif olabilecek, biyomedikal ve farmasötik endüstri için gelecek vaat eden yeni ve çok fonksiyonlu biyomalzemeler üretmektir.

1. GENEL BİLGİLER

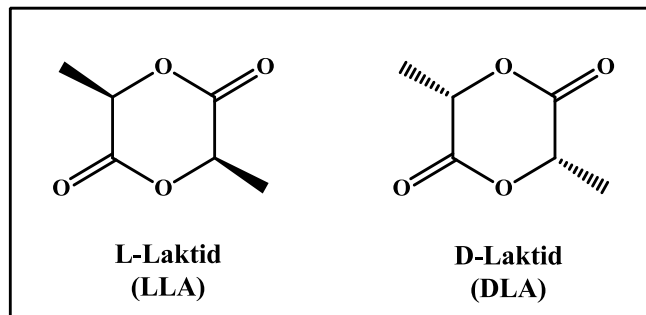
1.1. Isıya Hassas Biyobozunur Polimerler

İlaç salım sistemlerinde kullanılan ısıya hassas biyouyumlu ve biyobozunur polimerler 2000’li yılların başından itibaren biyomedikal alanda en çok tercih edilen polimerlerden biridir. Çünkü bu polimerler, ısıya hassas özelliğinden dolayı dışarıdan ısı ile kolayca fiziksel değişime uğrayabilir ve de biyobozunur özelliğinden dolayı vücuttan uzaklaştırılması için ayrıca bir çabaya ihtiyaç yoktur.

PEG bazlı poli(laktid) (PLA), poli(laktid-ko-glikolid) (PLGA) ve poli(ϵ -kaprolakton) (PCL) kopolimerleri biyomedikal açıdan en çok kullanılan ısıya hassas biyobozunur polimerler arasındadır. Bu polimerlerin sentezleri, karakterizasyonları ve çeşitli özellikleri literatürde çokça çalışılmıştır. Bu polimerlerin ve PEG ile yaptıkları kopolimerlerin sentezleri, karakterizasyonları ve ilgili özellikleri aşağıda ayrıntılı bir şekilde tanımlanmıştır. Buna karşın monomer veya komonomer olarak glikolik asit türevlerinin kullanılmasıyla hazırlanan glikolid ailesi polimerleri üzerine çok az çalışma vardır. Bu tez ile bu eksikliklerin giderilmesi amaçlanmıştır.

1.1.1. PLLA homopolimerleri ve PLLA-PEG kopolimerleri

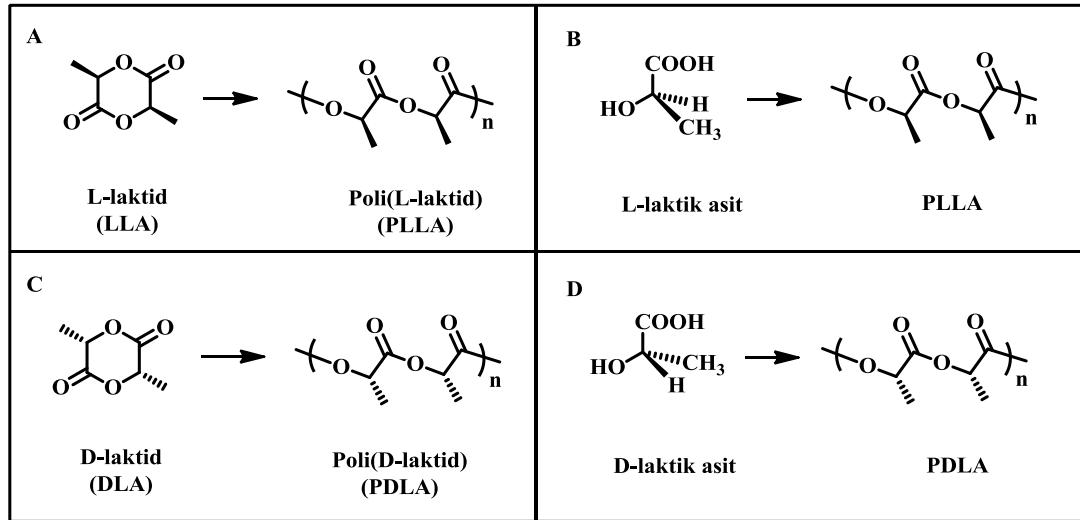
Poli(laktid) homopolimeri laktik asidin siklik dimerinden oluşan bir polimer olup D ve L olmak üzere iki optiksel izomeri bulunur. L-laktid doğal olarak oluşan bir izomerdir. DL-laktid, D-laktid ve L-laktidin sentetik karışımıdır. L- ve D-monomerlerinin yapıları Şekil 1.1’de gösterilmektedir.



Şekil 1.1. L- ve D-Laktidlerin yapıları

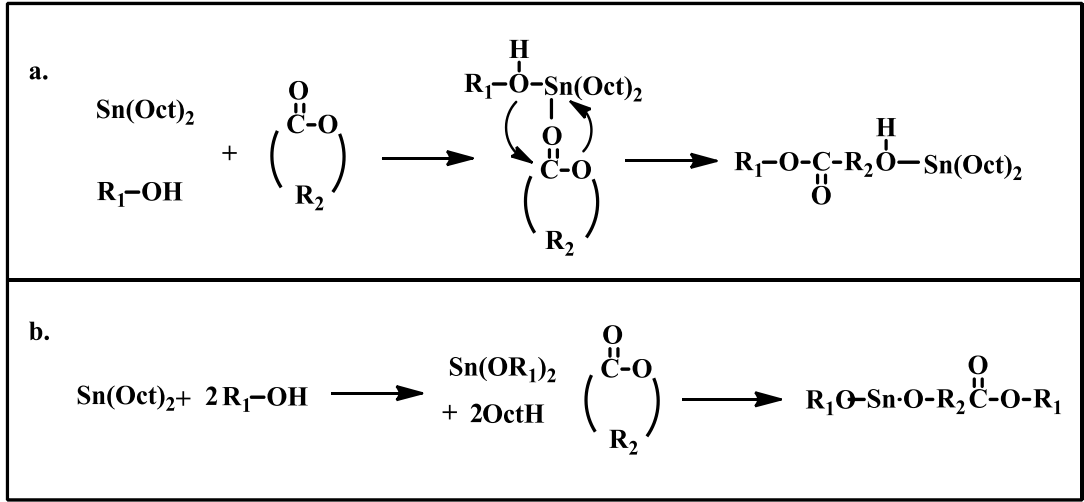
Poli(L-laktid) homopolimeri (PLLA) yarı kristal termoplastik bir yapıdadır. Yüksek dayanım ve düşük uzama gösteren bu polimerler ilaç salım sistemleri başta olmak üzere dikiş ipliklerinde, diş hekimliğinde ve ortopedik malzemelerde kullanım alanı bulmaktadır. PLLA yaklaşık olarak % 37 oranında kristal bir yapıya, 175-178 °C’de erime noktasına ve 60-65 °C civarında T_g değerine sahiptir [13]. PLLA çok iyi işlenebilirlik, biyoyumluluk ve biyobozunurluk sergiler. 500-1000 yıllık geleneksel ticari polimerlerle kıyaslandığında, poli(L-laktid) homopolimerleri ester bağlarının hidrolizi ile altı aydan iki yıla kadar bozunurluk zamanına sahiptir [13, 14]. PLLA, insanlarda ve hayvanlarda kas kasılması sonucu oluşan ve normal bir ürün olan laktik aside hidroliz olmaktadır. Laktik asit daha sonra trikarboksilik asit döngüsü yoluyla metabolize olur ve sonra karbondioksit ve suya dönüşür [13].

PLLA ve Poli(D-laktid) (PDLA)’in sentezleri için laktik asidin polikondensasyonu ve laktid monomerinin halka açılması polimerleşmesi metotları kullanılmaktadır (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. PLLA (A ve B) ve PDLA (C ve D) polimerlerinin sentezleri

L-laktid polimerizasyonu için en çok tercih edilen katalizör kalay(II) 2-etilhekzanoat’tır ($\text{Sn}(\text{Oct})_2$). Bu katalizör, diğer ağır metal tuzları ile karşılaştırıldığında düşük toksisiteye ve neredeyse tamamen polimerleşme dönüşümlerine sahiptir. $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ varlığında poli(laktid)’in mekanizması Şekil 1.3’te gösterilmiştir. Birkaç kalay bileşiklerinin polimerizasyon mekanizması da literatürde incelenmiştir [15, 16].

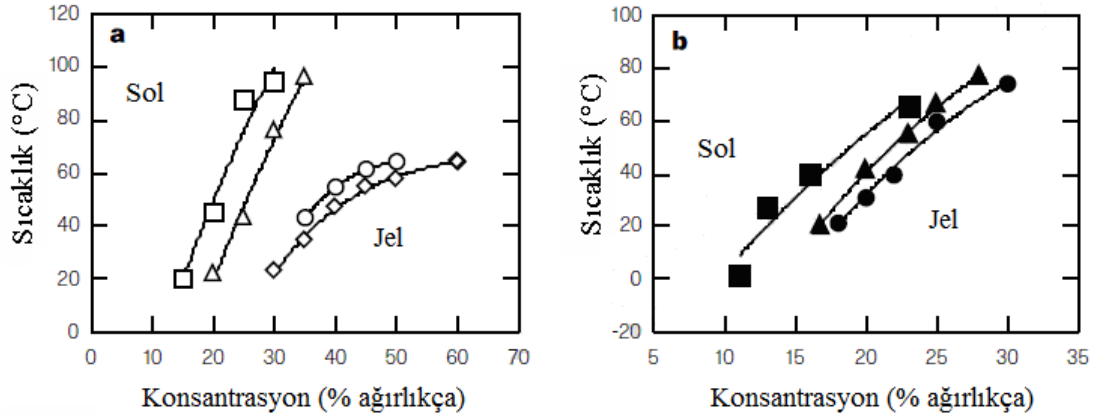


Şekil 1.3. L-laktid polimerizasyon koordinasyon-yerleştirme mekanizması

Yüzey modifikasyonu, herhangi bir polimerik implantın biyouyumluluğunu arttırmak için önemlidir. Çünkü konakçı doku ve implant arasındaki biyolojik etkileşimler çoğunlukla implantın yüzeyinde meydana gelir. Birçok PLLA blok kopolimerleri, göreceli hidrofobik PLLA'nın hidrofiliğini arttırmak için biyouyumlu polimerler kullanılarak sentezlenmektedir. Bu biyouyumlu polimerler kristalliği azaltarak hızlı biyodegradasyonu sağlarlar. Su ve organik çözücüde çözünürlük, yüksek esneklik, güçlü hidrasyon, toksik olmaması, antijenisite yokluğu ve zayıf immünojenisite gibi özellikleri nedeniyle poli(etilen glikol) metil eter (MePEG), ilaç formülasyonları için en ideal biyouyumlu polimerlerden biridir [17]. Ayrıca Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) onayına sahiptir. Dolayısıyla bu iki polimer birbirini tamamlayan özelliklere sahiptir. PLLA iyi mekanik özelliklere sahip oldukça hidrofobik biyobozunur polimerken, MePEG hidrofilik ve de eterik bağlardan dolayı biyobozunur değildir. MePEG'in L-laktid monomeriyle kopolimerleşmesi pek çok kullanım için orijinal fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri ile yeni malzemeler elde edilmesine yol açar [18-24].

PEG-PLLA diblok ve PEG-PLLA-PEG triblok kopolimerlerinin sulu çözeltileri düşük konsantrasyonlarda miselleri oluşturur. PLLA bloklarının paketlenmesi ile hidrofobik etkileşimler sayesinde misel oluşumu gerçekleşir. Sulu polimer çözeltisi düşük sıcaklıkta yüksek konsantrasyon seviyelerinde jel formunda ve yüksek sıcaklıkta düşük konsantrasyon seviyelerinde sol formundadır. Sol-jel geçiş sıcaklığı blok kopolimerin bileşiminin yanı sıra konsantrasyondan da etkilenir. Biyobozunur

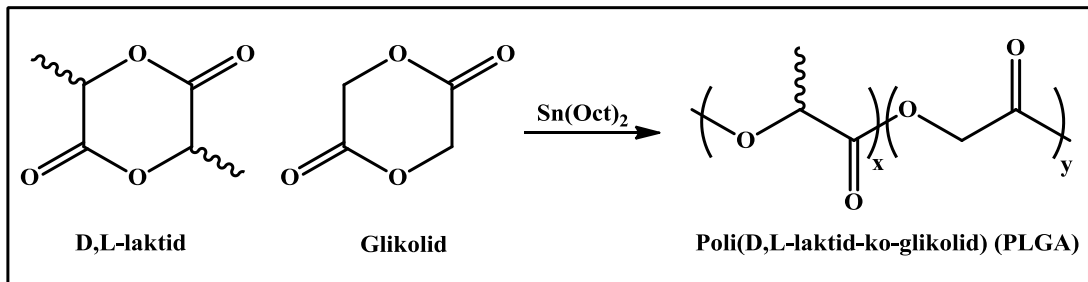
PLLA blok uzunluğunun artması ile sol-jel geçiş sıcaklığı kolaylıkla değiştirilebilir; PLLA blok uzunluğunun artması, sudaki blok kopolimerin topaklanma (agregasyon) eğiliminden dolayı jel-sol geçiş eğrisinin dikleşmesi ve jel oluşumunun daha düşük sıcaklıklarda başlaması ile sonuçlanır (Şekil 1.4). Bu blok kopolimerler ilaç salım sistemleri için matris olarak kullanılırlar [3].



Şekil 1.4. Jel-sol geçiş eğrileri. (a) PEG-PLLA diblok kopolimerlerinin molekül ağırlıkları: karolar 5000-720, daireler 5000-1000, üçgenler 5000-1730, kareler 5000-1960. (b) PEG-PLLA-PEG triblok kopolimerlerinin molekül ağırlıkları: daireler 5000-2040-5000, üçgenler 5000-3000-5000, kareler 5000-5000-5000

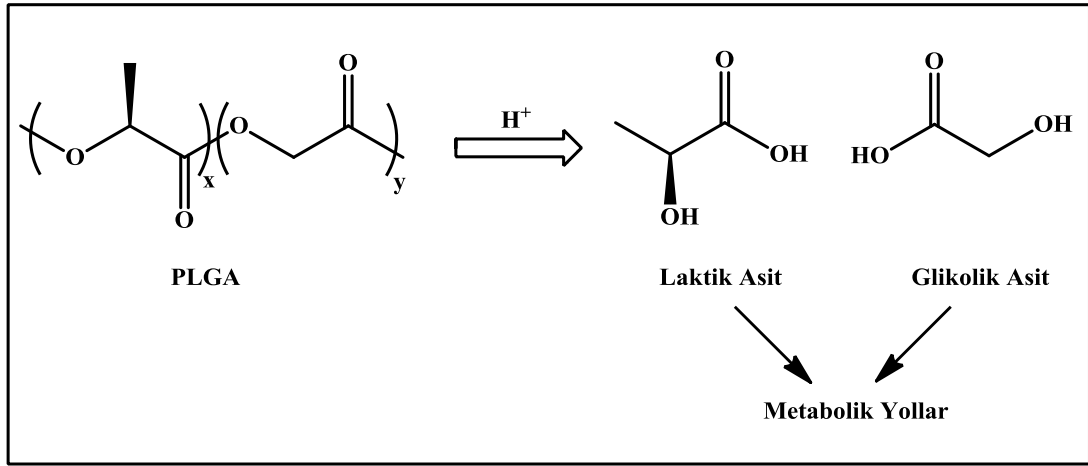
1.1.2. PLGA homopolimerleri ve PLGA-PEG kopolimerleri

Laktid ve glikolid monomerlerinin kopolimerizasyonu, kalay(II) 2-etilhekzanoat, kalay(II) alkoksit ya da alüminyum izopropoksit gibi katalizörlerin varlığında poli(D,L-laktid-ko-glikolid) (PLGA) sentezine yol açar (Şekil 1.5).



Şekil 1.5. Laktid ve glikolid monomerlerini kullanarak PLGA'nın sentezi

Poli(L-laktid-ko-glikolid), biyobozunur ve biyoyumlu özelliğinden dolayı asidik ortamda yavaş yavaş laktik ve glikolik aside bozunur (Şekil 1.6). Bu hidroliz ürünleri, karbon dioksit ve suyun oluşumu ile metabolize olabilir [25].



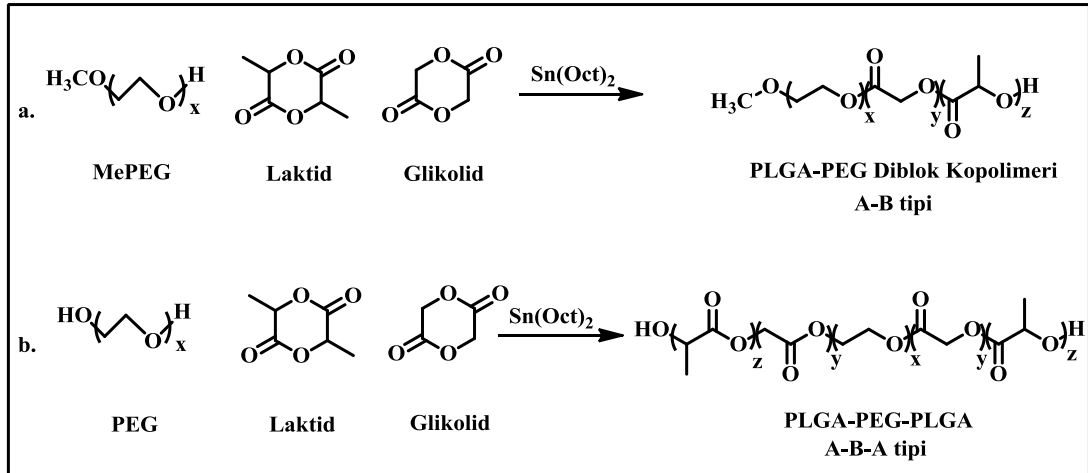
Şekil 1.6. PLGA'nın hidrolizi

Poli(glikolid) yüksek kristal homopolimerdir ve hidrofilitesi diğerlerine göre yüksektir. Poli(glikolid)'in poli(L-laktid)'e göre erime noktası ($224\text{-}230\text{ }^\circ\text{C}$, $175\text{-}178\text{ }^\circ\text{C}$) ve bozunma oranı yüksektir (Tablo 1.1). Ayrıca, rastgele PLGA kopolimerleri içindeki farklı oranlardaki laktid (LA) ve glikolid (GA), uygulandığı alana bağlı olarak birkaç hafta ile ay arasında farklı bozunma oranlarına sahiptir. % 50 glikolid ve % 50 D,L-laktid içeren PLGA kopolimerleri, bu polimerlerin homopolimerlerinden daha hızlı bozunur [26-28].

Tablo 1.1. Sentetik biyobozunur polimerlerin özellikleri

Polimerler	Yapı	Mw/kD	Bozunma Oranı
Poli(glikolid)	Kristal $224\text{-}230\text{ }^\circ\text{C}$	-	2-3 ay içinde % 100
Poli(L-laktid-ko-glikolid)	Amorf Hal	40-100	50-100 gün içinde % 100
Poli(L-laktid)	Yarı Kristal $175\text{-}178\text{ }^\circ\text{C}$	100-300	1-2 yıl içinde % 50

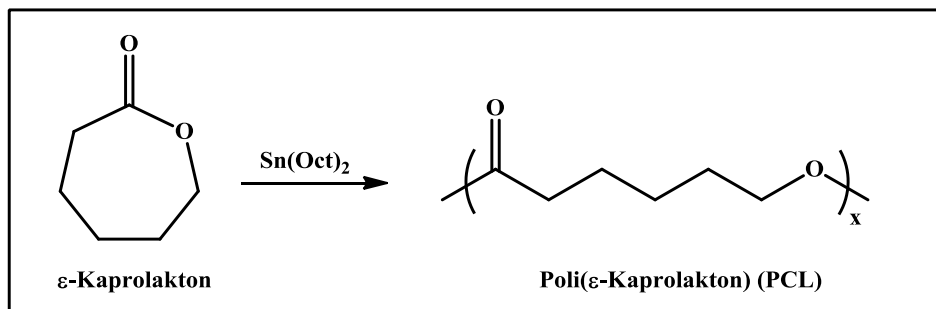
Isıya hassas biyobozunur PLGA-PEG blok kopolimerleri, hidrofilik ve biyoyumlu poli(etilen glikol) ile biyobozunur ve biyoyumlu PLGA kullanılarak üretilmektedir. Her bir bloğun uygun bir şekilde ayarlanması farklı ısıya hassas özellikteki polimerlerin sentezlenmesine yol açar. PLGA-PEG blok kopolimerlerinin sentezleri, katalizör varlığında PEG'in siklik laktid ve glikolid ile halka açılması polimerleşmesi sonucunda gerçekleştirilir. Kalay oktoat yaygın katalizör olarak kullanılır. Dihidroksi PEG veya monometoksi PEG'in terminal hidroksil grupları blok kopolimerleşme başlatarak sırasıyla A-B-A veya A-B tipi blok kopolimerlerinin sentezine yol açar (Şekil 1.7) [29].



Şekil 1.7. (a) PLGA-PEG diblok ve (b) PLGA-PEG-PLGA triblok kopolimeri

1.1.3. PCL homopolimerleri ve PCL-PEG kopolimerleri

1930'lu yıllardan beri çalışılan poli(ϵ -kaprolakton), siklik monomer ϵ -kaprolaktonun halka açılması polimerizasyonu ile elde edilen tekrarlanan heksanoat birimlerinden oluşan alifatik poliesterdir (Şekil 1.8) [30, 32]. % 69'a ulaşan kristalinite derecesine sahip yarı kristal bir polimerdir [33, 34]. Polimerizasyonu katalize etmek için kalay oktoat gibi katalizörler ve polimerin moleküler ağırlığını kontrol etmek için de düşük molekül ağırlıklı alkoller kullanılmıştır [31, 32]. PCL'nin fiziksel, termal ve mekanik özellikleri, molekül ağırlığına ve kristallik derecesine bağlıdır. Rapor edilen çeşitli özelliklerinin değerleri Tablo 1.2'de gösterilmiştir.

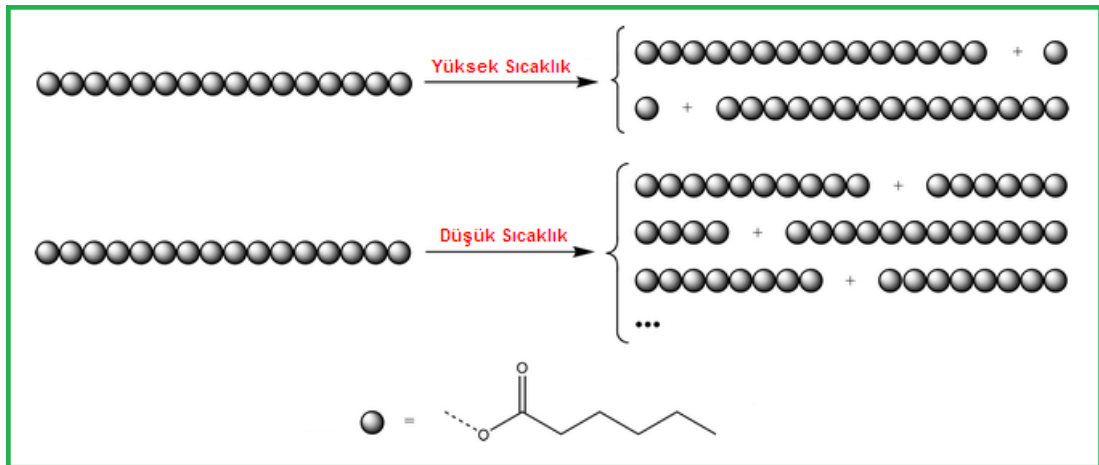


Şekil 1.8. PCL'nin sentezi

Tablo 1.2. PCL'nin özellikleri

Özellikler	Aralık	Referanslar
Sayıca ortalama molekül ağırlığı ($M_n/g.mol^{-1}$)	530-630000	[33]
Yoğunluk ($\rho/g.cm^{-3}$)	1,071-1,200	[33, 34, 35-38]
Camsı geçiş sıcaklığı ($T_g/^{\circ}C$)	(-65)-(-60)	[26, 35-37, 39]
Erime sıcaklığı ($T_m/^{\circ}C$)	56-65	[26, 35-39]
Bozunma sıcaklığı ($T_d/^{\circ}C$)	350	[40]
İnherent viskozite ($\eta_{inh}/cm^3.g^{-1}$)	100-130	[37]
İntrinsik viskozite ($\eta/cm^3.g^{-1}$)	0,9	[33, 34]
Çekme dayanımı (σ/MPa)	4-785	[26, 35, 37, 38]
Young modülü (E/GPa)	0,21-0,44	[35, 37]
Kopma anında uzama ($\epsilon/\%$)	20-1000	[26, 33-35, 37, 38]

Kristallik derecesine, molekül ağırlığına ve bozunma koşullarına bağlı olarak PCL, birkaç aydan birkaç yıla kadar zaman içerisinde biyolojik olarak bozunur [26, 33, 38–45]. Doğadaki pek çok mikrop PCL'nin tamamıyla biyobozunmasını sağlar [33, 38]. Yüksek sıcaklıklarda zincirin sonundan ayrılma ile polimer bozunurken, düşük sıcaklıklarda ise zincirden gelişigüzel bir ayrılma ile bozunma gerçekleşir (Şekil 1.9) [44]. PCL'nin bozunması, hidroliz sırasında serbest kalan karboksilik asitler tarafından otokatalizlenir [33, 39]. Ayrıca daha hızlı dekompozisyon sağlayan enzimler tarafından da katalizlenebilir [33, 42].



Şekil 1.9. PCL'nin bozunması sırasında polimerik zincirlerin kırılması

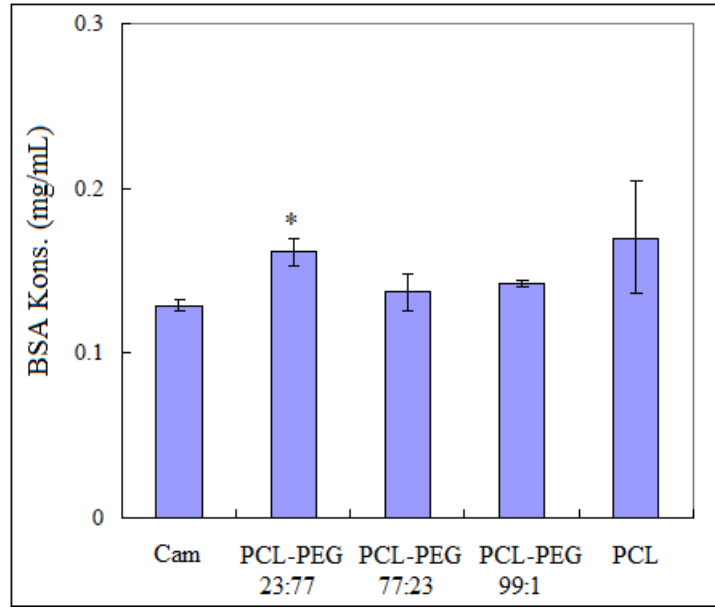
PCL doku mühendisliğindeki yapı iskelelerinde [33, 40, 45–47], uzun dönemli ilaç salım sistemlerinde [33, 39, 41, 42], özellikle doğum kontrol haplarının salımlarında

[26, 33], mikroelektronikte [33, 48], yapıştırıcı olarak [33, 44] ve ambalaj sanayi [26, 33] gibi pek çok farklı alanlarda kullanıma sahiptir. Geniş uygulanabilirliği ve ilginç özellikleri (kontrollü bozunması, diğer polimerlerle karışabilirliği, biyouyumluluğu ve yenilenebilir kaynaklardan türevlendirilen monomerlerden yapılabilirliği) PCL'yi çok kullanışlı bir polimer yapar.

Hidrofobik yarı kristalin polikaprolakton polimerinin tekrarlanan biriminde bir polar ester grubu ve beş polar olmayan metilen grubu mevcuttur. Yüksek olefin içeriği PCL'ye poliolefinik özellik katmaktadır. Bununla birlikte yüksek derecede kristalinite ve hidrofobisite özelliklerinden dolayı, PCL oldukça yavaş bozunur ve yumuşak dokularla daha az uyumludur. Bu da PCL'nin klinik uygulamalarını sınırlandırmaktadır. Bu yüzden PCL'nin modifikasyonu önerilmektedir. Poli(etilen glikol)'ün (PEG) hidrofilliği, toksik olmayışı, su ve organik çözücülerde çözünürlüğü, yüksek esnekliği, güçlü hidrasyonu, antijenisite ve immünojenisite yokluğu gibi özellikleri PCL-PEG kopolimerlerinin sentezini önemli kılar. Ayrıca bu biyouyumlu polimerler kristalliği azaltarak hızlı biyodegradasyonu sağlarlar. Böylece hidrofillik, biyobozunurluk ve benzeri özellikler geliştirilmiş olur ve çok daha fazla uygulama alanı bulur [42, 49-52]. Ayrıca sentetik prosedürler kullanılan reaktantlar ve katalizörlere göre çeşitlenir. Böylece farklı türlerde diblok veya triblok PCL-PEG kopolimerleri elde edilebilir.

PCL-PEG kopolimerlerinin ilaç salım sistemlerinde uygulamasının değerlendirilmesi ve optimize edilmesi üzerine muazzam bir ilerleme elde edilmiştir. PCL-PEG kopolimerleri üzerine bildirilen çalışmalar kopolimerlerin sentezleri, hazırlanması ve uygulama olarak çeşitli maddeler taşıyan mikro/nanopartiküller ve de ısıya hassas hidrojeller içermektedir. Özellikle PCL-PEG kopolimerlerden ısıya hassas hidrojellerin araştırılması jel-sol veya sol-jel geçiş davranışının belirlenmesi ve de implante edilebilir salım sistemlerinde olası kullanımı açısından çok önemlidir. PCL-PEG kopolimerindeki PEG segmentinin varlığı sayesinde, PCL poliesterinin bozunması ve biyouyumluluğu geliştirilmiştir [49]. Bununla birlikte bazı biyouyumluluk sorunları da bazı çalışmalarda gözlemlenmiştir. Örneğin bovin serum albumininin, PCL, PCL-PEG 99:1, PCL-PEG 77:23 ve PCL-PEG 23:77 üzerine adsorpsiyonu incelendiğinde PEG'in hangi oranı kullanılırsa kullanılsın PCL'nin

adsorpsiyon değerini geçemediği görülmüştür. Diğer yandan PCL-PEG 23:77 albumin adsorpsiyonu PCL'ye en yakın olandır (şekil 1.10) [53].



şekil 1.10. Bovin serum albuminin kontrol ve test malzemeleri üzerine adsorpsiyonu

Bağlanan ve büyüyen endotel hücreleri en fazla PCL için elde edilmiştir (Tablo 1.3). Bununla birlikte, PCL-PEG 23:77'nin hücre bağlaması ve çoğalması polikaprolaktona yakındır. Tablo 1.4'te ise tüm örnekler içerisinde PCL-PEG 23:77 kopolimerinin en fazla pıhtı hücreleri tutunmasına sahip olduğu görülmektedir. Ancak bu polimerin de pıhtı hücreleri ortalama aktivasyon derecesi çok düşüktür [53].

Tablo 1.3. Polimer filmlerin yüzeylerin üzerinde bağlanan ve çoğalan endotel hücrelerin sayısı

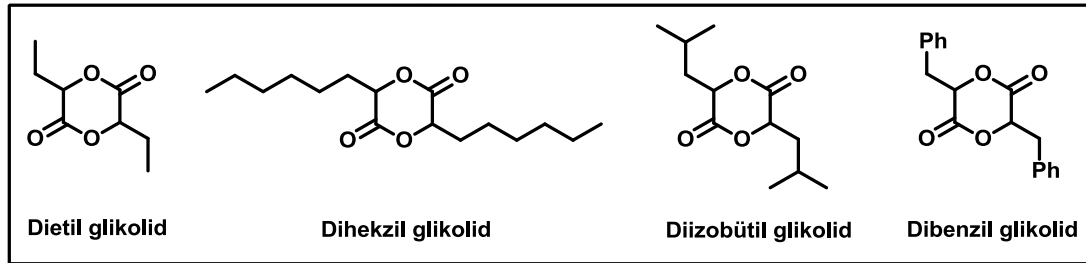
rnek	24 saatteki hücre sayısı ($\times 10^4$)	48 saatteki hücre sayısı ($\times 10^4$)
Cam	$1,1 \pm 0,1$	$27 \pm 0,1$
PCL-PEG 23:77	$1,1 \pm 0,2$	$16 \pm 0,1$
PCL-PEG 77:23	$1 \pm 0,1$	$10 \pm 0,1$
PCL-PEG 99:1	$0,7 \pm 0,1$	$1 \pm 0,1$
PCL	$1,2 \pm 0,1$	$1,9 \pm 0,1$

Tablo 1.4. 1 saatlik büyümeden sonraki kontrol ve test malzemelerine tutunan pıhtı hücrelerinin sayısı

Örnek	Bağlanan pıhtı hücrelerinin sayısı ($\times 10^4$)	Ortalama aktivasyon derecesi
Cam	$3,5 \pm 1$	$0,34 \pm 0,12$
PCL-PEG 23:77	$5 \pm 1,2$	$0,37 \pm 0,13$
PCL-PEG 77:23	$1,8 \pm 0,8$	$0,61 \pm 0,24$
PCL	$4,8 \pm 1,2$	$0,66 \pm 0,13$

1.1.4. Poli(disüstitüye glikolid) homopolimerleri ve poli(disüstitüye glikolid)-PEG kopolimerleri

Poli(disüstitüye glikolid) homopolimerlerinin hazırlanması, mevcut poli(laktid) ve poli(glikolid) homopolimerlerine iyi bir alternatif olması açısından önemlidir ve de bozunur polimer için fiziksel özellikleri geniş bir yelpaze sağlar. Bu amaçla dietil-, diheksil-, diizobütil- ve dibenzil glikolid monomerleri (Şekil 1.11) sentezlendikten sonra, çözelti ve eriyik polimerizasyon teknikleri kullanılarak halka açılması polimerleşmesi ile bu monomerler yüksek molekül ağırlıklı polimerlere dönüştürülmüştür [54, 55].



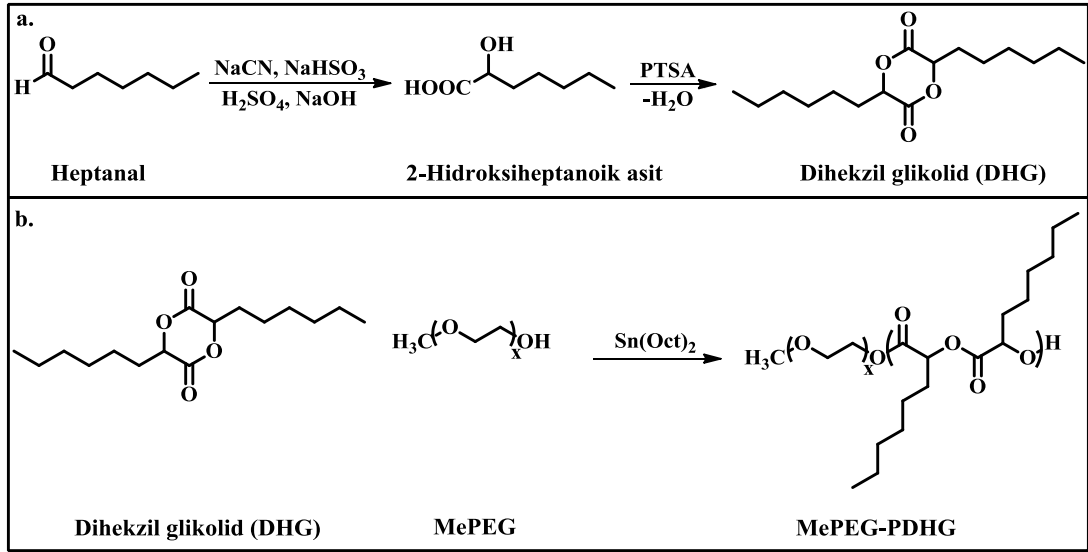
Şekil 1.11. Çeşitli glikolid türevleri

Bu polimerler açık amorf malzemeler olup camsı geçiş sıcaklığı 66 ile -37 °C aralığında değişmektedir (Tablo 1.5). Alkil süstitüye poli(glikolid)'ler için alkil zincirdeki dallanma T_g 'yi arttırırken, lineer alkil zincirin uzunluğunun artmasıyla T_g 'nin azaldığı gözlemlenmiştir. 320 °C'nin üzerinde de bu polimerlerin termal olarak monomerlerine bozunduğu görülmüştür (Tablo 1.5). 55 °C'de ve pH 7,4'de su içerisinde polimerlerin öncül bozunma çalışmaları ile süstitüye poli(glikolid)'lerin poli(laktid)'den daha yavaş bozunduğu ve poli(diizobütil glikolid)'in hidrolize karşı en dayanıklı polimer olduğu bulunmuştur [55].

Tablo 1.5. Sübstitüye poli(glikolid)'lerin özellikleri

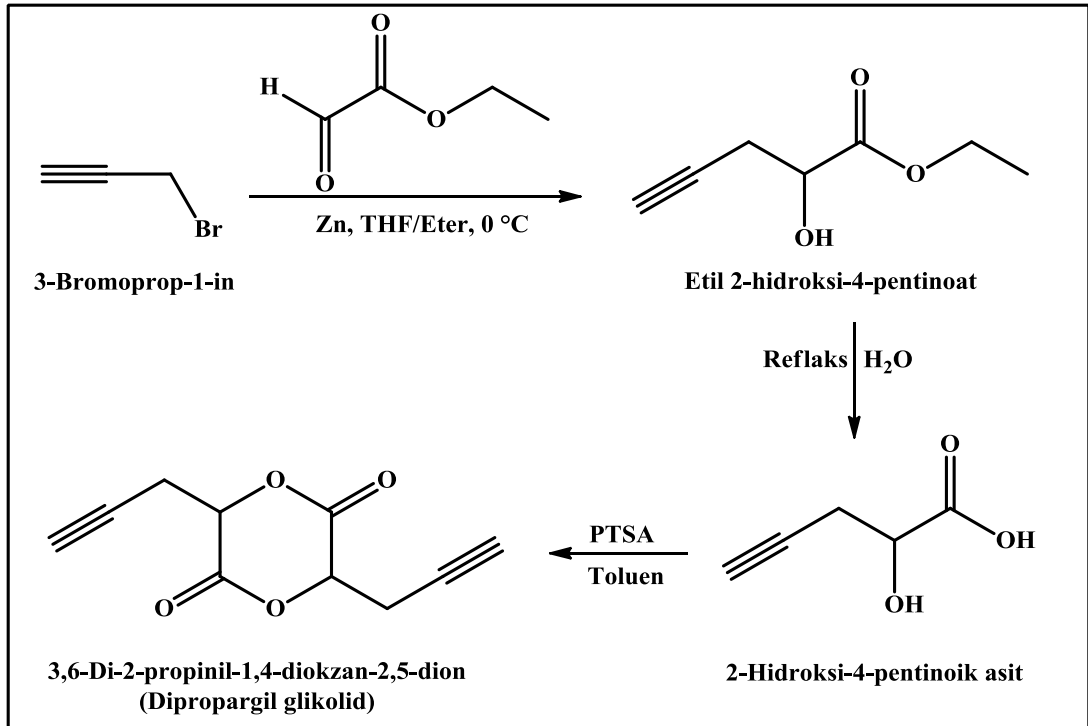
Polimer	M_n	M_w/M_n	T_g (°C)	T_d (°C)
Poli(laktid)	35200	1,89	66	324
Poli(dietyl glikolid)	45600	1,78	15	344
Poli(diheksil glikolid)	43200	1,91	-37	362
Poli(diizobütil glikolid)	47300	1,83	22	362
Poli(dibenzil glikolid)	57500	1,64	50	359

Amfifilik PEG-PLA veya PEG-PLGA blok kopolimer miselleri, biyoyumlu ve biyobozunur özelliklerinden dolayı son zamanlarda özellikle antikanser ilaçların salımında oldukça geniş bir çalışma alanına sahiptir. Böyle diblok kopolimerler, hidrofobik poli(laktid)'in çekirdeği oluşturması ve etrafındaki hidrofilik PEG tabakası ile yaklaşık 50 nm boyutunda küresel miselleri oluşturmak için sulu ortamda kendiliğinden toplanabilir. Birçok hidrofobik ilaç bu misellerin çekirdeğinin içine kolaylıkla hapsolür, fakat rapor edilen ilaç yüklemeleri genellikle düşüktür ve medikal uygulamalar için geliştirilmeye ihtiyaç vardır. Bu sebeplerle farklı misel boyutları, ilaç yükleme oranları ve bozunurluk özellikleri sağlanabilmesi açısından Thomas Trimaille ve arkadaşları tarafından PEG-PLA ve PEG-PLGA blok kopolimerlerine alternatif olacak metoksi poli(etilen glikol)-poli(diheksil sübstitüye glikolid) (MePEG-PDHG) blok kopolimerleri sentezlenmiş (Şekil 1.12) ve aynı molekül ağırlığındaki ve bileşimindeki PEG-PLA blok kopolimerleriyle karşılaştırılması yapılmıştır. Boyutları 30-80 nm aralığında değişen miseller hazırlanmış ve aynı bileşim ve molekül ağırlığındaki kopolimerler için kritik misel konsantrasyonunun, poliester blok üzerindeki heksil gruplarının sayısının artmasıyla birlikte azaldığı görülmüştür. Hazırlanan misellerin düşük kritik misel konsantrasyonunda (8-8,5 mg/L), seyreltilmiş koşullarda ilaç taşıyıcıları olarak kullanımı tasavvur edilmiştir. Standart MePEG-PLA miselleri ile karşılaştırıldığında iç misel çekirdeğindeki hidrofobisitenin artmasıyla birlikte daha yüksek miktarda ilaç yüklemeleri kolaylaştırılmıştır [56].



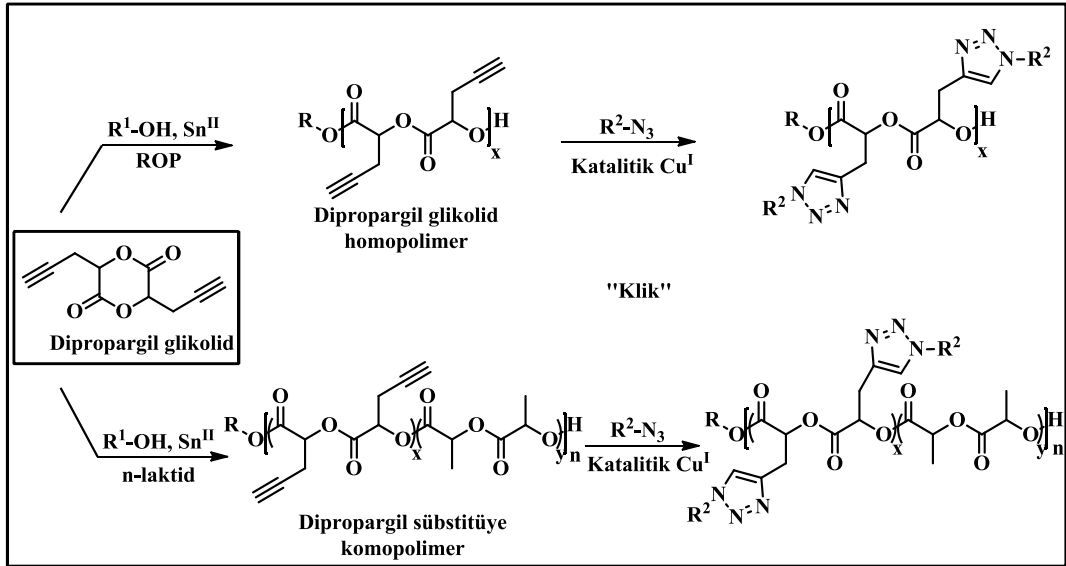
Şekil 1.12. (a) DHG monomeri sentezi, (b) MePEG-PDHG sentezi

‘Klik’ kimyası, polimerlerin ve diğer materyallerin modifikasyonu için güçlü bir yöntemdir. Malzeme ve medikal uygulamalardaki glikolid bazlı fonksiyonel polimerlerin öneminden dolayı Erin B. Vogel ve arkadaşları tarafından 3,6-dipropargil-1,4-diokzan-2,5-dion (asetilen-fonksiyonel glikolid monomeri) sentezlenmiştir (Şekil 1.13) [57].



Şekil 1.13. Dipropargil glikolid sentez şeması

Sonrasında monomer polimerizasyonu ve laktid ile yapılan kopolimerizasyon ile yeni poli(glikolid) homopolimerlerinin yanı sıra 'klik' kimyası kullanılarak kimyasal olarak fonksiyonel grupların bağlanabilmesi için uygun asetilen gruplarına sahip rastgele ve blok kopolimerler elde edilmiştir (Şekil 1.14). Poli(laktid)'in zincir bozunmasındaki hassaslığı dikkate alındığında, uygulanan protokol, molekül ağırlığında bozunma olmaksızın poli(glikolid)'lerin 'klik' fonksiyonelleştirilmesine izin vermek üzere tasarlanmıştır. Sübstitüye glikolidler için bu yaklaşımın güçlü sonuçlarından biri, düşük kritik çözelti sıcaklığı (25 °C - >60 °C) gösteren ısıya hassas biyobozunur malzemeler sentezlenmiş olmasıdır [57].



Şekil 1.14. Fonksiyonel glikolid polimer ve kopolimerlerin sentezi için 'klik' kimyası yöntemi

2. MALZEME VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

L-valin (Sigma-Aldrich, % 98) ve sodyum nitrit (NaNO_2) (Sigma-Aldrich) L-2-hidroksi-3-metilbütanoik asit sentezi için kullanıldı. p-Toluensülfonik asit monohidrat (PTSA) (Sigma-Aldrich, % 98,5) L-3,6-diizopropil-1,4-diokzan-2,5-dion sentezi için kullanıldı. Sodyum sülfat (Na_2SO_4) (Sigma-Aldrich) L-2-hidroksi-3-metilbütanoik asit ve L-3,6-diizopropil-1,4-diokzan-2,5-dion monomerinin saflaştırılmasında kullanıldı. MePEG-2000 homopolimeri (Fluka), PEG-2000 homopolimeri (Sigma) ve kalay(II) 2-etilhekzanoat ($\text{Sn}(\text{Oct})_2$) (Aldrich, % 95) PDIPG-MePEG diblok ve PDIPG-PEG-PDIPG triblok kopolimerlerinin sentezinde kullanıldı. Sodyum klorür (NaCl) (Sigma-Aldrich), potasyum klorür (KCl) (Riedel-de Haen, % 99,5), disodyum hidrojen ortofosfat (Na_2HPO_4) (BDH Chemicals) ve potasyum dihidrojen ortofosfat (KH_2PO_4) (BDH Chemicals) fosfat tampon çözeltisinin (PBS) hazırlanmasında kullanıldı.

2.2. Kullanılan Çözücüler

Sülfürik asit (H_2SO_4) (Sigma-Aldrich, % 95-97) L-2-hidroksi-3-metilbütanoik asit sentezi için kullanıldı. Dietil eter (Sigma-Aldrich, % 99,5) L-2-hidroksi-3-metilbütanoik asidin saflaştırılmasında kullanıldı. Toluen (Sigma-Aldrich, % 99,7) L-3,6-diizopropil-1,4-diokzan-2,5-dion sentezi, saflaştırılması ve L-2-hidroksi-3-metilbütanoik asidin saflaştırılması için kullanıldı. Sentezlenen kopolimerlerden monomer kalıntılarının uzaklaştırılması için diklorometan (Sigma-Aldrich, % 99) ve metanol (Sigma-Aldrich, % 99,9) kullanıldı. Tetrahidrofuran (Sigma-Aldrich, % 99,9) GPC analizlerinde hareketli faz olarak ve numune hazırlamak için kullanıldı. Asetonitril (Sigma-Aldrich, % 99,9) filtre edilip HPLC analizi için hareketli faz olarak kullanıldı.

2.3. Kullanılan Cihazlar

2.3.1. Elementel analiz

Sentezlenen monomerlerin yapısal tayininde Costech Elemental Combustion System (ECS 4010) model elementel analiz cihazı kullanıldı. Numunelerin analizi 980 °C’de azot, helyum ve oksijen gazı altında gerçekleştirildi.

2.3.2. Azaltılmış toplam reflektans-fourier dönüşümlü kızılötesi spektrofotometresi (ATR-FTIR)

ATR-FTIR spektrumları ATR Bruker-Tensor 27 model spektrometre kullanılarak 4000-600 cm⁻¹ aralığında ve 4 cm⁻¹ çözünürlüğünde 30 tarama yapılarak alındı.

2.3.3. Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi (NMR)

Sentezlenen monomer ve kopolimerlerin yapısal tayini ¹H ve ¹³C NMR cihazları ile yapıldı. ¹H ve ¹³C NMR ölçümleri için sırasıyla 400 ve 100 MHz frekansları kullanıldı. Ayrıca ¹H NMR ile kopolimerlerin sayıca ortalama molekül ağırlığı belirlendi. Analizler Bruker Avance DPX 400 ve Bruker Avance III 500 MHz cihazları ile gerçekleştirildi. Örnekler NMR tüplerinde dötero-kloroform (CDCl₃) ile hazırlandı.

2.3.4. Jel geçirgenlik kromatografisi (GPC)

GPC analizleri 30 °C’de RID-10A refraktif indeks dedektör, LC-20AD çözücü dağıtım birimi ve PSS SDV 5 µL 1000 Å ve PSS SDV 5 µL 50 Å olmak üzere iki kolon içeren CTO-10AS kolon fırın ile donatılmış Shimadzu GPC cihazı ile yapıldı. THF (HPLC saflıkta) 1 mL/dk akış hızında hareketli faz olarak kullanıldı. Numune konsantrasyonu 2 mg/mL ve enjeksiyon hacmi 50 µL’dir. Kalibrasyon eğrisi 162–34300 Da aralığındaki yedi tane polistiren standardı ile yapıldı.

2.3.5. Diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC)

Diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC) analizleri PerkinElmer DSC 4000 cihazı kullanılarak -65 - 220 °C aralığında, kopolimerlerin erime sıcaklıkları için 10 °C/dk ısıtma hızında çift tarama ve camsı geçiş sıcaklıkları için 40 °C/dk ısıtma hızında tek

tarama yapılarak, azot atmosferi altında gerçekleştirildi. Kopolimerlerin camsı geçiş sıcaklık (T_g) ve erime sıcaklık değerleri (T_m) Pyris programı yardımı ile hesaplandı.

2.3.6. Termogravimetrik analiz (TGA)

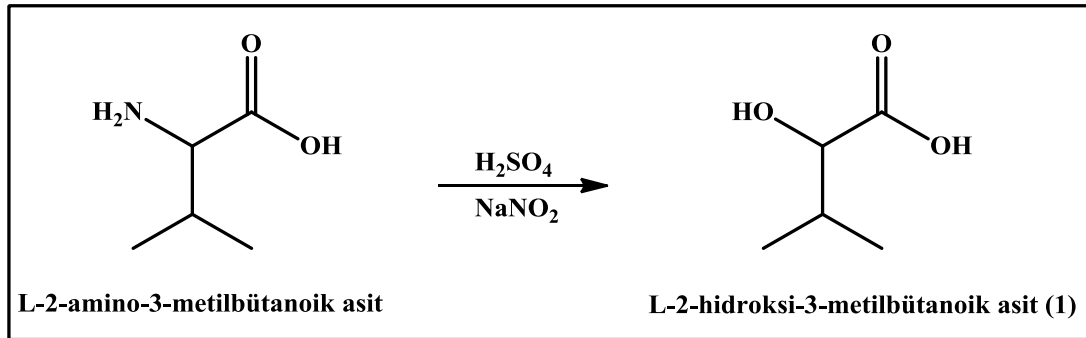
Termogravimetrik analiz (TGA) PerkinElmer TGA 4000 cihazı kullanılarak yapıldı. Analizler azot gazı altında oda sıcaklığından 600 °C'ye kadar 40 °C/dk hızla ısıtılarak gerçekleştirildi. Kopolimerlerin kütle kaybı ve büküm noktası değerleri Pyris programı yardımı ile hesaplandı.

2.3.7. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)

HPLC spektrumları 1260 Infinity Agilent cihazı kullanılarak UV dedektör ile kaydedildi. Datalar Agilent ChemStation yazılım programı kullanılarak hesaplandı. Paklitaksel antikanser ilacının analizi için ZORBAX SB-C18 4,6 x 150 mm, 3,5 µm HPLC kolonu kullanıldı.

2.4. Yöntem

2.4.1. L-2-hidroksi-3-metilbütanoik asit sentezi



Şekil 2.1. L-2-hidroksi-3-metilbütanoik asit sentezi

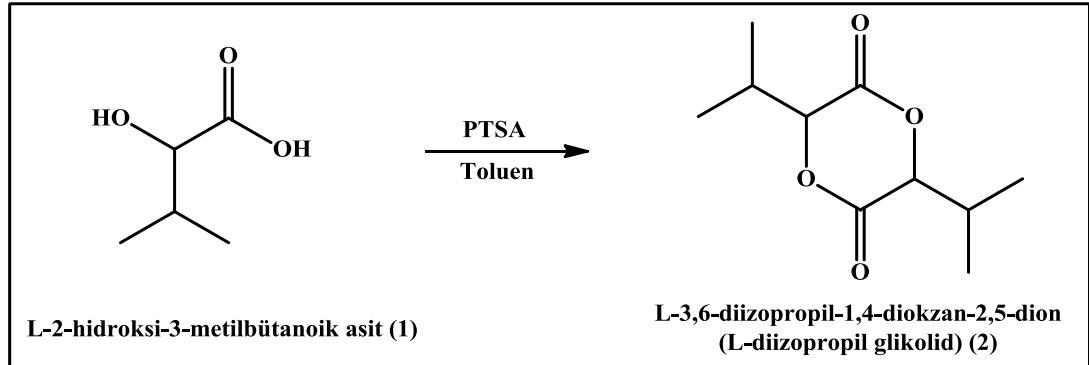
12 mL konsantre H₂SO₄, 200 mL saf su ile seyreltilerek 0 °C'ye buz banyosu içerisinde soğutuldu. Soğutulan çözelti içerisinde 12 g L-2-amino-3-metilbütanoik asit (L-valin) eklendi. Hemen arkasından 200 mL saf sudaki 28,8 g NaNO₂ çözeltisi damlatma hunisi kullanılarak damla damla çözelti karışımına eklendi. Reaksiyon gece boyunca 0 °C'de karıştırıldı. Reaksiyon takibi ince tabaka kromatografisi (TLC, Silika Jel 60 F₂₅₄) ile yapıldı. Spotlar TLC plakasında destile su mobil fazı ile yürütüldü ve noktaların belirlenmesi için, TLC plakası ninhidrin boyası (amin grubu

belirteci) ile boyanıp 120 °C’de 2 dakika tutuldu. Sonrasında karışım sodyum klorür ile doyuruldu, dietil eter (6 x 60 mL) ile ekstrakte edildi ve organik fazlar birleştirilip susuz sodyum sülfat ile kurutuldu. Kurutulan faz filtre edilip, dietil eter evaporatörde vakum altında uçuruldu. Çözücünün tamamen uçması için elde edilen kalıntı vakum pompasına takıldı ve safsızlıkları uzaklaştırmak için kalıntı soğuk toluen ile yıkandı, ardından toluen dekantasyonla uzaklaştırılıp ürün vakum altında kurutuldu. Sonuç olarak % 50 verim ile 5,93 g L-2-hidroksi-3metilbütanoik asit (1) beyaz kristalleri elde edildi [58].

ATR-FTIR ($\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$): 3413 (OH), 2972, 2935, 2880 (CH), 1702 (CO).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0,92 (3H, d); 1,1 (3H, d); 2,1-2,2 (1H, m); 4,2 (1H, d), 6,2-8,6 (2H, b). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 15,9; 18,7; 31,9; 74,9; 179.

2.4.2. L-3,6-diizopropil-1,4-diokzan-2,5-dion (L-diizopropil glikolid) sentezi



Şekil 2.2. L-3,6-diizopropil-1,4-diokzan-2,5-dion sentezi

L-2-hidroksi-3-metilbütanoik asit (25 g, 0,21 mol) ve p-toluensülfonik asit monohidrat (0,5 g, 2,5 mmol) karışımı, toluen içerisinde dean-stark aparatı kullanılarak suyun reaksiyon ortamından uzaklaştırılması ile 5 gün boyunca reflaks edildi. Sonrasında toluen çözeltisi soğutuldu ve toluen evaporatörde vakum altında az bir miktar kalana kadar uçuruldu. Kristallenmesi için toluen çözeltisi 4 °C’de 3-4 saat bekletilip oluşan kristaller dekantasyon ile ayrıldı. Safsızlıkları gidermek amacı ile ikinci kez kristallendirme yapılmak üzere kalıntının içerisine az bir miktar toluen eklenip 50-55 °C’ye ısıtıldı ve tekrar 4 °C’de 3-4 saat bekletildi ve oluşan kristaller dekantasyonla ayrılıp vakum altında kurutuldu. Sonuç olarak % 20 verim ile 8,5 g L-3,6-diizopropil-1,4-diokzan-2,5-dion (2) kristalleri elde edildi [54].

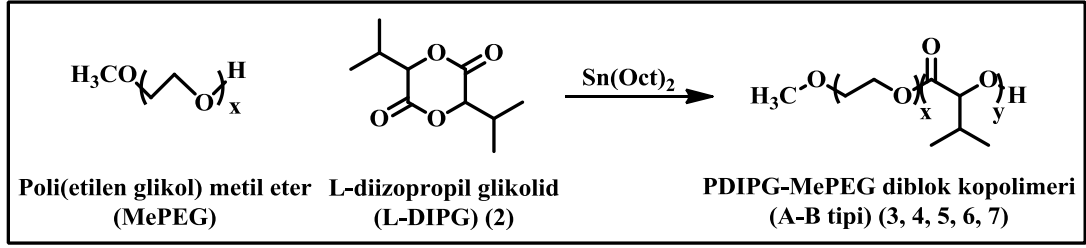
Elementel analiz (%): Hesaplanan C 60,0; H 8,05; bulunan C 60,9; H 7,68.

ATR-FTIR ($\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$): 2969, 2939, 2878 (CH), 1748 (CO).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1,1 (3H, d); 1,2 (3H, d); 2,4-2,6 (1H, m); 4,7 (1H, d).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 15,9; 18,5; 29,4; 79,6; 166.

2.4.3. PDIPG-MePEG diblok kopolimer sentezi



Şekil 2.3. PDIPG-MePEG diblok kopolimer sentezi

PDIPG-MePEG 3 sentezlenirken; 240 mg MePEG-2000 (0,12 mmol), 400 mg L-diizopropil glikolid (2 mmol) ve 20 mg $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ (0,05 mmol) polimerizasyon tüpünün içerisine eklendi. Reaksiyon $120\text{ }^\circ\text{C}$ 'de azot gazı altında 3 saat süreyle karıştırılarak gerçekleştirildi. Sentezlenen diblok kopolimer eser miktarda diklorometan (4 mL) ile çözüldü ve soğuk metanolün (40 mL) aşırısı ile çöktürüldü. Arkasından vakum altında kurutuldu.

PDIPG-MePEG 4, 5, 6, 7 yukarıdaki gibi aynı yöntem ile sentezlendi. Deneysel koşullar Tablo 2.1'de gösterildi.

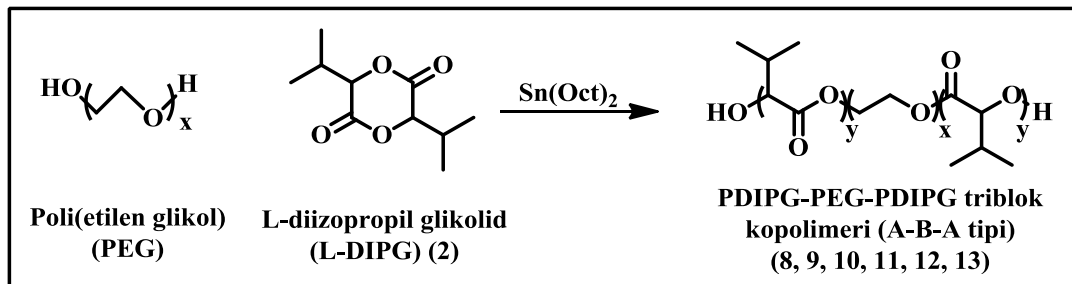
ATR-FTIR ($\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$): 2970, 2935, 2877 (CH); 1753 (CO).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0,81-0,85 (6H, t); 1,9-2,3 (1H, m); 3,4 (4H, s); 4,9 (1H, d). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 16,9; 18,6; 30,2; 70,6; 76,9; 169.

Tablo 2.1. PDIPG-MePEG sentezi için deneysel koşullar

No	MePEG-2000 (mmol)	L-DIPG (mmol)	Sn(Oct) ₂ (mmol)	Zaman (saat)	Sıcaklık (°C)
3	0,12	2	0,05	3	120
4	0,12	1,5	0,05	3	120
5	0,12	0,75	0,05	3	120
6	0,12	0,25	0,05	3	120
7	0,12	10	0,05	8	180

2.4.4. PDIPG-PEG-PDIPG triblok kopolimer sentezi



Şekil 2.4. PDIPG-PEG-PDIPG triblok kopolimer sentezi

PDIPG-PEG-PDIPG 8 sentezlenirken; 240 mg PEG-2000 (0,12 mmol), 600 mg L-diizopropil glikolid (3 mmol) ve 20 mg Sn(Oct)₂ (0,05 mmol) polimerizasyon tüpünün içerisine eklendi. Reaksiyon 120 °C'de azot gazı altında 3 saat süreyle karıştırılarak gerçekleştirildi. Sentez sonrasında monomer kalıntılarını uzaklaştırmak için triblok kopolimer eser miktarda diklorometan (4 mL) ile çözülüp, soğuk metanolün (40 mL) aşırısı ile çöktürülerek vakum altında kurutuldu.

PDIPG-PEG-PDIPG 9, 10, 11, 12, 13 yukarıdaki gibi aynı yöntem ile sentezlendi. Deneysel koşullar Tablo 2.2'de gösterildi.

ATR-FTIR ($\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$): 2970, 2937, 2877 (CH); 1751 (CO).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0,79-0,83 (6H, t); 1,9-2,3 (1H, m); 3,4 (4H, s); 4,8 (1H, d). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 16,9; 18,5; 30,2; 70,6; 76,9; 169.

Tablo 2.2. PDIPG-PEG-PDIPG sentezi için deneysel koşullar

No	PEG-2000 (mmol)	L-DIPG (mmol)	Sn(Oct) ₂ (mmol)	Zaman (saat)	Sıcaklık (°C)
8	0,12	3	0,05	3	120
9	0,12	1,5	0,05	3	120
10	0,12	1	0,05	3	120
11	0,12	0,8	0,05	3	120
12	0,12	0,6	0,05	3	120
13	0,12	10	0,05	8	180

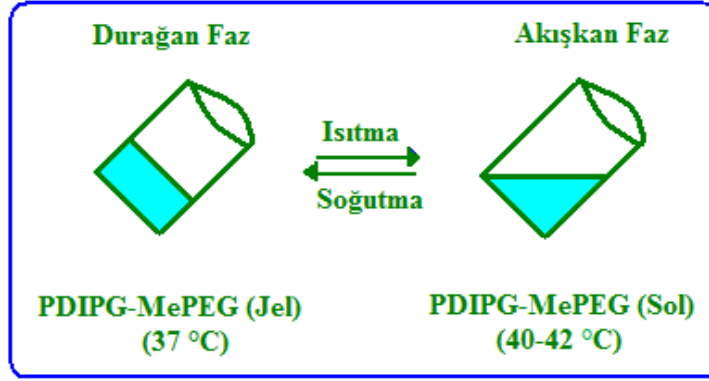
2.4.5. Kopolimerlerin ısıya hassaslık özelliklerinin incelenmesi

Genel protokol olarak çeşitli konsantrasyonlardaki PDIPG-MePEG diblok 4, 5 ve PDIPG-PEG-PDIPG triblok 10, 11, 12 kopolimerleri belirli hacimlerdeki destile su ile karıştırılıp vorteks kullanılarak homojen karışım oluşturup oluşturmadığına bakıldı (Tablo 2.3). Homojen karışımlar 4 °C’de buzdolabında yarım saat bekletildi ve arkasından ısı kontrollü su banyosuna daldırılıp jel-sol geçiş sıcaklığı 4-80 °C aralığında ikişer derece arttırılarak belirlendi. Vialler her bir sıcaklık noktasında ters yüz edilmeden önce 2 dakika süreyle su banyosunda bekletildi. Kritik jel-sol geçişi kopolimerlerin bulunduğu vialin ters yüz edilmesi ile jelin sol formuna geçtiği sıcaklık olarak belirlendi [4, 59].

Tablo 2.3. Jel-sol geçiş sıcaklığının belirlenmesi için test edilen kopolimer konsantrasyonları

No	Kopolimer	% Konsantrasyon (mg/μL)
4	Diblok	23, 24, 24,5, 25
5		24, 26, 27, 28, 30
10	Triblok	5, 10, 15, 20, 30
11		25, 30, 35, 40
12		90, 95, 97,5, 99, 100

Sonuç olarak 40-42 °C’de enjeksiyona hazır olabilen (sol), soğutmayla da vücut sıcaklığında jel oluşturabilen uygun molekül ağırlığındaki ve konsantrasyondaki kopolimerler belirlendi. Şekil 2.5’te temsili bir örnek olarak ısıya hassaslık özelliklerin incelenmesinin şekli gösterilmektedir.



Şekil 2.5. Temsili bir örnek için ısıya hassaslık özelliklerinin incelenmesi

2.4.6. Fosfat tampon çözeltisinin (PBS) hazırlanması

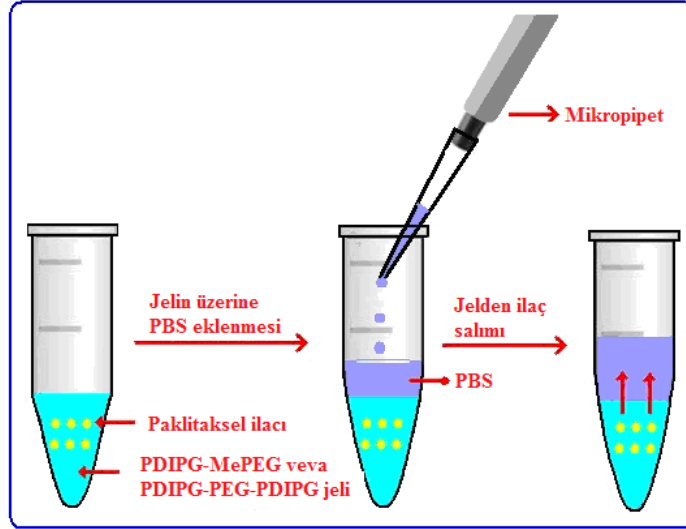
2 g NaCl, 0,05 g KCl, 0,36 g Na₂HPO₄ ve 0,06 g KH₂PO₄ 200 mL destile su içerisinde çözüldü. pH, HCl ile 7,4'e ayarlandı ve son hacim destile su ile 250 mL'ye tamamlandı.

2.4.7. Paklitaksel antikanser ilacının kopolimer jellerinin içerisine yüklenmesi ve ilaç salım çalışmaları

Paklitaksel antikanser ilacı, hazırlanan kopolimer jellerinin içerisine % 1 oranında etkin bir şekilde yüklendi (Tablo 2.4). Örneğin, 100 mg kopolimer için 1 mg paklitaksel ve konsantrasyona göre gereken destile su vialin içerisine eklendi ve ilaç yüklü jel oluşturmak için vorteks kullanılarak homojen bir şekilde oda sıcaklığında karıştırıldı. Daha sonra bu ilaçların jelden salım çalışmaları yapıldı. Şekil 2.6'da jelden ilaç salımının temsili resmi gösterilmektedir.

Tablo 2.4. Aynı yükleme oranlarında paklitaksel ilacı ile jel hazırlanması

No	Kopolimer Miktarı (mg)	İlaç Miktarı (mg)	Destile Su (µL)
4	130	1,3	390
5	180	1,8	420
11	200	2	300
12	500	5	-



Şekil 2.6. Jelden ilaç salımının temsili resmi

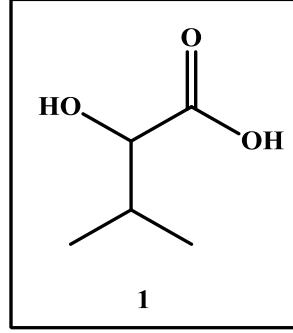
Jelden ilaç salım çalışmaları için belirli miktardaki ilaç yüklü jeller ve ilaç içermeyen jellerin üzerine pH'ı 7,4 olan 1 mL PBS eklendi. Bu numuneler 37 °C'de inkübatör içerisinde yerleştirilip 200 rpm karıştırma hızında karıştırıldı. 1., 2., 4., 24., 48., 72., 96. saatlerde ve arkasından her 24 saatte bir örnekler inkübatörden dışarı çıkartılarak jelin üzerindeki PBS fazı ayrı bir ependorfa alınıp -20 °C'de muhafaza edildi. Ardından yeni PBS, jelin üzerine eklendi ve bir sonraki zamana kadar 37 °C'de inkübatör içerisinde tutuldu. Sonrasında toplanan numunelerin HPLC ölçümleri alınıp jelden ne kadar ilaç salındığı bulundu.

2.4.8. HPLC analizi

Paklitaksel antikanser ilacının salım miktarlarının belirlenmesi için C18 ters faz kolon, UV dedektör ve mobil faz olarak asetonitril/su kullanıldı. Paklitakselin stok çözeltisi, vialin içerisine 1,5 mg paklitaksel tartılıp 1,5 mL asetonitril ile seyreltilerek 1000 µg/mL olacak şekilde hazırlandı. Kalibrasyon eğrisinin yapılması için asetonitril kullanılarak stok çözeltden seri seyreltme yöntemi ile 31,25, 62,5, 125, 250 ve 500 µg/mL'lik çözeltiler hazırlandı. Kromatografik koşullar; akış hızı 1 mL/dk, dalga boyu 227 nm, enjeksiyon hacmi 20 µL, hareketli faz asetonitril/su (60/40) ve alıkonma zamanı 8 dakika olacak şekilde belirlendi ve R^2 değeri 0,9999 bulundu. Kalibrasyon eğrisi hazırlandıktan sonra -20 °C'de muhafaza edilen ilaç içeren ve içermeyen numuneler analize verilmeden önce 1/20 oranında asetonitril ile seyreltildi.

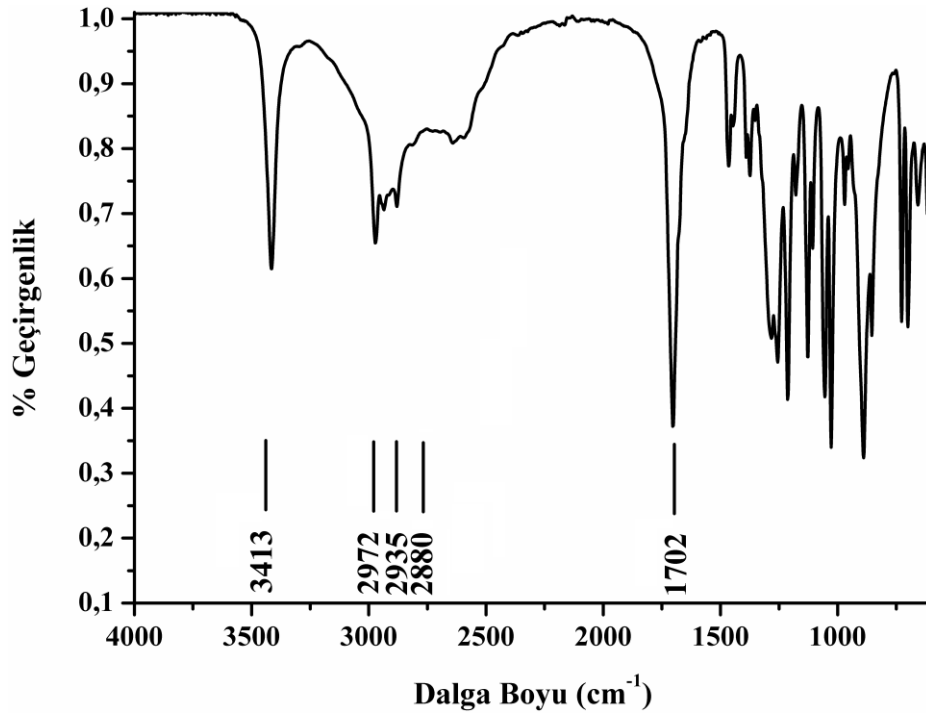
3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. L-2-Hidroksi-3-metilbütanoik Asit (1)



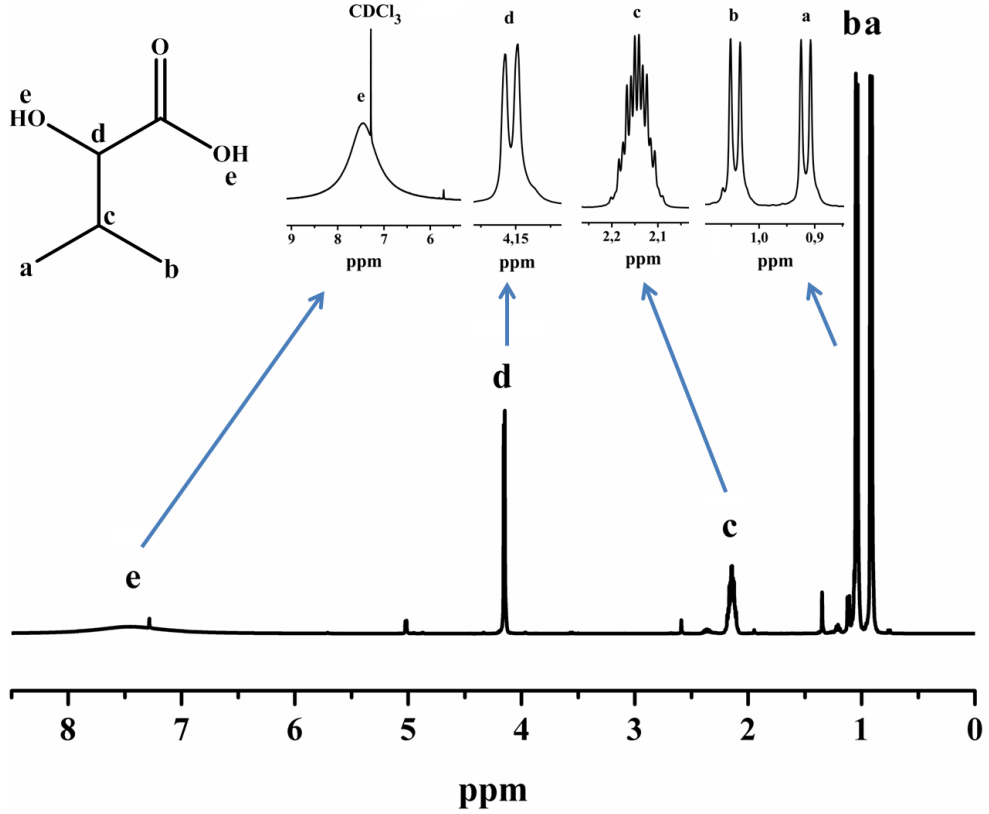
Şekil 3.1. 1 bileşiği

L-2-hidroksi-3-metilbütanoik asit sentezi, L-2-amino-3-metilbütanoik asit başlangıç maddesi kullanılarak sülfürik asit ve sodyum nitrit varlığında 24 saat boyunca 0 °C'de gerçekleştirildi (Şekil 3.1). 1 bileşiğinin karakterizasyonu ATR-FTIR, ¹H NMR ve ¹³C NMR teknikleri kullanılarak yapıldı. Elde edilen verilerin değerlendirilmesi aşağıda verilmektedir.



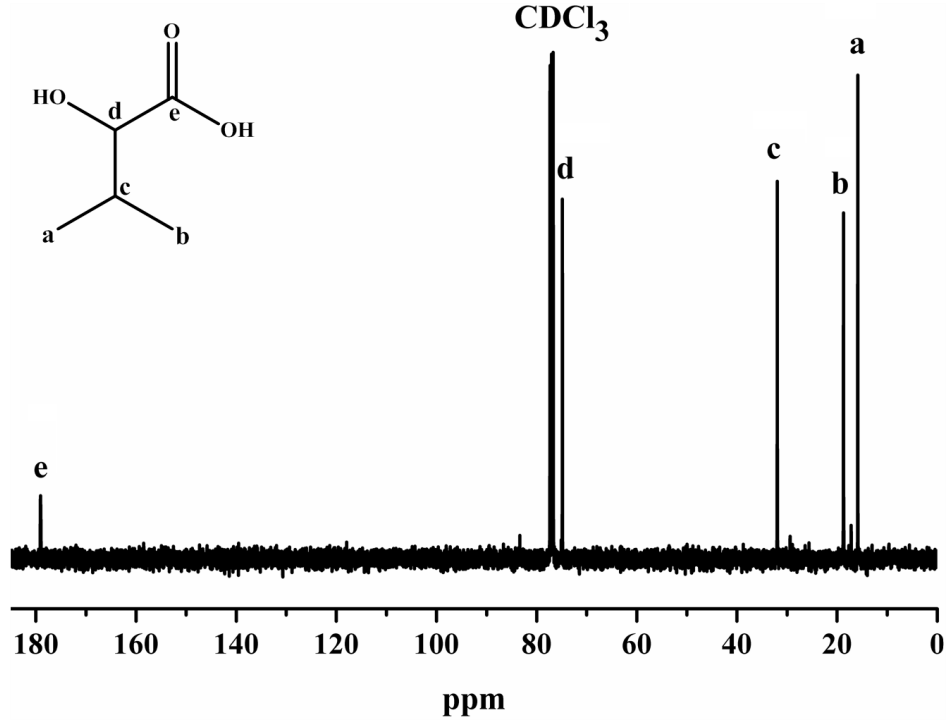
Şekil 3.2. L-2-hidroksi-3-metilbütanoik asit ATR-FTIR spektrumu

1 bileşiminin ATR-FTIR spektrumu (Şekil 3.2) incelendiğinde; 1702 cm^{-1} 'de gözlenen keskin pik karboksilik asit grubunun karbonil (C=O) gerilmesine aittir. 2972 cm^{-1} , 2935 cm^{-1} ve 2880 cm^{-1} 'de gözlenen pikler C-H gerilmelerinden kaynaklanmaktadır. 3413 cm^{-1} 'de gözlenen pik ise hidroksil (OH) grubuna aittir ve başlangıç maddesinde görünmemektedir. Ayrıca elde edilen değerlerin literatürdeki bilgilerle uyumlu olduğu görüldü [60].



Şekil 3.3. L-2-hidroksi-3-metilbütanoik asit ^1H NMR spektrumu

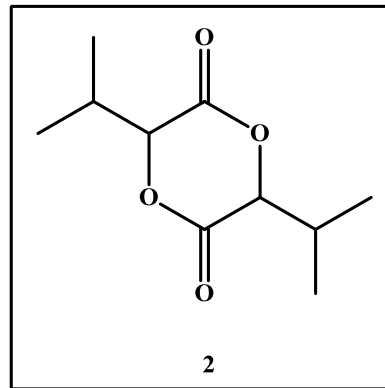
1 bileşiminin ^1H NMR spektrumu (Şekil 3.3) teorik hesaplamalar ve literatürdeki değerlendirmeler [60, 61] dikkate alınarak yorumlandı. 0,92 ppm'de a kodlu CH₃ protonuna ait ikili bir pik, 1,1 ppm'de b kodlu CH₃ protonuna ait ikili bir pik, 2,1-2,2 ppm arasında c kodlu CH protonuna ait çoklu bir pik, 4,2 ppm'de d kodlu CH protonuna ait ikili bir pik ve 6,2-8,6 ppm arasında OH protonlarına ait yayvan bir pik görülmektedir. Bununla birlikte L-2-amino-3-metilbütanoik asitte 4 ppm'de gelen CH protonuna ait ikili pik, beklenildiği gibi kayarak 1 bileşimde 4,2 ppm'de ikili bir pik olarak gelmektedir. Ayrıca, piklerin altında kalan alanların proton sayıları ile doğru orantılı olduğu görüldü.



Şekil 3.4. L-2-hidroksi-3-metilbütanoik asit ¹³C NMR spektrumu

Teorik hesaplamalar ve literatürdeki bilgilerden [60, 61] yararlanılarak 1 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu (Şekil 3.4) değerlendirildi. 15,9 ppm'de a kodlu karbona ait pik, 18,7 ppm'de b kodlu karbona ait pik, 31,9 ppm'de c kodlu karbona ait pik, 74,9 ppm'de d kodlu karbona ait pik ve 179 ppm'de e kodlu karbona ait pik görülmektedir. Bununla birlikte başlangıç maddesinde 58 ppm ve 168 ppm'de gelen pikler beklenildiği gibi kayarak 1 bileşiğinde sırasıyla 74,9 ve 179 ppm'de görülmektedir.

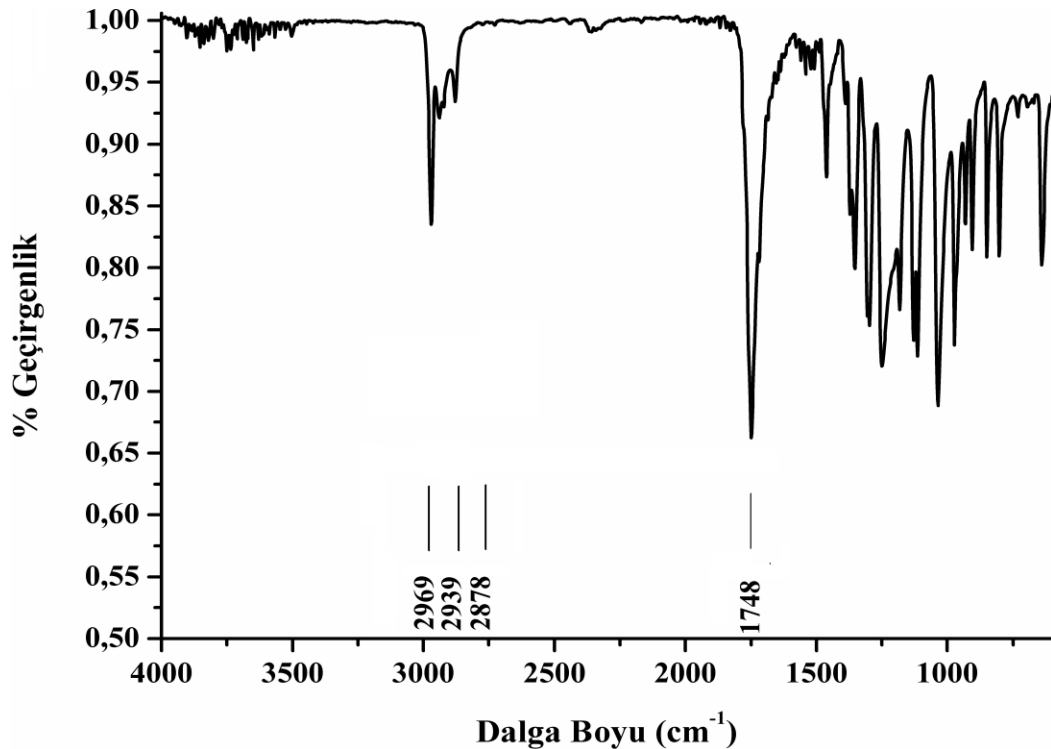
3.2. L-Diizopropil Glikolid (2) Monomerinin Sentez ve Karakterizasyonu



Şekil 3.5. 2 bileşiği

L-2-hidroksi-3-metilbütanoik asidin kondensasyonu ile L-3,6-diizopropil-1,4-diokzan-2,5-dion (L-diizopropil glikolid) sentezi toluen içerisinde ve p-toluensülfonik asit monohidrat varlığında 5 gün boyunca reflaks edilerek gerçekleştirildi (Şekil 3.5). Reaksiyon takibi için önce ince tabaka kromatografisi (TLC) denendi, ancak üründe UV aktivitesi görülmediği için başarılı olmadı. NMR cihazı üniversitemizde olmadığı için zamana bağlı olarak reaksiyon takibi için NMR kullanılmadı. Alternatif olarak hem ATR-FTIR'dan faydalandı hem de monomer piki ve diğer olası oligomerik türleri görmek için GPC kullanıldı. L-diizopropil glikolid monomerinin sentezi sırasında reaksiyonun gerçekleşmesinin süreye çok bağımlı olduğu görüldü. Kısa sürelerde başlangıç maddesi olan L-2-hidroksi-3-metilbütanoik asidin bitmediği, uzun sürelerde de monomerin oligomerik türlere dönmeye başladığı gözlemlendi.

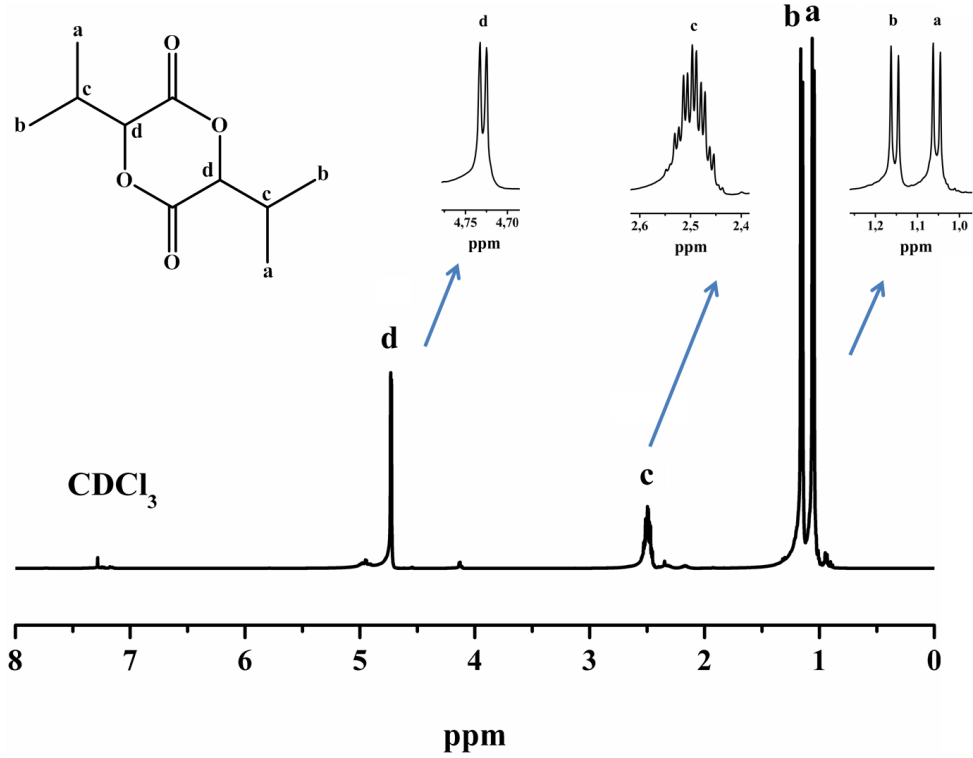
2 bileşiğinin karakterizasyonu ATR-FTIR, ^1H NMR, ^{13}C NMR ve elementel analiz teknikleri kullanılarak yapıldı. Elde edilen verilerin değerlendirilmesi aşağıda verilmektedir.



Şekil 3.6. L-diizopropil glikolid monomerinin ATR-FTIR spektrumu

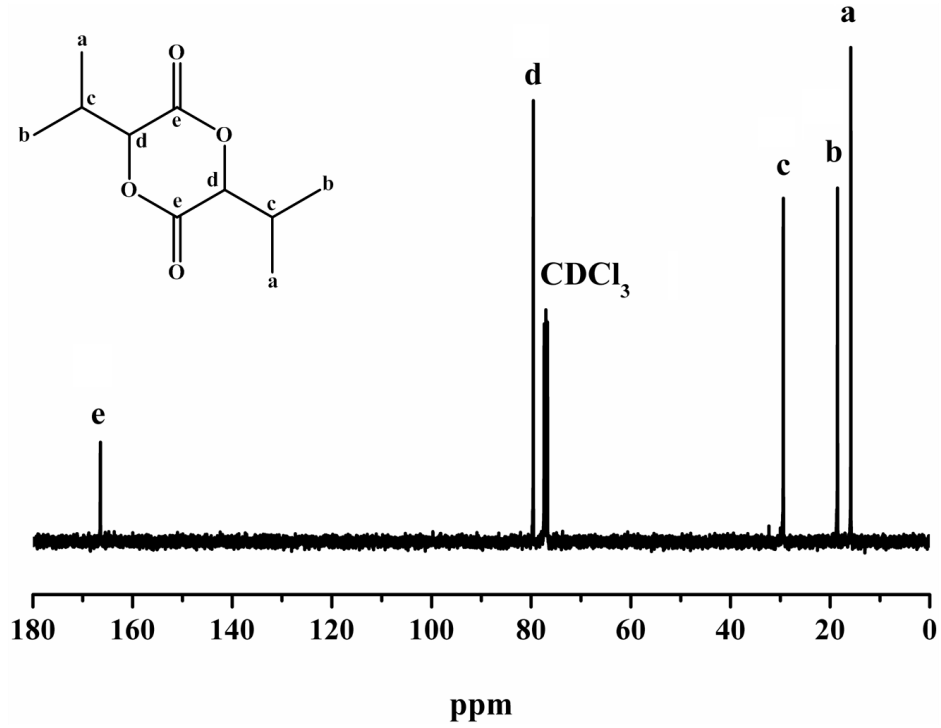
2 bileşiğinin ATR-FTIR spektrumu (Şekil 3.6) incelendiğinde; 1748 cm^{-1} 'de gözlenen keskin pik ester grubunun karbonil ($\text{C}=\text{O}$) gerilmesine aittir. 2969 cm^{-1} ,

2939 cm^{-1} ve 2878 cm^{-1} 'de gözlenen pikler C-H gerilmelerinden kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte başlangıç maddesinde karboksilik asit grubunun karbonil gerilmesi 1702 cm^{-1} iken, halka kapanması ile oluşan ester grubu sayesinde karbonil gerilmesinin beklenildiği gibi 1748 cm^{-1} 'e kaydığı bulundu. Ayrıca L-2-hidroksi-3-metilbütanoik asidin ATR-FTIR spektrumunda 3413 cm^{-1} 'de görülen hidroksil (OH) gerilmesine ait pikin kaybolması, halka kapanması ile 2 bileşiğinin sentezinin gerçekleştiğini göstermektedir.



Şekil 3.7. L-diizopropil glükolid monomerinin ¹H NMR spektrumu

Şekil 3.7'de verilen 2 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu teorik hesaplamalar ve literatürdeki değerlendirmelerden [58] faydalanılarak yorumlandı. 1,1 ppm'de a kodlu CH₃ protonuna ait ikili bir pik, 1,2 ppm'de b kodlu CH₃ protonuna ait ikili bir pik, 2,4-2,6 ppm arasında c kodlu CH protonuna ait çoklu bir pik ve 4,7 ppm'de d kodlu CH protonuna ait ikili bir pik görülmektedir. Ayrıca 2 bileşiğinde bulunan proton sayılarının piklerin altında kalan alanlarla uyumlu olduğu bulundu. Bununla birlikte L-2-hidroksi-3-metilbütanoik asitte 4,2 ppm'de gelen CH protonuna ait ikili pik, 2 bileşiğinde kimyasal kaymaya uğrayarak 4,7 ppm'de ikili bir pik olarak görülmektedir.



Şekil 3.8. L-diizopropil glikolid monomerinin ¹³C NMR spektrumu

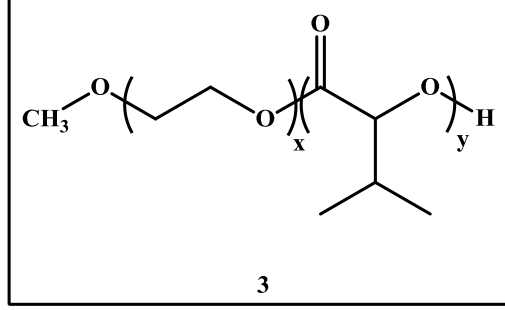
2 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu (Şekil 3.8) teorik hesaplamalar ve literatürdeki bilgiler [58] dikkate alınarak değerlendirildi. 15,9 ppm'de a kodlu karbona ait pik, 18,5 ppm'de b kodlu karbona ait pik, 29,4 ppm'de c kodlu karbona ait pik, 79,6 ppm'de d kodlu karbona ait pik ve 166 ppm'de e kodlu karbona ait pik görülmektedir. Bununla birlikte başlangıç maddesinde 74,9 ppm ve 179 ppm'de gelen piklerin halka kapanmasıyla oluşan ester sayesinde beklenildiği gibi kayarak 2 bileşiğinde sırasıyla 79,6 ve 166 ppm'de geldiği bulundu.

Bu bileşik (2) için bulunan elementel analiz değerlerinin hesaplanan değerlerle uyumlu olduğu görülmektedir (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. 2 bileşiği (C₁₀H₁₆O₄) için hesaplanan ve bulunan elementel analiz değerleri

Element	% C	% H
Bulunan	60,9	7,68
Hesaplanan	60,0	8,05

3.3. Yeni PDIPG-MePEG (3) Diblok Kopolimerlerinin Sentez ve Karakterizasyonları



Şekil 3.9. 3 bileşiği

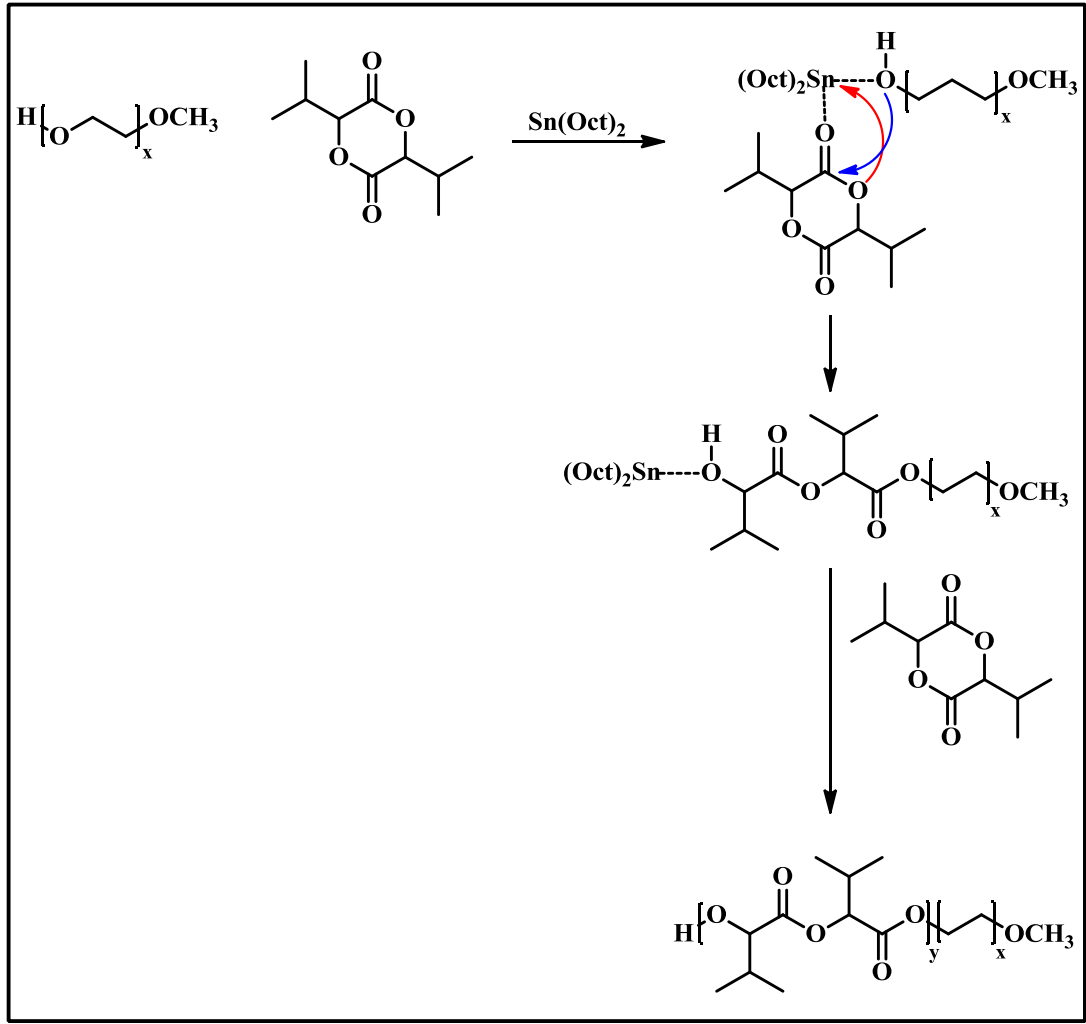
PDIPG-MePEG diblok kopolimerinin sentezi sırasında; monomer olarak diizopropil glikolid, kobaşlatıcı olarak MePEG-2000, katalizör olarak kalay oktoat (Sn(Oct)₂) kullanıldı. Çözücüsüz ortamda azot gazı altında poli(etilen glikol) metil eter (MePEG) ve diizopropil glikolid, Sn(Oct)₂ varlığında reaksiyona sokularak halka açılması polimerleşmesi yöntemi ile PDIPG-MePEG diblok kopolimerleri elde edildi (Şekil 3.9).

PDIPG-MePEG diblok kopolimerinin sentezi için önerilen polimerizasyon mekanizması koordinasyon-yerleştirme mekanizmasıdır (Şekil 3.10) [15, 62]. Reaksiyon mekanizması kısaca aşağıdaki gibi özetlenebilir:

İlk olarak MePEG homopolimerinin hidroksil grubunun oksijen atomu ve L-diizopropil glikolid monomerinin karbonil gruplarının oksijenlerinden biri, geçici olarak metal alkoksit katalizörü (Sn(Oct)₂) ile koordine olur. Bu koordinasyon hidroksil grubunun oksijen atomunun nükleofilitesini artırır.

İkinci adımda MePEG homopolimerinin oksijen atomunun nükleofilikliği ve L-diizopropil glikolid monomerinin karbonil grubunun elektrofilikliği sayesinde karbonil karbonu ile endosiklik oksijen atomunun arasındaki bağ parçalanır. Monomerin endosiklik oksijeni, katalizörün bitişik oksijeni ve metal atomu arasındaki bağın içerisine girer.

Son olarak kopolimer zinciri büyümeye devam eder. L-diizopropil glikolid molekülleri açılır ve metal-oksijen bağının içerisine yerleşir.



Şekil 3.10. Halka açılması polimerizasyonu koordinasyon-yerleştirme mekanizması

Katalizör olarak kalay oktoatın seçilmesinin iki ana sebebi vardır. Birincisi diğer ağır metal tuzları ile karşılaştırıldığında düşük toksisiteye sahiptir, ikincisi ise neredeyse tamamen polimerleşme dönüşümlerine sahiptir [63, 64]. Kopolimer sentezinde 2000 g/mol molekül ağırlıklı MePEG tercih edildi. Çünkü yüksek molekül ağırlıklı PEG'lerin (~ 10000 g/mol üzerinde), sulu faz içindeki PEG'in büyük hidrodinamik yarıçapı nedeniyle insan böbreği membranından filtrasyonu uygun değildir [3].

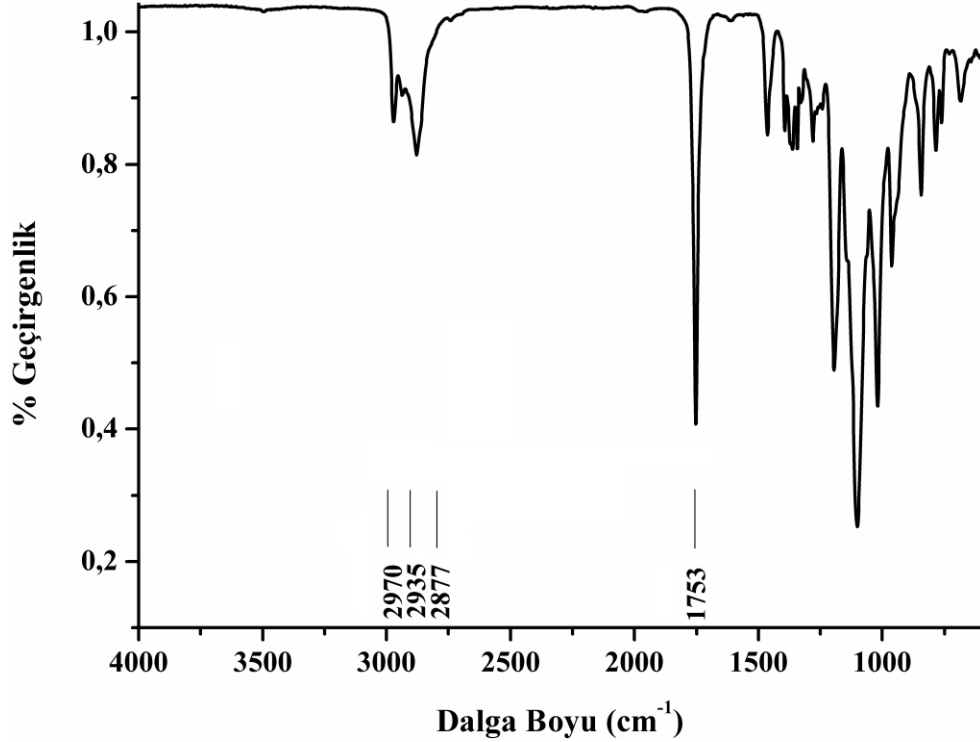
Ayrıca DIPG mol oranı değiştirilip, MePEG mol oranı sabit tutularak hidrofobik PDIPG'nin uzunluğu ayarlandı. Bununla birlikte ¹H NMR spektrumlarındaki diizopropil glükolidin CH protonlarının ve MePEG'in CH₂ protonlarının alanlarından faydalanılarak sentezlenen diblok kopolimerlerin sayıca ortalama molekül ağırlığı da hesaplandı (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. PDIPG-MePEG diblok kopolimerlerinin molekül ağırlıkları

No	M_w^a (g/mol)	M_n^a (g/mol)	M_n^b (g/mol)	M_w/M_n^a	% Dönüşüm ^a	DIPG'nin TB'si ^b	DIPG/Sn(Oct) ₂	DIPG/MePEG
3	5100	4730	5060	1,08	97,6	30	40	16,7
4	4740	4380	4380	1,08	98,2	24	30	12,5
5	3880	3670	3120	1,06	98,5	11	15	6,3
6	3050	2930	2670	1,04	98,5	7	5	2,1
7	18120	12600	16370	1,40	94,2	144	200	83,3

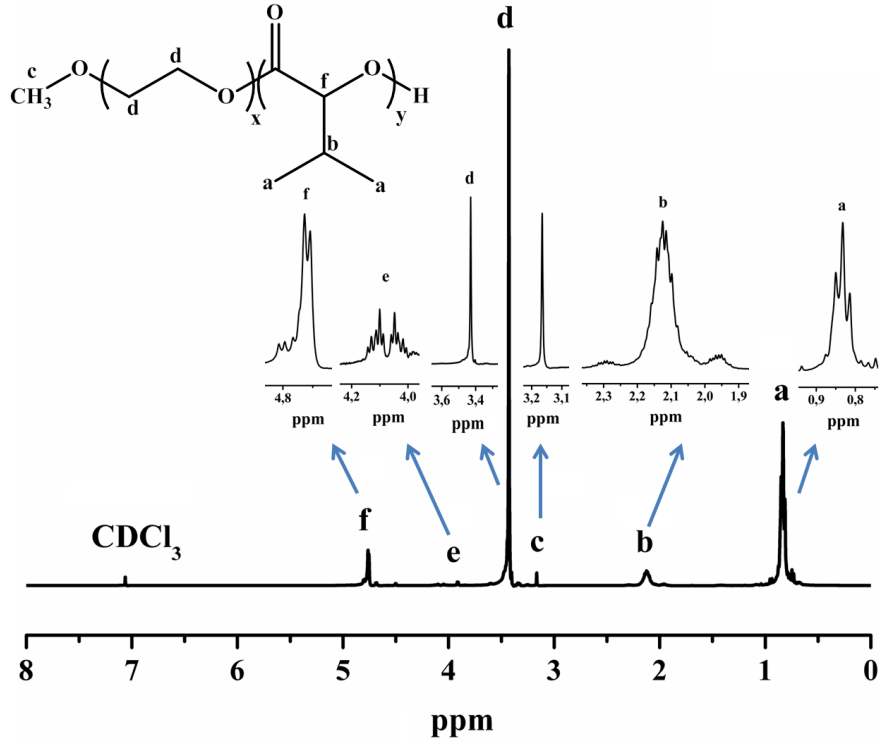
TB: Tekrarlayan birim sayısı; a: GPC ile bulundu; b: ¹H NMR ile bulundu.

3 bileşiğinin karakterizasyonu spektroskopik (ATR-FTIR, ¹H NMR, ¹³C NMR) ve kromatografik (GPC) teknikler kullanılarak yapıldı. Elde edilen verilerin değerlendirilmesi aşağıda verilmektedir.



Şekil 3.11. 3 bileşiğinin ATR-FTIR spektrumu

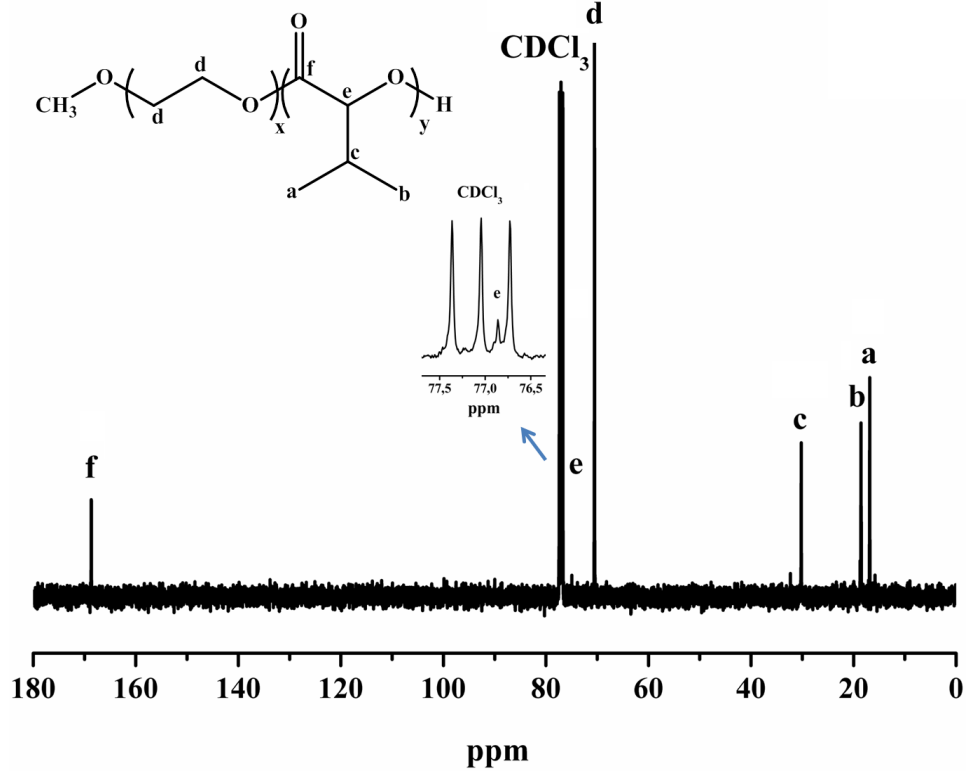
3 bileşiğinin ATR-FTIR spektrumu (Şekil 3.11) incelendiğinde; 1753 cm^{-1} 'de gözlenen keskin pik ester grubunun karbonil (C=O) gerilmesine aittir. 2970 cm^{-1} , 2935 cm^{-1} ve 2877 cm^{-1} 'de gözlenen pikler C-H gerilmelerinden kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte L-DIPG monomerinin karbonil gerilmesi 1748 cm^{-1} iken, 3 bileşiğinin karbonil gerilmesinin 1753 cm^{-1} 'e kayması halka açılması ile kopolimerin oluştuğunu göstermektedir.



Şekil 3.12. 3 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu

3 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (Şekil 3.12) yorumlandığında 0,81-0,85 ppm arasında a kodlu 2 tane CH_3 protonuna ait üçlü bir pik, 1,9-2,3 ppm arasında b kodlu CH protonuna ait çoklu bir pik, 3,2 ppm'de c kodlu MePEG'in sonundaki metoksi (OCH_3) protonuna ait tekli bir pik, 3,4 ppm'de d kodlu CH_2 protonlarına ait tekli bir pik ve 4,9 ppm'de f kodlu CH protonuna ait ikili bir pik görülmektedir. L-DIPG monomerinde 4,7 ppm'de gelen CH protonuna ait ikili pik, halkanın açılması ile birlikte beklenildiği gibi kayarak 3 bileşiğinde 4,9 ppm'de ikili bir pik olarak görülmektedir.

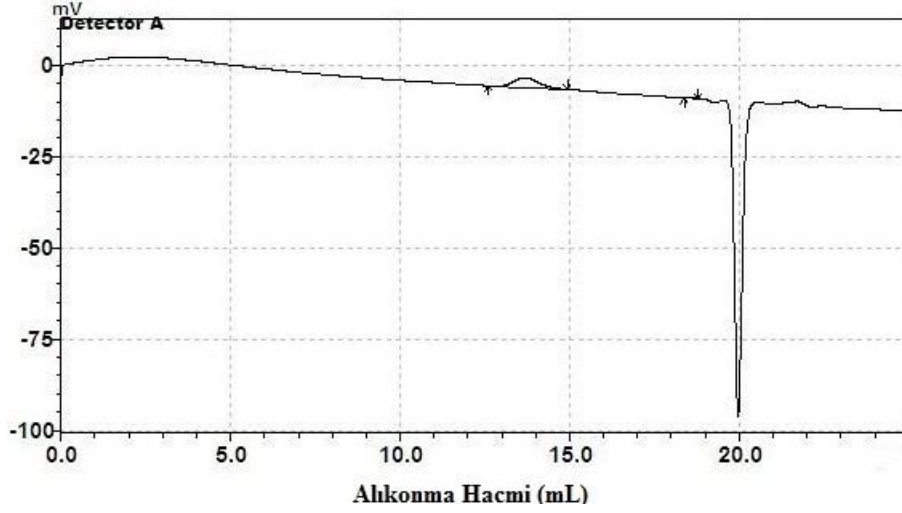
Ayrıca ^1H NMR spektrumunda piklerin integrasyonları alınarak hesaplanan alanların 3 bileşiğinin proton sayıları ile doğru orantılı olduğu bulundu. Bununla birlikte 3,9-4,2 ppm arasında görülen e kodlu çoklu pik ise MePEG bloğunun α -metilen birimlerinin PDIPG'ye bağlanmasını ve PDIPG uç birimlerinin CH protonlarını göstermektedir.



Şekil 3.13. 3 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu

Şekil 3.13'te verilen 3 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu değerlendirildiğinde 16,9 ppm'de a kodlu karbona ait pik, 18,6 ppm'de b kodlu karbona ait pik, 30,2 ppm'de c kodlu karbona ait pik, 70,6 ppm'de d kodlu karbona ait pik, 76,9 ppm'de e kodlu karbona ait pik ve 169 ppm'de f kodlu karbona ait pik görülmektedir. Ayrıca L-DIPG monomerinde 79,6 ppm ve 166 ppm'de gelen pikler halka açılması ile birlikte beklenildiği gibi kayarak 3 bileşiğinde sırasıyla 76,9 ve 169 ppm'de gelmektedir.

Polimer dönüşümü hakkında NMR verilerini destekleyici bilgi GPC analizlerinden elde edilen kromatogramlar ile de doğrulandı (Şekil 3.14, Tablo 3.3). Sentez sonunda 3 saatlik kısa bir süre içerisinde yüksek dönüşümde polimerler sentez edildi. Ayrıca GPC kromatogramından tek bir pik elde edilmesi, blok kopolimer sentezi sırasında L-diizopropil glikolid monomerinin kendisinin homopolimerleşmediğini göstermesi açısından önemli bir veridir.



Şekil 3.14. 3 bileşiğinin GPC kromatogramı (Tablo 3.2 No: 3)

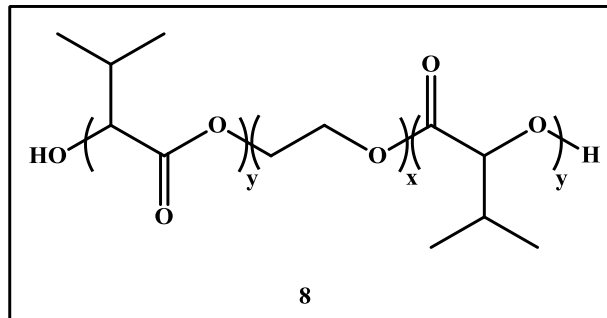
Tablo 3.3. 3 bileşiği için GPC kromatogramı değerleri

Pik	Alıkonma Hacmi	Alan	Yükseklik	Pik Başlangıç	Pik Sonlanma	Alan (%)
1	13,7	133371	2654	12,6	14,9	97,6
2	18,6	3345	257	18,4	18,8	2,4

PDIPG-MePEG diblok kopolimerinin (Tablo 3.2 No: 3) GPC kromatogramında 3 tane pik görünmektedir (Şekil 3.14). Alıkonma hacmi 13,7 olan birinci pik diblok kopolimeri göstermektedir. Alıkonma hacmi 18,6 olan ikinci pik monomeri göstermektedir. İşaretlenmeyen ve alıkonma hacmi 20 olarak görülen pik de hareketli faz olan tetrahidrofuranı (THF) göstermektedir.

4, 5, 6 ve 7 diblok kopolimerlerinin ATR-FTIR spektrumları EK-A, NMR spektrumları EK-B ve GPC kromatogramları EK-C kısmında verildi.

3.4. Yeni PDIPG-PEG-PDIPG (8) Triblok Kopolimerlerinin Sentez ve Karakterizasyonları



Şekil 3.15. 8 bileşiği

Halka açılması polimerleşmesi yöntemi ile PDIPG-PEG-PDIPG triblok kopolimerleri azot atmosferi altında kalay oktoat varlığında eriyik polimerleşme ile sentez edildi (Şekil 3.15). Triblok kopolimer sentezini gerçekleştirmek için bir ucu açık MePEG-2000 homopolimeri (bir hidroksil grubu) yerine her iki ucu açık olan PEG-2000 homopolimeri (iki hidroksil grubu) kobaşlatıcı olarak kullanıldı. PDIPG-PEG-PDIPG triblok kopolimerinin polimerizasyon mekanizması PDIPG-MePEG diblok kopolimerinin mekanizması ile benzerdir (Şekil 3.10).

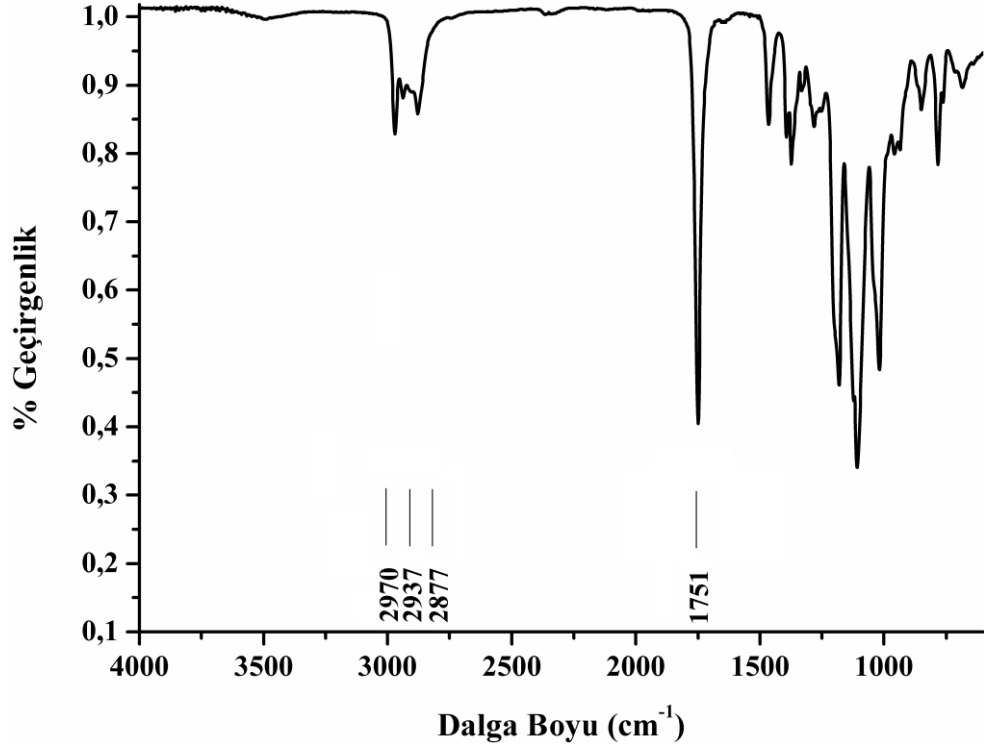
Hidrofobik PDIPG'nin uzunluğunu ayarlamak amacı ile DIPG monomerinin mol oranı değiştirilip, hidrofilik PEG homopolimerinin mol oranı sabit tutularak farklı molekül ağırlıklarında triblok kopolimerler sentezlendi. Bu kopolimerin sayıca ortalama molekül ağırlıkları GPC analiz sonuçlarına ek olarak, diblok kopolimerlerde olduğu gibi ^1H NMR spektrumlarından yararlanılarak hesaplandı (Tablo 3.4).

Tablo 3.4. PDIPG-PEG-PDIPG triblok kopolimerlerinin molekül ağırlıkları

No	M_w^a (g/mol)	M_n^a (g/mol)	M_n^b (g/mol)	M_w/M_n^a	% Dönüşüm ^a	DIPG'nin TB'si ^b	DIPG/Sn(Oct) ₂	DIPG/MePEG
8	7190	6800	6760	1,06	96,1	48	60	25
9	5470	5190	4650	1,05	98,4	27	30	12,5
10	4690	4450	3710	1,05	98,8	17	20	8,3
11	4300	4100	3470	1,05	99,3	14	15	6,7
12	3960	3800	3310	1,04	97,8	13	13	5
13	18440	13150	15800	1,40	95,6	138	200	83,3

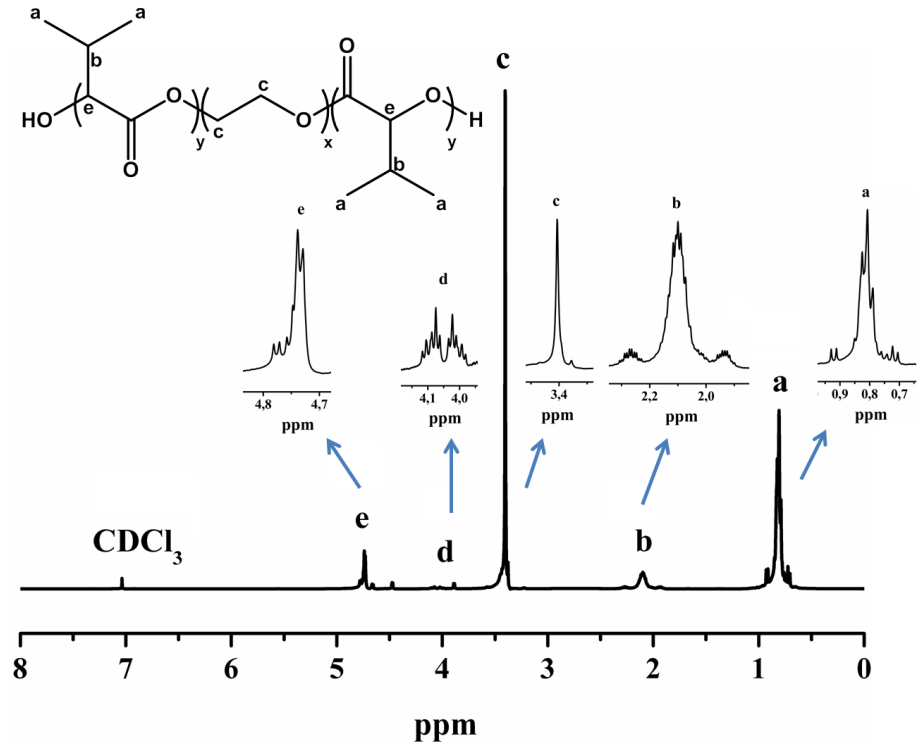
TB: Tekrarlayan birim sayısı; a: GPC ile bulundu; b: ^1H NMR ile bulundu.

8 bileşiğinin karakterizasyonu spektroskopik (ATR-FTIR, ^1H NMR, ^{13}C NMR) ve kromatografik (GPC) teknikler kullanılarak yapıldı. Elde edilen verilerin değerlendirilmesi aşağıda verilmektedir.



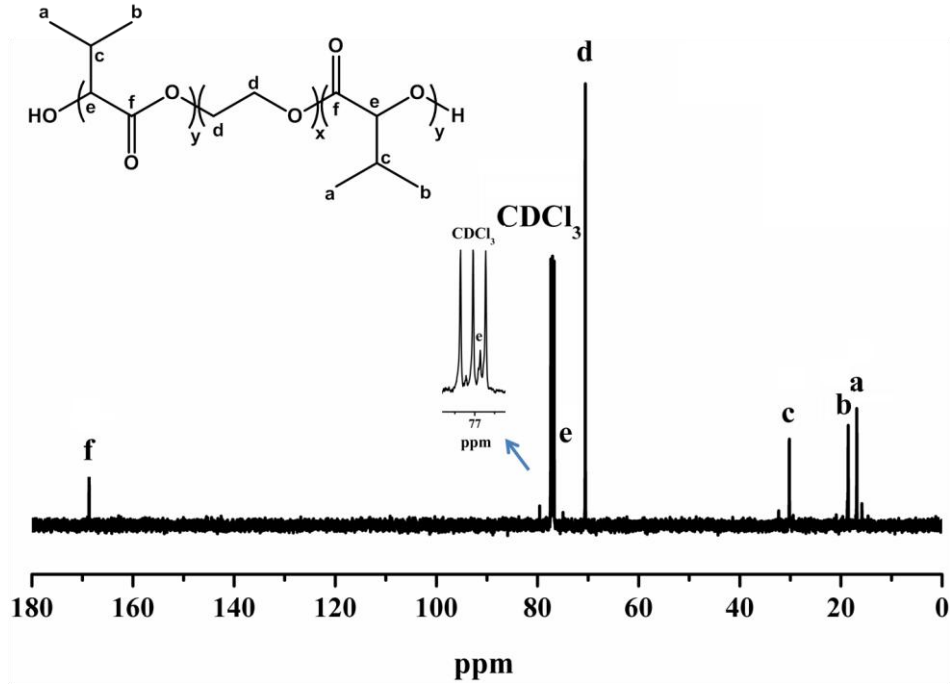
Şekil 3.16. 8 bileşiğinin ATR-FTIR spektrumu

8 bileşiğinin ATR-FTIR spektrumu (Şekil 3.16) incelendiğinde; 1751 cm^{-1} 'de gözlenen keskin pik ester grubunun karbonil (C=O) gerilmesine aittir. 2970 cm^{-1} , 2937 cm^{-1} ve 2877 cm^{-1} 'de gözlenen pikler C-H gerilmelerinden kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte L-DIPG monomerinin karbonil gerilmesi 1748 cm^{-1} iken, halka açılması ile oluşan kopolimerin karbonil gerilmesinin beklenildiği gibi 1751 cm^{-1} 'e kaydığı görülmektedir.



Şekil 3.17. 8 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu

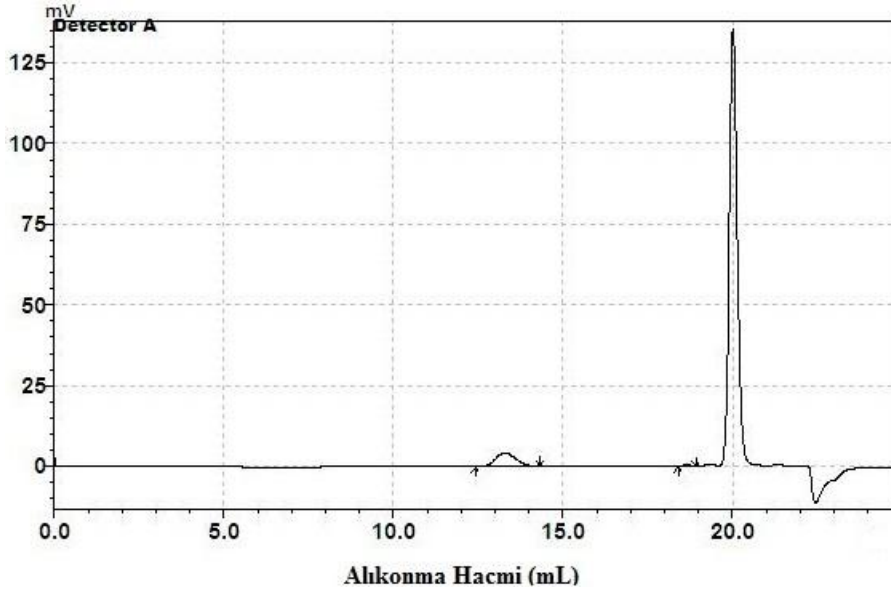
8 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (Şekil 3.17) yorumlandığında 0,79-0,83 ppm arasında a kodlu 2 tane CH_3 protonuna ait üçlü bir pik, 1,9-2,3 ppm arasında b kodlu CH protonuna ait çoklu bir pik, 3,4 ppm'de c kodlu CH_2 protonlarına ait tekli bir pik ve 4,8 ppm'de e kodlu CH protonuna ait ikili bir pik görülmektedir. L-DIPG monomerinde 4,7 ppm'de gelen CH protonuna ait ikili pik, halkanın açılması ile birlikte beklenildiği gibi kayarak 8 bileşiğinde 4,8 ppm'de ikili bir pik olarak gelmektedir. Bununla birlikte 8 bileşiğinde bulunan proton sayılarının piklerin altında kalan alanlarla uyumlu olduğu bulundu. Ayrıca 3,9-4,2 ppm arasında görülen d kodlu çoklu pik ise PEG bloğunun α -metilen birimlerinin PDIPG'ye bağlanmasını ve PDIPG uç birimlerinin CH protonlarını göstermektedir.



Şekil 3.18. 8 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu

8 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (Şekil 3.18) incelendiğinde; 16,9 ppm'de a kodlu karbona ait pik, 18,5 ppm'de b kodlu karbona ait pik, 30,2 ppm'de c kodlu karbona ait pik, 70,6 ppm'de d kodlu karbona ait pik, 76,9 ppm'de e kodlu karbona ait pik ve 169 ppm'de f kodlu karbona ait pik görülmektedir. Ayrıca L-DIPG monomerinde 79,6 ppm ve 166 ppm'de gelen pikler halka açılması ile birlikte beklenildiği gibi kayarak 8 bileşiğinde sırasıyla 76,9 ve 169 ppm'de gelmektedir.

Sentezlenen triblok kopolimerlerin dönüşümü hakkında NMR verilerini destekleyici bilgi GPC analizlerinden elde edilen kromatogramlar ile de doğrulandı (Şekil 3.19, Tablo 3.5). Sentez sonunda 3 saatlik kısa bir süre içerisinde yüksek dönüşümde polimerler sentez edildi. Ayrıca GPC kromatogramından tek bir pik elde edilmesi, triblok kopolimer sentezi sırasında L-diizopropil glikolid monomerinin kendisinin homopolimerleşmediğini göstermesi açısından önemli bir veridir.



Şekil 3.19. 8 bileşiğinin GPC kromatogramı (Tablo 3.4 No: 8)

Tablo 3.5. 8 bileşiği için GPC kromatogramı değerleri

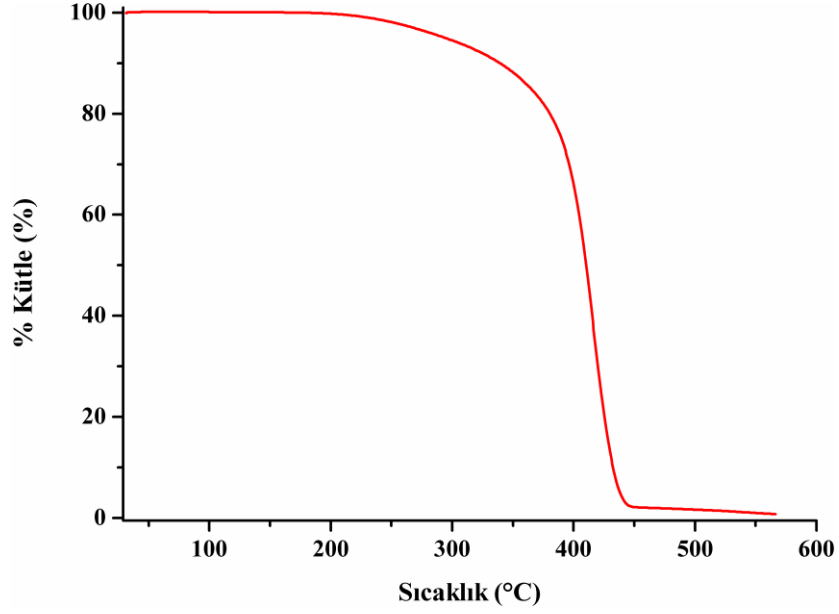
Pik	Alıkonma Hacmi	Alan	Yükseklik	Pik Başlangıç	Pik Sonlanma	Alan (%)
1	13,3	171670	4240	12,4	14,3	96,1
2	18,6	6987	495	18,4	18,9	3,9

Tablo 3.4 No: 8 triblok kopolimeri için GPC analizi sonucunda kromatogramda 3 tane pik elde edildi. Alıkonma hacmi 13,3 olan birinci pik triblok kopolimeri, 18,6 olan ikinci pik monomeri göstermektedir. İşaretlenmeyen ve alıkonma hacmi 20 olarak görülen pik ise hareketli faz olan tetrahidrofuranı (THF) göstermektedir.

9, 10, 11, 12 ve 13 triblok kopolimerlerinin ATR-FTIR spektrumları EK-A, NMR spektrumları EK-B ve GPC kromatogramları EK-C kısmında verildi.

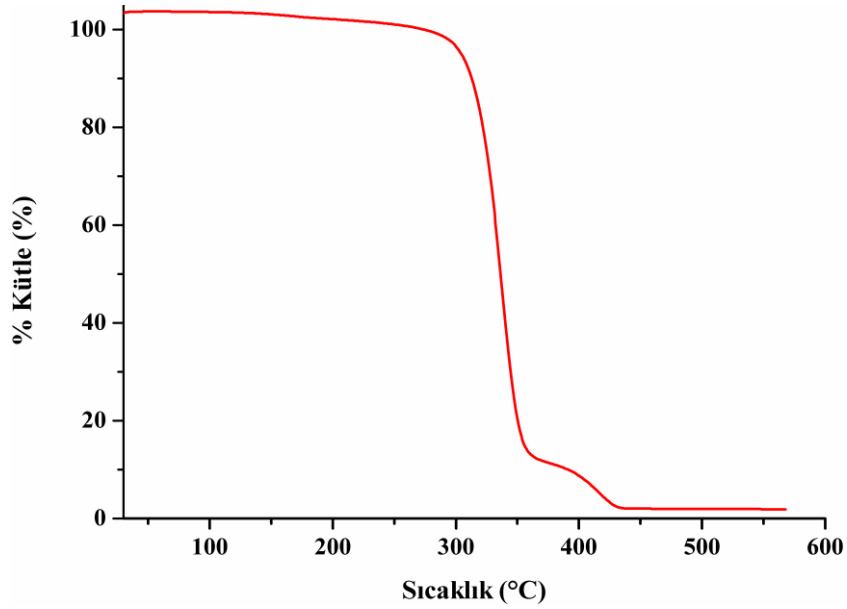
3.5. Kopolimerlerin Termal Karakterizasyonu

PDIPG-MePEG diblok ve PDIPG-PEG-PDIPG triblok kopolimerlerinin termal kararlılıkları TGA analizi ile incelendi. Kopolimerlerin termal kararlılıkları yorumlanırken karşılaştırma amaçlı MePEG ve PEG homopolimerlerinin de TGA'sı incelendi. Elde edilen verilerin değerlendirilmesi aşağıda verilmektedir.



Şekil 3.20. MePEG homopolimerinin TGA eğrisi

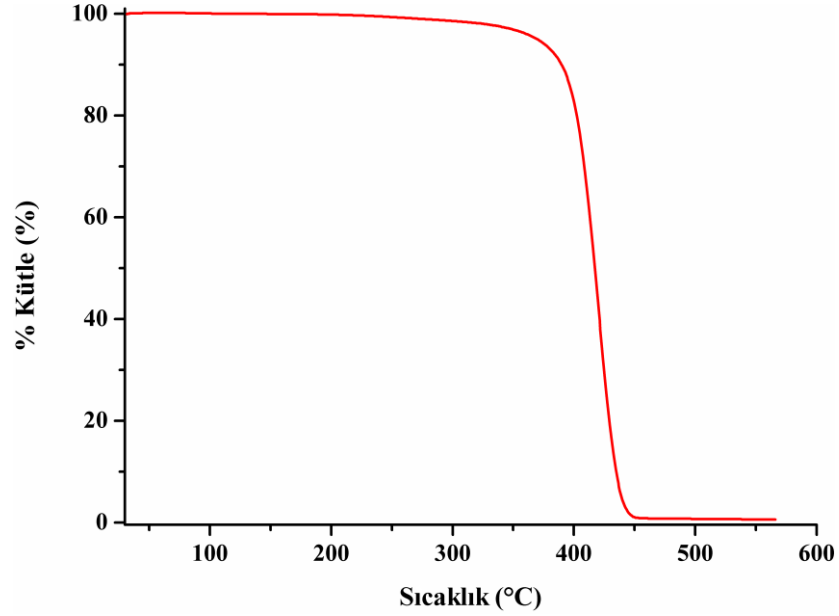
Poli(etilen glikol) metil eter (MePEG-2000)'in TGA eğrisinde (Şekil 3.20) tek bir kütle kaybı görüldü. Birinci türevinde büküm noktası (inflection point) 415,1 °C olarak bulundu ve 600 °C ısıtmadan sonra polimerin % 0,76'sının bozunmadan kaldığı görüldü.



Şekil 3.21. PDIPG-MePEG diblok 12 kopolimerinin TGA eğrisi

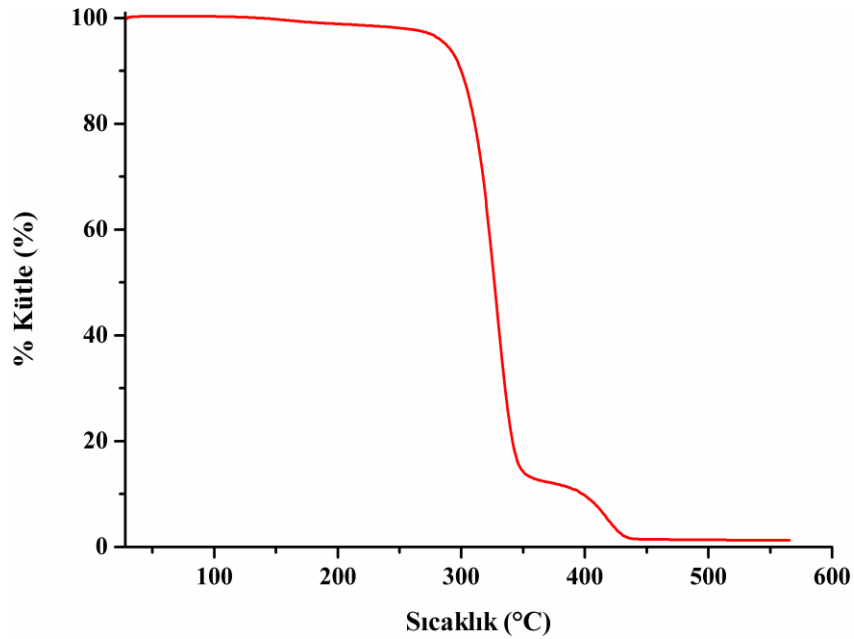
PDIPG-MePEG diblok kopolimerinin TGA eğrisinde (Şekil 3.21) iki farklı kütle kaybı görüldü. İlk % 88'lik kütle kaybının 337,1 °C'de kopolimerdeki PDIPG'nin bozunmasından, ikinci % 10,15'lik kütle kaybının 415,6 °C'de MePEG'in (Saf

MePEG: 415,1 °C) bozunmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Son olarak 600 °C ısıtmadan sonra diblok kopolimerin % 1,85'inin bozunmadan kaldığı görüldü.



Şekil 3.22. PEG homopolimerinin TGA eğrisi

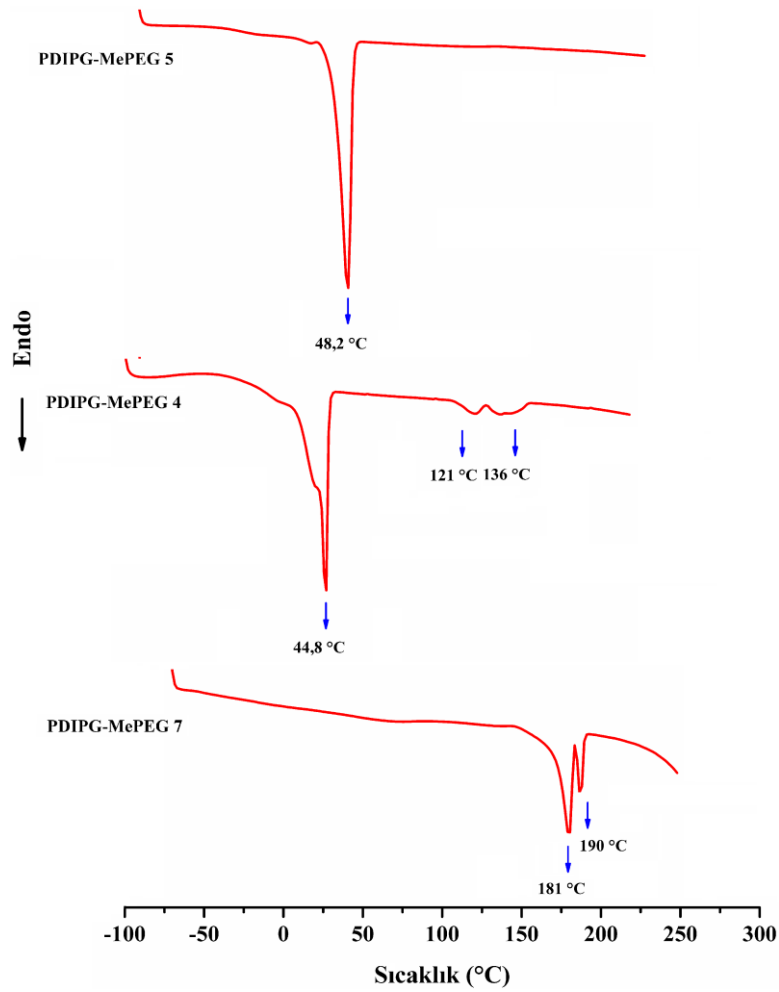
Poli(etilen glikol) (PEG-2000)'in TGA eğrisinde de (Şekil 3.22) tek bir kütle kaybı görüldü. Birinci türevinde büküm noktası (inflection point) 420,5 °C olarak bulundu ve 600 °C ısıtmadan sonra polimerin % 0,63'ünün bozunmadan kaldığı görüldü.



Şekil 3.23. PDIPG-PEG-PDIPG triblok 13 kopolimerinin TGA eğrisi

PDIPG-PEG-PDIPG triblok kopolimerinin TGA eğrisinde (Şekil 3.23) iki farklı kütle kaybı görüldü. İlk % 87'lik kütle kaybının 328,2 °C'de triblok kopolimerdeki PDIPG'nin bozunmasından, ikinci % 11,8'lik kütle kaybının 417,6 °C'de PEG'in (Saf PEG: 420,5 °C) bozunmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Son olarak 600 °C ısıtmadan sonra triblok kopolimerin % 1,2'sinin bozunmadan kaldığı görüldü.

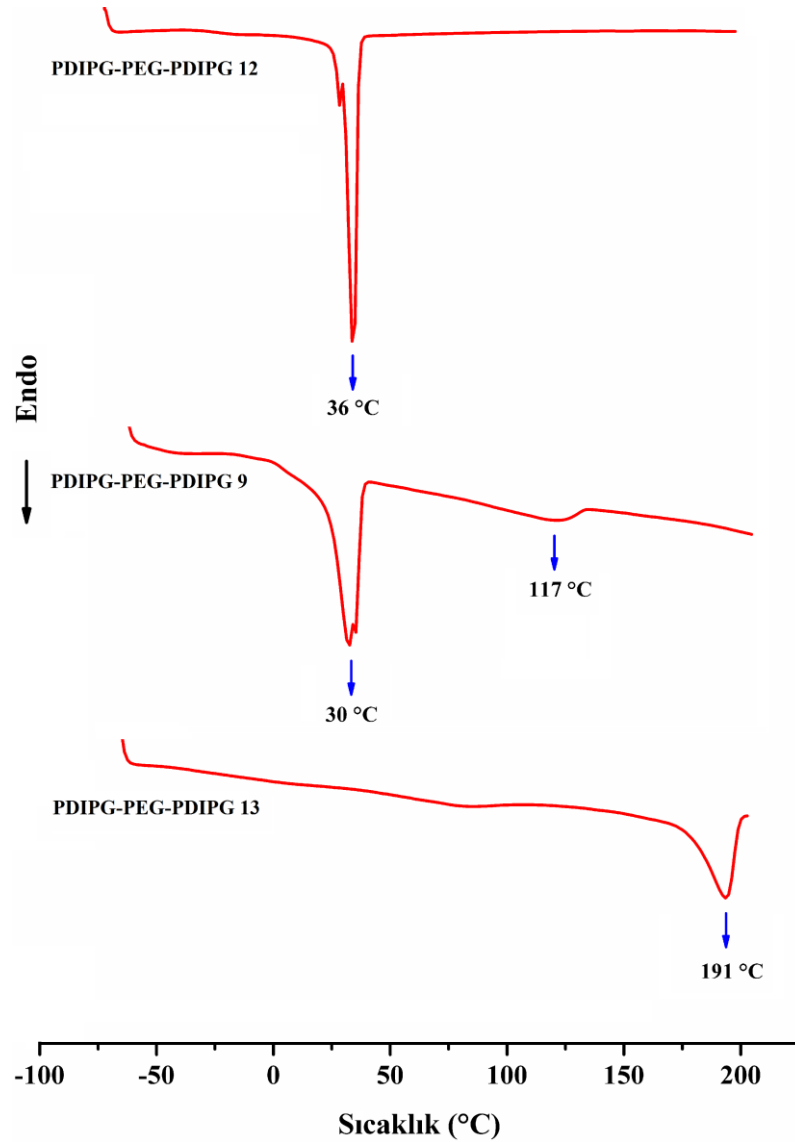
PDIPG-MePEG diblok ve PDIPG-PEG-PDIPG triblok kopolimerlerinin termal karakteristik özellikleri DSC analizi ile incelendi. Elde edilen verilerin değerlendirilmesi aşağıda verilmektedir.



Şekil 3.24. PDIPG-MePEG diblok kopolimerlerinin DSC termogramları

PDIPG-MePEG 4, PDIPG-MePEG 5 ve PDIPG-MePEG 7 diblok kopolimerlerinin DSC termogramları yorumlanırken literatürdeki PEG/PLA kopolimerleri ile ilgili bilgilerden [65, 66] yararlanıldı. Şekil 3.24'te verilen DSC termogramları incelendiğinde; kopolimer içerisindeki PDIPG blok uzunluklarının artması ile

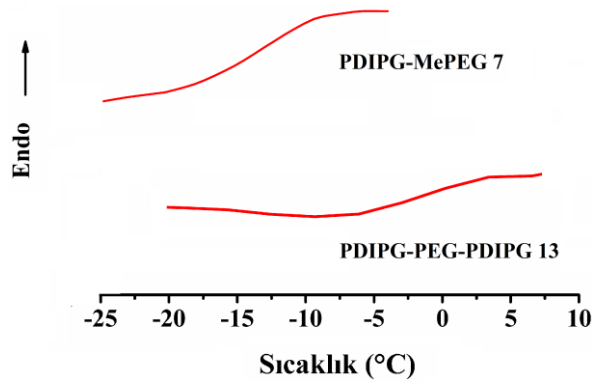
birlikte; saf MePEG-2000 homopolimeri için 50 °C olan erime sıcaklığının [65], PDIPG-MePEG 5 kopolimerinde (DIPG, Tekrarlayan birim: 11) 48,2 °C'ye, PDIPG-MePEG 4 kopolimerinde (DIPG, Tekrarlayan birim: 24) 44,8 °C'ye azaldığı ve sonrasında PDIPG-MePEG 7 kopolimerinde ise (DIPG, Tekrarlayan birim: 144) yok olduğu gözlemlendi. Benzer etki PEG/PLA kopolimerlerinde de görülmüştür [65]. Diğer taraftan 5 kopolimerinde görünmeyen PDIPG'nin erime sıcaklığı 4 kopolimerinde 121 ve 136 °C'de ve 7 kopolimerinde ise artarak 181 ve 190 °C'de görüldü. Termogramda PDIPG için görülen ikili erime piklerinin sebebinin ise iki farklı kristal yapısının varlığından ve aynı tip kristal yapısında iki farklı kristal lamellerinin oluşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir [66].



Şekil 3.25. PDIPG-PEG-PDIPG triblok kopolimerlerinin DSC termogramları

Literatürdeki PLA/PEG'e ait bilgilerden [65] faydalanılarak PDIPG-PEG-PDIPG 9, PDIPG-PEG-PDIPG 12 ve PDIPG-PEG-PDIPG 13 tıblok kopolimerlerinin DSC termogramları değerlendirildi. Şekil 3.25'te verilen tıblok kopolimerlerin termal özellikleri icelendiğinde; kopolimer içerisindeki artan PDIPG blok uzunluğu ile PDIPG-PEG-PDIPG 12 kopolimerinde (DIPG Tekrarlayan birim: 13) grnmeyen PDIPG'nin erime sıcaklığı PDIPG-PEG-PDIPG 9 (DIPG, Tekrarlayan birim: 27) kopolimerinde 117 C ve PDIPG-PEG-PDIPG 13 (DIPG, Tekrarlayan birim: 138) kopolimerinde ise 191 C'de görüldü. Buna karşılık PEG'in erime sıcaklıkları sırası ile 36 C'den 30 C'ye azaldı ve sonrasında kayboldu.

Sonuç olarak diblok ve tıblok kopolimerlerinde PDIPG tekrarlayan birim sayısının artmasıyla PDIPG'ye ait erime noktasının arttığı, PEG'in ise erime noktasının azaldığı gözlemlendi.



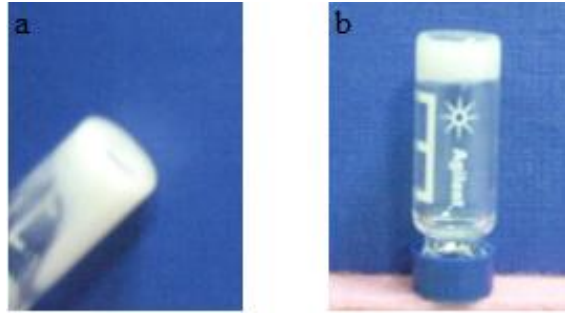
Şekil 3.26. Kopolimerlerin camı geçiş sıcaklıkları

Şekil 3.26'da diblok ve tıblok kopolimerlerin camı geçiş sıcaklıkları gösterilmektedir. PDIPG-MePEG 7 diblok kopolimeri için T_g değeri -14 C olarak hesaplanırken PDIPG-PEG-PDIPG 13 tıblok kopolimeri için T_g değeri -3 C olarak bulundu.

3.6. Kopolimerlerin Jel-Sol Geçiş Sıcaklıklarının Belirlenmesi

Jel-sol geçiş sıcaklığının belirlenmesi için farklı miktarlardaki kopolimerler destile su ile karıştırılarak çeşitli konsantrasyonlarda süspansiyonlar hazırlandı. Örneğin, PDIPG-PEG-PDIPG 11 kopolimerinin farklı miktarlarının destile su ile karıŐtırılmasıyla hazırlanan % 25 ve % 30 konsantrasyonundaki süspansiyonlar oda

sıcaklığında sol özellik gösterdi. Bunun üzerine polimer konsantrasyonu arttırılarak oda sıcaklığında jel özellik gösterebilen yeni süspansiyonlar hazırlandı. Sonrasında % 40 polimer süspansiyonu jel-sol geçiş sıcaklığının belirlenmesi amacı ile test edildi ve oda sıcaklığında jel iken 45 °C’de sol özellik göstererek akmaya başladığı görüldü (Tablo 3.8, Şekil 3.27). Aynı şekilde PDIPG-MePEG 4 (Tablo 3.6), PDIPG-MePEG 5 (Tablo 3.7) ve PDIPG-PEG-PDIPG 12 (Tablo 3.9) kopolimerleri için de jel-sol geçiş sıcaklıkları bulundu.



Şekil 3.27. Polimerin sol (a) ve jel (b) görünümü

Tablo 3.6. 4 bileşiğinin jel-sol geçiş sıcaklıklarının belirlenmesi

%	4 °C	10 °C	37 °C	42 °C	45 °C
23	jel	sol	sol	sol	sol
24	jel	jel	sol	sol	sol
24,5	jel	jel	jel	sol	sol
25	jel	jel	jel	jel	sol

Tablo 3.7. 5 bileşiğinin jel-sol geçiş sıcaklıklarının belirlenmesi

%	4 °C	23 °C	30 °C	37 °C	50 °C	58 °C
24	jel	sol	sol	sol	sol	sol
26	jel	jel	sol	sol	sol	sol
27	jel	jel	jel	sol	sol	sol
28	jel	jel	jel	jel	sol	sol
30	jel	jel	jel	jel	jel	sol

Tablo 3.8. 11 bileşiğinin jel-sol geçiş sıcaklıklarının belirlenmesi

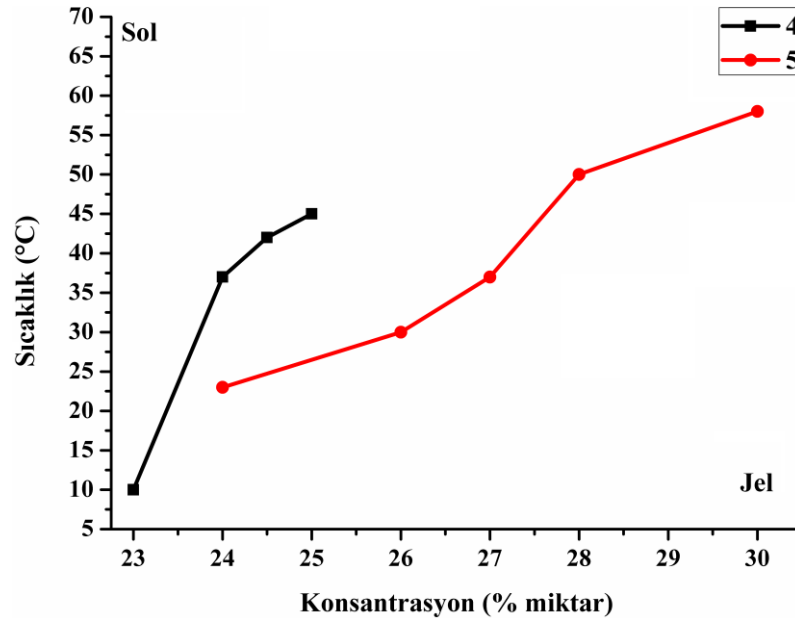
%	4 °C	18 °C	24 °C	32 °C	45 °C
25	jel	sol	sol	sol	sol
30	jel	jel	sol	sol	sol
35	jel	jel	jel	sol	sol
40	jel	jel	jel	jel	sol

Tablo 3.9. 12 bileşiminin jel-sol geçiş sıcaklıklarının belirlenmesi

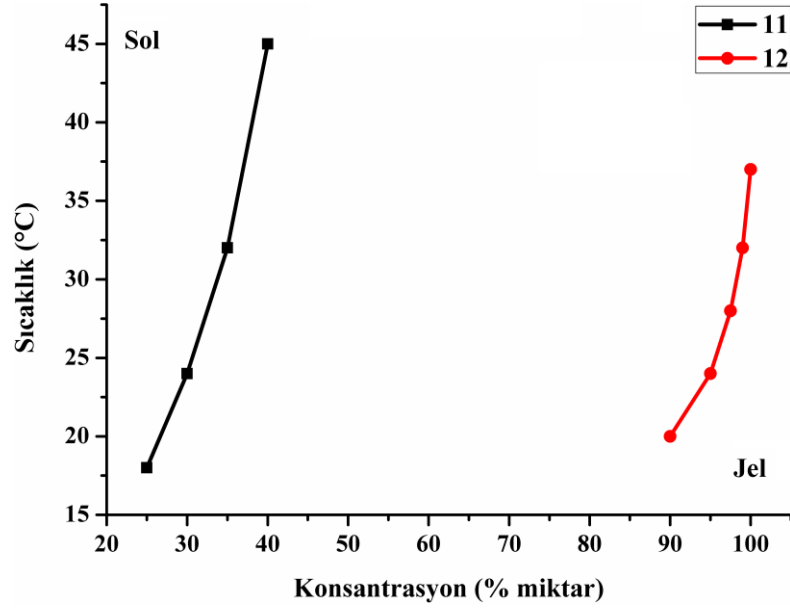
%	4 °C	20 °C	24 °C	28 °C	32 °C	37 °C
90	jel	sol	sol	sol	sol	sol
95	jel	jel	sol	sol	sol	sol
97,5	jel	jel	jel	sol	sol	sol
99	jel	jel	jel	jel	sol	sol
100	jel	jel	jel	jel	jel	sol

PDIPG-PEG-PDIPG 10 kopolimeri için düşük konsantrasyonlarda (% 5) çalışma yapılmasına rağmen, hidrofobik diizopropil glikolid içeriğinin nispeten hidrofilik PEG içeriğinden daha yüksek olması sebebi ile homojen bir karışım oluşturulamadı. Bu yüzden çok yüksek molekül ağırlıklı polimer sentezleri yapılmadı.

Biyobozunur blok uzunlukları (PDIPG) değiştirilerek jel-sol geçiş sıcaklıklarının kolayca manipüle edilebildiği görüldü. PDIPG blok uzunluğunun artması, hem PDIPG-MePEG diblok kopolimerlerinde (Şekil 3.28) hem de PDIPG-PEG-PDIPG triblok kopolimerlerinde (Şekil 3.29) jel oluşumunun daha düşük konsantrasyonlarda başlaması ile sonuçlandı. Son olarak sulu polimer çözeltilerinin düşük sıcaklıkta yüksek konsantrasyon seviyelerinde jel formunda ve yüksek sıcaklıkta düşük konsantrasyon seviyelerinde sol formunda olduğu sonucu çıkarıldı.



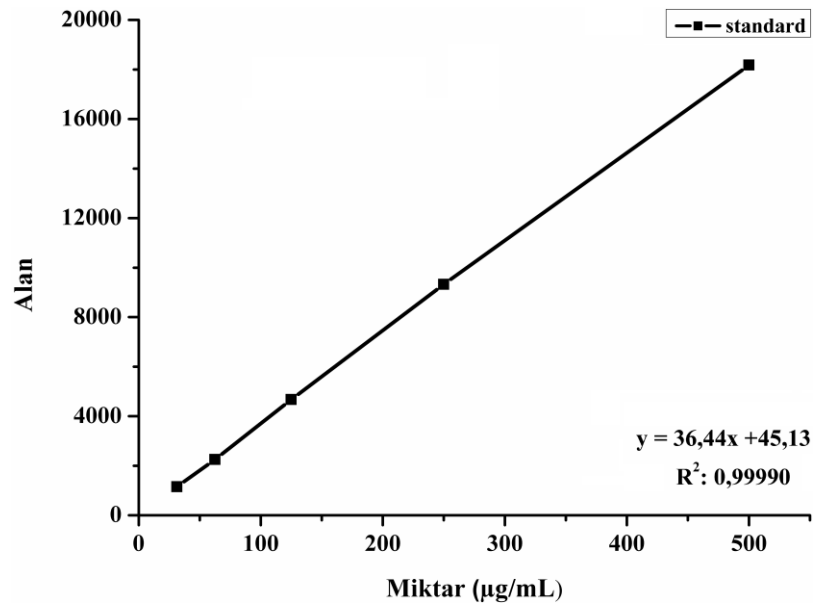
Şekil 3.28. PDIPG-MePEG 4, 5 kopolimerlerinin jel-sol geçiş eğrileri



Şekil 3.29. PDIPG-PEG-PDIPG 11, 12 kopolimerlerinin jel-sol geçiş eğrileri

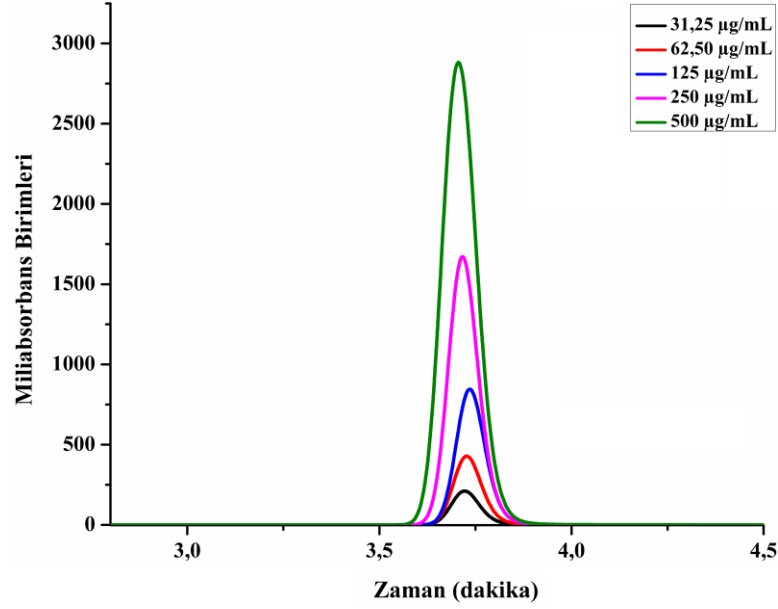
3.7. Diblok ve Triblok Kopolimerlerin İlaç Salım Çalışmaları

Belirli zaman aralıklarında diblok ve triblok kopolimerlerden salınan ilaç miktarları UV dedektör kullanılarak 227 nm’de HPLC ile ölçüldü ve Şekil 3.30’da verilen paklitaksel antikanser ilacının kalibrasyon grafiğinden elde edilen doğru denklemine göre bu değerlere karşılık gelen salınan paklitaksel miktarları hesaplandı.



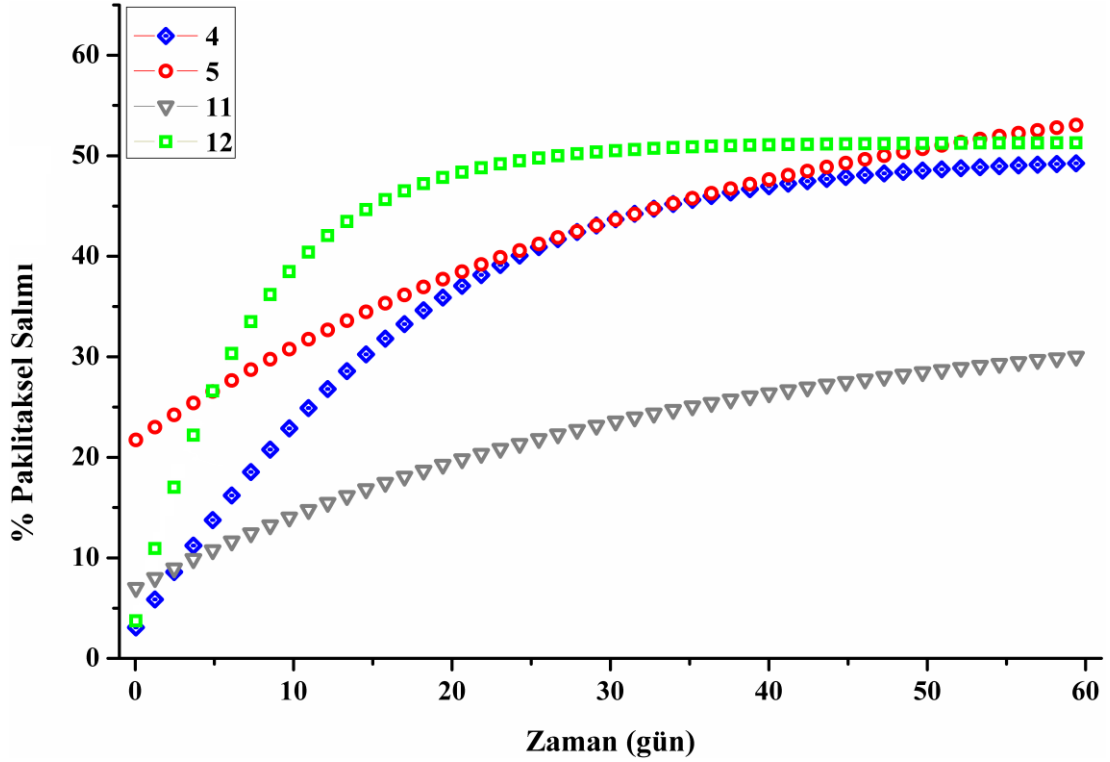
Şekil 3.30. Paklitakselin kalibrasyon grafiği

Ayrıca kalibrasyon eğrisinin yapılması sırasında 60/40 asetonitril/su mobil fazı ile asetonitril içerisinde hazırlanan paklitaksel çözeltilerinin HPLC kromatogramlarından paklitaksel ilacı için alıkonma zamanı 3,7 dakika olarak bulundu (Şekil 3.31).



Şekil 3.31. Paklitaksel için tipik bir HPLC kromatogramı

Farklı konsantrasyonlarda ve % 1 paklitaksel yüklemesi ile hazırlanan PDIPG-MePEG 4, 5 ve PDIPG-PEG-PDIPG 11, 12 kopolimer jellerinden paklitakselin salım davranışı Şekil 3.32’de verilmektedir. Difüzyon yoluyla salınan paklitakselin % kümülatif salım profili 60 günün üzerindedir. İlk 10 günde tüm paklitaksel-yüklü jeller için ani salım olduğu ve ani salım sonrasında paklitakselin 60 günün üzerinde yavaş bir şekilde salım gösterdiği bulundu. Bunun sebebinin paklitakselin suda çözünürlüğü oldukça düşük hidrofobik bir ilaç olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 3.32. Paklitaksel antikanser ilacının salım eğrileri

Şekil 3.32’de görüldüğü gibi 60 günün sonundaki aynı yükleme oranındaki paklitakselin 4 ve 5 diblok kopolimer jellerinden sırasıyla % 51,8 ve 56,7; 11 ve 12 triblok kopolimer jellerinden ise sırasıyla % 31,2 ve 53,6’sının salımı gerçekleşti. 4 nolu kopolimerdeki PDIPG tekrarlayan birim sayısı ($n= 24$), 5 nolu polimere ($n= 11$) göre fazladır. Hidrofobik zincirlerin artması hidrofobik paklitaksel ilaç ile etkileşimi arttırdığından ilaç salımını yavaşlatmaktadır. Benzer etki triblok kopolimerleri için de görüldü. Kopolimerlerin içerisindeki artan hidrofobik PDIPG blok uzunluğu ile birlikte hidrofobik bir ilaç olan paklitaksel ile etkileşim arttığından dolayı ilaç salımlarının nispeten yavaşladığı görüldü.

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Kontrollü ilaç salım sistemleri son zamanların en çok rağbet gören güncel konularından biridir. Bu alanda en çok kullanılan biyomalzemeler arasında biyobozunur ve biyouyumlu özellikler taşıyan poli(laktid) (PLA), poli(laktid-koglikolid) (PLGA) ve poli(ϵ -kaprolakton) (PCL) kopolimerleri sayılabilir. Bu tip polimerlere iyi bir alternatif olabilecek yeni biyomalzemeler biyomedikal ve farmasötik endüstrinin geleceği için çok önemlidir.

Bu amaçla halka açılması polimerizasyonu ile yeni PDIPG-MePEG diblok ve PDIPG-PEG-PDIPG triblok kopolimerini sentezlemek için öncelikle L-diizopropil glikolid monomeri sentez edildi. Monomer sentezi için reaksiyon süresinin çok önemli olduğu görüldü ve optimum reaksiyon süresi 5 gün olarak belirlendi; kısa sürelerde başlangıç maddesinin reaksiyona girmeden kaldığı, uzun sürelerde de oligomerik türlerin oluşmaya başladığı GPC analizlerinden faydalanılarak gözlemlendi. Blok kopolimerler çözücüsüz ortamda, Sn(Oct)₂ katalizörü varlığında, MePEG-2000 ve PEG-2000 homopolimerleri kullanılarak eriyik polimerleşme yöntemi ile sentezlendi. 2000 g/mol molekül ağırlıklı homopolimerlerin tercih edilmesinin sebebi, yüksek molekül ağırlıklı PEG'lerin (~ 10000 g/mol üzerinde), sulu faz içindeki PEG'in büyük hidrodinamik yarıçapı nedeniyle insan böbreği membranından filtrasyonunun uygun olmamasıdır [3]. Tablo 3.2 ve Tablo 3.4'te gösterildiği gibi MePEG ve PEG homopolimerlerinin miktarının sabit tutulup monomer miktarının değiştirilmesi ile çeşitli molekül ağırlıklarında yeni biyobozunur ve biyouyumlu kopolimerler sentezlendi.

Kopolimerlerin ısıya hassaslık özellikleri incelenirken, biyobozunur PDIPG blok uzunluğunun değiştirilmesi ile jel-sol geçiş sıcaklıklarının kolayca manipüle edilebildiği görüldü ve kopolimer içerisindeki hidrofobik PDIPG miktarının artması ile birlikte daha düşük konsantrasyonlarda jel-sol geçiş sıcaklıkları elde edildi. Ancak PDIPG-PEG-PDIPG 10 triblok kopolimeri için çok düşük konsantrasyonlarda bile hidrofobik PDIPG mol oranının nispeten PEG'e göre yüksek

olması sebebi ile homojen bir karışım elde edilmediği görüldü. Bu yüzden çok yüksek molekül ağırlıklı polimer sentezleri yapılmadı.

Jel-sol geçiş sıcaklığı belirlenen PDIPG-MePEG 4, 5 ve PDIPG-PEG-PDIPG 11, 12 kopolimerlerinin içerisine % 1 oranında yüklenen paklitaksel antikanser ilacı için, paklitakselin suda çözünürlüğünün oldukça düşük olması sebebi ile % kümülatif salım miktarının 60 günün üzerinde olduğu bulundu. Paklitaksel salımının kontrollü bir şekilde ilerlediği 60. günün sonunda jellerden salınan ilaç yüzdesinin 4 kopolimerinde % 51,8, 5 kopolimerinde % 56,7, 11 kopolimerinde % 31,2 ve 12 kopolimerinde % 53,6 olduğu görüldü.

Bu tez kapsamında üretilen kopolimerlerin 40-42 °C'de enjeksiyona hazır olması (sol) ve soğutmaya da vücut sıcaklığında jel oluşturmasının sağlanması, antikanser ilaçların lokal enjeksiyon yolu ile beyindeki katı tümörlerin tedavisinde, cilt altında oluşan her türlü tümörün tedavisinde ve de meme kanserinin tedavisinde kullanılmasına imkan verecektir.

KAYNAKLAR

- [1] Bajpai A., Shukla S., Saini R., Tiwari A., *Stimuli Responsive Drug Delivery Systems: From Introduction to Application*, 1st ed., Smithers Rapra Technology, Shrewsbury, UK, 2010.
- [2] Almond B. A., Hadba A. R., Freeman S. T., Cuevas B. J., York A. M., Detrisac C. J., Goldberg E. P., Efficacy of mitoxantrone-loaded albumin microspheres for intratumoral chemotherapy of breast cancer, *Journal of Controlled Release*, 2003, **91**, 147–155.
- [3] Jeong B., Bae Y. H., Lee S. D., Kim S. W., Biodegradable block copolymers as injectable drug-delivery systems, *Nature*, 1997, **388**, 860-862.
- [4] Mert O., Esendagli G., Dogan A. L., Demir A. S., Injectable biodegradable polymeric system for preserving the active form and delayed-release of camptothecin anticancer drugs, *RSC Advances*, 2012, **2**, 176-185.
- [5] Wu J. Y., Liu S. Q., Heng P. W. S., Yang Y. Y., Evaluating proteins release from, and their interactions with, thermosensitive poly (*N*-isopropylacrylamide) hydrogels, *Journal of Controlled Release*, 2005, **102**, 361-372.
- [6] Zhang X. Z., Lewis P. J., Chu C. C., Fabrication and characterization of a smart drug delivery system: microsphere in hydrogel, *Biomaterials*, 2005, **26**, 3299-3309.
- [7] Hoffman A. S., Applications of thermally reversible polymers and hydrogels in therapeutics and diagnostics, *Journal of Controlled Release*, 1987, **6**, 297-305.
- [8] Brazel C. S., Peppas N. A., Pulsatile local delivery of thrombolytic and antithrombotic agents using poly(*N*-isopropylacrylamide-co-methacrylic acid) hydrogels, *Journal of Controlled Release*, 1996, **39**, 57-64.
- [9] Von Recum H., Okano T., Kim S. W., Growth factor release from thermally reversible tissue culture substrates, *Journal of Controlled Release*, 1998, **55**, 121-130.
- [10] Bae Y. H., Okano T., Hsu R., Kim S. W., Thermo-sensitive polymers as on-off switches for drug release, *Makromolekulare Chemie, Rapid Communications*, 1987, **8**, 481–485.
- [11] Chen G. H., Hoffman A. S., Graft copolymers that exhibit temperature-induced phase transitions over a wide range of pH, *Nature*, 1995, **373**, 49–52.

- [12] Malstom M., Lindman B., Self-assembly in aqueous block copolymer solutions, *Macromolecules*, 1992, **25**, 5440–5445.
- [13] Middleton J. C., Tipton A. J., Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices, *Biomaterials*, 2000, **21**, 2335-2346.
- [14] Sinclair R. G., The case for polylactic acid as a commodity packaging plastic, *Journal of Macromolecular Science-Pure and Applied Chemistry*, 1996, **A33**, 585-597.
- [15] Kricheldorf H. R., Berl M., Scharnagl N., Poly(lactones) .9. Polymerization mechanism of metal alkoxide initiated polymerizations of lactide and various lactones, *Macromolecules*, 1988, **21**, 286-293.
- [16] Kricheldorf H. R., Sumbel M., Kreiser-Saunders I., Poly(lactones) .20. Polymerization of epsilon-caprolactone with tributyltin derivatives-a mechanistic study, *Macromolecules*, 1991, **24**, 1944-1949.
- [17] Herold D. A., Keil K., Bruns D. E., Oxidation of polyethylene glycols by alcohol dehydrogenase, *Biochemical Pharmacology*, 1989, **38**, 73-76.
- [18] Cohn D., Younes H., Biodegradable PEO/PLA block copolymers, *Journal of Biomedical Materials Research*, 1988, **22**, 993-1009.
- [19] Zhu K. J., Xiangzhou L., Shilin Y., Preparation, characterization, and properties of polylactide (PLA)-poly(ethylene glycol) (PEG) copolymers: A potential drug carrier, *Journal of Applied Polymer Science*, 1990, **39**, 1-9.
- [20] Kricheldorf H. R., Meier-Haack J., Poly(lactones) .22. ABA triblock copolymers of L-lactide and poly(ethylene glycol), *Makromolekulare Chemie-Macromolecular Chemistry and Physics*, 1993, **194**, 715-725.
- [21] Mert O., Doganci E., Erbil H. Y., Demir A. S., Surface Characterization of Poly(L-lactic acid)-Methoxy Poly(ethylene glycol) Diblock Copolymers by Static and Dynamic Contact Angle Measurements, FTIR, and ATR-FTIR, *Langmuir*, 2008, **24**, 749-757.
- [22] Cerral P., Tricoli M., Lelli L., Guerra G. D., Sbarbati Del Guerra R., Cascone M. G., Giusti P., Block copolymers of L-lactide and poly(ethylene glycol) for biomedical applications, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 1994, **5**, 308-313.
- [23] Jedlinski Z., Kurcok P., Walach W., Janeczek H., Radecka I., Synthesis of ethylene glycol-L-lactide block copolymers, *Makromolekulare Chemie-Macromolecular Chemistry and Physics.*, 1993, **194**, 1681-1689.
- [24] Sawhney A., Pathak C. P., Hubbell J. A., Bioerodible hydrogels based on photopolymerized poly(ethylene glycol)-co-poly(alpha-hydroxy acid) diacrylate macromers, *Macromolecules*, 1993, **26**, 581-587.

- [25] Kumari A., Yadav S. K., Yadav C. S., Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2010, **75**, 1–18.
- [26] Ikada Y., Tsuji H., Biodegradable polyesters for medical and ecological applications, *Macromolecular Rapid Communications*, 2000, **21**, 117-132.
- [27] Middleton J. C., Tipton A. J., Synthetic biodegradable polymers as medical devices, *Medical Plastics & Biomaterials*, 1998, **5**, 30-39.
- [28] Huh K. M., Cho Y. W., Park K., PLGA-PEG Block Copolymers for Drug Formulations, *Drug Delivery Technology*, 2003 **3**, 42–49.
- [29] Yu L., Ding J., Injectable hydrogels as unique biomedical materials, *Chemical Society Reviews*, 2008, **37**, 1473–1481.
- [30] Van Natta F. J., Hill J. W., Carruthers W. H., Polymerization and ring formation, ϵ -caprolactone and its polymers, *Journal of American Chemical Society*, 1934, **56**, 455–457.
- [31] Storey R. F., Taylor A. E., Effect of stannous octoate concentration on the ethylene glycol-initiated polymerization of epsilon-caprolactone, *Abstract of Papers of the American Chemical Society*, 1996, **211**, 114–20.
- [32] Woodruff M. A., Hutmacher D. W., The return of a forgotten polymer-Polycaprolactone in the 21st century, *Progress in Polymer Science*, 2010, **35**, 1217-1256.
- [33] Labet M., Thielemans W., Synthesis of polycaprolactone: a review, *Chemical Society Review*, 2009, **38**, 3484–3504.
- [34] Iroh J. O., Poly(ϵ -caprolactone), Editors: Mark J. E., *Polymer Data Handbook*, 2nd ed., Oxford University Press, Oxford, 477-480, 2009.
- [35] Van de Velde K., Kiekens P., Biopolymers: overview of several properties and consequences on their applications, *Polymer Testing*, 2002, **21**, 433–442.
- [36] Sigma Aldrich, Polycaprolactone, Technical Specifications, <http://www.sigmaaldrich.com/united-kingdom.html>, (Ziyaret Tarihi: 1 Eylül 2014).
- [37] Birmingham polymers, Chemical & Physical properties, <http://www.birminghampolymers.com/>, (Ziyaret Tarihi: 1 Eylül 2014).
- [38] Gross R. A., Kalra B., Biodegradable Polymers for the Environment, *Science*, 2002, **297**, 803–807.
- [39] Sinha V. R., Bansal K., Kaushik R., Kumria R., Trehan A., Poly-epsilon-caprolactone microspheres and nanospheres: an overview, *International Journal of Pharmaceutics*, 2004, **278**, 1-23.

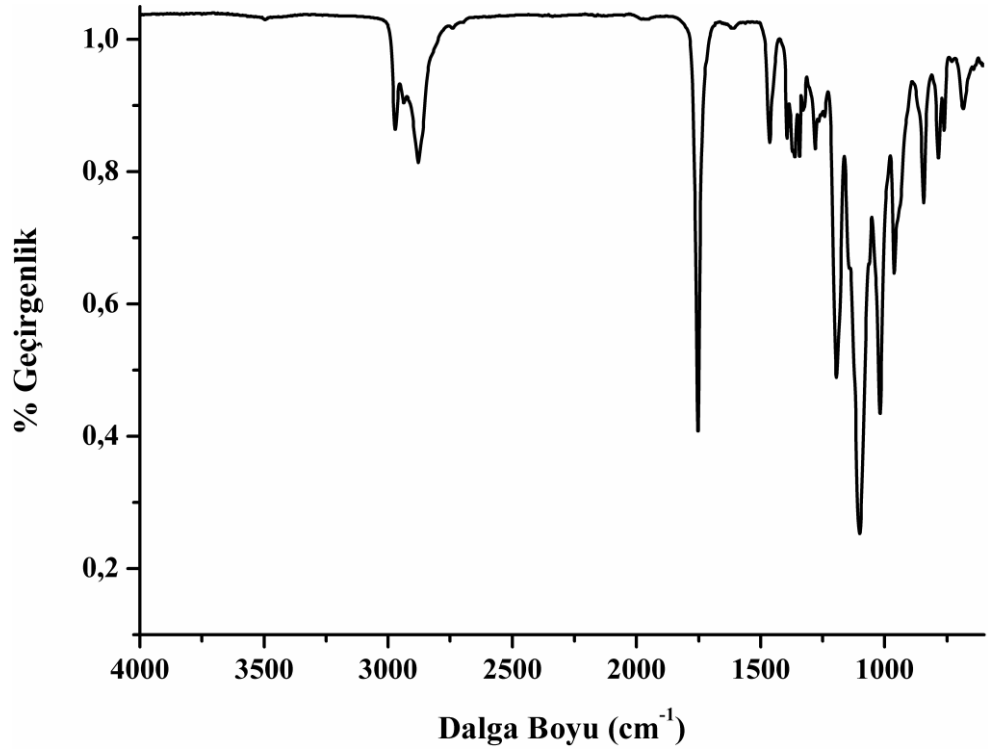
- [40] Lam C. X. F., Teoh S. H., Hutmacher D. W., Comparison of the degradation of polycaprolactone and polycaprolactone-(β -tricalcium phosphate) scaffolds in alkaline medium, *Polymer International*, 2007, **56**, 718–728.
- [41] Chandra R., Rustgi R., Biodegradable Polymers, *Progress in Polymer Science*, 1998, **23**, 1273–1335.
- [42] Chen D. R., Bei J. Z., Wang S. G., Polycaprolactone microparticles and their biodegradation, *Polymer Degradation and Stability*, 2000, **67**, 455–459.
- [43] De Kesel C., Wauven C. V., David C., Biodegradation of polycaprolactone and its blends with poly(vinylalcohol) by micro-organisms from a compost of house-hold refuse, *Polymer Degradation and Stability*, 1997, **55**, 107–113.
- [44] Joshi P., Madras G., Degradation of polycaprolactone in supercritical fluids, *Polymer Degradation and Stability*, 2008, **93**, 1901–1908.
- [45] Pena J., Corrales T., Izquierdo-Barba I., Doadrio A. L., Vallet-Regi M., Long term degradation of poly(ϵ -caprolactone) films in biologically related fluids, *Polymer Degradation and Stability*, 2006, **91**, 1424–1432.
- [46] Jenkins M. J., Harrison K. L., Silva M. M. C. G., Whitaker M. J., Shakesheff K. M., Howdle S. M., Characterisation of microcellular foams produced from semi-crystalline PCL using supercritical carbon dioxide, *European Polymer Journal*, 2006, **42**, 3145–3151.
- [47] Hutmacher D. W., Schantz T., Zein I., Ng K. W., Hin S., Kim T., Tan C., Mechanical properties and cell cultural response of polycaprolactone scaffolds designed and fabricated via fused deposition modeling, *Journal of Biomedical Materials Research*, 2001, **55**, 203–216.
- [48] Hedrick J. L., Magbitang T., Connor E. F., Glauser T., Volksen W., Hawker C. J., Lee V. Y., Miller R. D., Application of Complex Macromolecular Architectures for Advanced Microelectronic Materials, *Chemistry–A European Journal*, 2002, **8**, 3308–3319.
- [49] Wei X. W., Gong C. Y., Gou M. L., Fu S. Z., Guo Q. F., Shi S., Luo F., Guo G., Qiu L. Y., Qian Z. Y., Biodegradable poly(ϵ -caprolactone)–poly(ethylene glycol) copolymers as drug delivery system, *International Journal of Pharmaceutics*, 2009, **381**, 1–18.
- [50] Koenig M. F., Huang S. J., Biodegradable blends and composites of polycaprolactone and starch derivatives, *Polymer*, 1995, **36**, 1877–1882.
- [51] Moon H. T., Lee Y. K., Han J. K., Byun Y. J., Improved blood compatibility by sustained release of heparin-deoxycholic acid conjugates in a PCL-PEG multiblock copolymer matrix, *Journal of Biomaterials Science-Polymer Edition*, 2002, **13**, 817–828.

- [52] Huang M. H., Li S., Hutmacher D. W., Schantz J. T., Vacanti C. A., Braud C., Vert M., Degradation and cell culture studies on block copolymers prepared by ring opening polymerization of epsilon-caprolactone in the presence of poly(ethylene glycol), *Journal of Biomaterials Research Part A*, 2004, **69A**, 417–427.
- [53] Hsu S. H., Tang C. H., Lin C. C., Biocompatibility of poly(epsilon-caprolactone)/poly(ethylene glycol) diblock copolymers with nanophase separation, *Biomaterials*, 2004, **25**, 5593–5601.
- [54] Yin M., Baker G. L., Preparation and Characterization of Substituted Polylactides, *Macromolecules*, 1999, **32**, 7711-7718.
- [55] Yin M., Simmons T. L., Baker G. L., Synthesis and Properties of Polymers Derived from Substituted Lactic Acids, *Abstracts of Papers of the American Chemical Society*, 2001, **12**, 147-159.
- [56] Trimaille T., Mondon K., Gurny R., Möller M., Novel polymeric micelles for hydrophobic drug delivery based on biodegradable poly(hexyl-substituted lactides), *International Journal of Pharmaceutics*, 2006, **319**, 147-154.
- [57] Jiang X., Vogel E. B., Smith III M. R., Baker G. L., ‘Clickable’ Polyglycolides: Tunable Synthons for Thermoresponsive, Degradable Polymers, *Macromolecules*, 2008, **41**, 1937-1944.
- [58] Yin M., Synthesis of Characterization of Substituted Polylactides, Doctor of Philosophy, Michigan State University, Department of Chemistry, Michigan, 2000, 9985493.
- [59] Mert O., Thermosensitive Biodegradable mPEG-PLLA Block Copolymers: Syntheses, Characterizations and Applications in Drug Delivery Systems; Synthesis and Properties of Novel Electrochromic Polythienylpyrrole, Doctor of Philosophy, Middle East Technical University, Natural and Applied Sciences, Ankara, 2011, 285609.
- [60] Müller J., Feifel S. C., Schmiederer T., Zocher R., Süßmuth R. D., In vitro Synthesis of New Cyclodepsipeptides of the PF1022-Type: Probing the alpha-D-Hydroxy Acid Tolerance of PH1022 Synthetase, *Chembiochem*, 2009, **10**, 323-328.
- [61] Sigma Aldrich, D-Valine, Safety & Documentation, <http://www.sigmaaldrich.com/united-kingdom.html>, (Ziyaret Tarihi: 5 Eylül 2014).
- [62] Kricheldorf H. R., Syntheses and application of polylactides, *Chemosphere*, 2001, **43**, 49-54.
- [63] Kricheldorf H. R., Kreiseraunders I., Boettcher C., Poly(lactones).31. Sn(II)octoate-initiated polymerization of L-lactide – a mechanistic study, *Polymer*, 1995, **36**, 1253-1259.

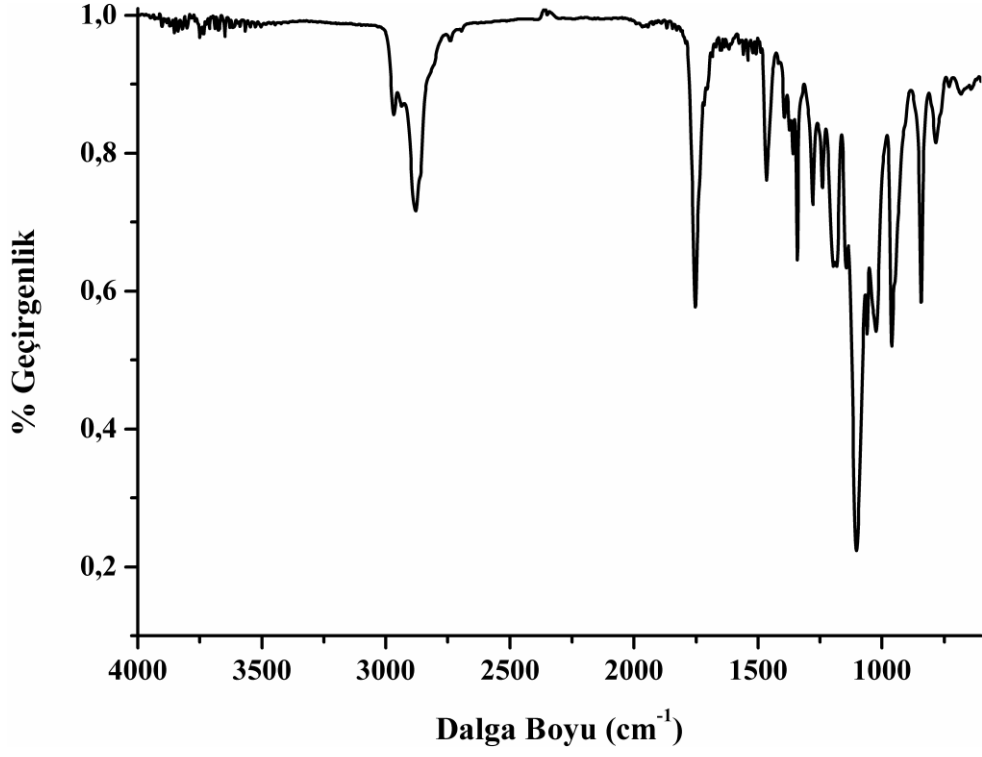
- [64] Badami A. S., Bioresorbable Electrospun Tissue Scaffolds of Poly(ethylene glycol-*b*-lactide) Copolymers for Bone Tissue Engineering, Master of Science, Virginia Polytechnic Institute and State University, Macromolecular Science and Engineering, Blacksburg, Virginia, 2004.
- [65] Rashkov I., Manolova N., Li S. M., Espartero J. L., Vert M., Synthesis, Characterization, and Hydrolytic Degradation of PLA/PEO/PLA Triblock Copolymers with Short Poly(L-lactic acid) Chains, *Macromolecules*, 1996, **29**, 50-56.
- [66] Huang C-I., Tsai S-H., Chen C-M., Isothermal crystallization behavior of poly(L-lactide) in poly(L-lactide)-block-poly(ethylene glycol) diblock copolymers, *Journal of Polymer Science Part B-Polymer Physics*, 2006, **44**, 2438-2448.

EKLER

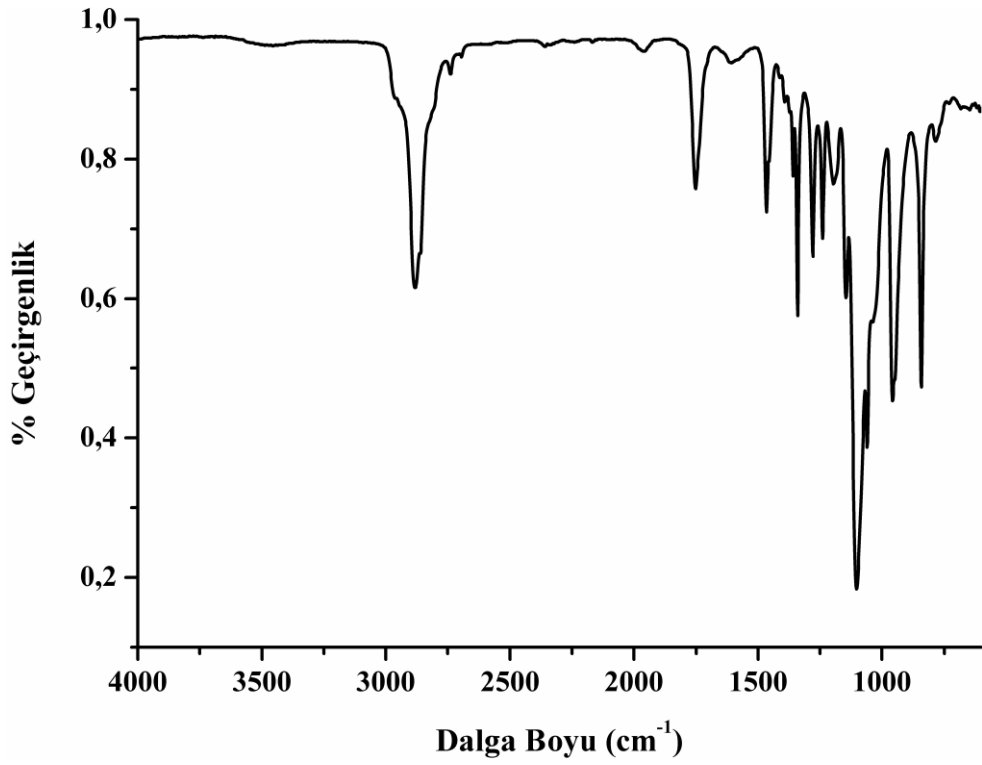
EK-A. ATR-FTIR Spektrumları



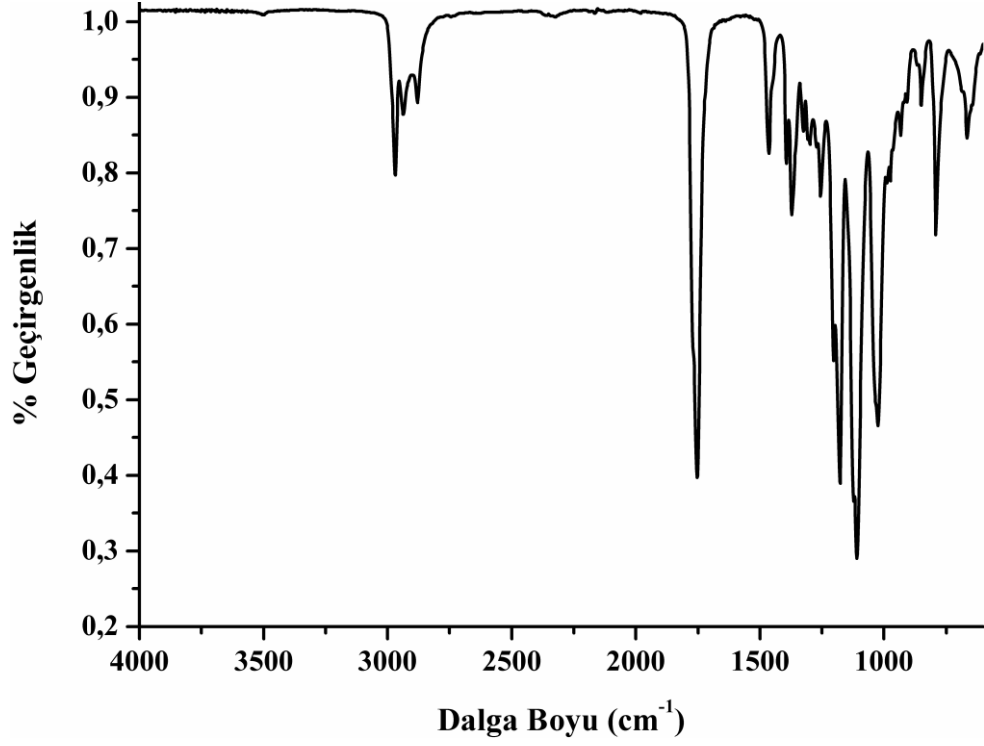
Şekil A.1. 4 bileşiğinin ATR-FTIR spektrumu



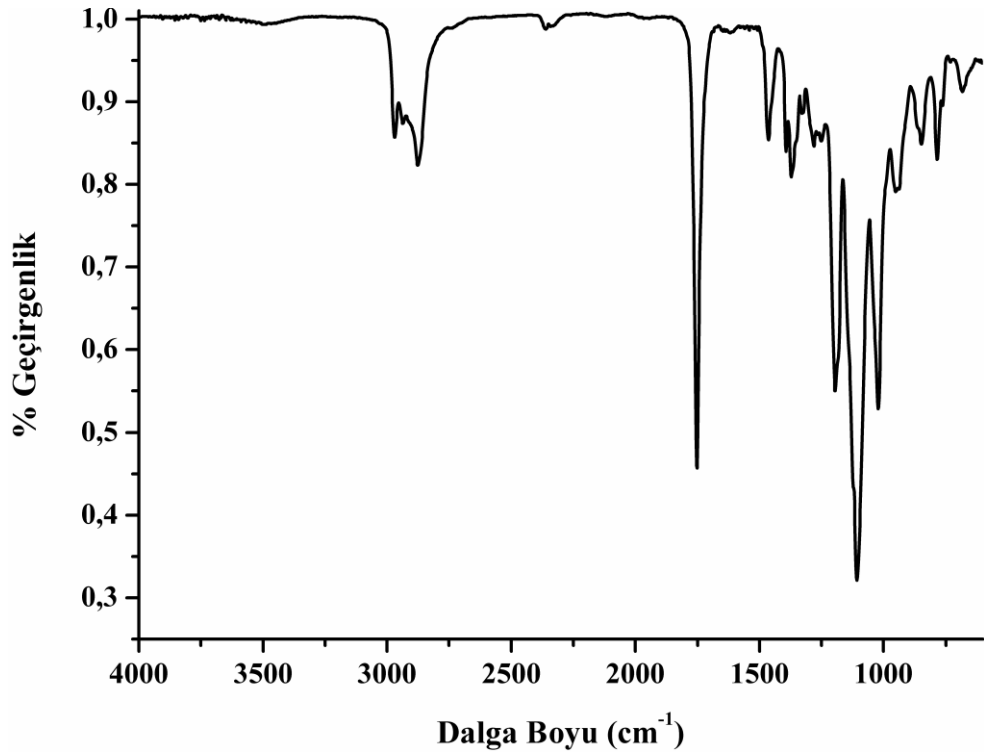
Şekil A.2. 5 bileşiğinin ATR-FTIR spektrumu



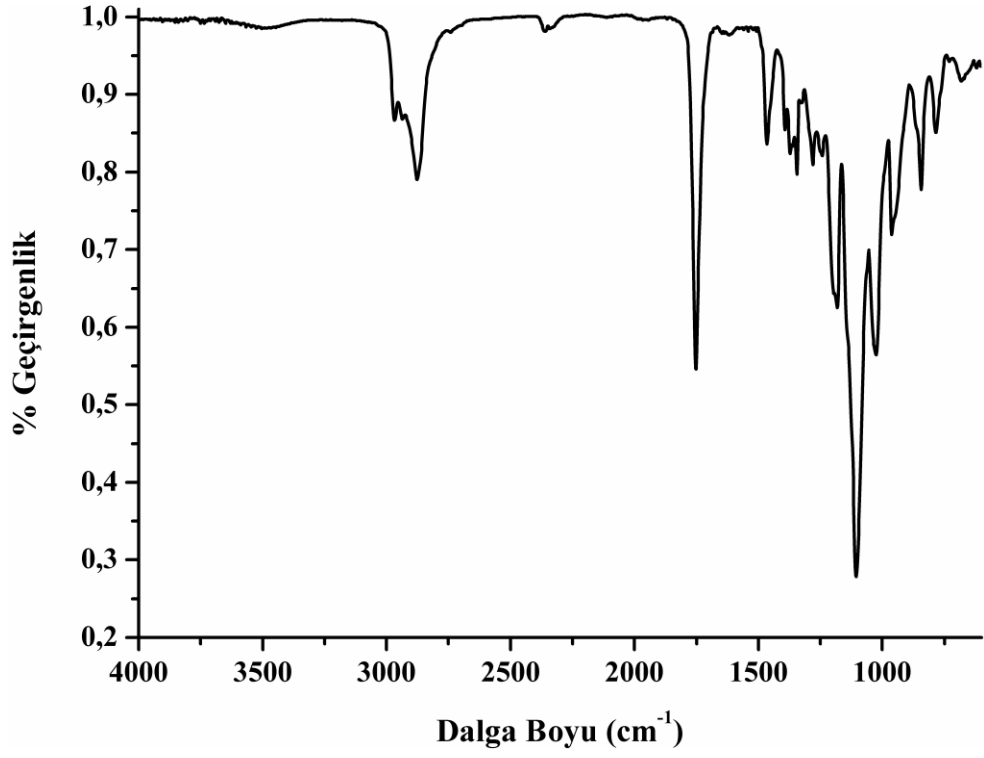
Şekil A.3. 6 bileşiğinin ATR-FTIR spektrumu



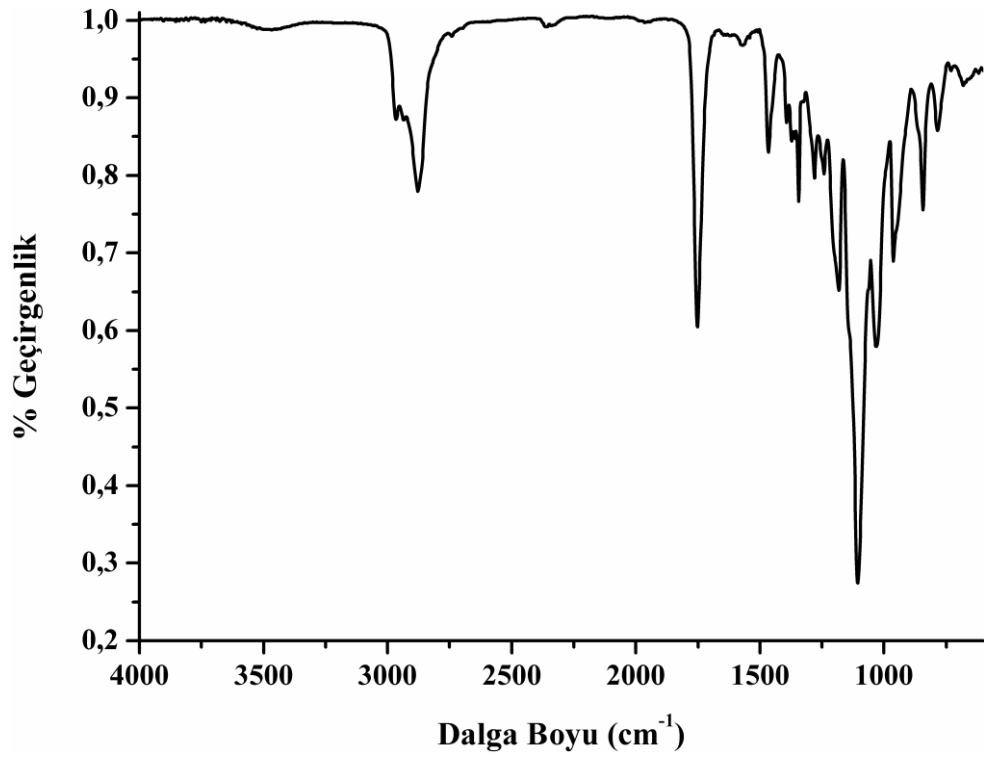
Şekil A.4. 7 bileşiğinin ATR-FTIR spektrumu



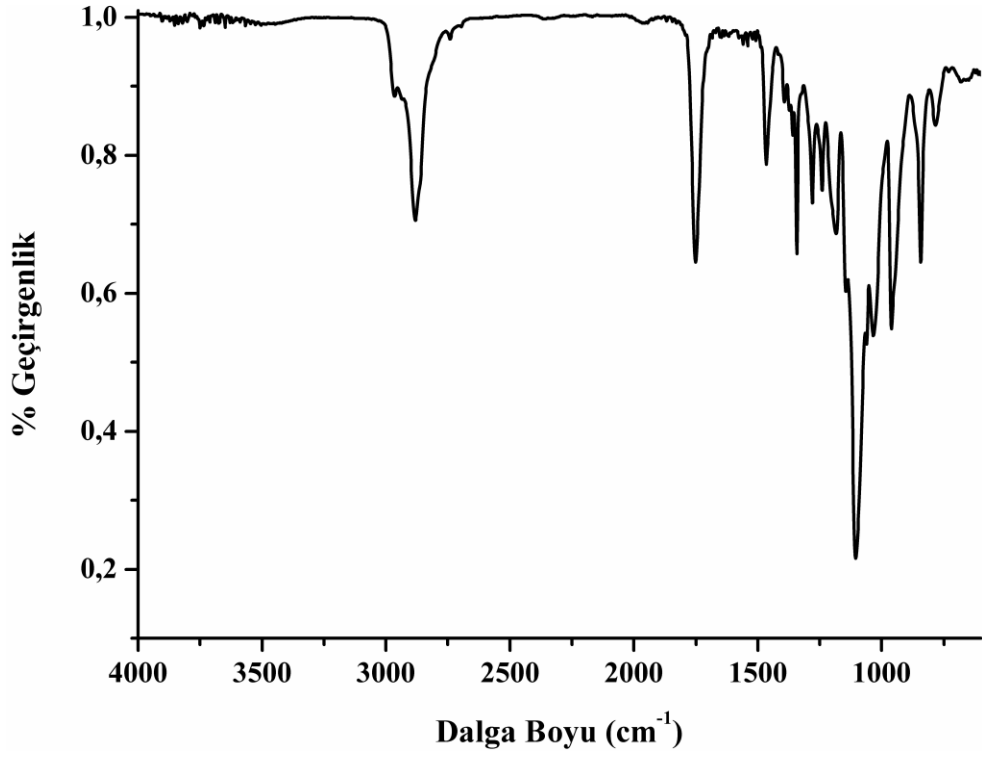
Şekil A.5. 9 bileşiğinin ATR-FTIR spektrumu



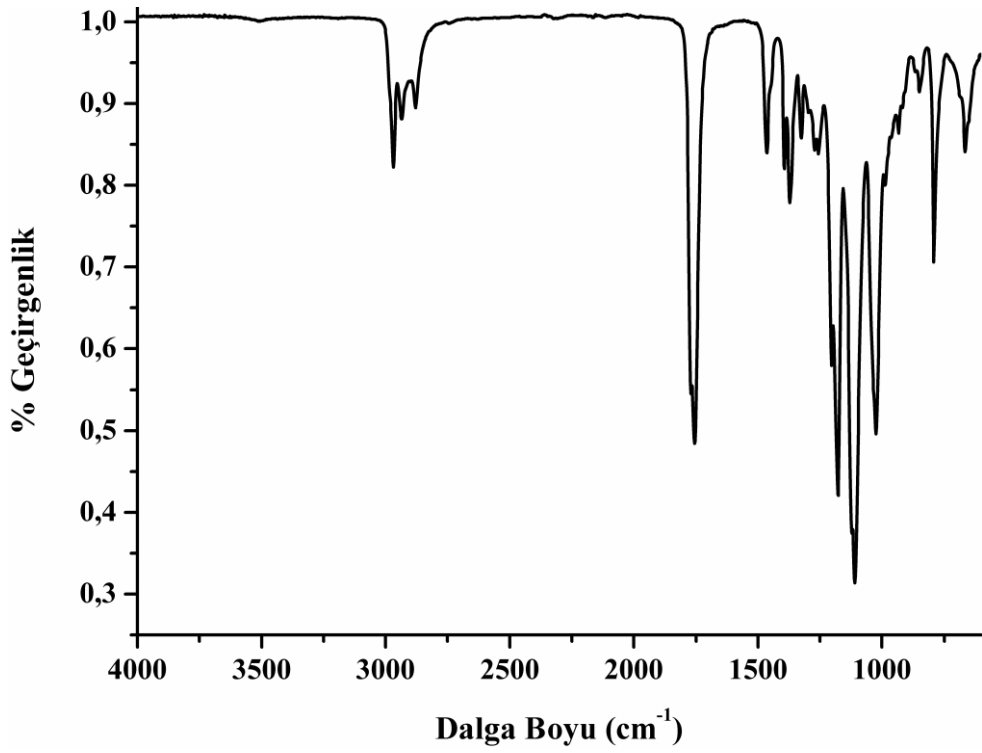
Şekil A.6. 10 bileşiğinin ATR-FTIR spektrumu



Şekil A.7. 11 bileşiğinin ATR-FTIR spektrumu

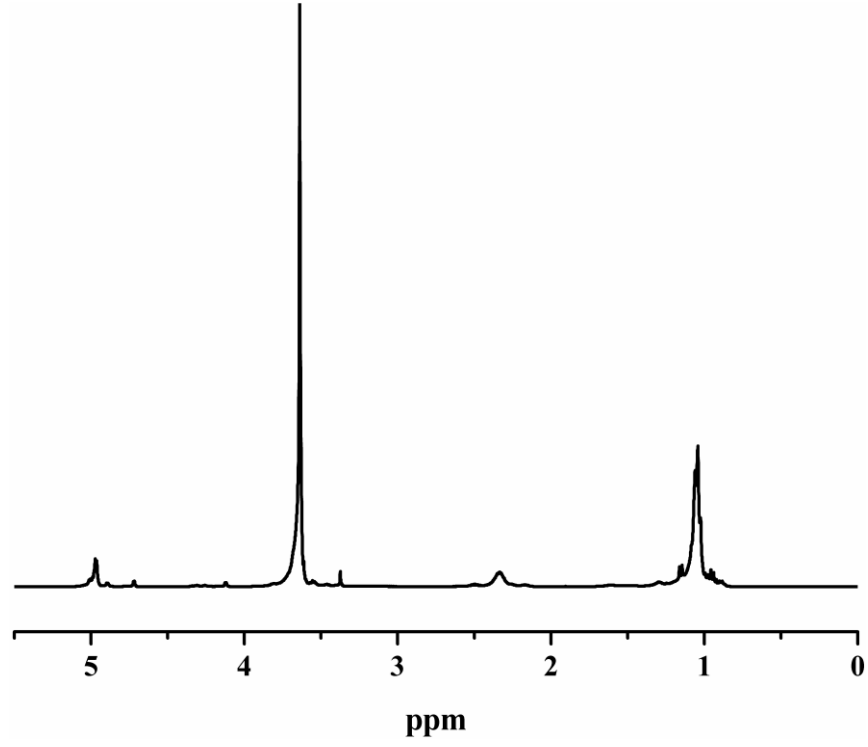


Şekil A.8. 12 bileşiğinin ATR-FTIR spektrumu

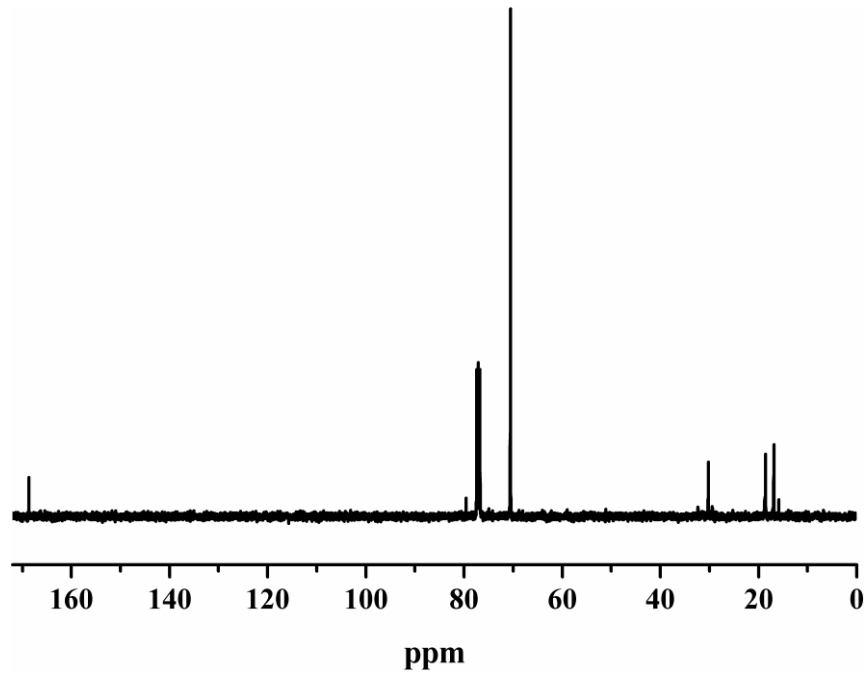


Şekil A.9. 13 bileşiğinin ATR-FTIR spektrumu

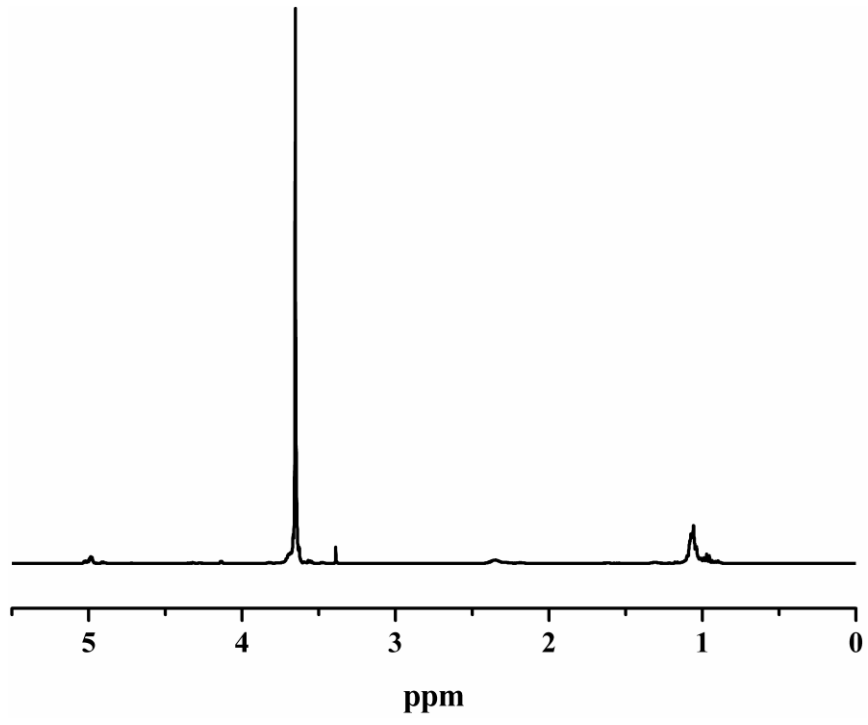
EK-B. NMR Spektrumları



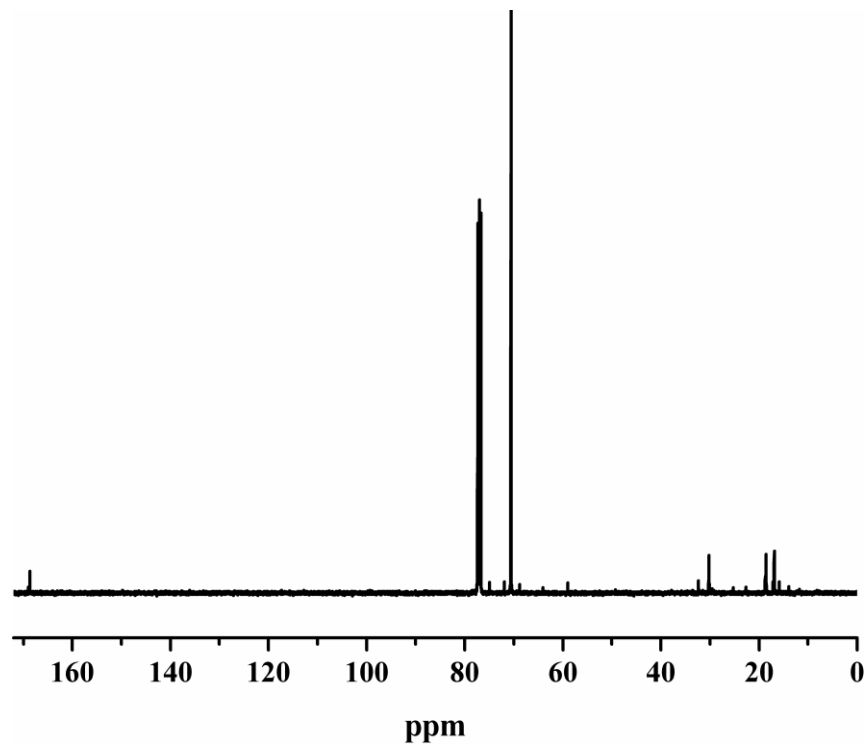
Şekil B.1. 4 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu



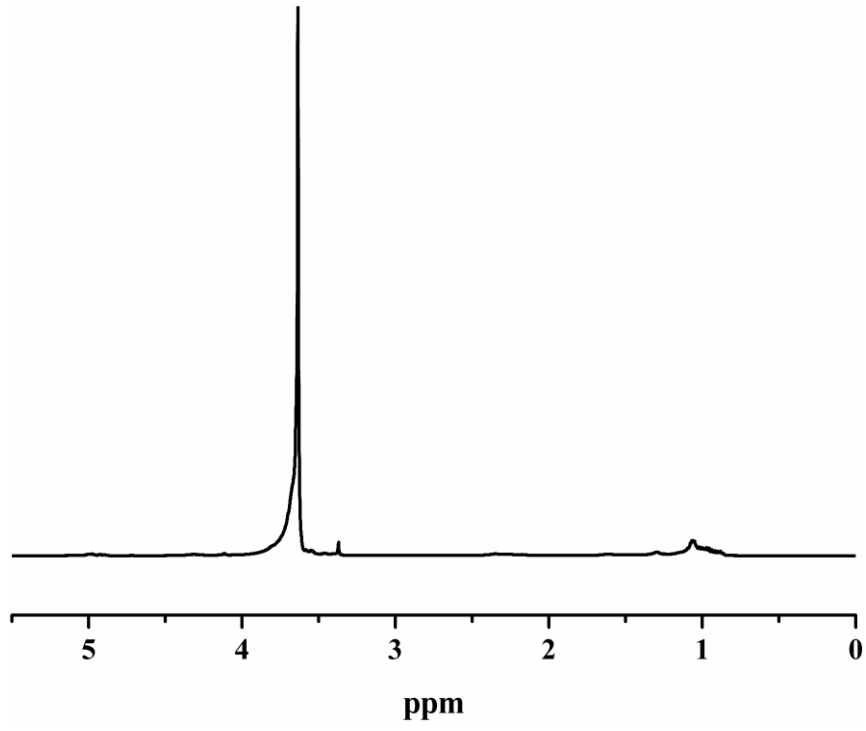
Şekil B.2. 4 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu



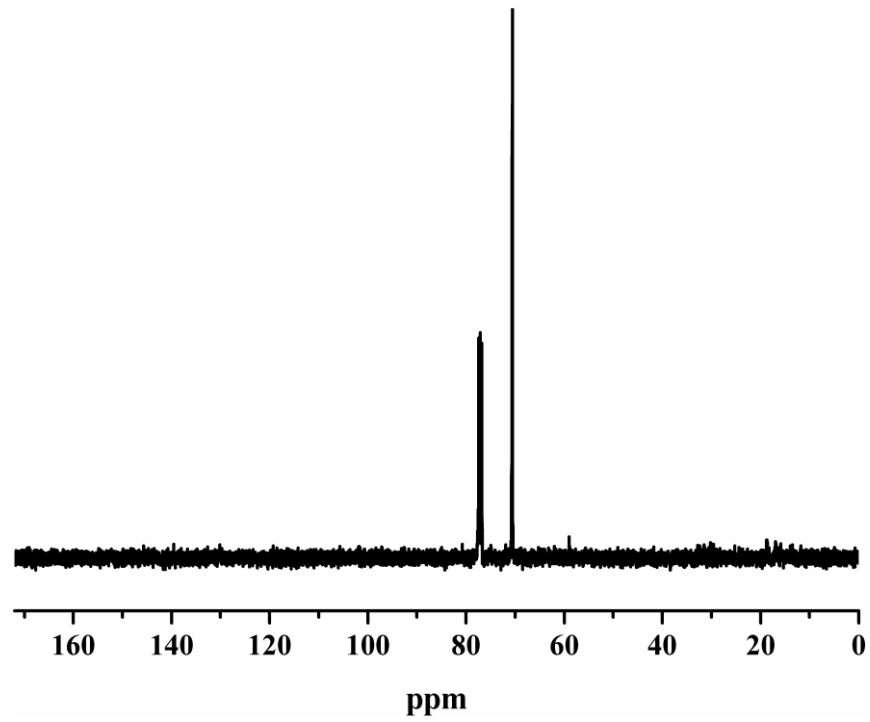
Şekil B.3. 5 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu



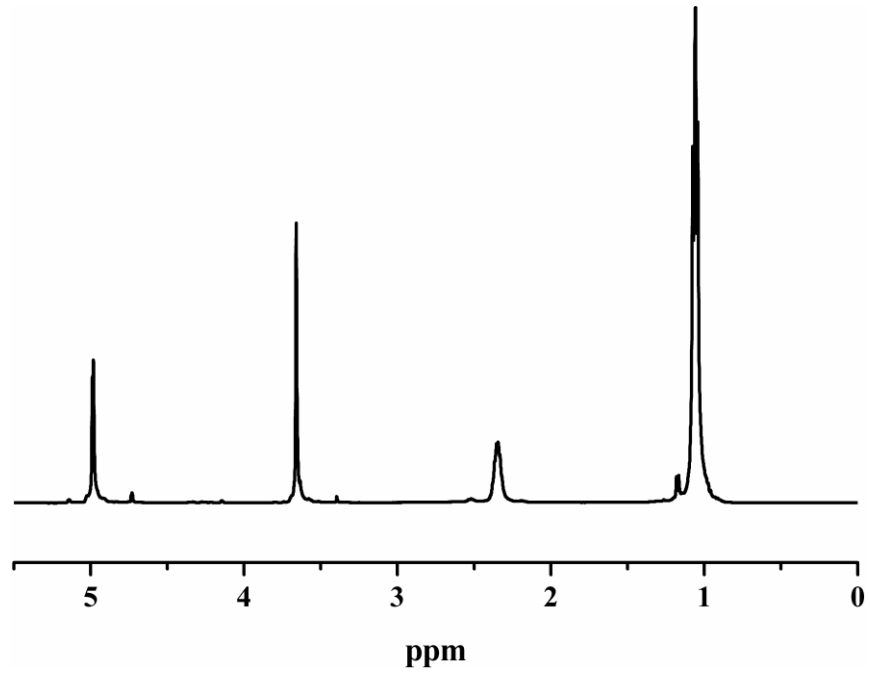
Şekil B.4. 5 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu



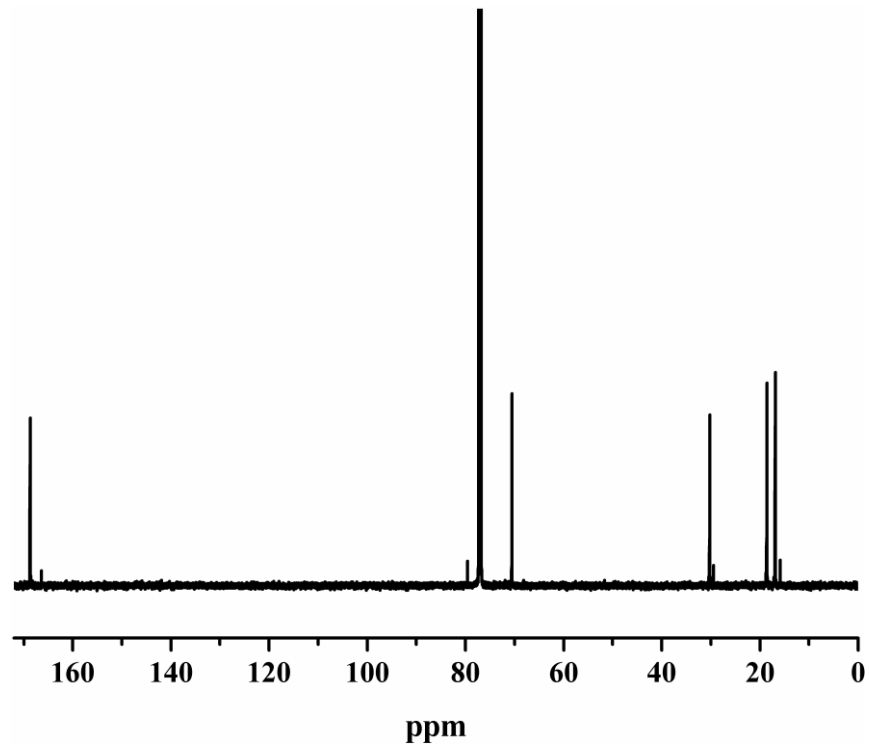
Şekil B.5. 6 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



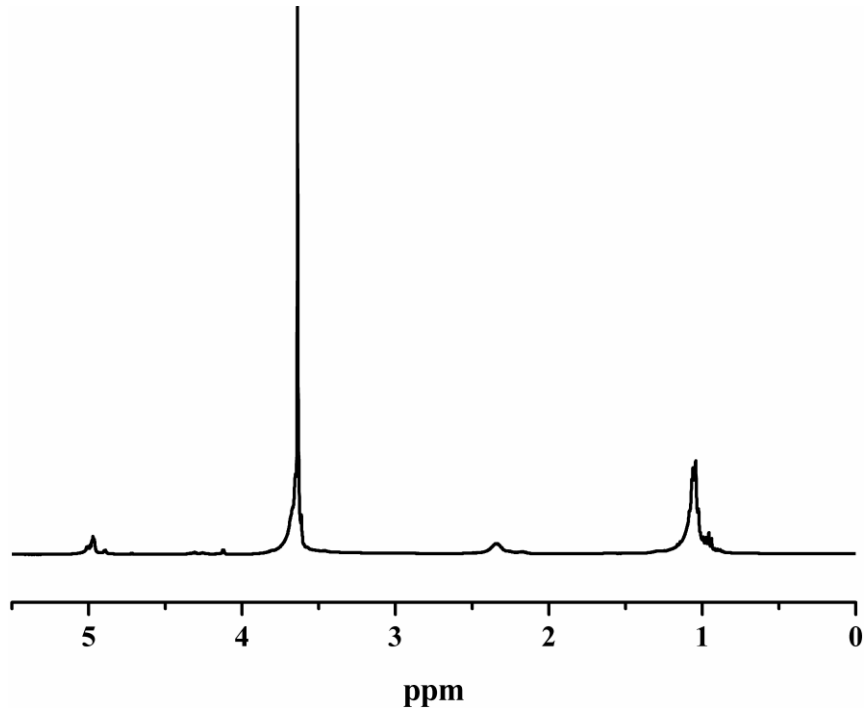
Şekil B.6. 6 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu



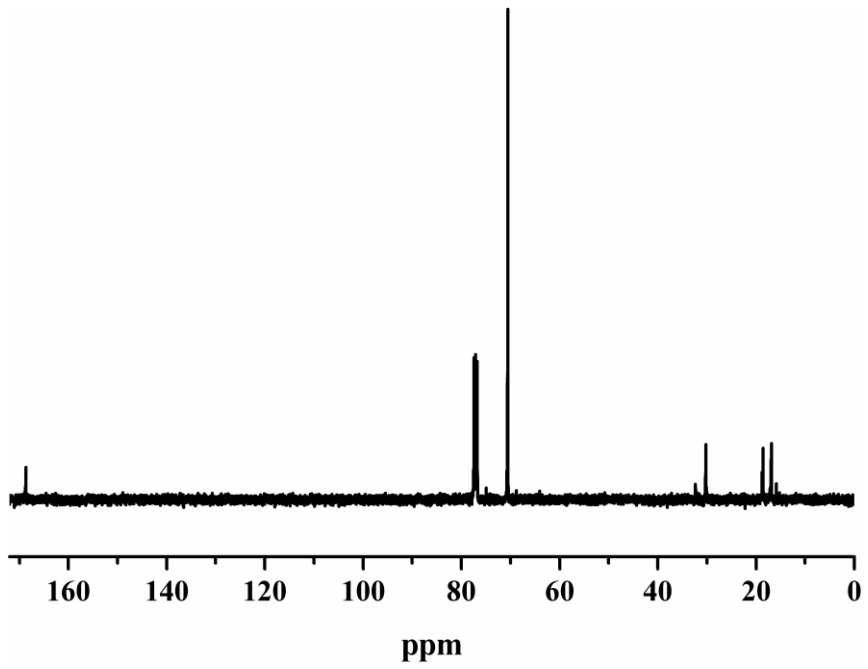
Şekil B.7. 7 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu



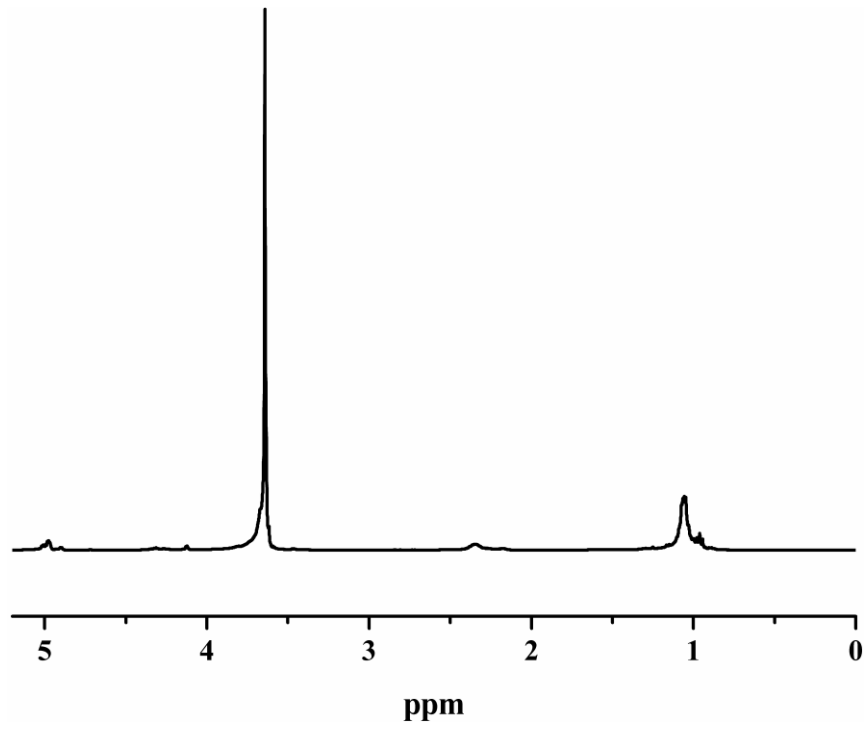
Şekil B.8. 7 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu



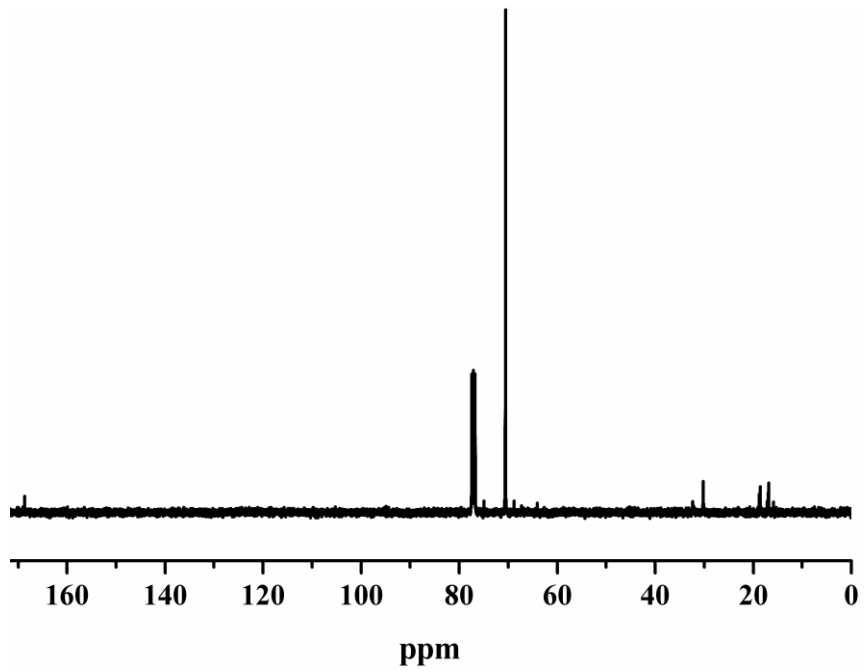
Şekil B.9. 9 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu



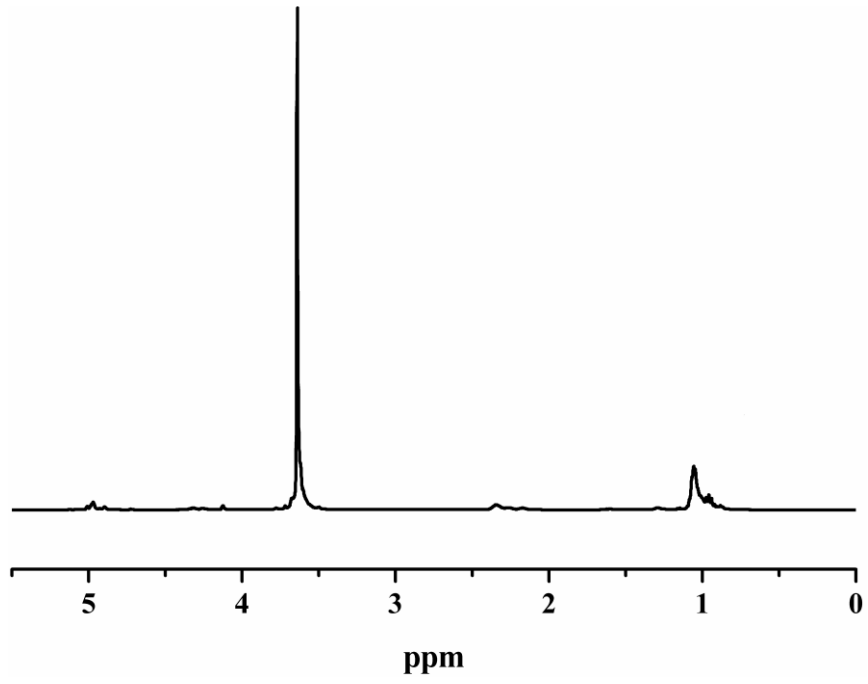
Şekil B.10. 9 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu



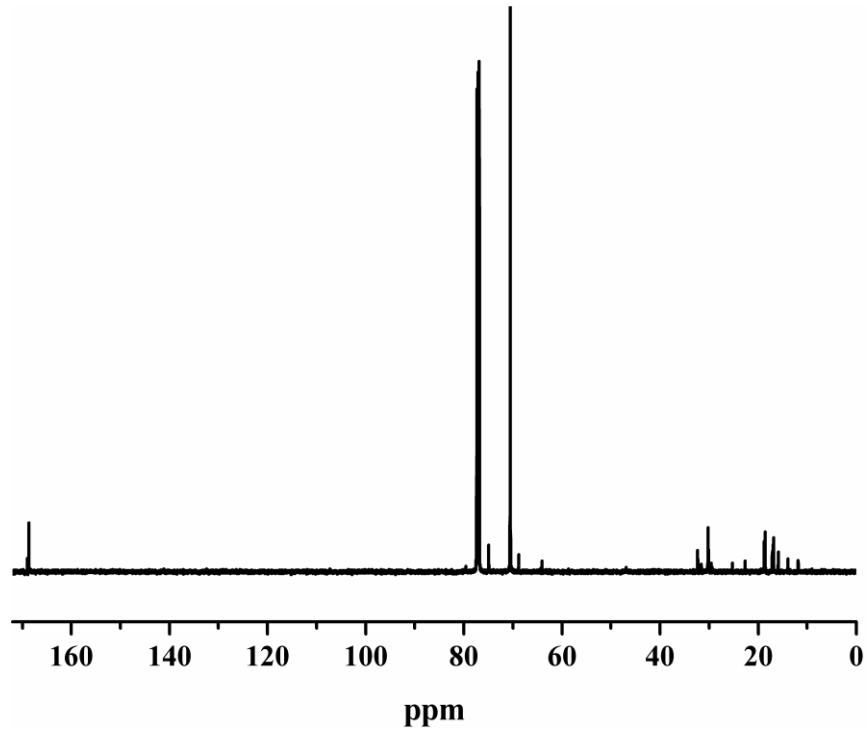
Şekil B.11. 10 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu



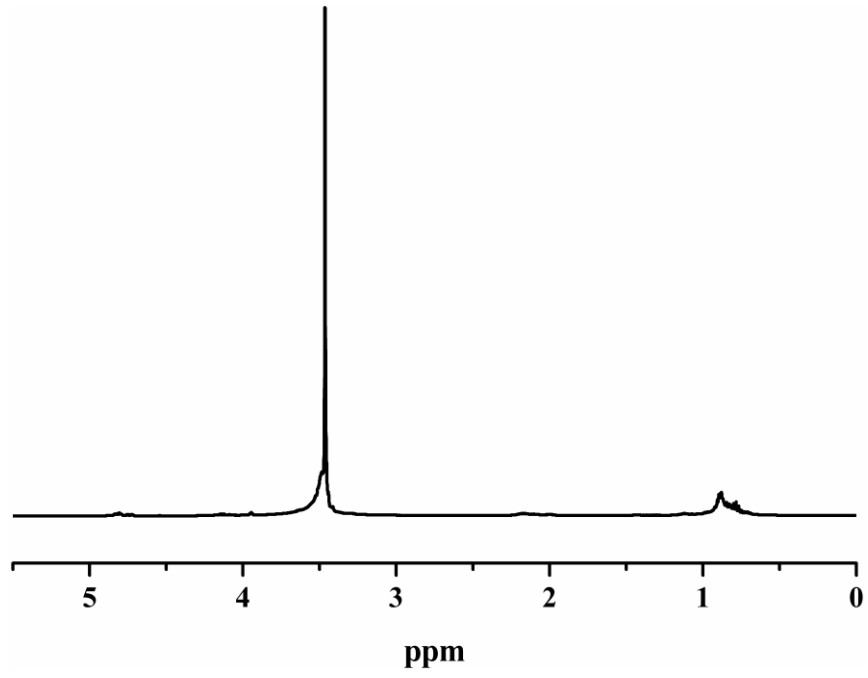
Şekil B.12. 10 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu



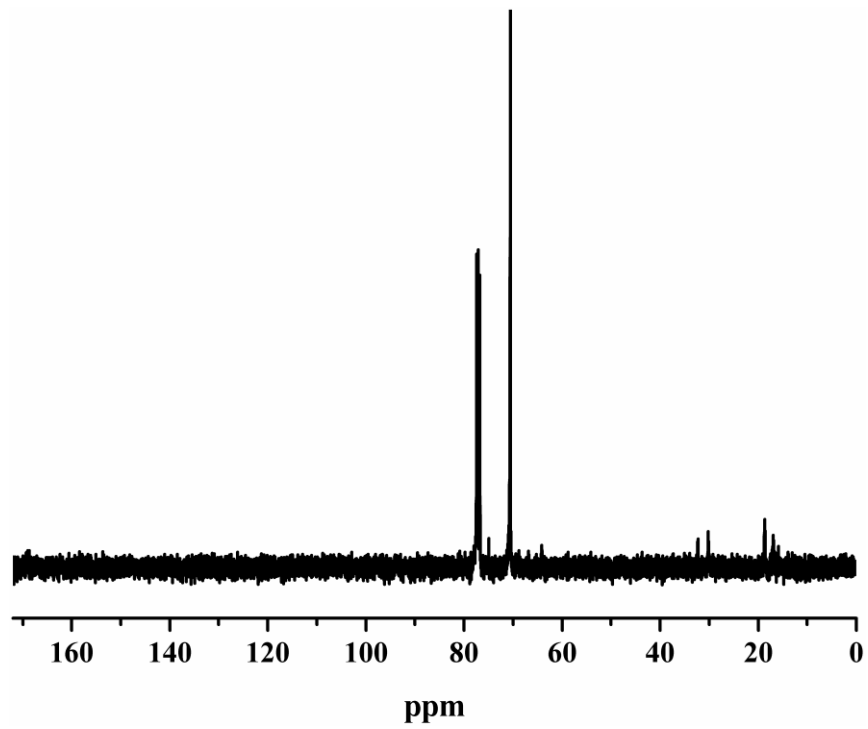
Şekil B.13. 11 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu



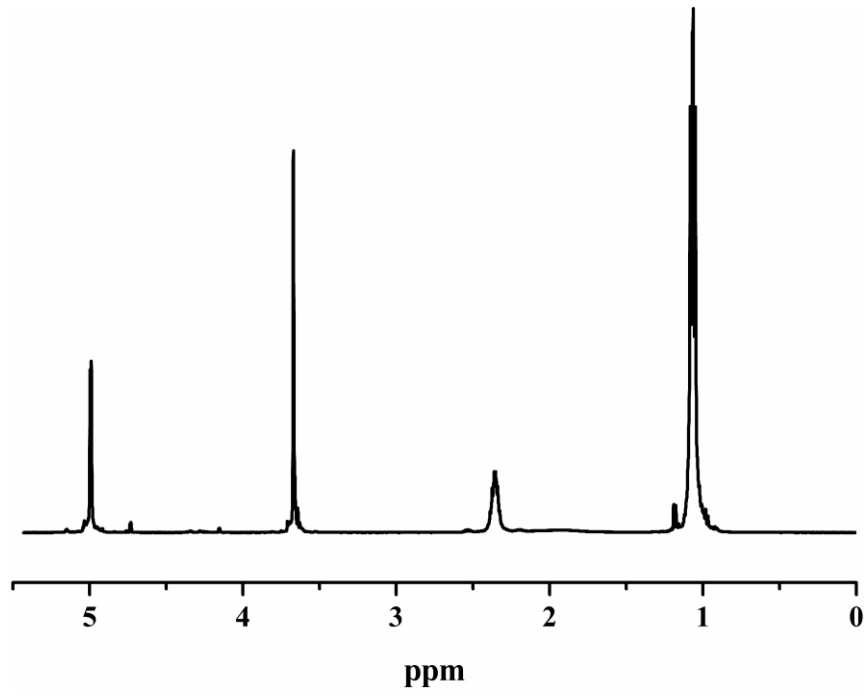
Şekil B.14. 11 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu



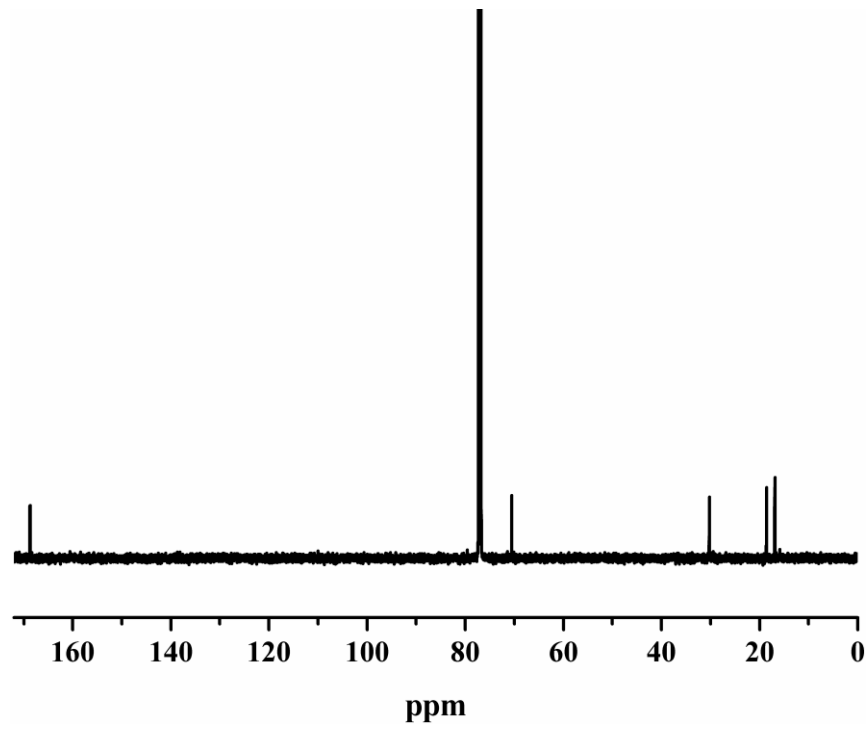
Şekil B.15. 12 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu



Şekil B.16. 12 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu

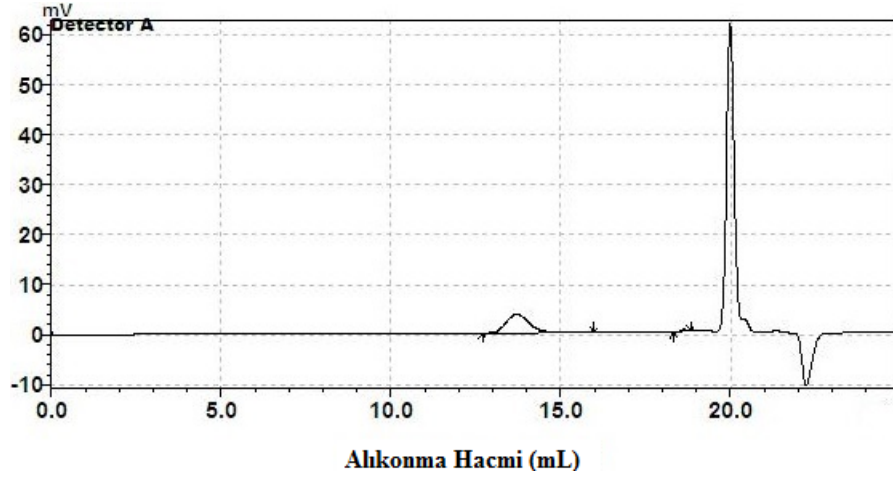


Şekil B.17. 13 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu



Şekil B.18. 13 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu

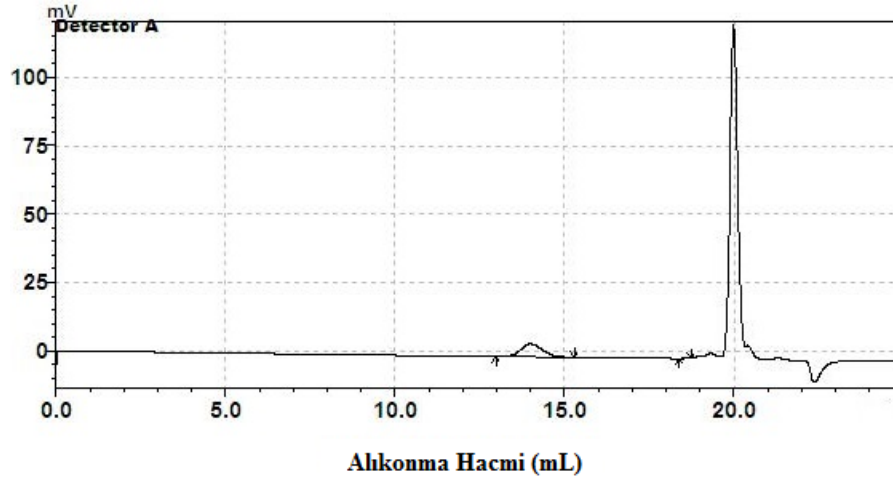
EK-C. GPC Kromatogramları



Şekil C.1. 4 bileşiğinin GPC kromatogramı

Tablo C.1. 4 bileşiği için GPC kromatogramı değerleri

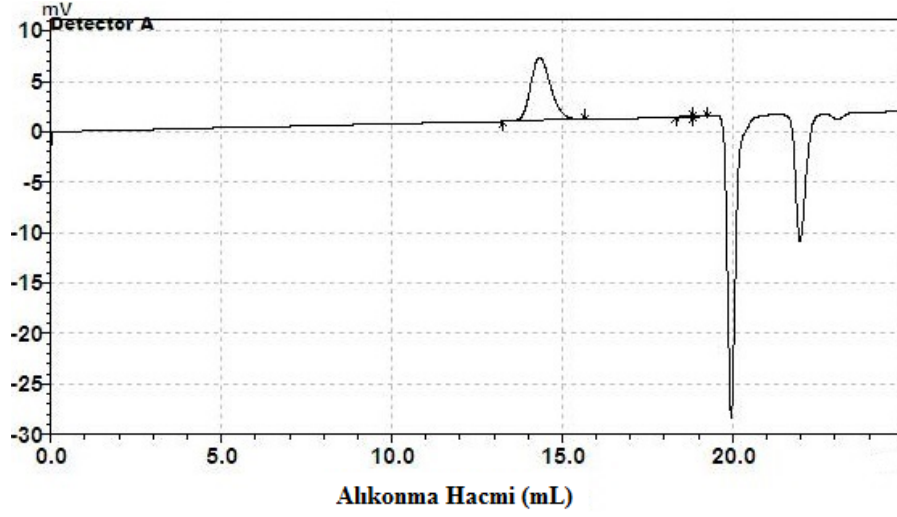
Pik	Alıkonma Hacmi	Alan	Yükseklik	Pik Başlangıç	Pik Sonlanma	Alan (%)
1	13,7	180717	3706	12,7	15,9	98,2
2	18,6	5522	442	18,4	18,8	1,8



Şekil C.2. 5 bileşiğinin GPC kromatogramı

Tablo C.2. 5 bileşiği için GPC kromatogramı değerleri

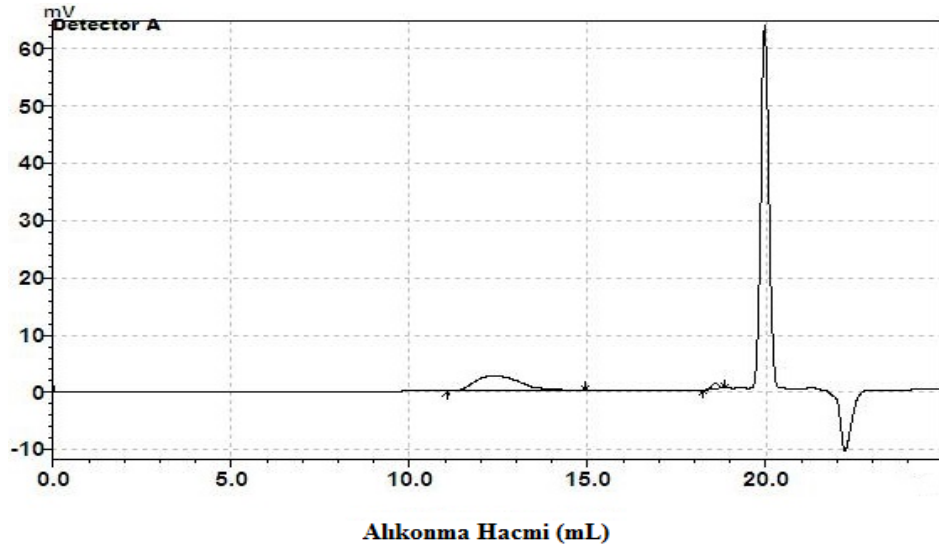
Pik	Alıkonma Hacmi	Alan	Yükseklik	Pik Başlangıç	Pik Sonlanma	Alan (%)
1	14,1	207717	4668	12,9	15,3	98,5
2	18,6	636	66	18,4	18,7	1,5



Şekil C.3. 6 bileşiğinin GPC kromatogramı

Tablo C.3. 6 bileşiği için GPC kromatogramı değerleri

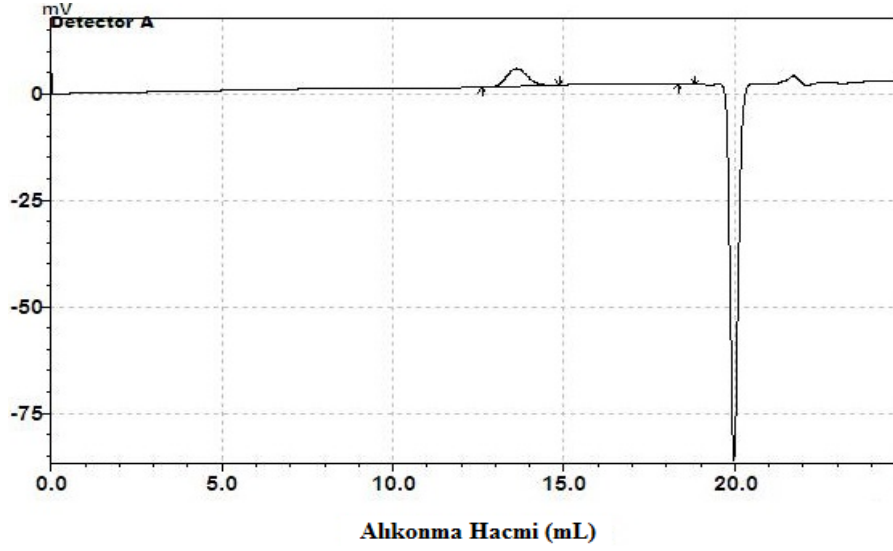
Pik	Alıkonma Hacmi	Alan	Yükseklik	Pik Başlangıç	Pik Sonlanma	Alan (%)
1	14,3	253104	6220	13,3	15,7	98,5
2	18,6	1541	103	18,4	18,8	0,6
3	19,1	2189	147	18,8	19,3	0,9



Şekil C.4. 7 bileşiğinin GPC kromatogramı

Tablo C.4. 7 bileşiği için GPC kromatogramı değerleri

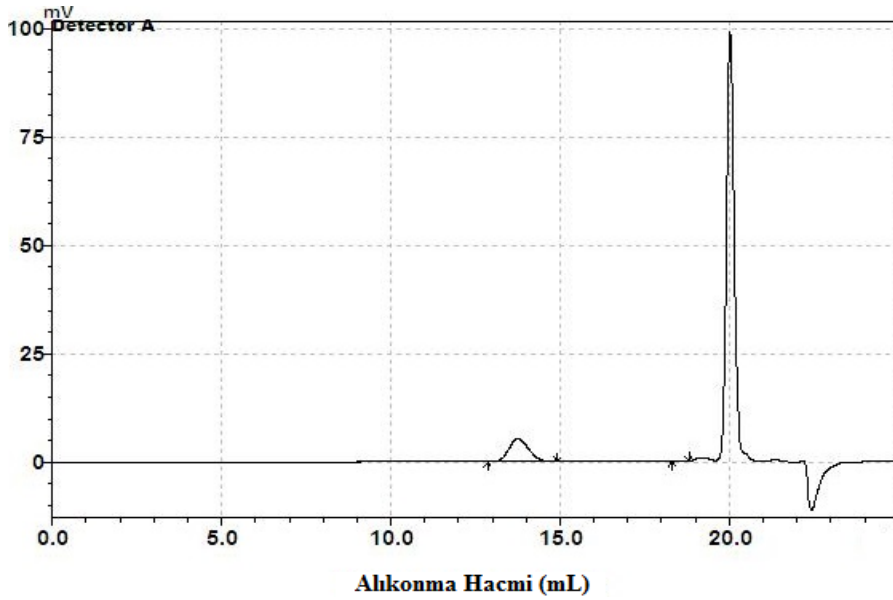
Pik	Alıkonma Hacmi	Alan	Yükseklik	Pik Başlangıç	Pik Sonlanma	Alan (%)
1	12,3	231315	2560	11,1	14,9	94,2
2	18,6	14166	949	18,2	18,9	5,8



Şekil C.5. 9 bileşiğinin GPC kromatogramı

Tablo C.5. 9 bileşiği için GPC kromatogramı değerleri

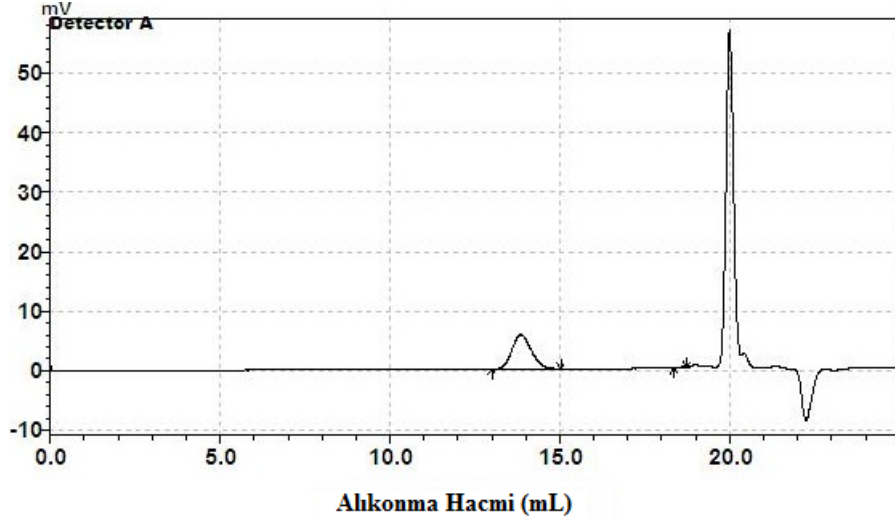
Pik	Alıkonma Hacmi	Alan	Yükseklik	Pik Başlangıç	Pik Sonlanma	Alan (%)
1	13,6	172435	4133	12,6	14,9	98,4
2	18,6	2843	194	18,4	18,8	1,6



Şekil C.6. 10 bileşiğinin GPC kromatogramı

Tablo C.6. 10 bileşiği için GPC kromatogramı değerleri

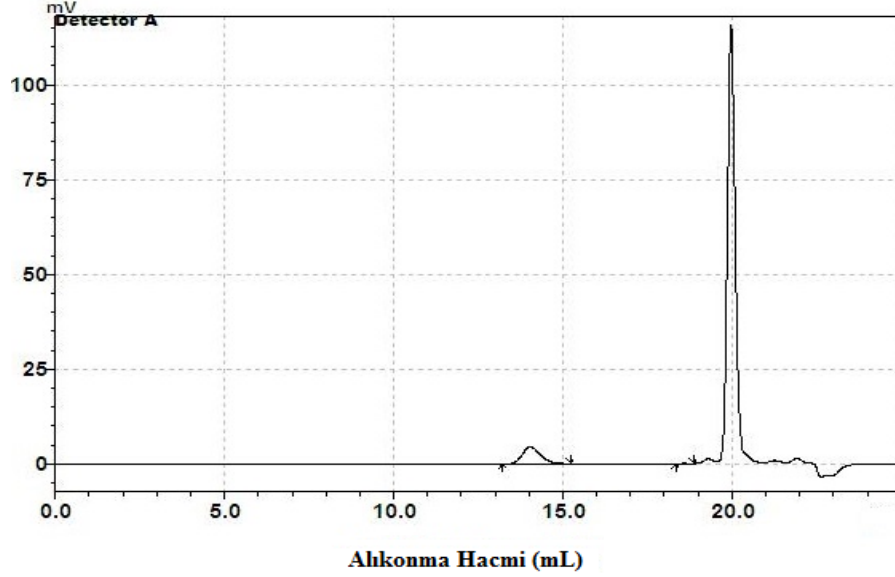
Pik	Alıkonma Hacmi	Alan	Yükseklik	Pik Başlangıç	Pik Sonlanma	Alan (%)
1	13,7	214747	5259	12,9	14,9	98,8
2	18,6	1377	116	18,3	18,8	1,2



Şekil C.7. 11 bileşiğinin GPC kromatogramı

Tablo C.7. 11 bileşiği için GPC kromatogramı değerleri

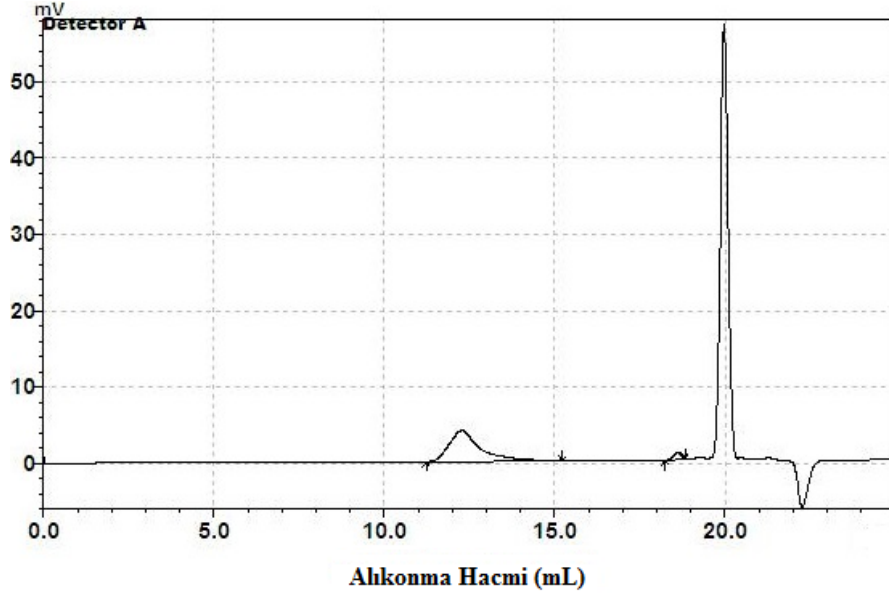
Pik	Alıkonma Hacmi	Alan	Yükseklik	Pik Başlangıç	Pik Sonlanma	Alan (%)
1	13,8	228437	5742	13,1	15,1	99,3
2	18,6	1509	126	18,4	18,8	0,7



Şekil C.8. 12 bileşiğinin GPC kromatogramı

Tablo C.8. 12 bileşiği için GPC kromatogramı değerleri

Pik	Alıkonma Hacmi	Alan	Yükseklik	Pik Başlangıç	Pik Sonlanma	Alan (%)
1	13,9	163083	4410	13,2	15,2	97,8
2	18,6	1016	82	18,4	18,9	2,2



Şekil C.9. 13 bileşiğinin GPC kromatogramı

Tablo C.9. 13 bileşiği için GPC kromatogramı değerleri

Pik	Alıkonma Hacmi	Alan	Yükseklik	Pik Başlangıç	Pik Sonlanma	Alan (%)
1	12,3	256249	40508	11,2	15,2	95,6
2	18,6	11819	806	18,2	18,8	4,4

KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER

- [1] **Arıcan M. O.**, Mert O., İlaç Salım Sistemleri İçin Yeni Poli(izopropil glikolid)-PEG Diblok ve Triblok Kopolimerlerinin Sentezleri ve Özellikleri, *2. İlaç Kimyası, Üretimi, Teknolojisi ve Standardizasyonu Kongresi*, Antalya, Türkiye, 21-23 Mart 2014.
- [2] **Arıcan M. O.**, Mert O., Poli(diizopropil glikolid)-Poli(etilen glikol) Diblok ve Triblok Kopolimerlerinin Sentezleri ve Paklitaksel Antikanser İlacı ile Salım Çalışmaları, *4. Fiziksel Kimya Kongresi*, Denizli, Türkiye, 5-8 Haziran 2014.

ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Kırklareli’de doğdu. İlköğretim ve lise öğrenimini Kırklareli’ne bağlı Lüleburgaz ilçesinde tamamladı. 2008 yılında Kocaeli Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü’nde başladığı üniversite eğitimini 2012 yılında Kimyager olarak bölüm birinciliği ile tamamladı. 2012 yılında Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine başladı.