

T.C.
MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

**YENİ BAZI AMFİFİLİK BİYOPOLYESTERLERİN
SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU**

Ece MURAÇAL

Danışman: Doç. Dr. Birten ÇAKMAKLI

II. Danışman: Prof. Dr. Baki HAZER

BURDUR, 2015

YÜKSEK LİSANS TEZİ JÜRİ ONAY FORMU

Ece MURAÇAL tarafından Doç.Dr. Birten ÇAKMAKLI yönetimin de hazırlanan ‘**Yeni Bazı Amfifilik Biyopolyesterlerin Sentezi ve Karakterizasyonu**’ başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 13/08/2015

Doç. Dr. Birten ÇAKMAKLI

(Başkan)

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Polimer Mühendisliği Bölümü

Prof. Dr. Baki HAZER

(Jüri Üyesi)

Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü

Prof. Dr. Ayhan ATA

(Jüri Üyesi)

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Ana Bilim Dalı

Yrd. Doç. Elif VARGUN

(Jüri Üyesi)

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü

Yrd. Doç. Dr. Sadık ÇOĞAL

(Jüri Üyesi)

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Polimer Mühendisliği Bölümü

ONAY

Bu Tez , Enstitü Yönetim Kurulu'nun _____ Tarih ve _____ Sayılı Kararı ile Kabul Edilmiştir.

Doç. Dr. Belgin BARDAKÇI

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Jüri onayla yer değiştirecek

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi / Doktora Tezi olarak sunduğum **“Yeni Bazı Amfifilik Biyopolyesterlerin Sentezi ve Karakterizasyonu”** başlıklı bu tezin;

- Kendi çalışmam olduğunu,
- Sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi,
- Bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi,
- Kullandığım verilerde değişiklik yapmadığımı,
- Tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı,
- Bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı,

bildirir, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

.... / / 2015

(İmza)

Ece MURAÇAL

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisansım boyunca kıymetli bilgi birikimini, vaktini ve sabrını esirgemeyen, kendisiyle çalışmaktan büyük onur duyduğum, çalışmalarım konusunda kazandığım tüm bilgi ve birikiminin kaynağı değerli hocam Sayın Doç. Dr. Birten ÇAKMAKLI' ya sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım. Çalışmalarım boyunca maddi, manevi her türlü desteğini yanımda hissettiğim, değerli hocam sayın Prof. Dr. Baki HAZER (BEÜ)' e saygı ve şükranlarımı sunarım.

Deneyisel çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen ve çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum sevgili arkadaşlarım; Derya KILIÇ, Emine TURAN, Hümeysra KARUL ve Diğdem TRAK' a çok teşekkür ederim.

Yaşamımın her anında varlığını hissettiren, bana inanan, hayatım boyunca tüm sıkıntılarımı paylaşan, her zaman, her koşulda desteğini hiç esirgemeyen tüm zorluklara rağmen bu günlere ulaşmam için ellerinden geleni en üst düzeyde yapan, değerlerini kelimelerle ifade edemeyeceğim sevgili ailem; annem; Nurten MURAÇAL, babam; Mehmet MURAÇAL, kardeşim; Kaan Ege MURAÇAL' a, sonsuz teşekkür ederim.

Çalışmamda bana mali destek sağlayan, TÜBİTAK 2211 Yurtiçi Öncelikli Alanlar Yüksek Lisans Bursuna ve Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projeleri Fonu' na (BAP Proje No: 0208-YL-13) teşekkür ederim.

Ağustos, 2015

Ece MURAÇAL

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ŞEKİL DİZİNİ.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ÖZET	ix
SUMMARY	xi
1.GİRİŞ.....	1
1.1. Polimerizasyon Yöntemleri	2
1.1.1. Basamaklı Polimerizasyon	2
1.1.2. Katılma Polimerizasyonu	2
1.1.2.1. Serbest Radikalik Polimerizasyon.....	3
1.1.2.2. İyonik Polimerizasyon.....	3
1.1.2.3. Koordinasyon Polimerizasyonu	4
1.2. Kontrollü / Yaşayan Radikal Polimerizasyon (CRP)	4
1.2.1. Nitroksit Aracılıklı Polimerizasyon (NMP).....	5
1.2.2. Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu (ATRP).....	6
1.2.3. Tersinir Katılma- Ayrılma Zincir Transfer Polimerizasyonu(RAFT)	7
1.2.3.1. Monomerler	9
1.2.3.2. Başlatıcılar	9
1.2.3.3. Reaksiyon Koşulları	9
1.2.3.4. RAFT Ajanları.....	9
1.2.3.5. RAFT Polimerizasyonun Tepkime Mekanizması	11
1.3. Polimerizasyon Prosesleri.....	14
1.3.1. Çözelti Polimerizasyonu	14
1.3.2. Yığın (Kütle veya Blok) Polimerizasyonu	15
1.3.3. Süspansiyon Polimerizasyonu.....	15
1.3.4. Emülsiyon / Solvent Buharlaştırma Polimerizasyonu.....	15
1.4. Çapraz Bağlı Polimerler.....	16
1.5. Biyobozunur Polimerler.....	16
1.5.1. Kitosan	19
1.5.2. Bakteriyel Poliesterler (PHA' lar)	20
1.5.3. Bakteriyel Poliesterlerin (PHA'lar) Kullanım Alanları	21
1.6. Amfifilik Blok Kopolimerler	21

1.7. Sıcaklığa Duyarlı Polimerler	23
1.8. Kontrollü Salınım	24
1.9. Paklitaksel.....	27
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	28
2.1. Materyal.....	28
2.2. Kullanılan Aletler	29
2.2.1. Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (NMR)	29
2.2.2. Fourier Transform Infrared Spektrometresi (FTIR).....	29
2.2.3. Jel Geçirgenlik Kromatografisi (GPC)	29
2.2.4. Differansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC)	29
2.2.5. Termogravimetrik Analiz (TGA).....	29
2.2.6. UV-Vis Spektrofotometresi	29
2.2.7. Vakum Etüvü	30
2.2.8. Dijital Hassas Terazî	30
2.2.9. Scanning Electron Microscopy (SEM)	30
2.2.10. Evaporatör	30
2.2.11. Dinamik Işık Saçılım Spektrometresi (DLS).....	30
2.3. Yöntem.....	30
2.3.1. PHB' nin Klorlanması (PHB-Cl) Sentezi.....	30
2.3.2. PHB-Cl' nin Fraksiyonlandırılması	31
2.3.3. PHB-Cl Makro RAFT Ajanı Sentezi	31
2.3.4. Kopolimerlerin sentezi	31
2.3.4.1. Makro RAFT ajanı türevleri ile NİPAM polimerizasyonu	31
2.3.4.2. Makro RAFT ajanı NİPAM ve Kitosan ile graft kopolimer eldesi	32
2.3.5. Graft Kopolimerlerin Şişme Oranının Belirlenmesi	32
2.3.6. Mikro/Nanokürelerin elde edilmesi	32
2.3.7. Polimerik jellere ilaç yüklemesinin yapılması	33
2.3.8. İlaç salım Deneylerinin yapılması.....	33
3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	34
3.1. PHB 'nin Klorlanması (PHB-Cl)	34
3.2. PHB-Xa Makro RAFT Ajanı Sentezi	35
3.3. Kopolimerlerin sentezi Makro RAFT ajanı türevleri ile NİPAM ve kitosan polimerizasyonu.....	36
3.4. Kopolimerlerin Spektroskopik Yöntemlerle Karakterizasyonu	40
3.4.1. FTIR Analizleri	40
3.4.2. ¹ H NMR Analizleri	41
3.5. Kopolimerlerin ıstıl Özellikleri.....	42

3.5.1. TGA Analizleri.....	44
3.5.2. DSC Analizleri.....	45
3.6. Kopolimerlerin İlaç Yükleme ve Salımı Çalışmaları	46
3.6.1. DLS Analizleri	49
3.6.2. EDX Analizleri.....	50
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	52
KAYNAKLAR.....	54
EKLER	60
ÖZGEÇMİŞ.....	78

ŞEKİL DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. TEMPO(2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloksil) bileşiği	6
Şekil 1.2. RAFT polimerizasyonunun genel tepkime mekanizması	7
Şekil 1.3. RAFT polimerizasyonunun tepkime basamakları.....	8
Şekil 1.4. RAFT ajanının yapısı	9
Şekil 1.5. RAFT ve geleneksel polimerizasyonda molekül ağırlığı dağılımı	11
Şekil 1.6. RAFT polimerizasyonunun başlama basamağı.....	12
Şekil 1.7. RAFT polimerizasyonunun büyüme-ayrılma basamağı	12
Şekil 1.8. RAFT polimerizasyonunun yeniden başlama basamağı	13
Şekil 1.9. RAFT Polimerizasyonunun dengelenme basamağı	13
Şekil 1.10. RAFT Polimerizasyonunun sonlanma basamağı	14
Şekil 1.11. Doğal biyobozunur polimer örneklerinin molekül yapıları	18
Şekil 1.12. Sentetik yolla üretilen polimerlerin monomer örnekleri.....	18
Şekil 1.13. Paklitaksel yapısı.....	27
Şekil 2.1. Klorlama düzeneği	31
Şekil 2.2. Mikro/nanokürelerin elde edilme yöntemi.....	33
Şekil 3.1. PHB-Cl' nin oluşum reaksiyonu.....	34
Şekil 3.2. PHB-Xa Makro RAFT ajanının oluşum reaksiyonu.....	35
Şekil 3.3. PHB-g-NİPAM polimerinin oluşum reaksiyonu	37
Şekil 3.4. Üçlü graft kopolimerin oluşum reaksiyonu	38
Şekil 3.5. Elde edilen bazı kopolimerlerin FTIR spektrumları	40
Şekil 3.6. Bazı polimerlerin ¹ H NMR spektrumu	41
Şekil 3.7. Bazı polimerlerin TGA eğrileri.....	44
Şekil 3.8. Bazı polimerlerin DSC termogramları.....	45
Şekil 3.9. Elde edilen ilaç yüklü graft kopolimerlerin mikroskop görüntüleri	46
Şekil 3.10. Elde edilen mikro/nano kürelerin mikroskop görüntüleri.....	47
Şekil 3.11. 37°C Kopolimerlerin % ilaç yükleme grafiği	48
Şekil 3.12. 25°C deki Kopolimerlerin % ilaç salınım grafiği.....	48
Şekil 3.13. 37°C deki Kopolimerlerin % ilaç salınım grafiği.....	49
Şekil 3.14. İlaç yüklü ve ilaç yüksüz nano kürelerin DLS grafikleri	49
Şekil 3.15. PHB-g-PNIPAM-Chitosan kod:(MNC) kopolimerinin EDX grafiği	50

Şekil 3.16. PHB-g-PNIPAM-Chitosan kod:(MNC) kopolimerinin EDX grafiği	50
Şekil 3.17. PHB-g-PNIPAM-Chitosan kod:(MNC) kopolimerinin EDX grafiği	51
Şekil 3.18. PHB-g-PNIPAM mikro/nano kürelerinin EDX görüntüleri	51
EK 1-Şekil 3.1. Klorlanmış PHB'nin (PHB-Cl) FTIR spektrumu	60
EK 2-Şekil 3.2. PHB-Xa Makro RAFT ajanının FTIR spektrumu	60
EK 3-Şekil 3.3. PHB-g-NİPAM polimerinin FTIR spektrumu	61
EK 4-Şekil 3.4. PHB-g-PNİPAM-Kitosan kopolimerinin FTIR spektrumu	61
EK 5-Şekil 3.5. Klorlanmış PHB'nin (PHB-Cl) ¹ H NMR spektrumu	62
EK 6-Şekil 3.6. PHB-Xa Makro RAFT ajanının ¹ H NMR spektrumu	62
EK 7-Şekil 3.7. PHB-g-NİPAM (EM-10) polimerinin ¹ H NMR spektrumu	63
EK 8-Şekil 3.8. PHB-g-NİPAM (EM-12) polimerinin ¹ H NMR spektrumu	63
EK 9-Şekil 3.9. PHB-g-NİPAM (EM-13) polimerinin ¹ H NMR spektrumu	64
EK 10-Şekil 3.10. PHB-Cl polimerinin DSC termogramı.....	64
EK 11-Şekil 3.11. MR3 (PHB-Xa) Makro RAFT ajanının DSC termogramı.....	65
EK 12-Şekil 3.12. MR4 (PHB-Xa) Makro RAFT ajanının DSC termogramı.....	65
EK 13-Şekil 3.13. PHB-g-NİPAM polimerinin DSC termogramları	66
EK 14-Şekil 3.14. Elde edilen bazı graft kopolimerlerin DSC termogramları	67
EK 15-Şekil 3.15. Klorlanmış PHB'nin (PHB-Cl) TGA eğrileri.....	68
EK 16-Şekil 3.16. PHB-Xa Makro RAFT ajanının TGA eğrileri	69
EK 17-Şekil 3.17. PHB-g-NİPAM polimerinin TGA eğrileri.....	70
EK 18-Şekil 3.18. Elde edilen graft kopolimerlerin TGA eğrileri	71
EK 19-Şekil 3.19. PHB-g-PNIPAM-Chitosan kod:(MNC1) kopolimerinin SEM görüntüleri.....	72
EK 20-Şekil 3.20. PHB-g-PNIPAM-Chitosan kod:(MNC2) kopolimerinin SEM görüntüleri.....	73
EK 21-Şekil 3.21. PHB-g-PNIPAM-Chitosan kod:(MNC3) kopolimerinin SEM görüntüleri.....	74
EK 22-Şekil 3.22. PHB-g-PNİPAM mikro/nano kürelerinin SEM görüntüleri	75
EK 23-Şekil 3.23. PHB-Cl polimerinin GPC kromatogramı.....	76
EK 24-Şekil 3.24. PHB-Xa makro RAFT ajanının GPC kromatogramı	76
EK 25-Şekil 3.25. PHB-g-PNİPAM kopolimerinin GPC kromatogramı	77

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 1.1. RAFT Ajanı olarak kullanılan bileşik grupları	11
Çizelge 1.2. Biyobozunur polimerlerin sınıflandırılması	17
Çizelge 3.1. PHB-Cl sentezi.....	34
Çizelge 3.2. PHB-Xa Makro RAFT Ajanı Sentezi	35
Çizelge 3.3. Kopolimerlerin sentezi.....	36
Çizelge 3.4. Kopolimerlerin farklı çözücülerde çözünmesi.....	39
Çizelge 3.5. Kopolimerlerin suda ki şişme oranları	39
Çizelge 3.6. Graft kopolimerlerin termal analiz sonuçları	42
Çizelge 3.7. Graft kopolimerlerin termal analiz sonuçları	43
Çizelge 3.8. Kopolimer tiplerine göre % ilaç yükleme oranları.....	47
Çizelge 3.9. Mikro/Nano kürelerin eldesi	47
Çizelge 3.10. Boş ve paklitaksel yüklü Kopolimerinin nano küre çapları	47

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ASTM	: American Society for Testing Materials
DMF	: N,N - Dimetilformamid
DSC	: Diferansiyel Taramalı Kalorimetri
EM	: PHB-g-PNİPAM graft kopolimeri
FTIR	: Fourier Transform Infrared Spektrometresi
GPC	: Jel Geçirgenlik Kromatografisi (Gel Permission Chromatography)
J	: ¹ H NMR spektrumunda sinyal yarımlama sabiti
m / z	: Kütle / yük
MeOH	: Metanol
M_n	: Sayıca ortalama molekül ağırlığı
MR	: Makro RAFT ajanı
MR-PNİPAM	: PHB-g-PNİPAM kopolimer
M_v	: Viskozite ortalama molekül ağırlığı
M_w / M_n	: Molekül ağırlığı dağılımı
M_w	: Ağırlıkça ortalama molekül ağırlığı
M_z	: Z ortalama molekül ağırlığı
NIPAM	: N-İzopropil Akrilamid
NMC	: PHB-g-PNİPAM-g-Kitosan üçlü graft kopolimer
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans Spektrometresi
PHA	: Poli(3-hidroksialkanoat)
PHB	: Poli (3-hidroksibütirat)
PHB-Cl	: Klorlanmış poli (3-hidroksibütirat)
PHB-Xa	: Makro RAFT ajanı
T_c	: Kristallenme sıcaklığı
T_d	: Bozunma sıcaklığı
T_g	: Camı geçiş sıcaklığı
TGA	: Termo Gravimetrik Analiz
THF	: Tetrahidrofur
T_m	: Erime sıcaklığı
Uv	: Ultraviyole Işığı

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Yeni Bazı Amfifilik Biyopolyesterlerin Sentezi ve Karakterizasyonu

Ece MURAÇAL
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı
Doç. Dr. Birten ÇAKMAKLI
Ağustos, 2015

Nano/mikro partiküller, nanojellerin ilaç taşıyıcı sistemlerinde kullanılması nedeni ile biyouyumlu, biyobozunur polimerlerin sentezi ve karakterizasyonu üzerinde en çok araştırma yapılan konulardan birisidir. Bu tez çalışmasında; PHB, kitosan ve NIPAM'ın tercih edilmesinin nedeni; bakteriyel PHB biyodegradasyon, biyolojik uyumluluk ve optik aktivitesi de dahil olmak üzere pek çok avantajlı özelliklere sahip olması ve kitosan yüksek biyouyumluluk ve sıcaklığa duyarlı polimerlerle (N-izopropil akril amid (NIPAM)) süreksiz bir hacim faz geçişi ve sıcaklık artışlarına tepki olarak hidrofobiklik değişimleri göstermesidir. Kanser zorlu ve karmaşık olmasıyla birlikte küresel bir hastalıktır. Bu çalışmada model ilaç olarak kullanılan anti-kanser ilacı, paklitaksel; göğüs ve serviks kanserleri gibi çeşitli kanserlerin tedavisinde önemli bir rol oynar.

İlk olarak Poli(3-hidroksibutirat) (PHB) klorlanarak potasyum etil ksantatın yer değiştirme reaksiyonu yoluyla makro (RAFT) ajanlarına dönüştürüldü. NIPAM ve PHB makroraft ajanı RAFT polimerizasyonu yöntemi ile sıcaklığa duyarlı amfifilik PHB-g-PNIPAM aşırı kopolimerleri elde edildi. Benzer şekilde, kitosan, NIPAM ve PHB makro RAFT ajanı ile RAFT polimerizasyonu yöntemi ile sıcaklığa duyarlı amfifilik Kitosan-g-PHB-g-PNIPAM aşırı kopolimerleri elde edildi. Elde edilen kopolimerlerin yapısal ve termal karakterizasyonu FTIR, ¹H NMR, GPC, DSC ve TGA teknikleri kullanılarak gerçekleştirildi. Nanokürelere ve polimerik jellere paklitaksel yüklendi. PHB-g-PNIPAM grafit kopolimerin ilaç yüklü ve boş nanopartikülleri solvent buharlaştırma tekniği kullanılarak hazırlandı. Kitosan-g-PHB-g-PNIPAM jellerine paklitaksel yüklendi. Nanokürelere ve jellerin çapları zeta-sizer dinamik ışık saçılımı (DLS) metodu ve elektron tarama mikroskobu ile ölçüldü. Nanopartiküller ve jellerin yüzey görüntüleri optik mikroskop ve

tarama elektron mikroskobu (SEM) ile görüntülendi. İlaç yükleme ve salımı spektrofotometrik olarak Uv' de 275 nm dalga boyunda ölçüldü.

Anahtar Kelimeler: Amfifilik Polimerler, Kitosan, Raft Polimerizasyonu, İlaç Salım Sistemleri

Hazırlanan bu Yüksek Lisans tezi **TÜBİTAK 2211 Yurtiçi Öncelikli Alanlar Yüksek Lisans Bursu** ve Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projeleri Fonu (BAP Proje No: 0208-YL-13) tarafından desteklenmiştir.

SUMMARY

M. Sc. Thesis

Synthesis And Characterization of Some New Amphiphilic Biopolyesters

Ece MURAÇAL
Mehmet Akif Ersoy University
Graduate School of Natural And Applied Sciences
Department of Chemistry
Assoc. Prof. Dr. Birten ÇAKMAKLI
August, 2015

The characterization and synthesis of biocompatible and biodegradable polymers is one of the most research topics due to the used drug delivery systems of Nano/micro-particles, nanogels. In this thesis, the reason of preference of PHB, chitosan and NIPAM, Bacterial PHB is a well-known thermoplastic polyester that has many advantageous properties, including biodegradability, biocompatibility, and optical activity. Chitosan with high biocompatibility and thermoresponsive polymers such as N-isopropylacrylamide (NIPAM) show a discontinuous volume phase transition, and their hydrophobicity changes in response to temperature increases. Cancer continues to be a challenging and complex global disease. The anticancer used as a model drug in this study, paclitaxel plays an important role in the treatment of various cancers (breast and cervical cancers).

Firstly, the poly (3-hydroxy butyrate), (PHB) were chlorinated. Chlorinated PHB was transformed to macro reversible addition-fragmentation chain transfer (RAFT) agents via the substitution reaction with potassium ethyl xanthate. RAFT polymerization of NIPAM was initiated by the PHB derivative containing xanthate pendant groups in order to obtain PHB-g-PNIPAM thermo responsive amphiphilic graft copolymers. Similarly, Chitosan-g-PHB-g-PNIPAM was synthesized from NIPAM, PHB derivative containing xanthate pendant groups and chitosan. Structural and thermal characterization of copolymers were carried out by using FTIR, ¹H NMR, GPC, DSC and TGA techniques. Paclitaxel loaded into the nanospheres and polymeric gels during the preparation process. Drug loaded and unloaded nanoparticles of PHB-g-PNIPAM were prepared by solvent evaporation technique. Chitosan-g-PHB-g-PNIPAM gels were loaded paclitaxel. The diameters of nanospheres were measured by Dynamic Light Scattering (DLS) with a zetasizer and

scanning electron microscopy (SEM). Morphological evaluations of nanospheres and polymeric gels were observed with optically and scanning electron microscopy. The measurement of drug loaded and release were done spectrophotometrically with a UV spectrophotometer at wavelength of 275 nm.

Keywords : Amphiphilic Polymers, Chitosan, Raft Polymerization, Drug Delivery System

The present M. Sc. Thesis was supported by **TÜBİTAK 2211-National Graduate Education Fellowship Programme**, Mehmet Akif Ersoy University Research Fund

1.GİRİŞ

Monomer, birbirlerine kovalent bağlarla bağlanarak büyük moleküller oluşturabilen küçük mol kütleli kimyasal maddelerdir. Polimer çok sayıda monomerin kovalent bağlarla birbirlerine bağlanması ile oluşturduğu büyük moleküle verilen addır (Beşergil, 2008).

Polimerler; hafif, ucuz, mekanik özellikleri çoğu kez yeterli, kolay şekillendirilebilen, değişik amaçlarda kullanıma uygun, dekoratif, kimyasal açıdan inert ve korozyona uğramayan maddelerdir. Bu üstün özelliklerinden dolayı, yalnız kimyacıların değil; makine, kimya, tekstil, endüstri ve fizik mühendisliği gibi alanlarda çalışanların da ilgisini çeken malzemelerdir (Beşergil, 2008).

Poli (3-hidroksi alkanoat)lar, hidrofobik biyolojik poliesterlerdir. Petrolden elde edilen sentetik polimerler, plastik atık olarak doğaya terk edildiklerin de, toprakta uzun süre parçalanamadığından toksik madde birikimine neden olmaktadırlar. Bu nedenle bakteriyel plastik ya da biyoplastik olarak da adlandırılan poli(3-hidroksi alkanoat)lar biyobozunur ve biyolojik uyumlu biyomalzemeler arasında önemli bir yere sahiptir (Page, 1992).

Bu çalışmada; biyolojik kaynaklı PHB poliesterlerine, halojen uç grupları (Cl) bağlayarak, önemli endüstriyel sentetik polimer olan PNİPAM ve biyobozunur polimerlerden kitosan ile birlikte graft kopolimerleri sentezlenerek modifiye edilmiştir. Bununla beraber Poli N-İsopropilakrilamid (PNİPAM) gibi önemli endüstriyel sentetik polimerin yapısına biyopoliesterlerin girmesi bu gibi polimerlere biyobozunurluk kazandırmak bakımından önemlidir. Böylece hem biyoyumlu hem biyobozunur hem de uygun mekanik, fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip graft kopolimerler sentezlenmiş olunur. Bu modifikasyonu gerçekleştirirken bir Kontrollü/Yaşayan Radikal Polimerizasyon (CRP) yöntemi olan Tersinir Katılma/Ayrılma Transfer Polimerizasyonu (RAFT) kullanılmıştır.

Polimerler çeşitli şekillerde sınıflandırılabilir;

1. Molekül ağırlığına göre (oligomer, makromolekül) ,
2. Doğada bulunup bulunmamasına ve sentez biçimine göre (doğal-yapay), biyobozunur polimerler ,
3. Organik ve inorganik olmalarına göre (organik-inorganik polimerler),
- 4.Zincir kimyasal ve fiziksel yapısına göre (linear, dallanmış, çapraz bağlı, kristal-amorf polimerler),
5. Isıya karşı gösterdiği davranışa göre (termoplastik-termoset),

6. Zincir yapısına göre (homopolimer-kopolimer),
7. Sentezleme tepkimesine göre (basamaklı-zincir) polimerler olmak üzere sınıflandırılır (Beşergil, 2008).

1.1. Polimerizasyon Yöntemleri

Monomerlerin polimerlere dönüştürülmesi iki yolla yapılır.

1. Basamaklı (Kondenzasyon) Polimerizasyonu
2. Katılma Polimerizasyonu
 - a) Serbest Radikal Katılma Polimerizasyonu
 - b) İyonik (Anyonik ve Katyonik) Katılma Polimerizasyonu
 - c) Halka açılma Polimerizasyonu
 - d) Kontrollü Radikalik Polimerizasyonu(CRP)
 - Nitroksit Aracılıklı Polimerizasyon (NMP)
 - Atom transfer radikal polimerizasyonu (ATRP)
 - Tersinir katılma - ayrışma zincir transfer polimerizasyonu (RAFT)

1.1.1. Basamaklı Polimerizasyon

Basamaklı polimerler; Diels-Alder katılması, Friedel-Crafts tepkimesi, Michael katılması ve kondensasyon tepkimesi gibi organik tepkimelerle sentezlenebilir. Bu tepkimeler içinde kondensasyon tepkimesi en fazla kullanılan yöntem olduğundan dolayı basamaklı polimerizasyon çoğunlukla kondensasyon polimerizasyonu olarak adlandırılır (Beşergil, 2008).

Basamaklı polimerizasyon yönteminde çoğunlukla $-NH_2$, $-OH$, $-COOH$ gibi bifonksiyonel gruplar bulunduran monomerler kullanılır. Bu polimerizasyon monomerler arasında adım adım ilerler. Monomerler birbirleriyle birleşerek dimerleri, dimerler başka monomerlerle birleşerek trimerleri ve tetramerleri oluştururlar. Böylece zincirler büyür ve polimerin molekül ağırlığı yavaş yavaş artar. Bu tepkime sonuna kadar devam eder (Saçak, 2002).

Poliüretanlar, poliesterler, poliamitler, poliimitler, fenolik reçineler, amino reçineleri kondensasyon(basamaklı) polimerizasyonu ile sentezlenir.

1.1.2. Katılma Polimerizasyonu

Katılma polimerizasyonu için en uygun monomerler doymamış yapıda olan vinil bileşiklerdir ($CH_2=CHR$). Bu bileşikler çift bağ içermesi ve π -bağlarının özelliği nedeniyle

serbest radikalik başlatıcılarla yada iyonik başlatıcılarla kolayca etkileşerek polimerleşmeyi sağlayacak aktif merkezler verirler. Katılma polimerizasyonunda monomerler büyümekte olan polimer zincirine bire bir ve hızla katılırlar. Doymamış bağlar taşıyan olefinler (alkenler), asetilenler, aldehitler vb. moleküller katılma polimerizasyonuna yatkın kimyasallardır (Saçak, 2002).

Polimerizasyon başlatıcıyla oluşan bir aktif merkezle başlar. Aktif merkezin özelliğine göre;

-serbest radikalik,

-iyonik,

- Kontrollü Radikalik polimerizasyonu olmak üzere üç çeşit katılma polimerizasyonu vardır (Saçak, 2002).

İyonik polimerizasyon;

-anyonik

-katyonik polimerizasyon adı altında iki kısma ayrılır.

1.1.2.1. Serbest Radikalik Polimerizasyon

Radikalik katılma polimerizasyonunda büyümekte olan polimer zincirlerinin aktif uçları ortaklanmamış elektron yani radikallerdir. Her yeni monomerin zincire katılması ile bu elektron yeniden zincir ucuna aktarılır böylece de zincir büyümesini sürdürür. Bu yüzden radikalik katılma polimerizasyonunun başlatılabilmesi için monomer ile birlikte sistemde serbest radikal oluşturabilen bir etken de kullanılmalıdır. Polimerizasyonu başlatacak serbest radikaller; azo bileşikleri, organik peroksitler, redoks başlatıcılar, organometalik bileşikler gibi kimyasal maddeler kullanılarak ya da bazı fiziksel etkenlerden (ışık, ısı ve UV ışınları, yüksek enerjili ışınlar, elektrokimyasal yöntemler) yararlanılarak üretilir (Baysal, 1994).

Serbest Radikal Polimerizasyonu bazı avantajlarından dolayı endüstri sektöründe büyük öneme sahiptir. Öncelikle zincirleme reaksiyonları yapabilen bir çok monomer petrokimya sektöründe geniş bir alanda kullanılabilmektedir. Serbest radikal yolların diğer bir avantajı; diğer polimerizasyon yöntemlerine göre polimerizasyonun daha kolay olarak ilerlemesidir.

1.1.2.2. İyonik Polimerizasyon

Zincir büyümesinden artı (+) ya da eksi (-) yüklü aktif merkezlerin sorumlu olduğu iyonik polimerizasyon, katılma polimerizasyonunun bir türüdür. Monomer molekülleri zincir uçlarındaki iyonik aktif merkezlere katılarak polimer molekülünü büyütürler. Bu

polimerizasyonda anyon ya da katyon üretici katalizörler kullanılır. Anyon üretici katalizörler monomer üzerinde karbanyon iyonu üretmesi sonucu anyonik polimerizasyona, katyon üretici katalizörler de karbonyum iyonu üretmesi sonucu da katyonik polimerizasyona neden olurlar. Bir monomerin hangi iyonik polimerizasyon yöntemi ile polimerleşeceği monomer üzerindeki yan gruba (-R) bağlıdır (Baysal, 1994).

Elektron çekici özellikteki yan gruplar;

-Nitril (-CN),

-Nitro (NO₂),

-Halojen,

-Karbonil (ester, keton, asit veya aldehit) gibi ise, karbon-karbon çift bağındaki elektron yoğunluğu azaltarak anyonik başlatıcının etkisini kolaylaştırır.

1.1.2.3. Koordinasyon Polimerizasyonu

Koordinasyon polimerizasyonu monomer ile kompleks oluşturabilen başlatıcılarla (metal halojenürler, metal alkoksitler, alüminoksanlar, triizobütillüminyum, trimetilalüminyum, trietilalüminyum) başlatılır. Koordinasyon polimerizasyon türünde alkol veya suyun polimerizasyon hızını arttırdığı ve elde edilen polimerin molekül ağırlığında artışa sebep olduğu tespit edilmiştir. Koordinasyon katalizörleri polimerizasyonu başlatmalarının yanında üstün koordinasyon yetenekleri nedeniyle monomer birimlerinin polimer zincirine hep aynı geometride katılmalarını sağlarlar (Saçak, 2002).

1.2. Kontrollü / Yaşayan Radikal Polimerizasyon (CRP)

Yaşayan polimerizasyon reaksiyonları olarak da bilinen kontrollü radikal polimerizasyonu mekanizmaları, polimer zinciri molekülünün kontrollü büyümesini sağlayan ve istenilen molekül ağırlığını elde etmeye yarayan polimerizasyon mekanizmalarından oluşur. Bir bakıma katılma polimerizasyon mekanizmasına sahip yaşayan polimerizasyon mekanizmalarında sonlanma ve başlama basamakları dış etmenlerle birlikte kontrollü bir şekilde yapılır. Bu sayede polimerin molekül ağırlığı ve polimer zincirlerinin zincir sonu grupları kontrol edilir. Buna ek olarak zincir sonuna eklenecek olan farklı fonksiyonellikteki gruplarla polimerin fiziksel özelliklerinin istenilen şartlara uyumluluğu da sağlanabilir (Beşergil, 2008).

Yaşayan polimerizasyon mekanizması, transfer ve sonlanma gibi istenmeyen yan reaksiyonların olmadığı, polimer zincirlerinin tamamının eş zamanlı olarak polimerleşmeye başladığı bir reaksiyondur. Polimer zincirini büyüme hızı sabittir ve reaksiyon sonunda elde

edilen polimer moleküllerinin zincir büyüklükleri birbirine çok yakındır (Braunecker ve Matyjaszewski, 2007).

Kontrollü radikal polimerizasyonu mekanizmasına bakıldığı zaman, bütün monomerler tükenene kadar polimerizasyon reaksiyonunun devam ettiğini görülür. Ayrıca molekül ağırlığı polimer dönüşümü ile doğrusal bir bağıntı içindedir.

Geleneksel serbest radikal polimerizasyonunda polimer zincirleri ilk adımlarda hızla büyümelerine rağmen, kontrollü radikal polimerizasyonda polimer zincirlerinin büyümesi doğrusal bir yol izler.

Kontrollü radikal polimerizasyonun diğer polimerleşme mekanizmalarına göre bazı avantajları vardır(Saçak, 2002). Bu avantajları şu şekilde sıralayabiliriz:

- Molekül ağırlığı polimer dönüşümüyle doğrusal bir bağıntı içindedir. Dolayısıyla istenilen molekül ağırlığı elde edilebilir.
- Monodisperse yakın dar bir molekül ağırlığı elde edilir.
- Zincir sonunda istenilen fonksiyonel gruplara sahip polimerler elde edilebilir.
- Polimerin moleküler mimari yapısı kontrol edilebilir.
- Polimerizasyonun derecesi başlatıcı oranı ve ilk monomer miktarı ile doğru orantılıdır.

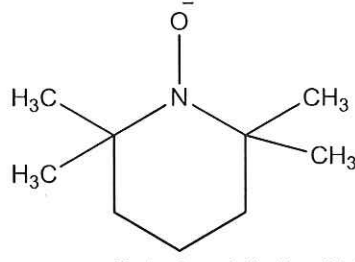
Kontrollü radikal polimerizasyon mekanizmaları genel olarak;

- Nitroksit aracılıklı polimerizasyon (NMP)
- Atom transfer radikal polimerizasyonu (ATRP)
- Tersinir katılma-ayrılma zincir transfer polimerizasyonu (RAFT) olmak üzere üç başlık altında toplanabilir.

1.2.1. Nitroksit Aracılıklı Polimerizasyon (NMP)

Kararlı serbest radikal polimerizasyonu (KSRP) olarak da bilinen Nitroksit Aracılıklı Polimerizasyon (NMP), eşleşme ile tersinir deaktivasyon mekanizmasını takip eden bir sentez yöntemidir.

Bu polimerizasyon yöntemini farklı kılan, başlatıcının yanında kararlı nitroksit radikallerinin kullanılmasıdır. Bu kararlı nitroksit radikali, genel olarak kısaca TEMPO olarak adlandırılan 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloksil bileşiğidir (Darling vd., 2000). Şekil 1.1' de TEMPO bileşiği gösterilmektedir.



Şekil 1.1. TEMPO(2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxil) bileşiği (Darling vd., 2000)

NMP polimerizasyonda reaksiyon yavaş ilerler. Bu TEMPO bileşiğinin sisteme kattığı kontrollü büyüme adımından kaynaklanır. İstenilen molekül ağırlığına bağlı olarak reaksiyon 30 ile 70 saat arası sürebilir. Reaksiyon daha çok 100°C nin üzerindeki yüksek sıcaklıklarda gerçekleşir(Hart vd., 2001).

NMP reaksiyonlarında, ortam sıcaklığı düşürülerek TEMPO ile birleşmiş radikal zinciri hareketsiz halde dondurulabilir ve böylece polimerleşme durdurulmuş olur. Bu mekanizma ile büyüyen polimer zincirleri dışarıdan kontrol edilerek istenildiği zaman durdurulabilir ve istenirse yeniden başlatılabilir(Hart vd., 2001).

1.2.2. Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu (ATRP)

Atom transfer radikal polimerizasyonu, yaşayan kontrollü radikal polimerleşme mekanizmalarından biridir. Kullanılan özel katalizör bileşikleri sayesinde farklı monomerler büyüyen polimer zincirine eklenebilir ve farklı kopolimerler elde edilebilir.

ATRP reaksiyonlarında birleştirilmiş katalizörler ile aromatik ligantlar kullanılır. Bu mekanizma ile polimerlerde iyi kontrol edilmiş bir yapı ve sınırlı molekül ağırlığı dağılımı elde edilir. ATRP mekanizmasında, aktif metal katalizör aktif olmayan polimer zincirinden bir halojeni transfer ederek reaksiyonu gerçekleştirir. ATRP mekanizması, kararlı üreyen radikal bir gruba sahip monomerler ile yürümektedir. ATRP' den önce ortaya çıkan kontrollü polimerizasyon yöntemlerinde her türlü monomer kullanılamamasına karşı ATRP mekanizması ile geniş bir monomer grubu polimerleşme için kullanılabilir.

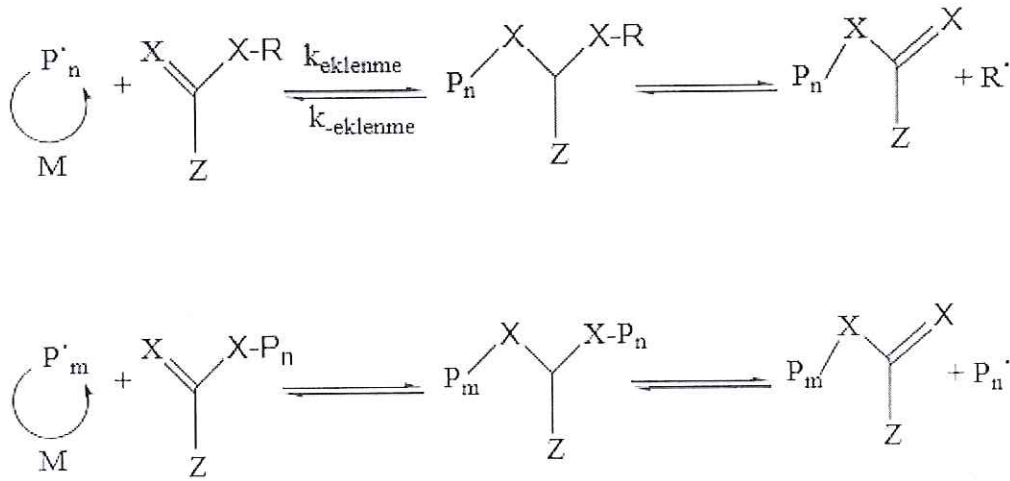
ATRP reaksiyonlarında başlama, büyüme ve sonlanma olmak üzere üç mekanizma ile polimerleşme gerçekleşir.

ATRP polimerleşmesi aktivasyon ve deaktivasyon basamaklarının ardı ardına tekrarlanması ile gerçekleşir ve reaksiyonun başarısı sürekli olarak dengenin deaktivasyon tarafına itilmesine bağlıdır. Bu şekilde durağan polimer zincirlerinin oranı, aktif zincirlere

oranla çok daha yüksek olacaktır ve kontrollü büyüme sağlanacaktır (Brauncker ve Matyjaszewski, 2007).

1.2.3. Tersinir Katılma- Ayrılma Zincir Transfer Polimerizasyonu (RAFT)

Kontrollü radikalik polimerizasyon mekanizmalarının en yenilerinden birisi RAFT polimerizasyonudur. RAFT prosesi ilk kez 1998 tarihinde Rizzardo tarafından ortaya atılmıştır(Chiefari vd., 1998). Polimerizasyon, RAFT ajanı olarak tanımlanan bir ditiyo bileşiği vasıtasıyla kontrol edilmektedir. Bu ajan, aktif ve aktif olmayan polimer zincirleri arasında transfer edilerek polimerizasyonu kontrol altında tutar.



Şekil 1.2. RAFT polimerizasyonunun genel tepkime mekanizması (Chiefari, 1998)

NMP ve ATRP mekanizmalarında polimer zincirinin büyümesi tersinir sonlanma ile kontrol edilirken Şekil 1.2' de gösterilen RAFT mekanizmasında ise tersinir zincir transferi reaksiyonu zincirin büyümesini kontrol eden faktördür. RAFT mekanizmasının NMP ve ATRP' ye göre en büyük avantajı birçok farklı monomerin polimerizasyonunda kullanılabilmesidir (Chiefari, 1998).

Kullanılacak monomer için RAFT ajanının seçimi iyi bir şekilde yapılmalıdır. Transfer reaksiyonu büyüme reaksiyonundan çok daha hızlı meydana gelmelidir. Bu yüzden başlatıcının RAFT ajanının oranı ile orantılı olması, sınırlı bir molekül ağırlığı dağılımına sahip polimerin elde edilmesini sağlar. Reaksiyon tamamlandığı zaman polimer ürünü fonksiyonel RAFT ajanı içerir (Chiefari, 1998).

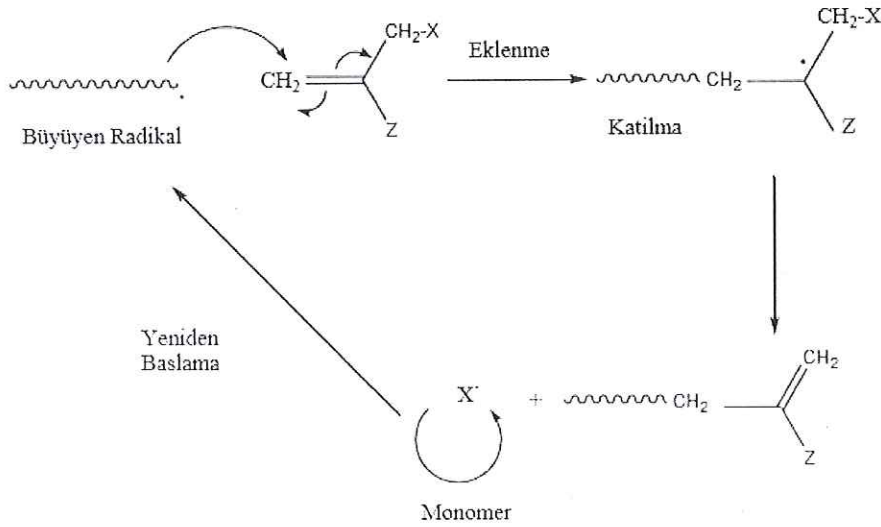
RAFT prosesi ile elde edilen polimerlerin molekül ağırlığı dağılımının oldukça dar olduğu gözlemlenmiştir. Düşük molekül ağırlığı ve kullanılabilir zengin monomer çeşidine

ek olarak RAFT ile sentezlenen polimerlerin mimarisi ile oynamak mümkündür. Çok zengin geometrilere sahip blok kopolimerler, hiper dallanmış zincirler, dendrimerler ve ağısı kopolimerler elde edilebilir. Her bir zincir mimarisin sağladığı farklı fiziksel özellikler sayesinde RAFT ile sentezlenen polimerler birçok uygulamada kullanılabilir (Chiehari, 1998).

RAFT mekanizmasıyla elde edilen polimerlerin bir diğer önemli kullanım alanı da ilaç taşıyıcı malzeme olarak kullanılmasıdır. RAFT ile sentezlenen değişik mimariye sahip polimerler, pH veya sıcaklık gibi dış etmenlere bağlı olarak malzeme özelliklerini değiştirebilirler. Böylece enzim aktivitesini kontrol edebilen ya da moleküllerin biyolojik ortamda tanınmasını sağlayan polimer bazlı yapılar elde edilebilir. Bütün bu kullanım avantajlarının yanında, RAFT'ın bazı dezavantajları da vardır. Bunları şu şekilde sıralayabiliriz (Yanatma, 2011):

- İçinde bakır ya da diğer metallerin bulunduğu polimerlerin sentezinde kullanılamaz.
- RAFT sentezinde kullanılan kimyasallar, özellikle RAFT ajanı ticari olarak bulunmaz. Bu nedenle RAFT prosesi kullanılacağı zaman transfer ajanı sentezlenmelidir.
- ATRP ile elde edilen polimerlerin yeşil renge sahip olması gibi, RAFT ile sentezlenen polimerlerde de ditiyoester grupları bulunduğu için koku ve sarı renk gözlemlenir.

RAFT polimerizasyonunda, ditiyoesterler, ditiyokarbamatlar, ditiyokarbonatlar ve ksantat gibi tiyokarboniltiyo bileşikleri kullanılarak zincir transferi mekanizması harekete geçirilir.



Şekil1.3. RAFT polimerizasyonunun tepkime basamakları (Yanatma, 2011)

RAFT prosesi farklı fonksiyonel gruplara sahip monomerlere ve çözücülere karşı toleranslıdır ve geniş bir sıcaklık aralığında reaksiyonu yürütmek mümkündür.

1.2.3.1. Monomerler

RAFT polimerizasyonu için çoğunlukla tersiyer aminler, amidler, karboksilik asitler ve karboksilik asit tuzları içeren monomerler kullanılmaktadır (Moad vd., 2005).

1.2.3.2. Başlatıcılar

Tersinir zincir transferinde serbest radikal oluşumu olmadığı için bir serbest radikal kaynağı kullanılmalıdır. RAFT prosesin de serbest radikal başlatıcısı olarak genellikle azobisisobütironitril (AIBN) ve dibenzoil peroksit türevleri kullanılır (Moad vd., 2005).

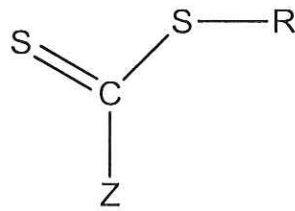
1.2.3.3. Reaksiyon Koşulları

RAFT polimerizasyonu için yığın, çözelti, emülsiyon, mini-emülsiyon, süspansiyon gibi birçok reaksiyon koşulları kullanılabilir. Reaksiyon geniş bir sıcaklık aralığında devam edebilir. RAFT reaksiyonları alkol ve su gibi protik çözücülerde yürüyebileceği gibi bilinen birçok çözücüde de gerçekleşebilir. Süper kritik karbondioksit ve iyonik sıvılar da polimerizasyon ortamı olarak başarıyla kullanılabilir (Moad vd., 2005).

Birçok RAFT reaksiyonları yüksek basınç altında gerçekleşir. Bu durum radikal-radikal sonlanmasını yavaşlatacağı için daha yüksek molekül ağırlığına sahip ve moleküler mimari olarak daha güzel düzenlenmiş polimerlerin oluşumuna olanak sağlamaktadır.

1.2.3.4. RAFT Ajanları

RAFT prosesin de zincir transferini sağlamak için kullanılan kimyasallara RAFT ajanı denir. Şekil 1.4' de bir RAFT ajanının yapısı gösterilmektedir.



Şekil 1.4. RAFT ajanının yapısı (Yılmaz, 2013)

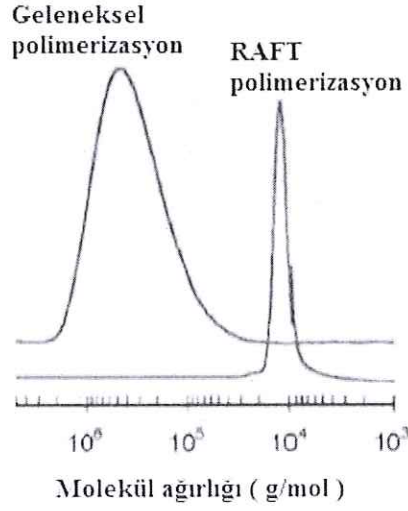
Zincir transfer ajanının etkinliği reaksiyona giren monomerin ve zincir transfer ajanının R ve Z gruplarının kimyasal özelliklerine bağlıdır. R grubu, S atomundan hiçbir yan reaksiyon gerçekleştirmeden koptuğu için aynı zamanda serbest-radikal şeklinde ayrılan grup olarak da bilinir. Ayrılan radikal R grubu polimerizasyonu başlatacak yetkinliğe sahiptir. Z grubu aktifleştirici grup olarak tanımlanır ve C-S çift bağının reaktifliğini kontrol eder. Ara radikalın oluşması sırasında Z grubu dengeleyici grup olarak davranır. Çalışmalar; reaksiyon ortamında, radikal katılma hızını belirleyen grubun Z grubu olduğunu göstermiştir. Z grubu; ariller, ditiyoesterler ya da tritiyokarbonatlardan oluşuyorsa transfer hızı yüksek buna karşın zantaletler ya da ditiyokarbamatlardan oluşuyorsa transfer hızının yavaş olduğu gözlenmiştir. RAFT ajanının transfer kararlılığı, kullanılan monomere, Z ve R gruplarına bağlıdır. Bu proseste RAFT ajanının transfer kararlılığı büyüme ve sonlanma basamaklarına bağlı olarak ifade edilir (Moad vd., 2008).

$$\text{Transfer Kararlılığı} = C_{tr} = k_{tr} / k_p \quad (1.1)$$

Molekül ağırlığı dağılımının düşük olması için transfer kararlılığı oranının 2' den büyük olması gerekir.

Polimerizasyon sonunda elde edilecek polimerin molekül ağırlığı kullanılan monomere bağlı olarak, RAFT ajanının oranına bağlıdır (Moad vd., 2008).

Geleneksel radikalik polimerizasyon yöntemiyle elde edilen polimerlerin molekül ağırlıkları geniş bir aralıktayken, Şekil 1.5' de gösterilen RAFT yöntemiyle elde edilen polimerlerin molekül ağırlığı daha dar bir aralıktadır. Bunun nedeni; kontrollü radikalik polimerizasyonda zincir uzunluğunun kontrol edilebiliyor durumda olmasıdır.



Şekil 1.5. RAFT ve geleneksel polimerizasyonda molekül ağırlığı dağılımı (Moad, 2008)

RAFT ajanları ditiyoesterler, ditiyokarbamatlar, tritiyokarbonatlar ve ksantatlar olmak üzere 4 grupta toplanabilir.

Çizelge 1.1. RAFT Ajanı olarak kullanılan bileşik grupları

Ditiyoesterler	Ditiyokarbamat	Tritiyokarbonat	Ksantat

1.2.3.5. RAFT Polimerizasyonun Tepkime Mekanizması

RAFT polimerizasyonu 5 temel basamakta gerçekleşir.

1. Başlama
2. Katılma-Ayrılma Yolu ile Zincir Transferi
3. Yeniden Başlama
4. Dengeleme

5. Sonlanma

1. Başlama: RAFT polimerizasyonunun başlama adımı diğer radikal polimerizasyon mekanizmalarına benzer şekilde başlatıcılar kullanılarak hareket geçirilir. Peroksitler, Azobisisobütironitril (AIBN) ve 4,4-azobis(4-siyanovalerik asit) (ACVA) en sık kullanılan başlatıcılardır. Polimerizasyon sırasında kullanılan zincir transfer ajanlarının konsantrasyonu düşük olduğu için, RAFT reaksiyonunda kullanılan başlatıcı konsantrasyonu da normal radikal polimerizasyonuna göre daha düşüktür (Moad vd., 2008).

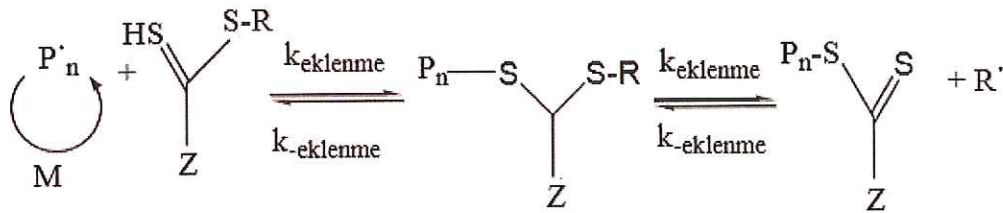
Başlama adımında başlatıcı ile monomer reaksiyona girerek radikal grup oluşturur ve aktif polimer zincirinin başlaması sağlanır.



Şekil 1.6. RAFT polimerizasyonunun başlama basamağı (Moad, 2008)

Bu mekanizmada radikal bir başlatıcı, ortamdaki monomerlerle etkileşerek polimer zincirini oluşturmaya başlamıştır. Şekil 1.6' da RAFT polimerizasyonunun başlama basamağı gösterilmiştir.

2. Büyüme-Ayrılma Yolu ile Zincir Transferi: Bu tepkime basamağı tersinir bir tepkimedir. Bu basamakta transfer ajanı olarak kullanılan RAFT ajanları görev alır.



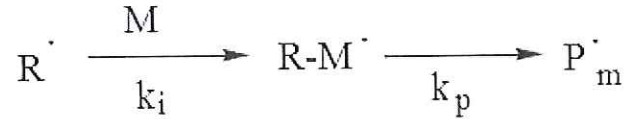
Şekil 1.7. RAFT polimerizasyonunun büyüme-ayrılma basamağı (Moad, 2008)

Bu tepkimede görev alan RAFT ajanı üzerinde bulunan Z ve R fonksiyonel grupları üzerinden polimer zincirleri oluşmaya başlar. Z grubunun işlevi, radikal grupların tiyokarbonil (C=S) bağına kolayca bağlanmasını sağlamaktır. İyi bir homolitik radikal ayrılma grubu olan R fonksiyonel grubu sayesinde de S-R bağı arasına yeni polimerler

eklenebilir ve yeni polimer zincirlerinin başlatılması sağlanır. Tersinir zincir transferi mekanizması, ancak bu iki grubun optimum aktifliği sayesinde ilerleyebilir (Moad vd., 2005).

Tepkime sonunda oluşan polimer zinciri R grubundan kolaylıkla ayrılabilir. Şekil 1.7' de de gösterildiği gibi ayrılan R radikal grubu da tekrar başka bir monomerle tepkimeye girmeye yatkındır.

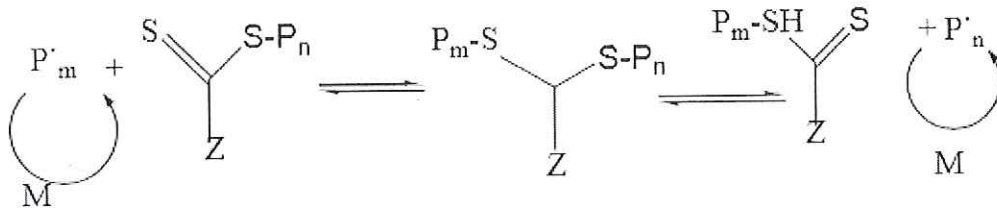
3. Yeniden Başlama Basamağı: Bir önceki basamakta açığa çıkan R Ayrılma grubu ortamda bulunan monomerlerden biriyle tepkimeye girerek ayrı bir aktif polimer zincirinin oluşmasını sağlar. Şekil 1.8' de RAFT polimerizasyonunun yeniden başlama basamağına örnek verilmiştir.



Şekil 1.8. RAFT polimerizasyonunun yeniden başlama basamağı (Moad, 2005)

Bu basamakta elde edilen aktif zincir, büyüme-fragmentasyon ve dengelenme basamaklarına kendi başına maruz kalacaktır (Moad vd., 2008).

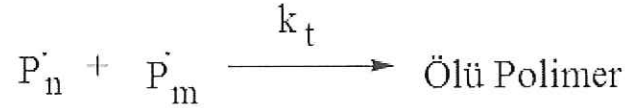
4. Dengelenme Basamağı: Büyümekte olan aktif radikal gruplarının etkin olmayan ya da durağan tiyokarbonil bileşikler tarafından yakalanması, RAFT polimerizasyonunun en temel basamağı olan dengelenmeyi oluşturur. Şekil 1.9' da RAFT polimerizasyonunun dengelenme basamağı gösterilmiştir. Böylece geleneksel radikal polimerizasyonda gerçekleşen zincir sonlanma basamağı bu sistemde görülmez (Moad vd., 2005).



Şekil 1.9. RAFT Polimerizasyonunun dengelenme basamağı (Moad, 2005)

P_m ve P_n olarak gösterilen polimer zincirleri aktif ve durağan adımlar arasında dengede bulunmaktadır. Bir polimer zinciri hareketsiz olarak RAFT ajanına bağlı dururken, diğer polimer zinciri aktif olarak polimerizasyon tepkimesi içindedir. İşte, sistemin sahip olduğu bu denge, yaşayan polimerizasyon elde edilmesini sağlamaktadır (Moad vd., 2008).

5. Sonlanma Basamağı: RAFT polimerizasyonunun sonlanma adımı Şekil 1.10' da gösterildiği gibi radikal konsantrasyonunun azalması ile bastırılır.



Şekil 1.10. RAFT Polimerizasyonunun sonlanma basamağı (Moad, 2008)

1.3. Polimerizasyon Prosesleri

Monomerlerden polimer molekülleri elde edilmesi reaksiyonlarına polimerizasyon reaksiyonları denir. Polimerlerin elde edilişlerinde çeşitli proses' ler kullanılır (Sroog, 1991).

Bu proses' ler başlıca dört grupta incelenebilir:

1. Çözelti Polimerizasyonu,
2. Yığın (Kütle veya Blok) Polimerizasyonu,
3. Süspansiyon Polimerizasyonu,
4. Emülsiyon Polimerizasyonu,

1.3.1. Çözelti Polimerizasyonu

Bu polimerizasyon uygun bir çözücü veya seyreltici faz içinde yürütülür. Çözelti polimerizasyonunda kontrol kolay olduğu gibi çözücünün hareketi nedeniyle ısı transferi de kolaydır ve polimerleşme ısı ortamdan kolaylıkla uzaklaştırılarak sıcaklık yükselmesi önlenmiş olur. Kullanılan çözücü polimerik radikal ile transfere giriyorsa ortalama molekül ağırlığı küçüleceğinden bu yönden bir sakınca ortaya çıkar. Çözücüyü seçerken transfer sabitinin küçük olmasına dikkat edilmesi gerekir. Çözelti polimerizasyonunda, çözücünün varlığı nedeniyle ölü polimere radikal transferi ile oluşabilecek çapraz bağlanma ve dolayısıyla jelleşme önlenmektedir (Basan, 2001).

Bu yöntemde ortamda çözücünün bulunması polimerizasyon hızını yavaşlatırken, zincir transfer reaksiyonu sonucu molekül ağırlığının düşmesine neden olur.

1.3.2. Yiğın (Kütle veya Blok) Polimerizasyonu

Bu proseste reaksiyon kabında saf monomer ve başlatıcı bulunur. Başlatıcı etkin hale getirilerek, monomer polimerleştirilir. Kütle polimerleşme reaksiyonları ekzotermik olduğundan ortamın devamlı karıştırılması gerekir. Bu sistemde polimerleşme ile beraber ortamın viskozitesi artar ve karıştırma imkansız hale gelir. Bu yüzden homojen bir ısı yayılımı sağlanamaz ve sıcaklık kontrolü zorlaşır. Reaksiyon ortamının sıcaklığının değişmesi, elde edilen polimerin molekül ağırlığının azalmasına sebep olur. Onun için kütle polimerleşmesi, önce % 30-35 dönüşüme kadar düşük sıcaklıkta, sonra sıcaklık arttırılarak % 98-100 dönüşüme kadar olmak üzere iki aşamada gerçekleştirilir (Basan, 2001).

1.3.3. Süspansiyon Polimerizasyonu

Süspansiyon polimerizasyonunda monomer uygun bir dağıtma ortamında süspanüsyon haline getirilir. Akrilik, metakrilik asitler, stiren ve kopolimerleri ve daha birçok doymamış monomer bu proseste polimerleştirilir. Dağıtma ortamları olarak genellikle su kullanılır. Başlatıcı, suda dağılmış halde bulunan monomer damlacıklarının içinde çözünür. Ortam sürekli karıştırılarak monomer süspansiyonun devamlılığı sağlanır. Dağıtma ortamında çözünen süspansiyon stabilizörleri ve emülsüfiye edicilerle, süspansiyon kararlılığı desteklenir. Sisteme uygun bir ısıtma programı uygulanarak monomer damlacıklarının küresel polimer tanecikleri haline dönüşmesi sağlanır. Bu proseste, sistem parametrelerinin ayarlanmasıyla 10 µ'dan 10 mm' ye kadar istenilen boyutta polimer tanecikleri gerçekleştirilebilmektedir Süspansiyon polimerizasyonunda en önemli husus polimer yığılmasının önlenmesidir. Polimerleştirme sırasında karıştırma hızı önemlidir. Karıştırma hızı yavaşladıkça tanecik büyür. Kürecikler büyüdükçe içinde az da olsa polimerleşmeden kalan monomer bulunur. Bu istenmeyen bir durumdur (Basan, 2001).

1.3.4. Emülsiyon / Solvent Buharlaştırma Polimerizasyonu

Bazı bitkilerin, özellikle kauçuk bitkilerinin öz suyu (lateks) doğal bir emülsiyon sistemine örnektir. Kauçuk öz suyunda, poliizopren tanecikleri, su içinde süt gibi koloidal bir dispersiyon halinde dağılmıştır. Emülsiyon polimerizasyonun da, emülsiyon ortamı (dispersiyon fazı) olarak, genellikle, su kullanılır. Monomer, emülsiyon yapıcı bir madde yardımı ile bu ortamda dağılır. Başlatıcısı olarak suda çözünen bir madde kullanılır. Emülsiyon yapıcı yüzey aktif bir madde olup, molekül yapısında hidrofil ve hidrofob gruplar içerir. Örneğin, polimerin molekül ağırlığını denetlemek için zincir transferci olarak, hidroperoksit-demir (II) iyonlarının redoks sisteminden yararlanılabilir. Emülsiyon yapıcı

maddenin moleküllerinin büyük bir kısmı, misel denilen küçük koloidal tanecikler oluşturmak üzere toplanır. Küçük bir kesri ise, suda moleküler halde çözünür. Çözeltideki emülsiyon yapıcı moleküller ile miseller arasında dinamik bir denge bulunur. Emülsiyon yapıcının miktarı monomere göre arttırılırsa, daha küçük boyutlarda, ama çok daha büyük sayıda misel tanecikleri oluşur (Basan, 2001).

1.4. Çapraz Bağlı Polimerler

Çapraz bağlı polimer demek polimerin çözücü de çözünmediği anlamına gelir. Polimer zincirleri birbirlerine kovalent bağlarla bağlanır ve bu işlem çift bağlı minimum iki polyester arasında gerçekleşir. Çapraz bağlı bölümlerin her biri birbirinden bağımsız birimleri oluşturur (Çakmaklı, 2003).

Henüz dallanmamış çapraz bağlanmamış polimerler çözücü içerisinde çözünür. Fakat çapraz bağlı polimerlerde çözücü içerisinde şişme görülür. Birbirlerine kovalent bağlarla bağlanmış çapraz bağlı polimerler jelleri oluşturur ve jellenmenin başladığı nokta jellenme noktasıdır (Çakmaklı, 2003).

Çapraz bağlı polimerler ısıtıldığında yumuşamaz ve daha da ısıtmaya devam edilirse yanar. Bu tip ısıtıldığında yumuşamayan çapraz bağlı polimerlere termoset polimer denir. Isıtıldığın yumuşayan çapraz bağlı olmayan polimerlere ise termo plastik polimerler denir (Çakmaklı, 2003). Polimerlerde çapraz bağlanma üç farklı şekilde olabilir;

1. Kopolimerizasyon ile çapraz bağlanmada; birden fazla çift bağ içeren bileşiklerin olması gerekir. Bu bileşiklere kopolimerizasyon uygulandığında çapraz bağlanma gerçekleşir. Çapraz bağlanma şişme oranıyla ters orantılıdır.

2. Radikal birleşme ile çapraz bağlanma da: Vinil türü düz zincirli polimerlere γ ve x ışınları ile bombardıman edilmesi sonucu çapraz bağlanma meydana gelir.

3. Fonksiyonlu gruplar ile çapraz bağlanma: İlk önce istenilen grupları barındıran monomerler kopolimerizasyona uğrattılır. Sonra polimerler diaminler, karboksilik asit gibi fonksiyonel gruplarla reaksiyona girerek çapraz bağlanma olur. Bu işlem termel olarak yapılırsa polimer çözünmez. Çapraz bağlı polimerler de sıklıkla şişme davranışları incelenir.

Çapraz bağlı polimerin içerisine çözücü girmesi sonucu çözücü çapraz bağları açar ve polimeri gerilme durumuna getirerek boyutunu büyütür (Hazer vd., 1998).

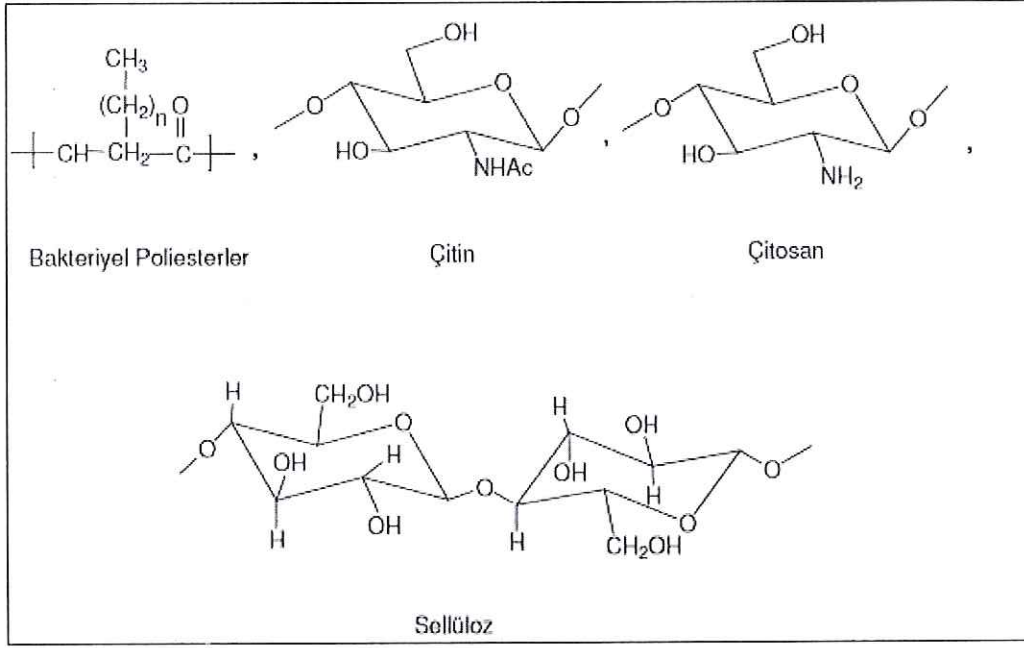
1.5. Biyobozunur Polimerler

Doğal polimerler doğaya bırakıldıktan 1 ile 6 ay arasındaki bir sürede kendiliğinden parçalanabilen ve toprağa karışan polimer türleridir. Biyobozunur polimerler doğal ve sentetik

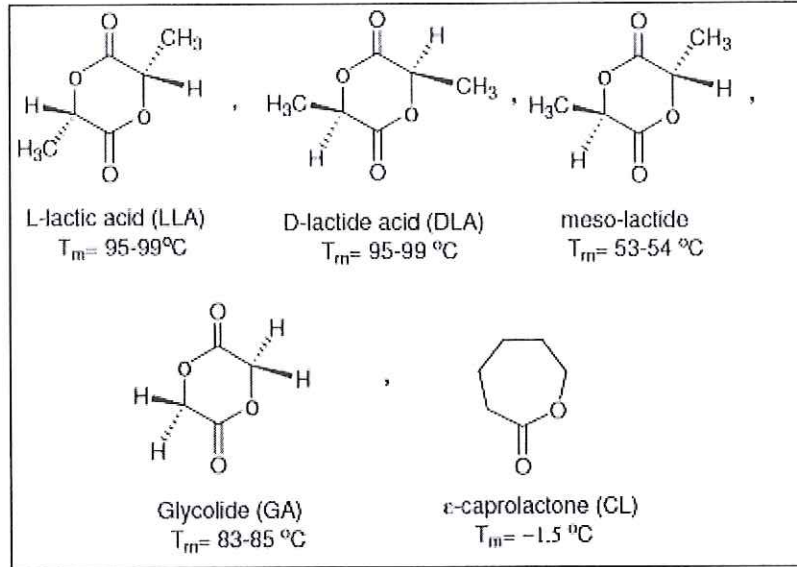
biyobozunur polimerler olarak iki ana gruba ayrılır. Doğal polimerler kitin, kitosan, selüloz ve bakteriyel polimerler [poli hidroksi alkanoatları (PHA)] başlıca örnekler olarak verilebilir (Şekil 1.11.). Sentetik yolla üretebilen polimerlere ise Poli(Laktat), Poli(D Laktat), Poli(glikolat), Poli(ϵ -kaprolakton) örnek olarak verilebilir (Şekil 1.12.).

Çizelge 1.2. Biyobozunur polimerlerin sınıflandırılması (Çakmaklı, 2003)

<p>A) Doğal Polimerler (biyopolimerler)</p> <p>i. Bitkisel</p> <p>ii. Hayvansal</p> <p>iii. Bakteriyel</p>	<p>B) sentetik polimerler (Ana zincirde alifatik ester bağlantısına sahip polimerlerdir.)</p> <p>Polikaprolakton</p> <p>Polivinil alkol</p> <p>Poliakrilat</p>
<p>C) Polimer karışımları polistiren veya polietilen gibi biyobozunur olmayan polimerlere %6 oranında nişasta karıştırarak biyobozunur kılma</p>	<p>D) Blok ve Graft Kopolimerler</p> <p>Doğal polimerler veya biyobozunur olan sentetik polimerlere biyobozunur olmayan polimerlerin kimyasal polimerlere bozunur özellik kazandırılabilir.</p>



Şekil 1.11. Doğal biyobozunur polimer örneklerinin molekül yapıları (Erduranlı, 2008)



Şekil 1.12. Sentetik yolla üretilebilen polimerlerin monomer örnekleri (Erduranlı, 2008)

Biyopolimerleri kaynaklarına göre üç ana gruba ayırılır.

➤ Birinci grup bitkisel kaynaklı doğal polimerler;

Polisakkaritlerden selüloz, nişasta, aljinat, agar, karraginan, çeşitli zamklar (guar), pektin bu grup içinde yer almaktadır.

➤ İkinci grup, hayvansal kaynaklı doğal polimerler; polisakkarit orijinli olan kitin, kiitosan, hyluronatlardır.

➤ Mikrobik orijinli olanlar ise; bakteriyel polimerlere poli(3-hidroksi alkanoat)lar örnek olarak verilebilir (Herdman, 1993).

Biyobozunur polimerler American Society for Testing Materials (ASTM) tarafında yapılan tanıma göre, doğada bulunan bakteri, mantar, alg, maya ve diğer mikroorganizmaların etkisi ile parçalanabilen polimerlere biyobozunur polimerler denir. Bu tanıma göre, polimerlerde bozunma hücre dışı ve hücre içi olmak üzere iki temel işleyiş üzerinden yürümektedir.

Hücre dışı parçalanmada polimer, aerobik ya da anaerobik koşullarda mikroorganizmaların ürettiği endo ve ekzoenzimlerce katalizlenen biyokimyasal tepkimeler ile bozunmaya uğrar. İkinci aşamada ise, hücre içine girebilecek kadar küçülmüş oligomerler mineralize edilir (Lenz,1993).

Mineralizasyon ile organizma enerji kazanır. Açığa çıkanlar ise; CO₂, CH₄, N₂, gibi gazlar, H₂O, tuzlar, mineraller ile organik atıklardır. Biyobozunmanın gerçekleşmesi için üç ana koşulun sağlanması gerekir. Bunlar organizma, substrat ve çevre etkisidir. Bunlardan herhangi biri sağlanmadığı zaman biyobozunma gerçekleşemez (Kaplan vd., 1993).

Mikroorganizmaların polimerlerin parçalanması üzerine etkileri de farklı çalışma grupları tarafından incelenmiştir. Polimerin molekül ağırlığı 5000g/mol'ün altına düştüğünde mikroorganizmalar tarafından yenebildiği rapor edilmiştir (Potts, 1984).

Polimer üzerindeki yüzey gerilimi, yüzey bozukluğu, yüzey alanı, gözenek yapısı ve çevre koşullarının uygunluğu gibi bakteri ve mantar kolonilerin oluşabilmesi için gereken koşullar olarak (Holmes, 1988) tarafından rapor edilmiştir.

1.5.1. Kitosan

Kitin selülozdan sonra dünyada en yaygın olarak bulunan ikinci biyopolimerdir. Yengeç ve karides gibi kabuklu su ürünlerinin ana bileşeni olup, böceklerin iskeletinde ve mantarların hücre duvarlarının yapısında da bulunmaktadır. Dünyada yıllık kitin üretiminin yaklaşık 1.5x10⁵ ton civarında olduğu belirtilmektedir. Bunun 5.6x10⁴ tonu karidesten, 3.9x10⁴ tonu çeşitli deniz kabuklularından, 3.2x10⁴ tonu mantarlardan ve 2.3x10⁴ tonu istiridyelerden elde edilmektedir. Böcek kabuklarında yaklaşık % 23,5 oranında kitin bulunurken bu oran yengeç ve karideste sırasıyla % 17 ile % 32 arasında değişmektedir. Kitinin birçok türevi bulunmakla beraber bunlar arasında en önemlisi kitosandır. Kitosan ilk kez 1811 yılında Henri Bracannot tarafından keşfedilmiştir. Bracannot mantarlarda bulunan

kitini sülfürik asitte çözmeye çalışmış ancak başarılı olamamıştır. Kitosan toksik özellikle olmaması, çevreye zarar vermeden biyolojik olarak parçalanabilir özellikte olması, vücut içerisinde tamamen zararsız ürünlere (amino şekeri) parçalanmasının yanı sıra kolesterol düşürücü etki göstermesi üstelik başta diyabet hastaları olmak üzere vücuttaki yaraların iyileşmesini hızlandırmada da oldukça etkin rol oynaması ile başta medikal alanda olmak üzere tıptan (ilaç salımı ve gen dağılımı gibi) gıdaya, ziraatten kozmetiğe, eczacılıktan atık su arıtımına ve tekstil sektörüne kadar günümüzde sayısız alanda kullanılmaktadır (Hua, 2011).

1.5.2. Bakteriyel Poliesterler (PHA' lar)

Plastik ürünler günlük hayatımızın bir parçasıdır. Pek çok dezavantajlarına rağmen; kolay şekil alma, elastikiyet, nakliyede rahatlık ve ucuzluk gibi nedenlerden dolayı tercih edilen malzemeler olmuşlardır. Ancak, plastiğin kullanılıp atılabilme özelliği çevre kirliliği açısından en büyük sorunlardan biri haline gelmiştir (Page, 1992).

Petrolden elde edilen sentetik polimerler, plastik atık olarak doğaya terkedildiklerinde, toprakta uzun süre parçalanamadığından toksik madde birikimine neden olmaktadır. Bu sebeple poli(3-hidroksi alkanoat)lar biyobozunur ve biyolojik uyumlu biyomalzemeler olarak ilgi çekici olmuştur (Page, 1992).

1970'li yıllardaki petrol krizinden sonra petrol fiyatlarının artmasına bağlı olarak, petrol kökenli polimerlere alternatifler aranmıştır. 1976 yılında İngiltere'deki Imperial Kimya Endüstrisi (ICI), bakteriyel fermantasyonla üretilen PHA'larla ilgili araştırmalara başlamıştır (Breunegg vd., 1998; Wu vd., 2001). 1990'lı yıllarda ise Japonya'da Doi, Kanada'da Marchessault, Amerika'da Lenz ve Fuller, Hollanda'da Witholt bu çalışma alanında başlıca araştırma merkezlerinin grup liderleri olarak öne çıkmışlardır.

Poli (3-hidroksi alkanoat)lar, hidrofobik biyolojik poliesterlerdir. PHA çeşitlerinin hepsi farklı özelliklere sahiptir. Bazılarına hidrofilik özellik kazandırmak gerekirken, bazılarının da mekanik ve termal özelliklerini geliştirmek gerekir. Örneğin; PHB'nin mekanik özelliğini geliştirmek gereklidir. Bunun nedeni ise PHB'nin orta zincir uzunluğunda ve kırılğan (%7 uzama gösterir) bir yapıya sahip olmasındandır. Diğer bir poliester çeşidi olan PHO ise kısa zincir uzunluğunda ve esnektir, fakat erime sıcaklığı 61°C olduğundan termal özelliğini değiştirmek gerekir. Neredeyse tüm PHA'lar hidrofobik bir yapıya sahip olduğundan farklı alanlarda kullanılabilmesi amacıyla hidrofilik özellik kazandırılması gerekir (Arkın ve Hazer, 2002).

1.5.3. Bakteriyeel Polieſterlerin (PHA' lar) Kullanım Alanları

PHA'lar ve kopolimer poli- β -hidroksibütirat-ko-polihidroksivalerat P(HB-HV), gıda ve kozmetik alanındaki paketleme maddeleri, tarım, kiſisel temizlik araçları ve biyomedikal ürünler gibi alanlarda çok geniſ potansiyel uygulamalara açıktır (Madison vd., 1999; Weber, 2000; Lootz, 2001). Biyouyumlu olan PHA monomerleri insan vücudunda bulunan doğal metabolit olması nedeniyle, polimer vücutta sadece çok hafif bir immünolojik cevap oluşmasına neden olur. Bu özelliğinden dolayı PHA insanlarda ilaçların kontrollü salınımı için test edilmiştir. Böyle çalışmalarda ilaç, PHA den yapılmış bir hap içine sıkıştırılmış ve ağız yoluyla hastalara verilmiştir (Holmes, 1985).

Biyobozunur plastiklerin paketleme, gıda, tıp, eczacılık ve tarımdaki kullanım alanları aſağıda sıralanmıştır:

- Paket filmleri, poſetler, torbalar, gıda muhafazasında kullanılmak üzere tepsiler ve çeſitli kaplar,
- Ŗampuan ve meſrubat ſiſeleri, karton süt kutularının iç yüzey kaplamaları,
- İlaç, tablet, insektisit, herbisit ve gübrenin uzun sürede, belli hızda salıverilmesi için biyoparçalanır taşıyıcılar,
- Bir kereye mahsus kullanılan traŖ bıçağı, çatal, bıçak, tabak gibi mutfak kapları ve bebek bezleri,
- Cerrahi pens, ameliyat ipliğı, eldiven, önlük ve maske,
- Kemik değıſtirilmesi ve cerrahi plakalar,
- Pansuman sargısı,
- Kan damarı değıſtirilmesi,
- Bitki sulama boruları, bitki yapraklarının kaplanması,
- Pi (izoelektrik nokta) özelliklerinden yararlanılarak kemik büyütülmesi ve tedavisi,
- Kiral bileſenler üretimi için baſlatıcı materyaller,
- Taze balık, peynir, et ve et ürünleri, kurutulmuş ürünler, orta nemli gıdalar, yağlı tohumlar, kurutulmuş pastacılık ürünleri, cipsler, ſekerlemeler gibi gıdalarda nem ve oksijene karſı koruma veya parlaklık sağılama, aroma kaybını önleme amacıyla kullanım (Lee, 1996).

1.6. Amfifilik Blok Kopolimerler

Yapılarında hem hidroksil grubu (-OH), karbosiklik asit grubu (-COOH), sülfonik asit grubu (-SO₃H), amin grubu (-NH₂), tiyol grubu (-SH) gibi hidrofilik gruplar ve hemde alkil, aril, eter, ester, nitro, halojen gibi hidrofobik birimler içeren polimerlere amfifilik polimerler denir. Amfifilik polimerlerin en önemli avantajı, kimyasal yapılarının çok fazla değıſken

olmasıdır. Amfifilik blok ve aşı (graft) polimerler, dispersiyon, emülsiyon, polimer karışımların stabilizasyonu ve yüzey modifikasyonu için kullanılır. (Grainger vd., 1985; Qipeng vd., 1991; Baines vd., 1996) Özellikle biyomedikal alanda kullanılan amfifilik blok ve aşı kopolimerlerin, polimer yüzeylerde modifikasyon için adsorpsiyon özellikleri yoğun ilgi görmüştür. (Vulic vd., 1988; Wesslen vd., 1994) Amfifilik blok ve aşı polimerlerin çözelti, katı hal ve yüzey özellikleri üzerinde çok fazla araştırma yapılmıştır (Tuzar ve Kratochvil, 1976; Riess vd., 2003).

Amfifilik polimerlerin misel ve oluşturdukları diğer nanoyapılar büyük ilgi görmüştür. (Sens vd., 1996) Literatürde, blok kopolimerlerin sulu ortamda, bir blok için iyi çözücü diğer blok için zayıf bir çözücü, miselleşme özellikleri üzerine birçok araştırma yapılmıştır. (Wilhem vd., 1991; Zhou, vd., 1993) Amfifilik blok ve aşı kopolimerlerinin misel özellikleri ve düzenlenmelerine (formasyon) ilgi her geçen gün artmaktadır. Miselleşme sürecini ve misellerin yapısal parametrelerini etkileyen faktörler arasında, kompozisyon, kopolimerlerin yapısı ve molekül ağırlığı, kopolimer bloklarla çözücü arasındaki etkileşim, kopolimer konsantrasyonu, sıcaklık ve hazırlanma yöntemleri vardır (Kotaka vd., 1972; Bluhm vd., 1986; Price vd., 1986; Quintana vd., 1992).

Amfifilik blok kopolimerler, iki farklı homopolimer bloklardan oluşmaktadır: biri hidrofilik "suda çözünen", diğeri ise hidrofobik "suda çözünmeyen" homopolimerdir. Sentetik polimer kimyasındaki ilerlemeler sayesinde amfifilik blok kopolimerlerin diğer doğrusal olmayan ve kompleks yapıları geliştirilmiştir. Amfifilik blok kopolimerler sulu ortamda kendiliğinden düzenli nanoyapılar oluşturabildikleri için yoğun ilgi görmektedirler. Özellikle amfifilik blok kopolimerin suda oluşturduğu misel yapıların, tıp ve biyoloji uygulamaları büyük ilgi toplamaktadır. İlaç ve gen taşıma sistemleri başta olmak üzere tıbbi görüntüleme uygulamalarında çeşitli boyar madde ajanlarının taşınmasında görev alan polimerik miseller tasarlanmıştır. (Kwon vd., 1995; Allen, vd., 1999; Torchilin, 1999; Kabanov vd., 2002) Son yıllarda yapılan araştırmalarda, polimerik misellerin ilaç taşıma sistemlerindeki yetenekleri büyük ilgi görmüştür (Kataoka vd., 1993; Sezgin vd., 2003). Sulu ortamda ya da kritik misel konsantrasyonunda, amfifilik blok kopolimerler polimerik miseller haline gelmektedir. Bu polimerik miseller, düşük kritik misel konsantrasyonu ile hazırlanan deterjanlardan daha kararlıdır. Birçok aktif ajanlar, antikanser ajanları gibi, zayıf çözünürlüğe sahiptirler. Hidrofobisite ilaç-doku ilişkisi için faydalıdır ancak formulasyon, çözünürlük ve stabilizasyon için problemdir. Misellerin sahip olduğu çekirdek-kabuk, ilaçlarla sistemin birleşmesine olanak sağlar böylece biyolojik alanda inaktivasyondan korunup, biyoyararlanım sağlanmaktadır. Nano yapıları (<100 nm), hedeflenen yetenekleri, uzun sirkülasyon ve kolay

elde edilebilir olmaları, sistemlere ilaçların verilmesinde ve etkili bir şekilde dağıtılmasında birçok avantaj sergilemektedirler (Torchilin, 2001).

Sulu ortamlarda, hidrofobik kopolimer blokları miselin merkezinde toplanırken, hidrofilik bloklar dış bölgede (kabuk) yerini alırlar. Bu şekildeki merkez-kabuk yapısı suda çözünmeyen ajanları merkezde tutarken, kabuk bölgesi de dengeleyici bir interfaz görevi üstlenir. Sonuç olarak, polimerik miseller fizyolojik ortamlarda düşük kararlılığa sahip, veya çözünmeyen maddeler için verimli, taşıyıcılarıdır. (Wilhem vd., 1991)

Amfifilik blok kopolimerler yaşayan anyonik polimerizasyon, atom transfer radikal polimerizasyonu (ATRP), halka açılma reaksiyonu (ROP), nitroksit aracılıklı polimerizasyon (NMP), tersinir ekleme-bölünme zincir transfer polimerizasyon (RAFT), olmak üzere çeşitli yöntemler ile sentezlenebilir (Hazer, 2010).

Amfifilik blok kopolimerlerin hazırlanmasına yol açan en önemli ve etkili sentetik strateji, yaşayan kontrollü polimerizasyon yöntemleridir. Bu yöntemde her blok büyür ve kontrollü bir şekilde birleşir. Bu yolla önceden belirlenmiş moleküler yapılar ve istenilen karaktere sahip, dar molekül ağırlığı dağılımı da dahil makromoleküller sentezlenebilir (Hazer, 2010).

1.7. Sıcaklığa Duyarlı Polimerler

Üç boyutlu yapısını koruyarak fazla miktarda çözücü absorplayan polimer şebekeleri jel olarak sınıflandırılırlar. Polimer bir jel sıcaklık gibi bir dış uyarana karşı bir davranış değişikliği gösterirse bu tür polimerlere sıcaklığa duyarlı polimer jeller denir. Bu tür jellerin mikro yapılarında, dış uyarıya maruz kaldıklarında tersinir bir değişim gözlenmektedir. Bu tersinir değişim yavaş yavaş olabildiği gibi, ani bir değişim şeklinde de gözlenebilmektedir. Bu olay termodinamik olarak hacimsel faz geçişi olarak adlandırılır. Dış uyarının sıcaklık olmasıyla bu geçişin gerçekleştiği sıcaklık ise hacimsel faz geçişi sıcaklığı veya alt kritik çözelti sıcaklığı “lower critical solution temperature” (LCST) olarak adlandırılmaktadır (Hazer, 2010).

Bir polimer jelde, faz geçişi polimer şebekesinin genişlemesine yol açan itme kuvveti ve şebekenin büzülmesine neden olan çekim kuvveti arasındaki dengenin değişmesinden kaynaklanmaktadır. İtme kuvveti iyonizasyon nedeniyle oluşurken; çekim kuvveti ise hidrofobik etkileşim olup, polimerin yapısı itibarıyla Van der Waals kuvvetleri ve hidrojen bağlarından kaynaklanmaktadır (Petrovic vd., 2000). Lineer sıcaklığa duyarlı polimerler, LCST değerinin altındaki sıcaklıklarda, polimer ve su arasındaki termodinamik dengeden dolayı suda çözünmekte, üstündeki sıcaklıklarda ise polimerce zengin faz, ya polimer çözeltisi

ya da fiziksel olarak çapraz bağlı jel şeklinde bulunmaktadır. Çapraz bağlı sıcaklığa duyarlı hidrojeller ise oda sıcaklığında suda çözünmeksizin su absorplarlar, fakat ısıtıldıklarında LCST değerinin üzerinde aldıkları suyu bırakırlar. Bir jelin en önemli özelliği çözücü absorplama kapasitesi olduğundan, bir dış uyarı uygulamak suretiyle jelin absorpladığı çözücü miktarını kontrol etme olanağı, bu maddelerin teknolojik açıdan genişlemesine yol açmıştır (Otake vd., 1990).

Sıcaklığa duyarlı polimerlerde, polimer yan gruplarında hidrofilik / hidrofobik gruplar denge içinde bulunmaktadır. Bu tür polimerlerin sulu çözeltilerinin LCST davranışı için genel bir kural ortaya konmuştur (Otake vd., 1990).

Sıcaklığa duyarlı suda çözünen bir polimerin, sıcaklık artışı ile hidrofobik özellikleri artar. Düşük sıcaklıklarda, LCST' nin altındaki değerlerde polimerdeki hidrofilik gruplar ile su molekülleri arasında güçlü hidrojen bağları vardır. Sıcaklık artışı ile hidrofobik gruplar su molekülleri ile etkileşmeye başlar, hidrojen bağları zayıflar ve hidrofobik olarak bağlı olan suyun yapıyı terk etmesi faz ayrılmasına neden olur. Polimerdeki polar gruplar ile su molekülleri arasındaki hidrojen bağı polimerin su içerisinde çözünmesini sağlar. Polimerlerin apolar grupları ile hidrojen bağı oluşturamayan su molekülleri bu bölgeler üzerinde yeniden düzene girmeleri gerekir. Bu olaya hidrofobik etki denir ve karışım üzerinde entropi azalmasına neden olur. Faz ayrılma davranışının endotermik olduğu belirlenmiştir (Otake vd., 1990).

Literatürde kopolimerlerin sentezi üzerine çalışmalar bulunmaktadır.

Örneğin Li vd. (2008), tarafından oleik asit ile modifiye edilmiş Fe_3O_4 nano küreler hazırlanmış ve daha sonra biyo uyumlu PNIPAM ve Chitosan içerisine gömülmüştür. Sonuçlar nanopartiküllerin sıcaklık ve pH duyarlı özelliklerde olduğunu ve çoklu duyarlılık özelliklerine sahip bu kompozit mikrokürelerinin biyomedikal uygulamalarda kullanılabilineceğini doğrulamıştır.

Hua vd. (2011), tarafından ise PNIPAM ile chitosan-Lilial conjugatları graft edilmiştir. Isıya duyarlı polimerler injekte edilebilir yapılarda kullanımı için çok ilgi çekici bir konudur (Gan vd., 2009). Isıya duyarlı nanojeller ve süper paramagnetik nanopatiküller içeren nanokompozit membranlar üzerine ilaç salım materyallerinde manyetik alan etkisindeki uygulamalarda ilaç salımının etki sağladığı gösterildi (Hoare vd., 2011).

1.8. Kontrollü Salınım

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) (2008) verilerine göre, kanserin neden olduğu ölümler tüm ölümlerin %13 civarındadır. Akciğer, mide, karaciğer, kolon ve meme kanseri, her yıl en

çok ölüme sebep olan kanser türleridir. Tüm kanser ölümlerinin yaklaşık %70' i düşük ve orta gelirli ülkelerde meydana gelmiştir. Dünya çapında kanserin sebep olduğu ölümlerin 2030 yılında 11 milyona yükselmesi beklenmektedir (Satarkar, 2008).

Meme kanseri tüm kadın kanserlerinin %16' sını oluşturmakla birlikte, dünya çapında kadınlarda en sık görülen kanser türüdür. 2004 yılında 519000 kadın meme kanseri nedeniyle ölmüştür ve tüm meme kanseri ölümlerinin büyük bir çoğunluğunun (%69) gelişmekte olan ülkelerde meydana geldiği tahmin edilmektedir (Satarkar, 2008).

Kontrollü salınım, etkin bir maddenin bir sistem içerisinden istenilen sürede, belirlenmiş bir hızda ve gereken miktarda çıkacak şekilde tasarımının yapıldığı bir yöntemdir. Farklı uygulama yollarından verilen veya hedefli ilaç salınımı yapan taşıyıcı sistemler de kontrollü salınım sistemleri arasında sayılır. Bu sistemlerin en yaygın ve eski uygulamaları, sağlık alanında ilaç taşınmasına yöneliktir ve ilacın taşınması saatlerden yıllara kadar sürebilir. Etkin maddelerin sistemden salınımı;

- Difüzyonla,
- Çözücü uyarımı ile (çözücünün sisteme girmesine bağlı olarak gelişen osmotik etki veya şişmeyle),
- Aşınmayla (pH ve hidrolize dayalı kimyasal enzimlere bağlı biyolojik etkiler sonucu polimerin parçalanması ya da ilacın polimerden kimyasal olarak ayrılmasıyla) olabilir (Liu vd., 2008).

Nanoyapılar aracılığı ile ilaç salınımının avantajları, ilaç moleküllerinin direkt olarak hücre içine salınabilmesi ve sağlıklı dokular içerisindeki tümörlerin hedeflenebilme kapasitesidir.

Nano yapılar aracılığı ile ilaç salınımı; ilaç biyoyumluluğunu artırır, ilaç moleküllerinin zamanlanmış salınımını geliştirir ve ilaç hedeflemede kesinlik sağlar. Aynı zamanda hedeflenmiş nano boyutlu ilaç taşıyıcıları kullanımının diğer bir avantajı, ilaç toksisitesinin azaltılmış olmasıdır (Satarkar, 2008).

İlaç salınımı uygulamaları için çeşitli doğal ve sentetik polimerler incelenmiştir. Eğer polimer insan vücudu tarafından yok edilemiyorsa, ilacın tüketiminden sonra vücuttan cerrahi yolla uzaklaştırılması gerekmektedir. Çoklu-cerrahi maliyetlerinden ve bu riskten kaçınmak amacıyla biyolojik olarak bozunabilen polimerler kullanılması düşünülmüştür. Kontrollü ilaç salınımı formülasyonlarında materyalin başarılı olarak kullanılabilmesi için, materyal; kirlilik içermemeli ve kimyasal olarak kararlı olmalıdır. Ayrıca, minimum istenmeyen yaşlanma (yorulma) ve hali hazırda işlevli olmak gibi uygun fiziksel özelliklere sahip olmalıdır. Kontrollü ilaç salınımında ve kontrollü salınım için yapılan çalışmalarda kullanılan bazı Polimerler Poli(2-hidroksi etil metakrilat), Poli(N-vinilpirolidon), Poli(vinil alkol),

Poli(akrilik asid), Poli(etilen glikol)' dür. İlacın herhangi bir polimer sistemden salınımı, difüzyon kontrollüdür (Satarkar, 2008). Son yıllarda araştırmalar biyolojik olarak parçalanabilen polimer sistemlerinin geliştirilmesine odaklanmıştır. Bu polimerlerin biyolojik yapı içindeki miktarları giderek azalır. Bu sistemler genellikle hidroliz yoluyla küçük formüllü birimlere parçalanır. İlk çalışmalar doğal polimerlerin kullanılmasına yönelik olmuştur. Ancak son yıllarda biyoyumlu ve biyobozunur polimerlerin sentezi ve uzun süreli ilaç salım hızını kontrol edilmesi veya hedef bölgeye ilacın yönlendirilmesi gibi potansiyel uygulamalarından, dolayı karakterizasyonu kontrollü ilaç salım sistemlerinde kullanımları oldukça ilgi çekmektedir. Polianhidridler, poliesterler, polikaprolaktonlar bu polimerlere örnek olarak verilebilir. Bu materyaller üzerinde yapılan ayrıntılı araştırmalar, vücuttaki miktarları hızla azalabilen polimerlerin geliştirilmesini sağlamıştır. Tek polimerik sistem içeren taşıyıcılara ek olarak, araştırmacılar blok yapıda kopolimerler içeren taşıyıcı sistemler geliştirmeye çalışmaktadırlar (Satarkar, 2008).

Rydholm vd. (2005), tarafından yapılan çalışmada yeni bir biyomateriyal sınıfını oluşturan biyo parçalanabilir tiol-akrilat aę yapıları incelenmiştir.

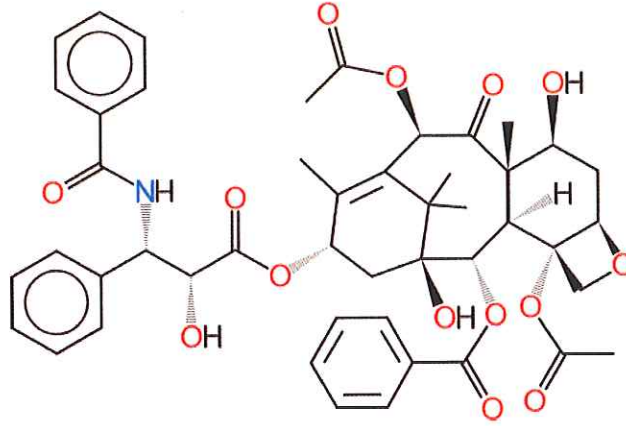
Shamim vd. (2007), tarafından yapılan çalışmada PNIPAM VE MAA-PNIPAM ile kaplanmış nanomanyetik küreler sentezlenerek BSA'nın adsorpsiyonu ve desorpsiyonu incelenlenmiştir. Magnetik nanopartiküle adsorpsiyon temelde LCST üzerinden hidrofobik etkileşim ve hidrojen bağları ile sağlanmıştır. Bu partiküllerin sıcaklık kontrolü ile proteinlerin izolasyonu ve saflaştırılması için kullanılabileceği görölmüştür.

Kim vd. (2010), tarafından yapılan çalışmada pH'a duyarlı faz geçiş davranışı sergileyen PEO-bazlı amfifilik blok kopolimerler RAFT polimerizasyonu ile sentezlenmiştir. Blok kopolimerler stabilizör olarak kullanılarak süper paramanyetik demir oksit nanopartikülleri sulu ortamda ve düşük pH (3,0)' da hazırlanmıştır. Elde edilen demir oksit nanopartikülleri MR görüntülerinde iyi etkinlik göstermiştir.

Asmatulu vd. (2005), tarafından, hedeflenmiş biyoparçalanabilir manyetik nanokompozit partikülleri üzerinde çalışılmıştır. İlk olarak biyoparçalanabilir/biyoyumlu polimerler ve nanoboyutlu magnetitler kullanılarak manyetik parçacıklar sentezlenmiştir. Daha sonra karakterizasyon çalışmaları yapılmış, sıvı akış hızı, magnet uzaklığı, manyetik doğgunluk ve katı içeriği değiştirilerek manyetik nanopartiküllerin dış manyetik alandaki lokasyonu takip edilmiştir.

1.9. Paklitaksel

Günümüzde piyasada pek çok anti-kanser ajanları bulunmaktadır. Ama Paklitaksel Meme ve Servikal kanserlerin tedavisinde yaygın olarak kullanılır. Paklitaksel bitkiden elde edilmiş olup sentetik ilaçlara rağmen nispeten daha az yan etkilerinin olması kullanımını artırır. Paklitaksel, Batı porsuk ağacının kabuğundan elde edilen diterpintaxane kompleksi ile sitotoksik etki gösterir. Mikrotübüller stabilize edilir ve depolimerizasyon önlenir. Bu stabilite, hayati ara faz ve mitotik fonksiyonlar için gerekli olan mikrotübül ağı normal dinamik düzenlemesini engeller. Anormal diziler veya mikrotübül 'yığınları' hücre döngüsü boyunca üretilmektedir. Tübülün-mikrotübüldeki dinamik kararlılık paklitakselin sitotoksik etkisinin önemini vurgulamaktadır. Bütün formülasyonların kendilerine özgü sakıncaları vardı. Paklitakselin biyo kullanılabilirliğini arttırabilmek için farklı dozaj formunda yaklaşımlar yapılabilir. Geçmiş literatürlerde paklitakselin sadece kromatografik teknik için uygun olduğu tahmini üzerine çalışmalar yapılmıştır. UV-Görünür Spektrofotometre kullanarak da Paklitakselin başarılı bir şekilde basit ve kesin methodfor tahmini geliştirilmiştir (Jadhav vd., 2012).



Şekil 1.13. Paklitaksel yapısı

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

1. **Kloroform:** Sigma- Aldrich firmasından alınmıştır. Destile edilerek kullanılmıştır.
2. **Tetrahidrofur:** Merck firmasından alınmıştır. Destile edilerek kullanılmıştır.
3. **Karbon Tetra Klorür:** Destile edilerek kullanılmıştır.
4. **Potasyum Permanganat:** Yerli (Kimetsan) firmasından alınmıştır. Firmadan alındığı gibi kullanılmıştır.
5. **Derişik HCl:** Merck firmasından alınmıştır. Firmadan alındığı gibi kullanılmıştır.
6. **Derişik HNO₃ :** Merck firmasından alınmıştır. Firmadan alındığı gibi kullanılmıştır.
7. **N-(izopropilakrilamid) %99:** Acros firmasından alınmıştır. Saflaştırılarak kullanılmıştır.
8. **Aseton:** Sigma- Aldrich firmasından alınmıştır. Firmadan alındığı gibi kullanılmıştır.
9. **Methanol:** Sigma- Aldrich firmasından alınmıştır. Firmadan alındığı gibi kullanılmıştır.
10. **Toluen:** Sigma- Aldrich firmasından alınmıştır. Firmadan alındığı gibi kullanılmıştır.
11. **Dietileter:** Merck firmasından alınmıştır. Firmadan alındığı gibi kullanılmıştır.
12. **Siklohekzan:** Lab-scan firmasından alınmıştır. Firmadan alındığı gibi kullanılmıştır.
13. **Potasyum-o-etil Ksentagonat:** Alfa Aesar firmasından alınmıştır. Firmadan alındığı gibi kullanılmıştır.
14. **AIBN:** Merck firmasından alınmıştır. Firmadan alındığı gibi kullanılmıştır.
15. **Sodyum Metali:** Merck firmasından alınmıştır. Firmadan alındığı gibi kullanılmıştır.
16. **DMFA:** Sigma- Aldrich firmasından alınmıştır. Firmadan alındığı gibi kullanılmıştır.
17. **Kitosan:** Sigma- Aldrich firmasından alınmıştır. Firmadan alındığı gibi kullanılmıştır.

2.2. Kullanılan Aletler

2.2.1. Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (NMR)

¹H NMR spektrumları; BRUCER AVANCE 500 NMR cihazı ile, çözücü olarak CDCl₃, standart olarak tetrametilsilan (TMS) kullanılarak alınmıştır. Kimyasal kayma değerleri TMS rezonans frekansına göre aşağı alandan ppm (δ) cinsinden verilmiştir.

2.2.2. Fourier Transform Infrared Spektrometresi (FTIR)

İnfrared spektrumlarının alınmasında Perkin Elmer Fronter marka bölümümüzde bulunan bilgisayar kontrollü FTIR spektrometresi kullanılmıştır. Polimer örneklerin spektrumları CHCl₃' te çözülerek KBr diskler arasında ince bir film haline getirilerek alınmıştır.

2.2.3. Jel Geçirgenlik Kromatografisi (GPC)

Polimerlerin molekül ağırlık ölçümleri Malvern Viscotek marka Jel Geçirgenlik Kromatografi cihazı ile OmniSEC 4,7 Software versiyonu kullanılarak yapılmıştır. Sistem; OmniSEC kolon fırını (35 °C), OmniSEC TGuard, LT4000L, T2500 kodlu üç adet ayırma kolonu ve OmniSEC 3580 refraktif indeks dedektörü (35 °C), OmniSEC 2500 UV dedektörü olmak üzere iki adet dedektörden oluşmaktadır. Taşıyıcı sıvı olarak C₄H₈O (THF) kullanılmış, kolon sıcaklığı 35 °C ve akış hızı 1.0 mL/dk olarak ayarlanmıştır.

2.2.4. Differansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC)

Polimerlerin T_g, T_m ve bozunma sıcaklıklarını (T_d) gösteren termogramlar Perkin Elmer DSC 400 cihazı ile kaydedilmiştir.

2.2.5. Termogravimetrik Analiz (TGA)

Sentezlenen graft kopolimerlerin termal bozunmaları ve kütle kayıpları 10-800 °C sıcaklık aralığında, N₂ (azot) atmosferinde ve 10 °C/dk ısıtma hızında Seiko SII TG/DTA 7200 model termogravimetrik analiz cihazı ile incelenmiştir.

2.2.6. UV-Vis Spektrofotometresi

Bölümümüze ait olan PG Instruments T60 marka çift ışın demetli spektrofotometre kullanılarak UV-Vis spektrumları alınmıştır.

2.2.7. Vakum Etüvü

Sentezlenen graft kopolimerleri bölümümüz polimer kimyası laboratuvarına ait olan Nüve marka EV 018 model vakum etüvü ile kurutulmuştur. Basıncı 100 mBar 'a kadar düşürebilmek için Edward marka vakum pompası kullanılmıştır.

2.2.8. Dijital Hassas Terazı

Sentezler boyunca tartımlar maksimum 220 g tartım yapabilen 0,0001 g hassasiyetli Precisa marka XB 220A model hassas terazi kullanılmıştır.

2.2.9. Scanning Electron Microscopy (SEM)

Sentezlenen polimerlerin yüzey görüntüleri için ZEISS EVO LS 10 model cihaz kullanılmıştır.

2.2.10. Evaporatör

Sentezlenen polimerlerin uçurulması için Heidolph Laborota 4000 efficient model cihaz kullanılmıştır.

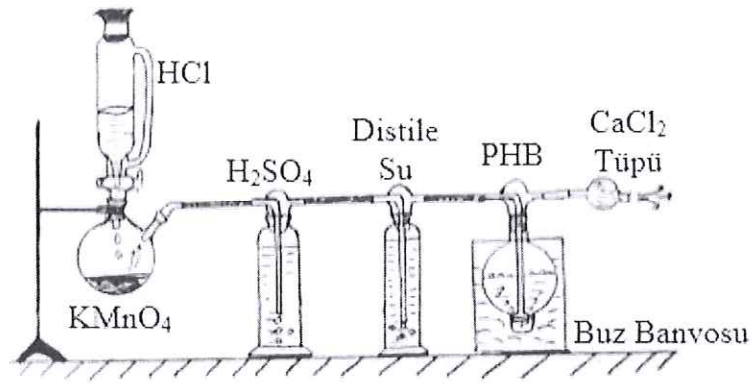
2.2.11. Dinamik Işık Saçılım Spektrometresi (DLS)

Sentezlenen kopolimerlerin için Malvern model cihaz kullanılmıştır.

2.3. Yöntem

2.3.1. PHB 'nin Klorlanması (PHB-Cl) Sentezi

KMnO₄ kristalleri çift boyunlu cam balona alındı. Derişik HCl Cl₂ oluşturabilmek için damla-damla eklendi (1 g Cl₂ için 0,89 g KMnO₄). Oluşan Cl₂ balonlar halinde derişik H₂SO₄ ve distile su şişelerinden geçirilerek yıkandı. Bir gece önceden CHCl₃/CCl₄ (75/25 v/v) içinde reflaks edilmiş PHB üzerine gönderilen yıkanmış Cl₂ ile PHB klorlandı. Klorlanmış PHB çözeltisi çözücü fazlası tamamen buharlaşana kadar bekletildi. Fazla çözücüsü uzaklaşmış olan klorlu-PHB metanol ve distile su ile iyice yıkandı ve vakum altında kurutuldu.



Şekil 2.1. Klorlama düzeneği

2.3.2. PHB-Cl' nin Fraksiyonlandırılması

Kurutulmuş PHB-Cl; belirli 10 mL kloroform (CHCl_3) içerisinde çözüldü. İlk çökeltme tamamlana kadar PHB-Cl çözeltisi karıştırılarak içerisine damla damla metanol (MeOH) eklendi. PHB-Cl'ün ilk fraksiyonu dekantasyon ile ayrıldı ve üstteki PHB-Cl çözeltisine ikinci farksiyon çökene kadar MeOH eklenmeye devam edildi. Bu prosedür çökeltme sonlana kadar aynen devam ettirildi. γ değerleri; fraksiyonlandırma için kullanılan MeOH' ün toplam hacminin PHB-Cl' ün çözünmesi için kullanılan CHCl_3 ' un hacmine oranından hesaplanmıştır. Fraksiyonlandırılmış polimerler vakum altında kurutuldu.

2.3.3. PHB-Cl Makro RAFT Ajanı Sentezi

Bir miktar PHB-Cl ile potasyum etil ksantat bir balonda 50 mL THF içerisinde 72 saat boyunca 30 °C de karıştırıldı. Oluşan heterojen karışım % 2' lik HCl çözeltisi içerisine konuldu. THF' in sulu çözelti içerisinde buharlaşarak uzaklaşması için bir petri kabında bırakıldı. Çökelti alıntı saf suyla yıkandı ve kuruması için 40 °C de vakum etüvde kurumaya bırakıldı.

2.3.4. Kopolimerlerin sentezi

2.3.4.1. Makro RAFT ajanı türevleri ile NİPAM polimerizasyonu

Balon içerisine bir miktar Makro RAFT ajanı, NİPAM ve AIBN tartılıp üzerine çözücü olarak toluen ilave edildi. Karışımdan 2 dk boyunca Ar gazı geçirildi ve 90 °C' de ısıtılan yağ banyosunda 17 saat karışmaya bırakıldı. Yağ banyosundan alındıktan sonra

çözücüsü evaporatörde uçuruldu. Balondan alınan polimer kloroformda çözüldü ve vakum da kurumaya bırakıldı.

2.3.4.2. Makro RAFT ajanı NİPAM ve Kitosan ile graft kopolimer eldesi

Üç boyunlu balona bir miktar makro RAFT ajanı NİPAM, kitosan ve AIBN ilave edildi. 110°C yağ banyosunun hazırlandığı deney düzeneğine konulan balondan Ar gazı geçirildi. Gaz geçirme işlemi bittikten sonra balondan belirli aralıklarla vakum açılarak sıvı azot gazı yardımıyla su çıkışı sağlandı. 17 saat süren deney bittikten sonra polimer balondan alındı. Petri kabına alınan polimer dietil eter ile dekante edildikten sonra vakum da kurumaya bırakıldı.

2.3.5. Graft Kopolimerlerin Şişme Oranının Belirlenmesi

Su alımını ölçmek için, graft kopolimerlerin şişme derecesi, 4 ila 40 °C sıcaklık aralığında, destile edilmiş su içinde gravimetrik olarak ölçülmüştür. Graft kopolimerler, her bir sıcaklıkta 24 saat boyunca destile su içinde inkübe edildi ve fazla yüzey suyu kurutulduktan sonra tartıldı. Aşağıdaki gibi şişme derecesi tanımlandı:

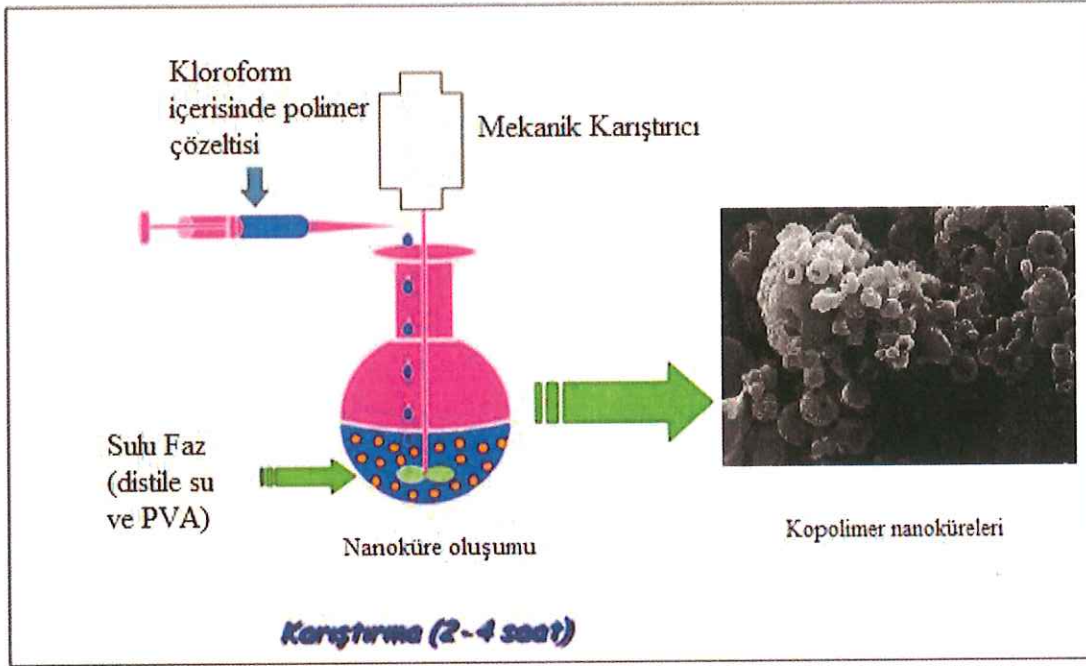
$$\text{Şişme (\%)} = 100 \times (W_s - W_d) / W_d \quad (2.3)$$

Ws: Belirli bir sıcaklıkta şişmiş graft kopolimerlerin ağırlığı

Wd: Gece boyunca vakum altında kurutmadan sonra ki graft kopolimerlerin kuru ağırlığıdır.

2.3.6. Mikro/Nanokürelerin elde edilmesi

Bir beher içine PVA (emülsifier) tartılıp üzerine belirli bir miktar distile su ilave edildi. Polimer örneği kloroform içerisinde çözüldü ve enjektör ile çözeltiye ilave edilerek homojenizatörde 3400 rpm' de karıştırıldı (Şekil 2.2). Elde edilen mikroküreler 10000 rpm' de santrifüj edilerek mikro/nanoküreler ayrıldı ve oda sıcaklığında vakum altında kurumaya bırakıldı.



Şekil 2.2. Nanokürelerin elde edilme yöntemi

2.3.7. Polimerik jellere ilaç yüklemesinin yapılması

Bu çalışmada paklitaksel model anti-kanser ilacı kullanıldı. Kurutulmuş polimerik jeller hazırlanan paclitaxel çözeltisi içerisine atıldı 37 °C' de bekletildi. Belirli zaman aralıklarında Uv-spektrofotometre ile 275 nm' de ölçümler alınarak % ilaç yükleme grafikleri oluşturuldu.

2.3.8. İlaç salım Deneylerinin yapılması

Mikro/nanoküreler 37 °C'de tampon çözelti içinde (in vitro) bekletildi belirli zaman aralıkları ile Uv' de 275 nm ve 227 nm dalga boyunda ölçüm alınarak % salım değerleri hesaplanarak % ilaç salınım grafiği oluşturuldu.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

3.1. PHB' nin Klorlanması (PHB-Cl)

PHB' nin ısıya duyarlı konjugatları RAFT polimerizasyonu ile elde edilmiştir. Şekil 3.1 PHB reaksiyon yöntemlerini içerir. PHB nin klorlanması ilk kez (Hazer vd., 2008) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada kullanılan klorlu PHB reaksiyon koşulları Çizelge 3.1 'de görüldüğü gibidir.

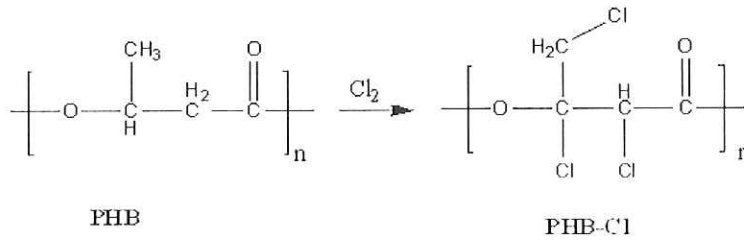
Çizelge 3.1. PHB-Cl sentezi

Kod	Reaktanlar			Verim (g)	Moleküler ağırlık	
	PHB(g)	CHCl ₃ (mL)	CCl ₄ (mL)		10 ⁻³ M _n	MWD ^f
PHB					97	4.6
EM-1	5	75	25	4,05	-	-
EM-2	5	75	25	2,58	-	-
EM-3	5	75	25	4,02	-	-
EM-5	5	75	25	4,64	28,78	34,28

* Tüm deneyler için AIBN miktarı 0,5g dır.

* Tüm deneylere CHCl₃/CCl₄ 1:3 (v/v) oranında konulmuştur.
PHB'nin γ çöktürmesi 0.7-1.5 arasında çıkmıştır.

¹H NMR tekniği klorlu ürünlerin kimyasal yapısını doğrulamak için kullanılmıştır. İkinci aşamada, klorür fonksiyonları ile ksantatlar yer değiştirmiştir. Bu yer değiştirilen potasyum etil ksantatlı PHB türevinin ksantat zinciri ile reaksiyon gerçekleştirmekte oldukça kolaydır.



Şekil 3.1. PHB-Cl' nin oluşum reaksiyonu

3.2. PHB-Xa Makro RAFT Ajanı Sentezi

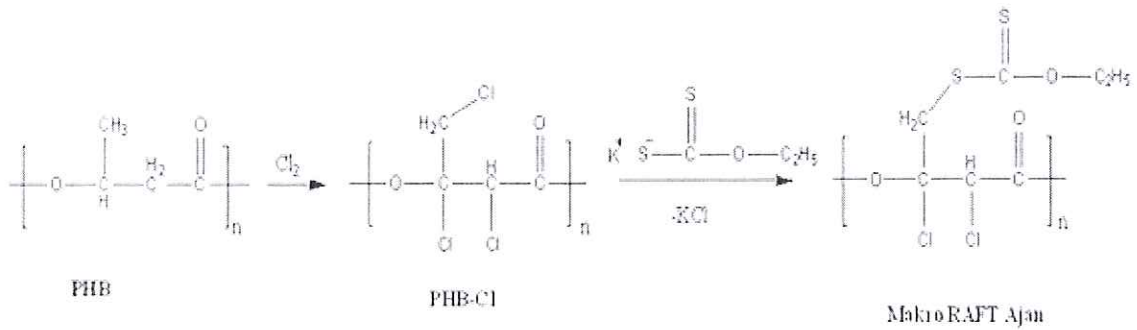
Ditiyo karbonat grupları içeren PHA' lar, klorür ve potasyum etil ksantat arasındaki sübtütüsyon tepkimesi ile elde edilmiştir. Çalışmada kullanılan makro RAFT ajan maddesi olan PHB-Cl ksantat türevlerinin reaksiyon koşulları Çizelge 3.2' de görülmektedir. Şekil 3.3. PHB-Xa Makro RAFT ajanının reaksiyon yöntemini göstermektedir.

Çizelge 3.2. PHB-Xa Makro RAFT Ajanı Sentezi

Kod	Reaktant		Verim (g)	Moleküler Ağırlık Mw
	PHB-Cl (g)	K-o- etil ksantat (g)		
MR 1	2,15	0,45	2,03	5454,7
MR 2	2,11	0,45	2,12	3691,0
MR 3	2,12	0,45	2,11	2533,0
MR 4	2,01	0,45	2,14	2496,2

PHB-Xa ¹H NMR spektrumu gösterilmiştir. Klorürler ve ksantat birimleri ile ilgili her iki sinyal ihtiva etmiştir. Karakteristik sinyaller 4.5 ppm (OCH₂CH₃-) ve 3.1 ppm' de (-CH₂-SC(S)-) ksantat gruplarının kendi NMR spektrumları gözlenmiştir. PHB-ksantat türevlerinin moleküler ağırlıkları klorür türevlerinden daha yüksek bulundu.

PHB-Xa' nın FTIR spektrumunda 1723 cm⁻¹ karbonil piki (-C=O), 3437 cm⁻¹ de (-C=S) piki gözlemlenmiştir.



Şekil 3.2. PHB-Xa Makro RAFT ajanının oluşum reaksiyonu

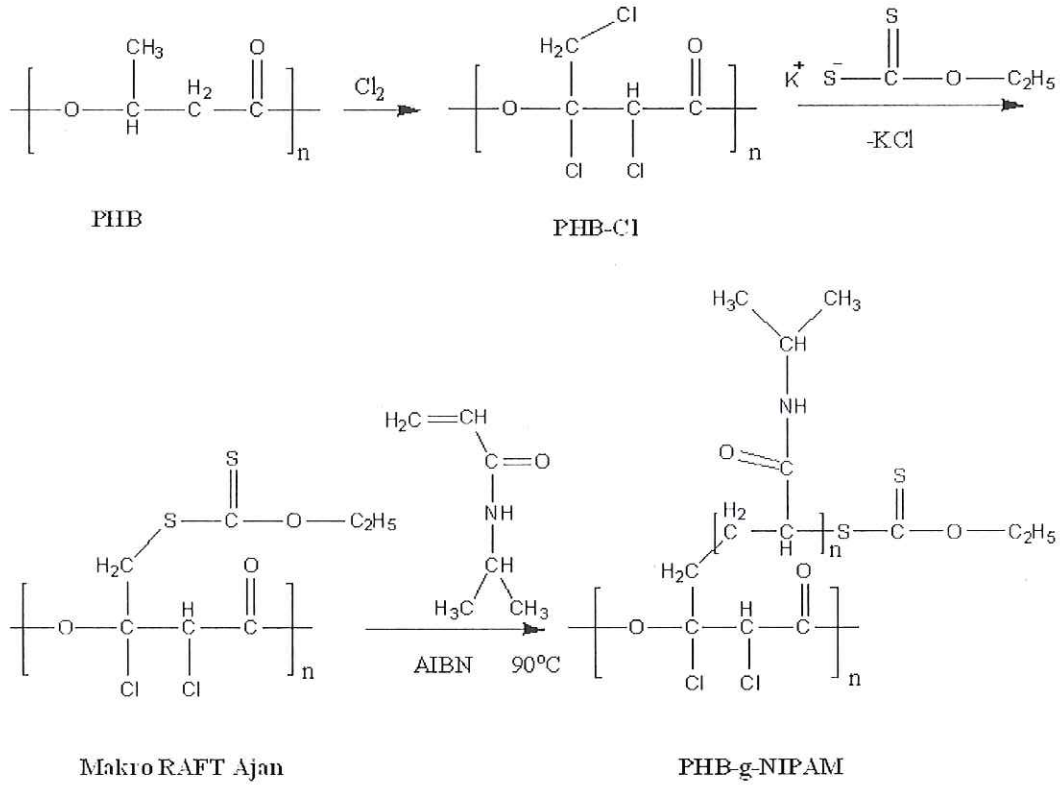
3.3. Kopolimerlerin sentezi

Makro RAFT ajan türevleri ile NİPAM ve kitosan polimerizasyonu

PHB-g-PNIPAM ısıya duyarlı konjugatı makro RAFT maddesi olarak PHB-kseptat türevleri ile NIPAM'ın çözelti içinde RAFT polimerizasyonu ile elde edilmiştir. Polimerizasyon reaksiyonlarının sonuçları ve koşulları Çizelge 3.3' de tablo haline getirilmiştir. Şekil 3.5' de ise PHB-g-NİPAM polimerinin oluşum reaksiyonu gösterilmektedir. PHB-g-NİPAM polimerinin ¹H NMR spektrumu ise Şekil 3.6. gösterilmektedir.

Çizelge 3.3. Kopolimerlerin sentezi

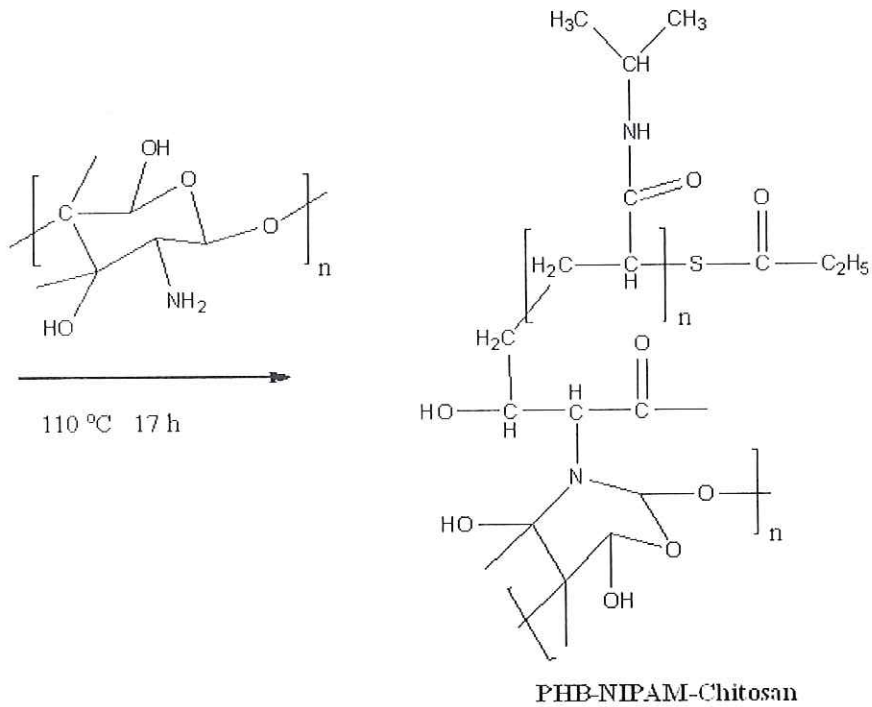
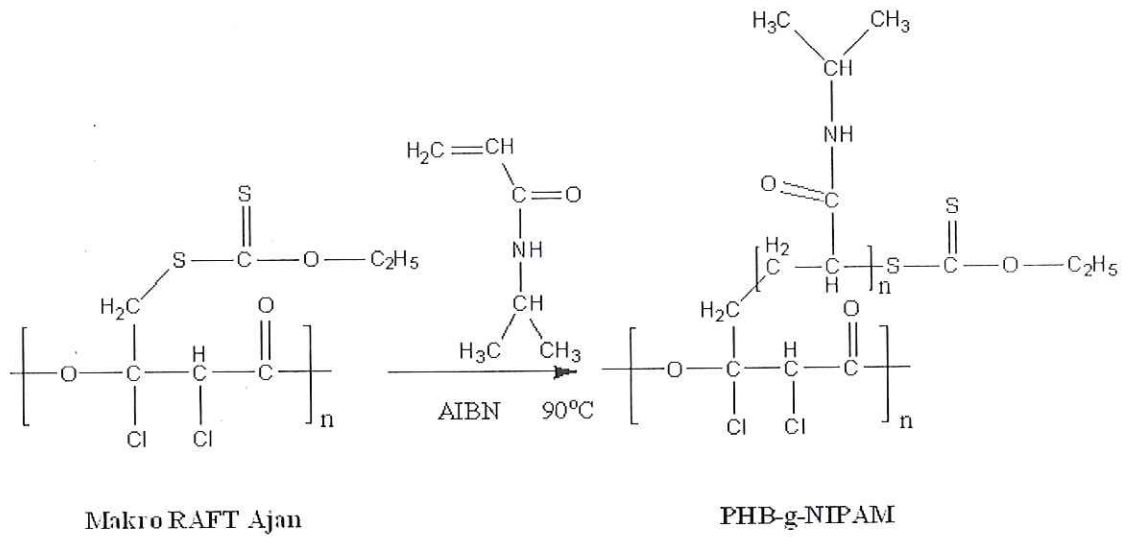
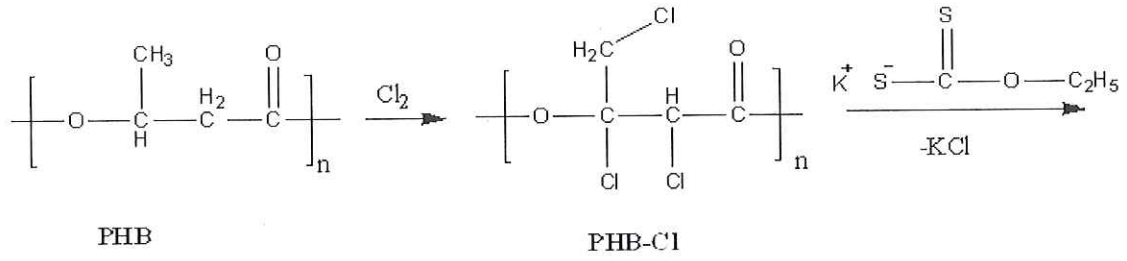
Kod	PHB -Xa Makro RAFT Ajan (g)	MR- NİPAM (g)	P(NİPAM) (g)	Kitosan (g)	AIBN (mg)	Toluen (ml)	Süre (h)	Sıcaklık (°C)	Elde edilen miktar (g)
EM 10	0,30	-	0,90	-	40	8	16	90	1,12
EM 12	0,20	-	0,30	-	40	8	16	90	0,45
EM 13	1,01	-	1,01	-	50	8	16	90	1,94
NMC 1	-	0,50	-	0,50	50	-	17	110	0,85
NMC 2	0,50	-	0,50	0,52	60	-	17	110	1,03
NMC 3	0,50	-	0,51	0,50	60	-	17	110	1,34



Şekil 3.3. PHB-g-NIPAM polimerinin oluşum reaksiyonu

PHB-g-PNIPAM ısıya duyarlı konjugatları makro RAFT maddesi olarak PHB-kseptat türevleri ile NIPAM'ın çözelti içinde polimerizasyonu ile elde edilmiştir. Polimerizasyon reaksiyonlarının sonuçları ve koşulları Çizelge 3.3' de tablo haline getirilmiştir.

PHB-g-PNIPAM graftlı kopolimerleri ve PNIPAM bloklarının karakteristik sinyalleri ^1H NMR spektrumları gözlemlendi. Şekil 3.6 PHB-g-PNIPAM graft kopolimerinin ^1H NMR spektrumunu gösterir. NIPAM'ın 4.0 ppm ($-\text{NCH}(\text{CH}_3)_2$) karakteristik NMR sinyalleri gözlemlenmiştir.



Şekil 3.4. Üçlü graft kopolimerin oluşum reaksiyonu

Çizelge 3.4. Kopolimerlerin farklı çözücülerde çözünmesi

Kod	% 5 AcOH	CH ₂ Cl ₂	% 5 AcOH + CH ₂ Cl ₂	H ₂ O
Polimer				
PHB-g-PNIPAM-g-Kitosan NMC 1	-	-	-	-
PHB-g-PNIPAM-g-Kitosan NMC 2	-	-	-	-
PHB-g-PNIPAM-g-Kitosan NMC 3	-	-	-	-

PHB-g--Chitosan %2' lik ACOH ve CHCl₃' de çözünürken, sentezlenen PHB-g-PNIPAM-Chitosan graft kopolimerleri %2' lik ACOH ve CHCl₃' de çözünmemekte ve suda şişmektedir. Kitosanın iskeletindeki serbest reaksiyona girmeyen amino grupları Kitosana asetik ortamda çözünebilirlik sağlamaktadır. Diğer bir ifadeyle serbest amino gruplarının sayısı azaldıkça polimerin çözünebilirliği de azalmaktadır. Graft kopolimerleri çözünebilirlik test sonuçları Çizelge 3.4' de gösterildiği gibidir. PHB-g-PNIPAM-g-Kitosan ın 1723 cm⁻¹, de ester gruplarının karbonil pikini, 1647 cm⁻¹ de amit 1 ve amit 2, 1459 cm⁻¹, de amit -NH- gruplarına ait pik ise 3299 cm⁻¹bağlarına ait piki göstermektedir.

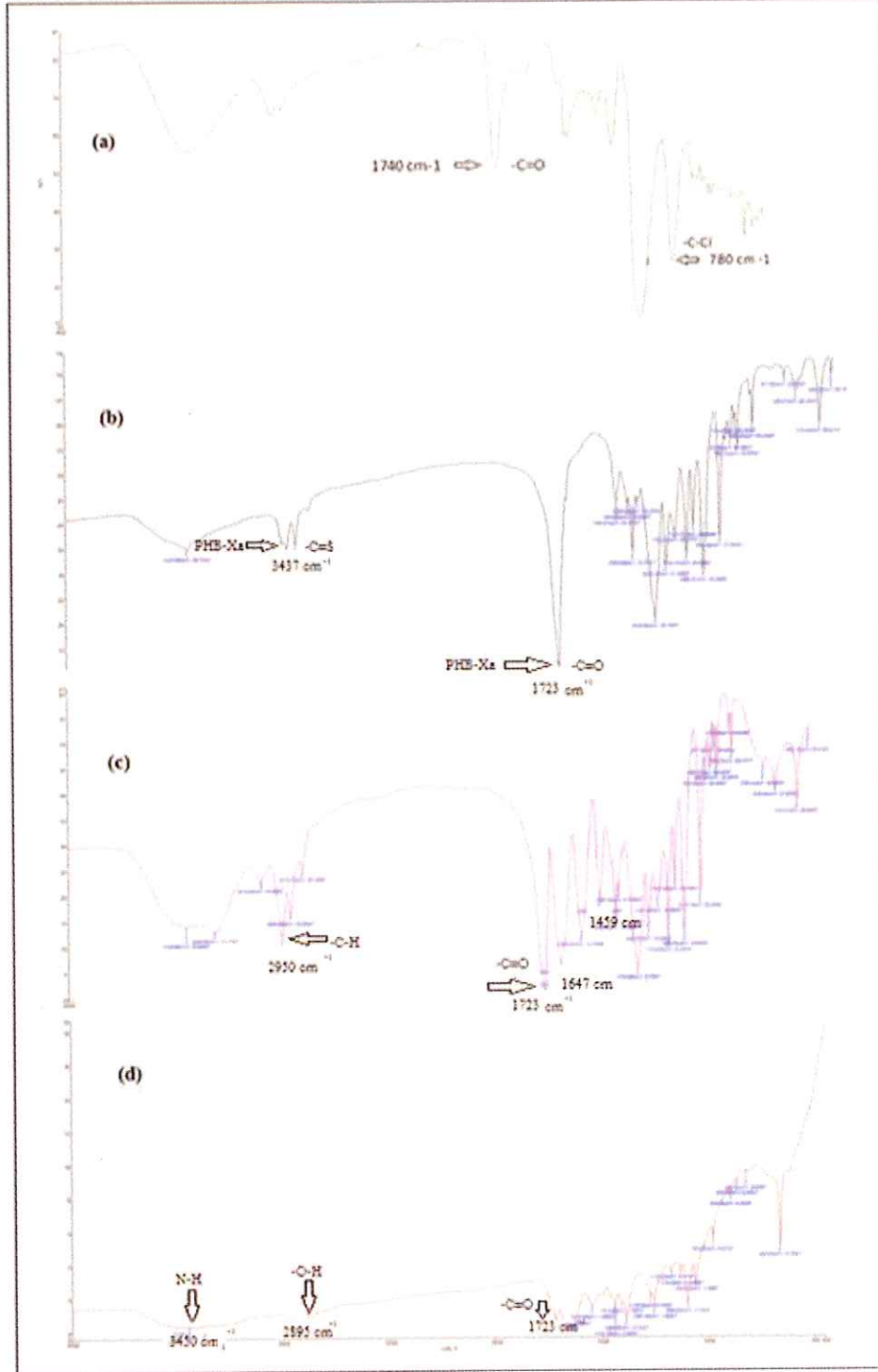
Kopolimerlerin şişme oranları Bölüm 2.3.5' de açıklandığı gibi hesaplanmış ve tablo haline getirilmiştir.

Çizelge 3.5. Kopolimerlerin sudaki şişme oranları

Kod	Miktar (g)	Şişme Oranı (1. saat) %	Şişme Oranı (24. saat) %
PHB-g-PNIPAM-g-Kitosan NMC 1	0,01	185,11	210,64
PHB-g-PNIPAM-g-Kitosan NMC 2	0,01	260,56	402,11
PHB-g-PNIPAM-g-Kitosan NMC 3	0,02	464,34	851,42

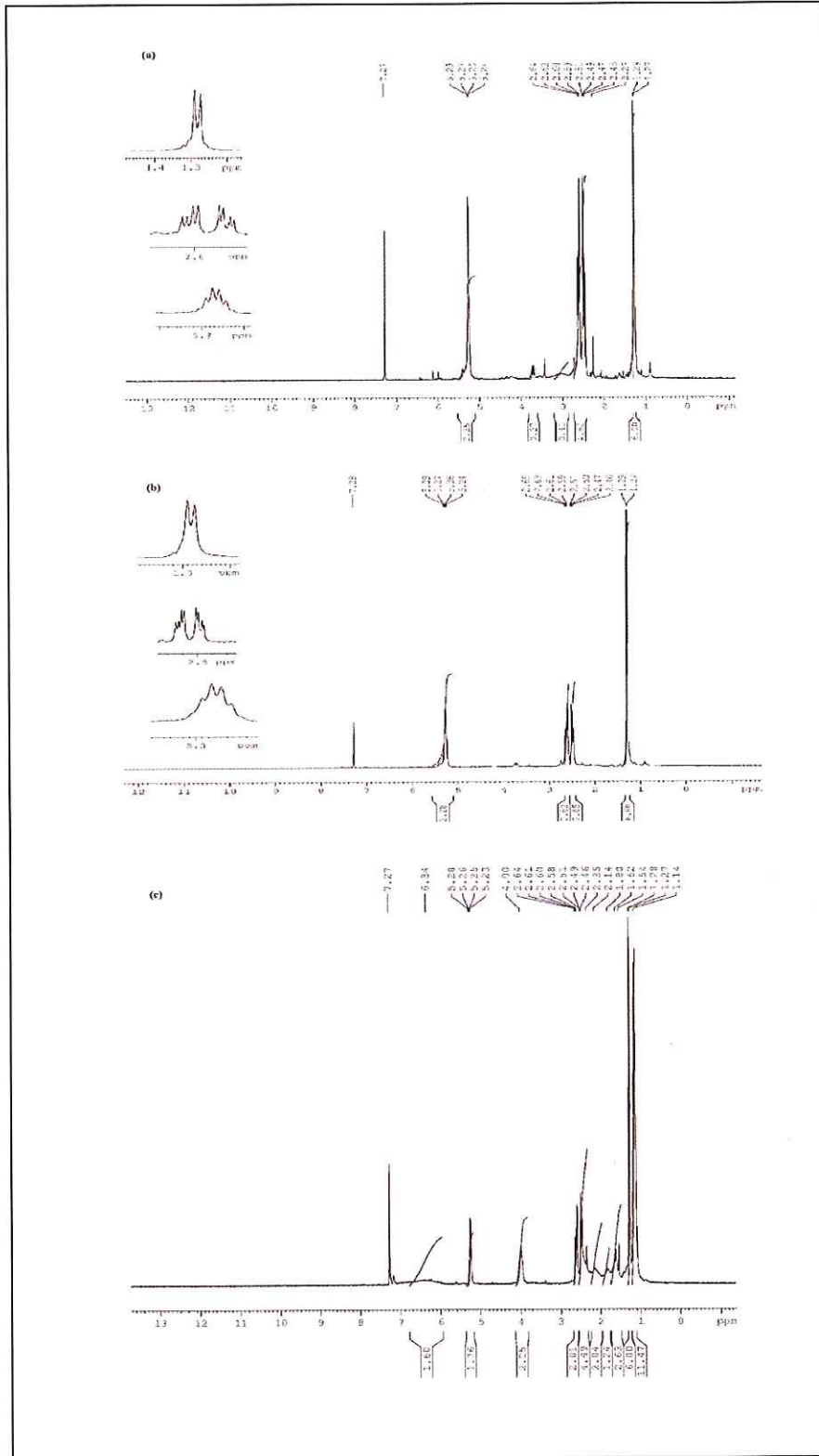
3.4. Kopolimerlerin Spektroskopik Yöntemlerle Karakterizasyonu

3.4.1. FTIR Analizleri



Şekil 3.5. Elde edilen bazı kopolimerlerin FTIR spektrumları (a) PHB-Cl, (b) PHB-Xa, (c) PHB-c-PNIPAM, (d) PHB-g-PNIPAM-Kitosan

3.4.2. ^1H NMR Analizleri



Şekil 3.6. Bazı polimerlerin ^1H NMR spektrumu (a) PHB-Cl, (b) PHB-Xa, (c) PHB-g-PNIPAM

3.5. Kopolimerlerin Isıl Özellikleri

Çizelge 3.6. Graft kopolimerlerin termal analiz sonuçları

Kod	DSC (°C)						
	T _{m1}	T _{m2}	T _{m3}	T _{m4}	T _{m5}	T _{m6}	T _{gl}
PNIPAM	137						
Chitosan	123						
PHB	180						4
PHB-Cl	113,87	129,77	153,91	281,11			
PHB-Xa (MR 3)	118,49	131,68	156,26	277,0			
PHB-Xa (MR 4)	57,32	115,74	128,70	151,44	175,14	292,29	
(PHB-gPNIPAM) EM 10	78,71	140,54	161,64				244,36
EM 12	65,86	123,23	138,14	160,59	283,03		
EM 13	80,81	117,68	134,44	153,71	285,51		
NMC1	58,77	79,50	131,88				
NMC 2	102,41	137,42	241,68	276,78			
NMC 3	68,44	129,11	282,42				

T_m: Erime sıcaklığı

T_g: Camı geçiş sıcaklığı

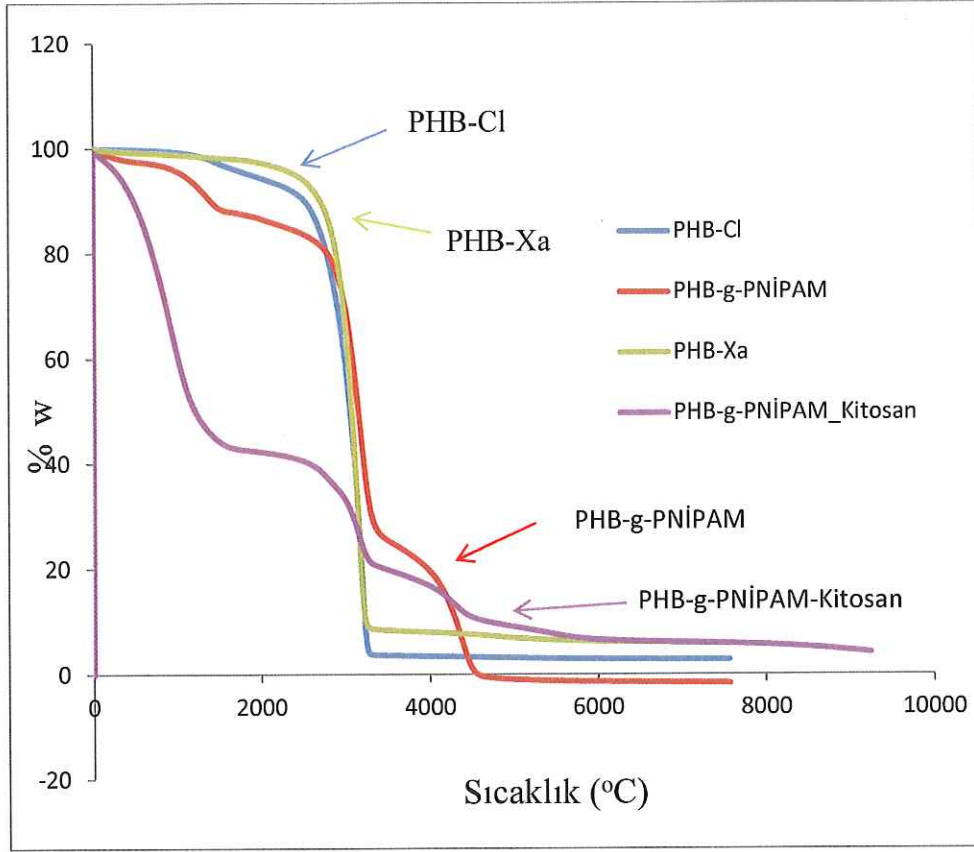
Çizelge 3.7. Graft kopolimerlerin TGA analizi sonuçları

Kod	TGA (°C)							
	T _{d1}	Ağır. kaybı %	T _{d2}	Ağır. kaybı %	T _{d3}	Ağır. kaybı %	T _{d3}	Ağır. Kaybı %
PNIPAM	431							
Chitosan	308							
PHB								
PHB-Cl	120	10 nem kaybı	210-300	85				
PHB-Xa (MR 3)	100-200	7 nem kaybı	200-285	83				
PHB-Xa (MR 4)	120	8 nem kaybı	200-300	87				
(PHB-gPNIPAM) EM 10	85	8 nem kaybı	205	4	270-320	23	360-430	60
(PHB-gPNIPAM) EM 12	140	5 Nem kaybı	200	10	240-310	57	370-420	33
(PHB-gPNIPAM) EM 13	120	12 Nem kaybı	230-310	50	350-420	25		
PHB-NIPAM-Chitosan NMC1	100	88 Nem kaybı	160	13				
PHB-NIPAM-Chitosan NMC 2	90	45 Nem kaybı	200-300	30				
PHB-NIPAM-Chitosan NMC 3	90	65 Nem kaybı	160-300	18	35-420	6		

T_d: Bozunma sıcaklığı

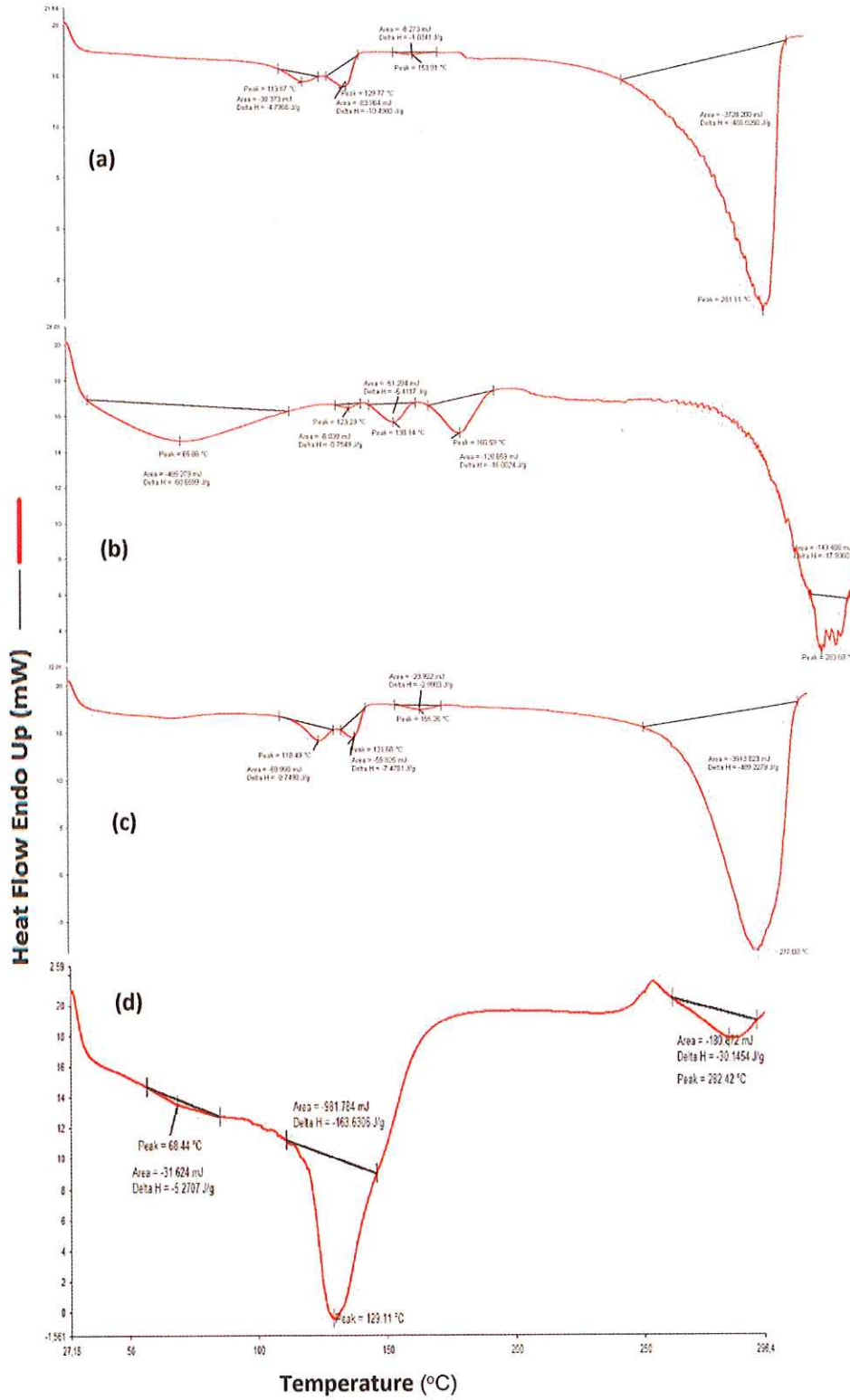
Klorlanmış PHB, PHB-Xa Makro RAFT ajanı, PHB-g-PNIPAM kopolimerleri ile elde edilen graft kopolimerlerin DSC ve TGA gibi termal analiz teknikleri kullanılarak analiz edilmiştir. 137°C' de saf PNIPAM T_g' sinden daha düşük olan PHB-g-PNIPAM DSC termogramları, yaklaşık 58-100 °C arasında geniş bir camı geçiş sıcaklıkları (T_g) göstermektedir.

3.5.1. TGA Analizleri



Şekil 3.7. Bazı polimerlerin TGA eğrileri

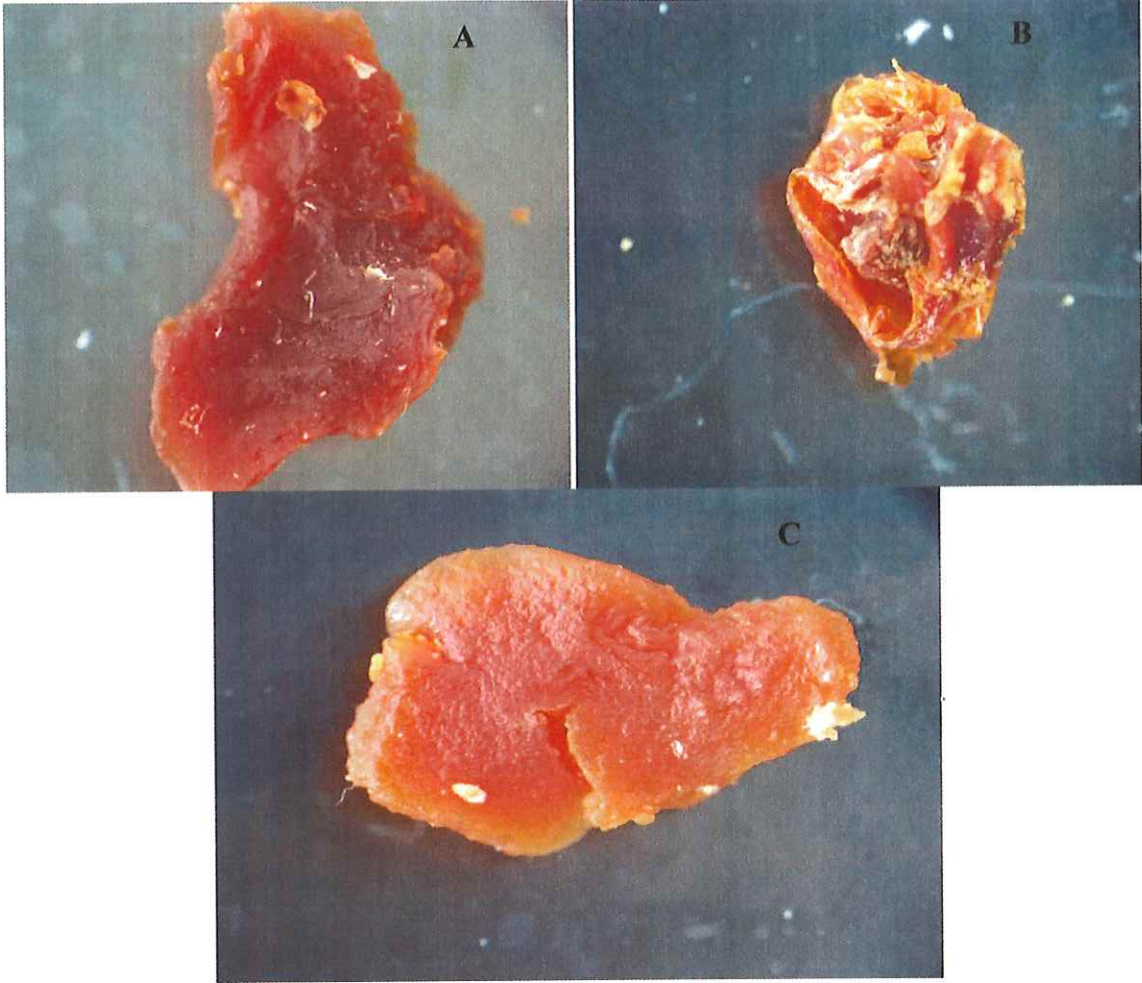
3.5.2. DSC Analizleri



Şekil 3.8. Bazı polimerlerin DSC termogramları (a) PHB-Cl, (b) PHB-g-PNIPAM, (c) PHB-Xa, (d) PHB-g-PNIPAM-g-Kitosan

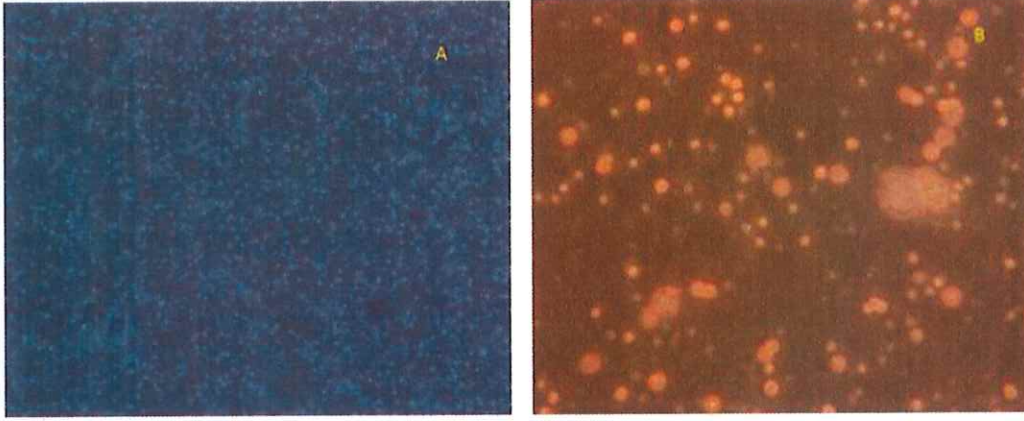
3.6. Kopolimerlerin İlaç Yükleme ve Salımı Çalışmaları

Elde edilen ilaç yüklü polimerik jeller ve nano kürelerin mikroskop görüntüleri Şekil 3.9 ve Şekil 3.10' da görülmektedir. Kopolimerlerin ilaç yükleme oranları Çizelge 3.8' de görüldüğü gibidir. İlaç yüklenen kopolimerlerin % ilaç yükleme grafiği ve % ilaç salınım grafikleri sırasıyla Şekil 3.11, Şekil 3.12 ve Şekil 3.13' de gösterilmiştir.



Şekil 3.9. Elde edilen ilaç yüklü PHB-g-PNIPAM-g-Kitosan kopolimerlerin mikroskop görüntüleri

A) NMC1 2h (16x) B) NMC2 2h (16x) C) NMC3 2h (16x)



Şekil 3.10. Elde edilen nano kürelerin mikroskop görüntüleri
A) İlaç yüksüz PHB-g-NIPAM
B) İlaç yüklü PHB-g-NIPAM

Çizelge 3.8. Kopolimer tiplerine göre % ilaç yükleme oranları

Kopolimer tipi	İlaç yükleme oranı (%)	
	2. saat	24. saat
NMC 1	99,4	94,8
NMC 2	98,6	94,9
NMC 3	97,3	94,9
EM 60*	99,5	-

* nano küre ilaç yükleme işlemi 3200 rpm de yapıldı.

Çizelge 3.9. Mikro/Nano kürelerin eldesi

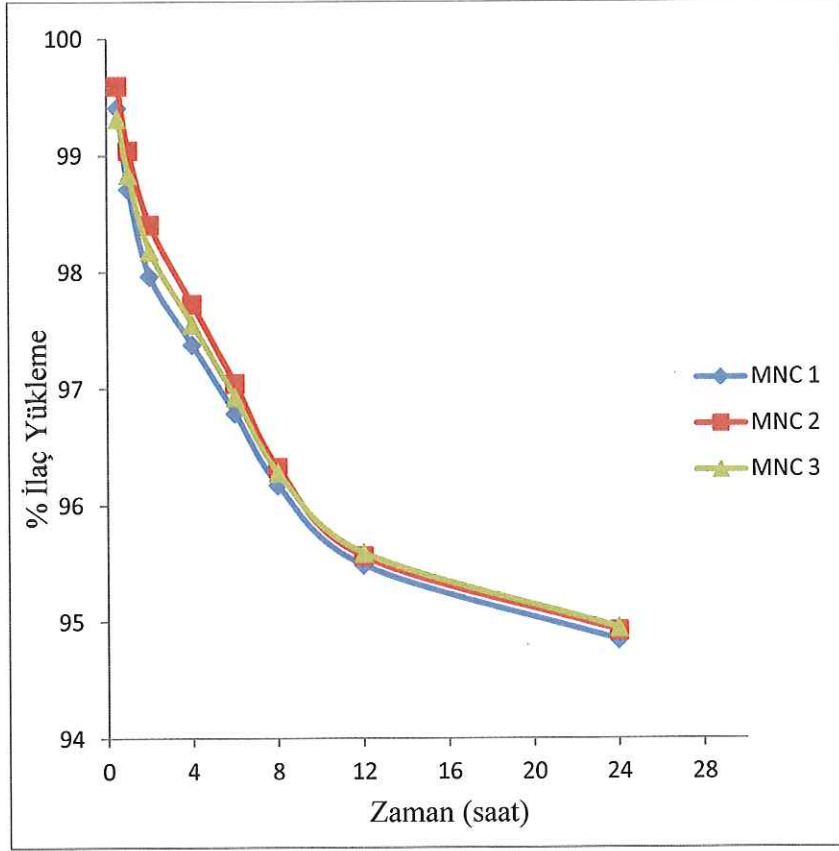
Kod	PHB-g-NIPAM (g)	PVA (g)	Paclitaxel (mg)
EM 51	0,2542	0,2503	-
EM 60	0,2556	0,2522	5

Çizelge 3.10. Boş ve paclitaxel yüklü PHB-g-PNIPAM Kopolimerinin nano küre çapları

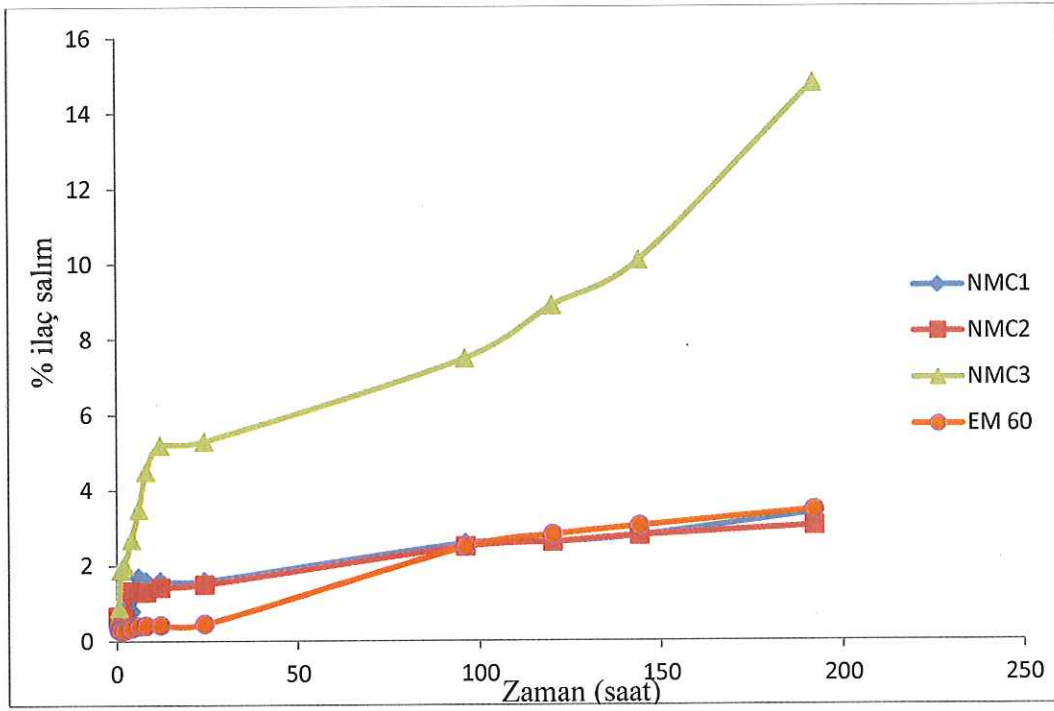
Numune Kod	Kopolimer Tipi	Nanoküre çapı	PDI*
EM 51	PHB-g-PNIPAM boş	129,8	1,000
EM 60	PHB-g-PNIPAM(ilaç yüklü)	236,5	1,000

* Poly dispersity index

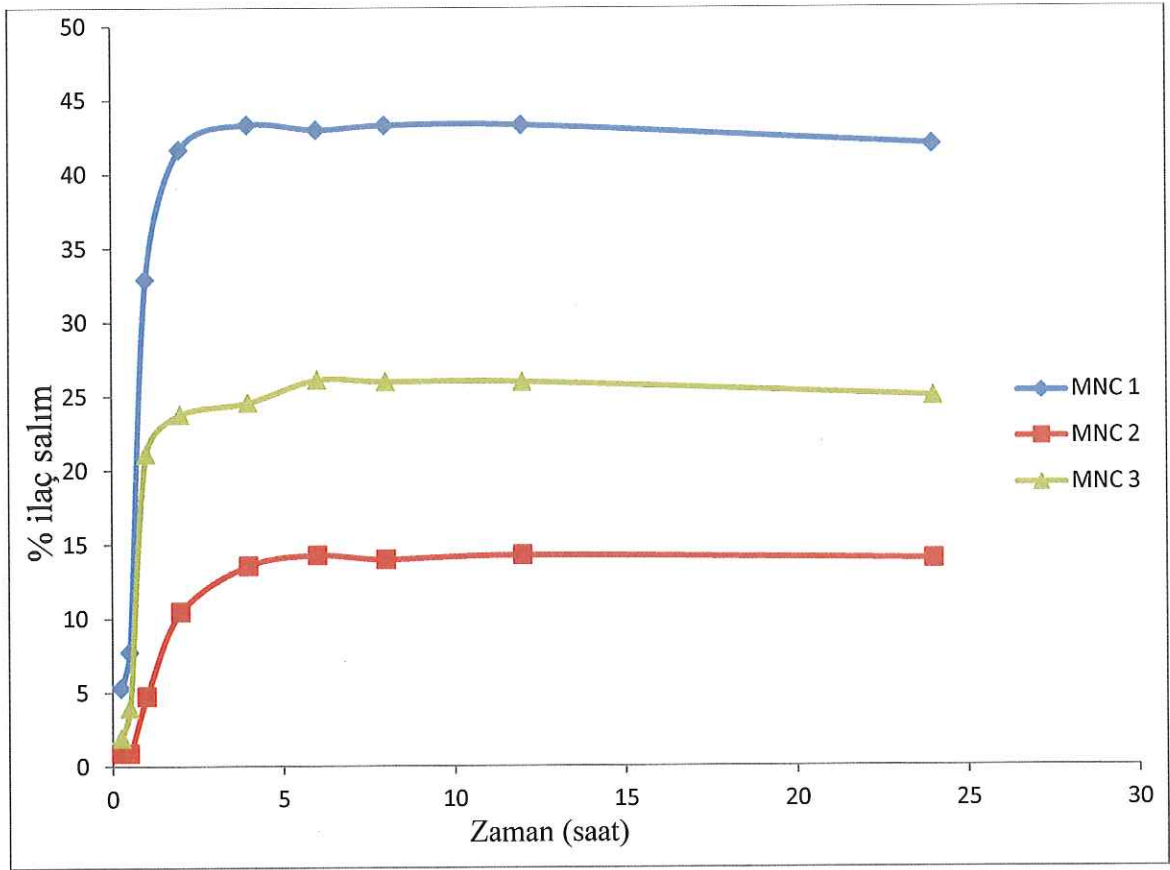
Bütün deneylerde karıştırma oranı 3200 rpm (3 saat)PVA konsantrasyonları 5 mg/mL
Polimer 5 ml CHCl₃ de çözüldü.



Şekil 3.11. 37 °C Kopolimerlerin % ilaç yükleme grafiği

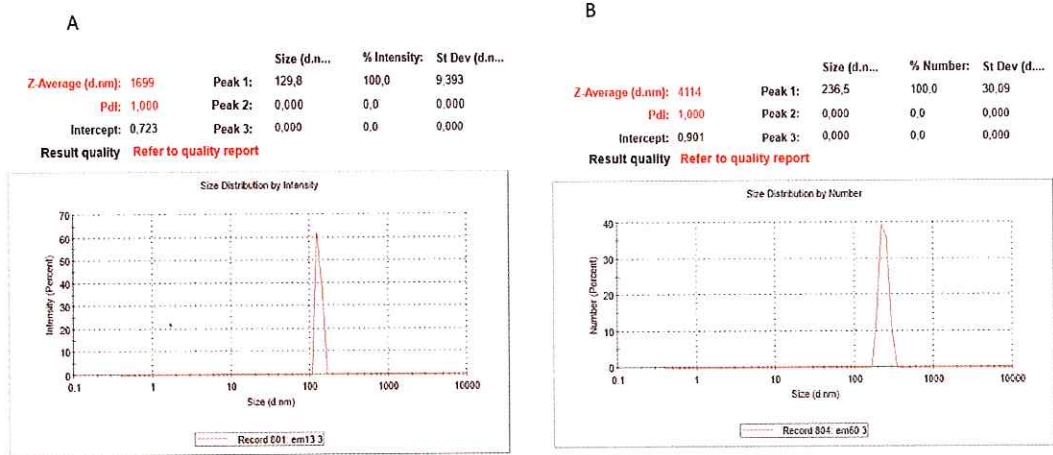


Şekil 3.12. 25 °C deki Kopolimerlerin % ilaç salınım grafiği



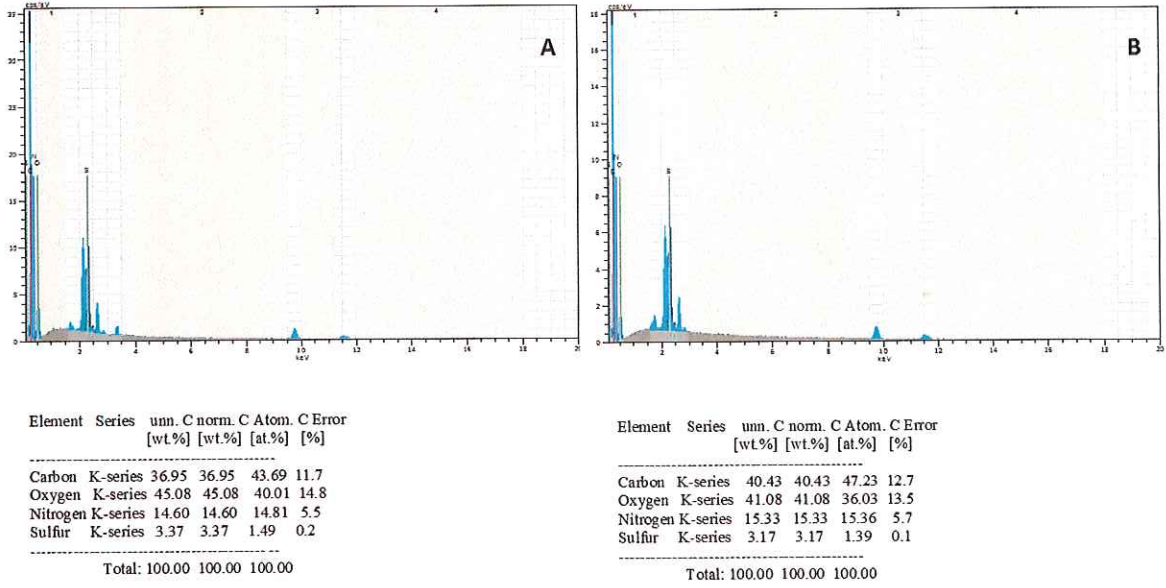
Şekil 3.13. 37 °C deki Kopolimerlerin % ilaç salım grafiği

3.6.1. DLS Analizleri



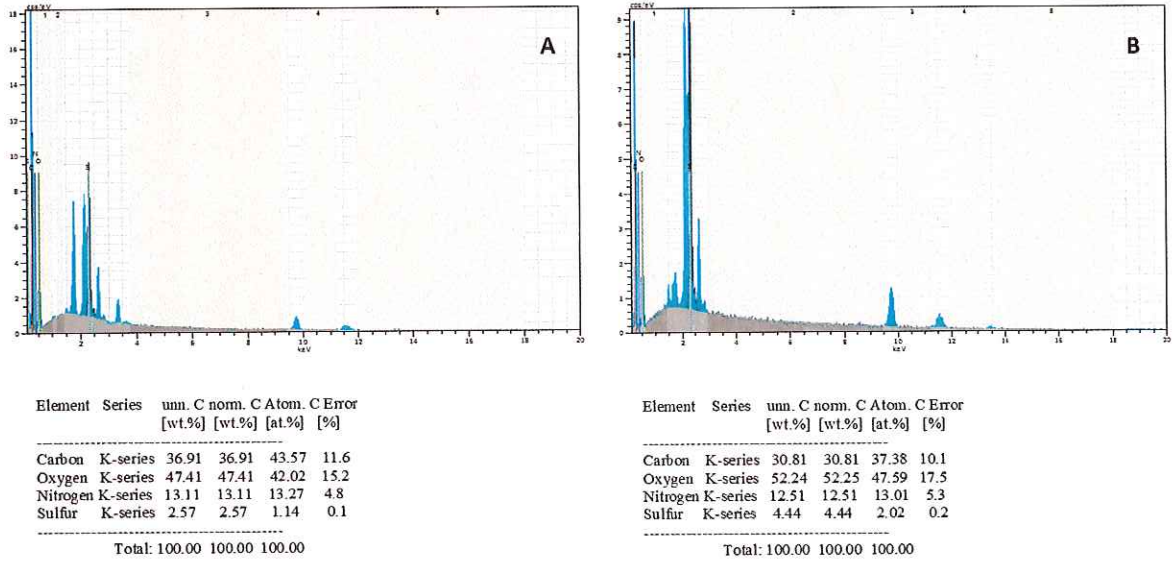
Şekil 3.14. A) ilaç yüksüz EM 51 B) İlaç yüklü EM 60 nano kürelerin DLS grafikleri

3.6.3. EDX Analizleri



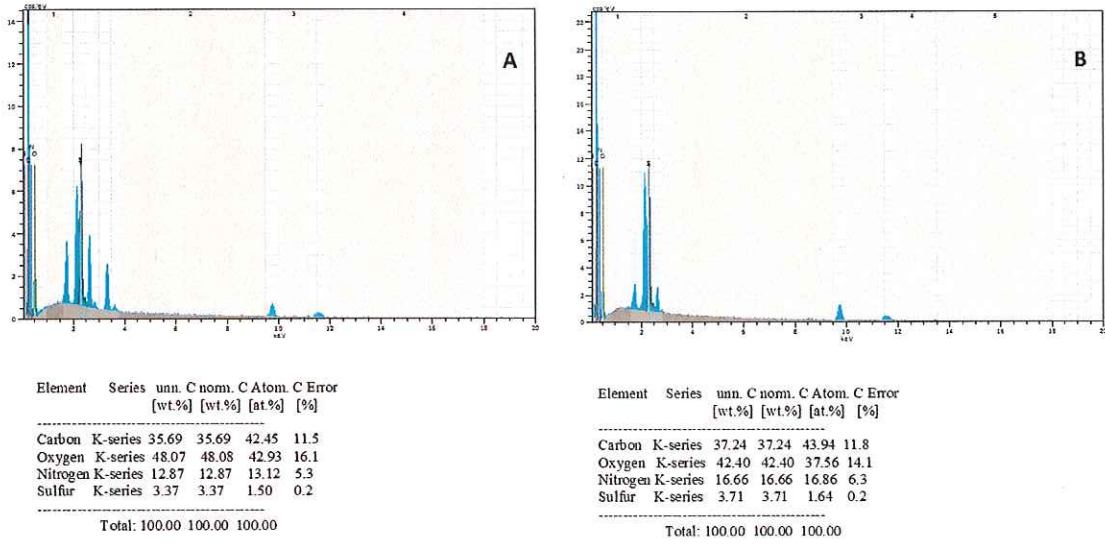
Şekil 3.15. PHB-g-PNIPAM-Chitosan kod:(MNC 1) kopolimerinin EDX grafiği

A) İlaç yüksüz, B) İlaç yüklü



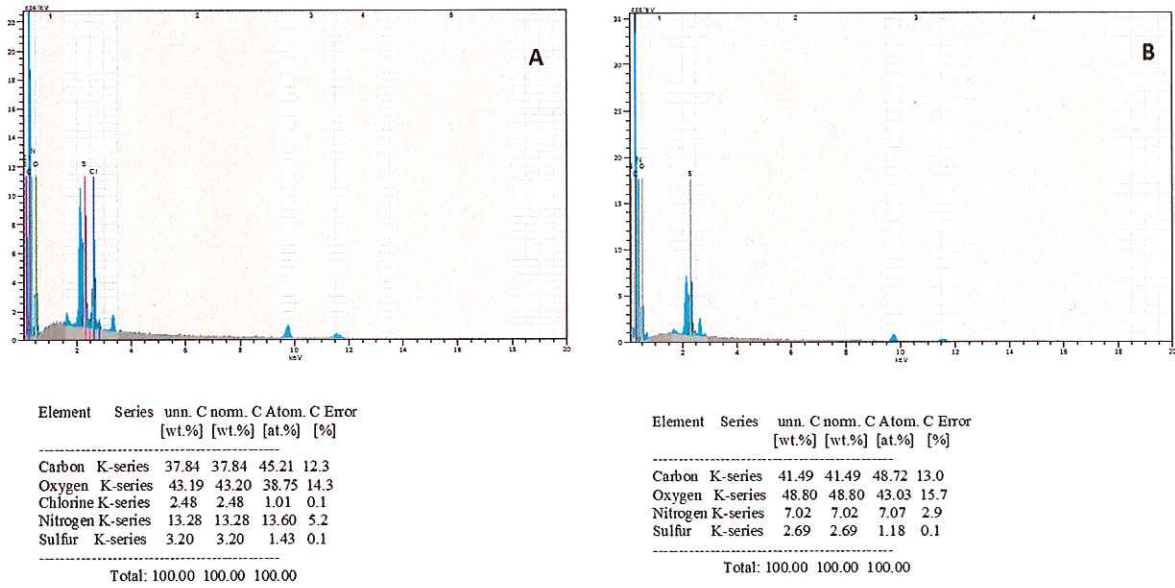
Şekil 3.16. PHB-g-PNIPAM-Chitosan kod:(MNC 2) kopolimerinin EDX grafiği

A) İlaç yüksüz, B) İlaç yüklü



Şekil 3.17. PHB-g-PNIPAM-Chitosan kod:(MNC 3) kopolimerinin EDX grafiği

A) İlaç yüksüz, B) İlaç yüklü



Şekil 3.18. PHB-g-PNIPAM (kod: EM 51 - EM 60) mikro/nano kürelerinin EDX görüntüleri

A) EM 51 ilaç yüksüz nano küre

B) EM 60 ilaç yüklü nano küre

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bakteriyel polyesterler yenilenebilir kaynaklardan elde edilebilen biyobozunur ve biyoyumlu doğal polimerlerdir. Kullanım alanlarının çeşitliliğini artırmak için modifikasyon reaksiyonları günümüzde büyük bir öneme sahiptir.

Bu tez kapsamında; Bakteriyel polyester olan polihidroksi bütirat (PHB), sıcaklığa duyarlı akrilik bir monomer N-isopropil akril amid ve doğal polimer olan kitosanın çözünebilir ve çözünmeyen (hidrojel) graft kopolimerleri raft polimerizasyonu yöntemi ile elde edildi. Elde edilen çözünebilir bu kopolimerlerin mikro/nanoküreleri elde edildi. Elde edilen bu mikro/nanoküreler ve hidrojellere ilaç yüklemesi yapıldı. Model ilaç olarak kanser ilacı olan paklitaksel seçildi. Paklitaksel yüklü mikro/nanokürelerin ilaç salım deneyleri yapıldı.

Öncelikle graft kopolimer eldesi için; PHB-Cl, $\text{CHCl}_3/\text{CCl}_4$ karışımı (75/25 v/v) içindeki PHB çözeltisi içinden Cl_2 gazı geçirilmesi yoluyla hazırlandı. PHB'nin klorlanması için sonuçlar ve başlangıç koşulları Çizelge 3.1' de listelendi. Klorlanmış PHB içindeki klor içerikleri klorlama reaksiyonu zamanı ve kullanılan Cl_2 gazının başlangıç miktarı değiştirilerek farklı örnekler elde edildi (Çizelge 3.1). Daha çok klorlanmış örnekler içerisinde çok klorlu yan zincirli örnekler oluşturuldu. Klorlanmış PHB'nin molekül ağırlığının klorlama reaksiyonu için kullanılan PHB'ninkine göre daha düşük olduğu gözlemlendi. Bu gözlem klorlama prosesi sırasında hidrolize atfedildi. Bunun yanında klorlu PHB'nin (PHB-Cl) molekül ağırlığındaki düşmenin PHB içerisindeki klor miktarının (yüzdesinin) artması ile arttığı literatür çalışmalarıyla da (Arkın vd., 2002) desteklenmektedir. Klorlanmış PHB'nin spektroskopik karakterizasyonu FTIR analiziyle gerçekleştirilmiştir. PHB-Cl'un FTIR spektrumu içerisinde; PHB'nin karakteristik absorpsiyon sinyallerine ilave olarak 780 cm^{-1} de gözlenen C-Cl' ye karşılık gelen absorpsiyon sinyali PHB-Cl yapısının oluşumunu onaylamaktadır (Şekil 3.5).

Klorlanan PHB potasyum etil ksantat ile makroraft ajanı elde edildi. PHB' a klor katılmış, halojen uçları ksantat grupları ile reaksiyona sokularak polyester esaslı yeni bir makro RAFT ajanı elde edilmiştir. Elde edilen makroraft ajanının yapı nalizi FTIR ile doğrulandı PHB makroraft ajanı N-isopropil akril amid ile reaksiyonundan çözünebilir PHB-g-PNIPAM kopolimerleri elde edildi. Üstelik PHB makro RAFT ajanı ile PNIPAM ve kitosan aynı anda $110 \text{ }^\circ\text{C}$ polimerleştirilerek PHB-PNIPAM-kitosan graft kopolimerleri (hidrojeller) elde edildi. . Kullanılan bakteriyel polyesterin ditiyo karbonat uçları N-izopropil

akril amidin RAFT polimerizasyonunu başlatmasıyla da yeni bir tarak tipi amfifilik graft kopolimer elde edilmiştir. Elde edilen bu amfifilik polimerlerin yapıları FTIR, ¹HNMR ve molekül ağırlıkları GPC, termal analizi DSC ve TGA yöntemi ile belirlendi.

Sentezlenen çözünebilen PHB-g-PNIPAM kopolimerlerinin nanoküreleri elde edildi. PHB-g-PNIPAM-g-Kitosan graft kopolimerler, hidrojelere oda sıcaklığında ve 37 °C' de ilaç yüklemesi yapıldı. İlaç yüklemesi yapılan ve ilaç yüksüz nanokürelerin boyutları zeta-sizer (DLS) ile belirlendi. PHB-g-PNIPAM ve PHB-g-PNIPAM-g-Kitosan hidrojelere İlaç yüklemesi yapıldığı aynı zamanda FTIR ve SEM-EDX ile doğrulandı. İlaç yüklü nano küre boyutlarının ilaç yüksüz nano kürelere oranla daha büyük olduğu gözlemlendi. Nanokürelerin ve hidrojellerin reolojik yapıları optik ve SEM ile görüntülendi.

İlaç yüklü nanokürelerin ve hidrojellerin ilaç salım deneyleri oda sıcaklığında yapıldı ve salım miktarları UV-vis. ile belirlendi ve % salım değerleri hesaplandı.

KAYNAKLAR

- Allen, C., Maysinger, D., Eisenberg, A., 1999. Colloids Surf. B.: *Biointerfaces*, 16, 3-10.
- Arkin, A.H., Hazer, B., 2002. Chemical modification of chlorinated microbial polyesters. *Biomacromolecules.*, 3, 1327-1335.
- Asmatulua, R., Zalich, M.A., Clausa, R.O., Riffle, J.S., 2005. Synthesis, characterization and targeting of biodegradable magnetic nanocomposite particles by external magnetic fields. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 292, 108–119.
- Baines, F.L., Dionisio, S., Billingham, N.C., Armes, S.P., 1996. Use of block copolymer stabilizers for the dispersion polymerization of styrene in alcoholic media. *Macromolecules*, 29, 3096-3102.
- Basan, S., 2001. Polimer Kimyası, Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları, Sivas, 367.
- Baysal, B., 1994, Polimer Kimyası, Gazi Kitapevi, Ankara, 510.
- Beşergil, B., 2008, Polimer Kimyası, Gazi Kitapevi, Ankara, 490.
- Bluhm, T.L., Malhotra, S.L., 1986. Poly(styrene-*b*-isoprene) micelles effect of molecular weight on micelle size. *European Polymer Journal*, 22, 249-251.
- Braunecker, W.A., Matyjaszewski, K., 2007. Controlled/living radical polymerization: Features, developments, and perspectives. *Progress in Polymer Science*, 32, 93–146.
- Braunegg, G., Lefebvre, G., Genser, K.L., 1998. Polyhydroxyalkanoates, biopolyesters from renewable resources: Physiological and engineering aspects. *Journal of Biotechn.*, 65, 127-161.
- Bulmus V., Patir S., Tuncel S.A., Pıksin E., 2001. Stimuli-responsive properties of conjugates of N-isopropylacrylamide-co-acrylic acid oligomers with alanine, glycine and serine mono-, di- and tri- peptides. *Journal of Controlled Release*, 76, 265-274.
- Chen G., Hoffman A.S., 1995. Temperature-induced phase-transition behaviors of random vs graft-copolymers of n-isopropylacrylamide and acrylic-acid. *Macromolecular Rapid Communications*, 16, 175-182.
- Chicfari, J., Chong, Y.K., Ercole, F., Krstina, J., Jeffery, J., Le, T.P.T., 1998. Living freeradical polymerization by reversible addition–fragmentation chain transfer: the RAFT process. *Macromolecules*, 31(16), 5559-5562.
- Çakmaklı, B., 2003. Polimetil Metakrilat ve Polistirenin Bazı Biyosentetik Polimerlere Graft Kopolimerizasyon. Yüksek Lisans Tezi. Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Zonguldak, Türkiye
- Darling, T.R., Davis, T.P., Fryd, M., Gridnev, A.A., Haddleton, D.M., Ittel, S.D., 2000. Living polymerization: rationale for uniform terminology. *Journal of Polymer Science, Part A*, 38(10), 1706-1708.

- Erduranlı, H., Hazer, B., Borcaklı, M., 2008. Post polymerization of saturated and unsaturated poly(3-hydroxy alcanoate)s. *Macromolecular Symposia*, 26, 161–169.
- Erduranlı, Y., 2008. Poli-3-Hidroksi Alkanoatlara Hidroksil, Karbonil, Brom Gruplarının Katılması Ve Poli Etilen Glikol'lerle Blok Kopolimerlerinin Sentezi, Yüksek Lisans Tezi. Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Zonguldak, Türkiye
- Gan, T., Zhang, Y., Guan, Y., 2009. In Situ Gelation of P(NIPAM-HEMA) microgel dispersion and its applications as injectable 3D cell scaffold. *Biomacromolecules*, 10, 1410–1415.
- Grainger, D., Okano, T., Kim, S.W., 1989. In vitro and ex vivo platelet interactions with hydrophilic-hydrophobic poly(ethylene oxide)-polystyrene multiblock copolymers. *Journal of Biomedical Materials Research*, 23(9), 979-1005.
- Harth, E., Van Horn B., Hawker, C.J., 2001. Acceleration in nitroxide mediated 'living' free radical polymerizations. *Chemical Communication*, 1(9), 823-824.
- Hawker, C.J., Bosman, A.W., Harth, E., 2001. New polymer synthesis by nitroxide mediated living radical polymerizations. *Chemical Reviews*, 101(12), 3661-3688.
- Hazer, B., 2010. Amphiphilic poly(3-hydroxy alcanoate)s: potential candidates for medical applications. *International Journal of Polymer Science*, 8, 423-460.
- Hazer, B., Savaşkan, S., 1998. Cross-linked multicomponent copolymers with macromonomer peroxyinitiators (MMPI). *European Polymer Journal*, 34, 863-870.
- Herdman R.C., 1993. Biopolymers: Making materials nature's way. OTA-BP-E-102, U.S.(ed.Congress, O.o.T.A.), U.S. Government Printing Office, Washington, DC, ISBN0-16042098-9.
- Hoare, T., Timko, B.P., Santamaria, J., Goya, G.F., Irusta, S., Lau, S., Stefanescu, C.F., Lin, D., Langer, R., Kohane, D.S., 2011. Magnetically triggered nanocomposite membranes: A versatile platform for triggered drug release. *Nano Letters*, 11, 1395–1400.
- Holmes P. A., 1985. Applications of PHB–A microbially produced biodegradable thermoplastic. *Physics in Technology*, 16, 32-36.
- Holmes, P.A., 1988. Biologically produced (R)-3-hydroxy alcanoate polymers and copolymers in developments in crystalline polymers. (ed. Basset, D.C.). *Applied Science*, London, 1-65.
- Hua, D., Jiang, J., Kuang, L., Jiang, J., Zheng, W., Liang, H., 2011. Smart chitosan-based stimuli-responsive nanocarriers for the controlled delivery of hydrophobic pharmaceuticals. *Macromolecules*, 44, 1298–1302.
- Huang, J.C., Shetty, A.S., Wang, M.S., 1990. Biodegradable plastics: a review. *adv. Polymers for Advanced Technologies*, 10, 23-30.
- Jadhav, K.K., Reddy, G.A., Anil, Y., 2012. Determination of absorption maxima (λ_{max}) and beer lamberts range for paclitaxel by uv-visible spectrophotometer. *Chowdary International Journal of Universal Pharmacy and Life Sciences* 2(2), 2249-6793.

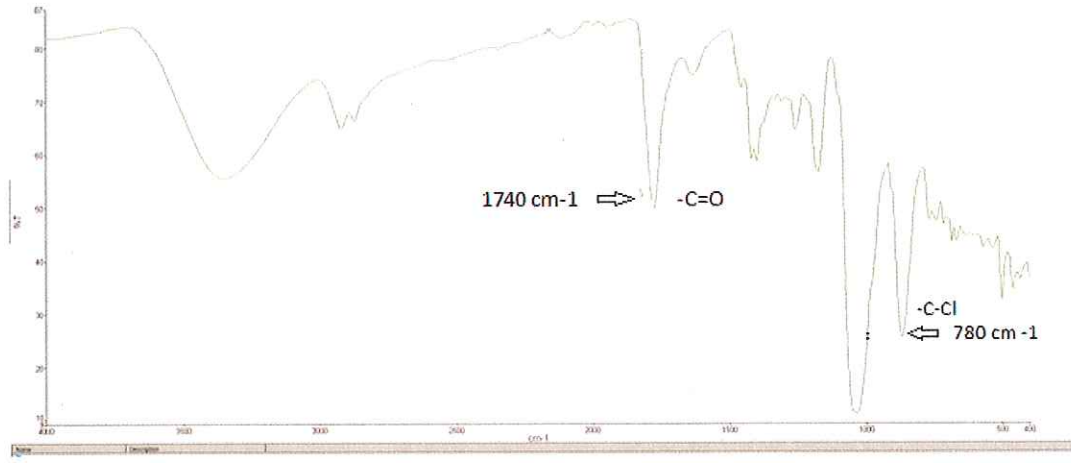
- Jan, C.M., Van, H., 2007. Biosynthetic-synthetic polymer conjugates. *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews*, 47, 63–92.
- Kabanov, A.V., Alakhov, V.Yu., 2002. Pluronic block copolymers in drug delivery: from micellar nanocontainers to biological response modifiers. *Critical Reviews In Therapeutic Drug Carrier Systems*, 19(1), 1-72.
- Kamigaito, M., Ando, T., Sawamoto, M., 2001. Metal-catalyzed living radical polymerization *Chemical Reviews*, 101, 3689–3745.
- Kaplan, D.L., Mayer, J.M., Ball, D., McCassie, J., Allen, A.L., Stenhouse, P., 1993. Fundamentals of biodegradable polymers, in: biodegradable polymers and packaging. *Technomic Publishing Company, Inc.*, Basel, 1-42.
- Kataoka, K., Kwon, G.S., Yokoyama, M., Okano, T., Sakurai, Y., 1993. Block copolymer micelles as vehicles for drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 24, 119.
- Katayama S., 1992. Chemical condition responsible for thermoswelling or thermoshinking type of volume phase transition in gels: effect of relative amounts of hydrophobic to hydrophilic groups in the side chain. *The Journal of Physical Chemistry*, 96, 5209-5210.
- Kim, K., Kim, T.H., Choi, J.H., Lee, J.Y., Hah, S.S, Yoo, H.O., Hwang, S.S., Ryu, K.N., Kim, H.J., Kim, J., 2010. Synthesis of a pH sensitive PEO-based block copolymer and its application for the stabilization of iron oxide nanoparticles. *Macromolecular Chemistry And Physics*, 211(10), 1127-1136.
- Kotaka, T., Tanaka, T. Inagaki, H., 1972. Thermodynamic and Conformational Properties of Styrene–Methyl Methacrylate Block Copolymers in Dilute Solution. IV. Behavior of Diblock and Triblock Copolymers in Selective Solvents. *Polymer Journal*, 3, 327-337.
- Kowollik, Christopher Barner Handbook of RAFT Polymerization, Wiley;New York; 51-56.
- Kwon, G.S., Kataoka, K., 1995. Block copolymer micelles as long circulating drug vehicles. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 16, 295–309.
- Lee, S.Y., 1996. Bacterial polyhydroxyalkanoates. *Biotechnology and Bioengineering*, 49, 1-14.
- Lee, Y., Graeser, R., Kratz, F., Geckeler, K.E., 2011. Paclitaxel-loaded polymer nanoparticles for the reversal of multidrug resistance in breast cancer cells. *Advanced Functional Materials*, 21, 4211–4218.
- Lenz, R.W., 1993. Biodegradable polymer. *Advances in Polymer Science*, 107, 1-40.
- Li, P., Zhu, A.M., Liu, Q. L., Zhang , Q.G., 2008. Fe₃O₄/Poly (Nisopropylacrylamide)/ chitosan composite microspheres with multiresponsive properties. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 47, 7700–7706.
- Liu, T.Y., Hu, S.H., Liu, K.H., Liu, D.M., Chen, S.Y., 2008. Study on controlled drug permeation of magnetic-sensitive ferrogels: effect of Fe₃O₄ and PVA. *Journal of Controlled Release*, 126, 228.

- Lootz, D., Behrend, D., Kramer, S., Freier, T., Haubold, A., Benkiesser, G., Schmitz, K.P., Becher, B., 2001. Laser cutting: influence on morphological and physicochemical properties of polyhydroxybutyrate. *Biomater*, 22, 2447-2452.
- Madison, L.L., Huisman, G.W., 1999. Metabolic engineering of poly(3 hydroxyalkanoates): from dna to plastic. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 63, 21-53.
- Matyjaszewski, K., Xia, J.H., 2001. Atom transfer radical polymerization. *Chemical Reviews*, 101, 2921-2990.
- Moad, G., Rizzardo, E., Thang, S.H., 2005. Living radical polymerization by the RAFT process. *Australian Journal of Chemistry*, 58(6), 379.
- Moad, G., Rizzardo, E., Thang, S.H., 2008. Toward living radical polymerization. *Accounts of Chemical Research*, 41 (9), 1133-1142.
- Muller, A.H.E., Zhuang, R.G., Yan, D.Y., Litvinenko, G., 1995. Kinetic-analysis of living polymerization processes exhibiting slow equilibria .I. degenerative transfer (direct activity exchange between active and dormant species) - application to group-transfer polymerization. *Macromolecules*, 28(12), 4326-4333.
- Murata, H., Sanda, F., Endo, T., 2001. Synthesis and radical polymerization behavior of methacrylamides having L-leucyl-L-alanine oligopeptide moieties. Effect of the peptide chain length on the radical polymerizability. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 202(6), 759-764.
- Otake K, Inomata H, Konno M and Saito S, 1990. Thermal-analysis of the volume phase-transition with N-Isopropylacrylamide gels. *Macromolecules*, 23, 283-289.
- Page W.J., 1992. Production of polyhydroxyalkanoates by azotobacter vinelandii UWD in beet molasses culture. *FEMS Microbiology Rev*, 103, 149-158.
- Petrovich S C, Zhang W, Ciszowska M, 2000. Preparation and characterization of thermoresponsive poly(N-isopropylacrylamide-co-acrylic acid) hydrogels: Studies with electroactive probes. *Analytical Chemistry*, 72(15), 3449- 3454.
- Potts, J.E., 1984. Environmentally degradable plastics in encyclopedia of chemical technology. *John Wiley and Sons*, New York, 626-663.
- Price, C., Chan, E.K.M., Hudd, A.L., Stubbersfield, R.B., 1986. Worm Like micelle formation by a polystyrene-b-polyisoprene block copolymer in N,N'-dimethylacetamide. *Polymer communications*, 27, 196-198.
- Qipeng, G., Tianru, F., Tianlu, C. Zhiliu, F., 1991. Compatibilizing effect of poly(ethylene oxide)-b-polystyrene-b-poly(ethylene oxide) in phenolphthalein poly(ether ether ketone)/poly(2,6-dimethyl-1,4-phenylene oxide) blends. *Polymer Communication*, 32(1), 22-24.
- Quintana, J.R., Villacampa, M., Munoz, M., Andrio, A. Katime, A., 1992. Micellization of a Polystyrene-block-poly(ethylene/propylene) Copolymer in n-alkanes. 1. Thermodynamic Study. *Macromolecules*, 25, 3125-3128.
- Riess, G., 2003. Micellization of block copolymers. *Progress in Polymer Science*, 28, 1107- 1170.

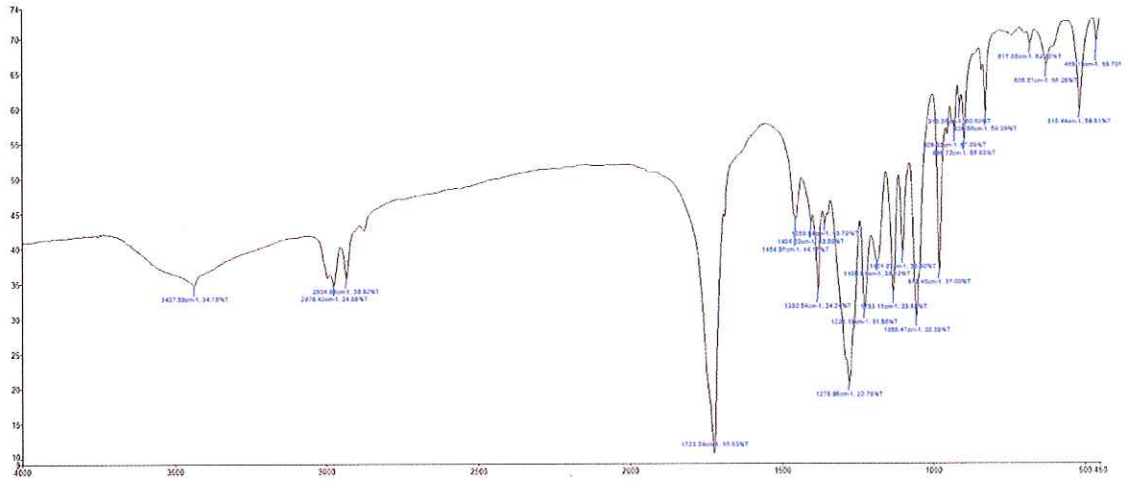
- Rydholm, A.E., Bowmana, C.N., Ansetha, K.S., 2005. Degradable thiol-acrylate photopolymers: polymerization and degradation behavior of an in situ forming biomaterial. *Biomaterials*, 26, 4495–4506.
- Saçak, M., 2002, Polimer Kimyası, Gazi Kitapevi , Ankara, 525.
- Satarkar, N.S., Hilt, J.Z., J. 2008. Magnetic hydrogel nanocomposites for remote controlled pulsatile drug release. *Journal of Controlled Release*, 130(3), 246-251
- Sens, P., Marques, C.M., Joanny, J.F., 1996. Mixed micelles in a bidisperse solution of diblock copolymers. *Macromolecules*, 29, 4880-4890.
- Sezgin, Z., Yüksel, N., Baykara, T., 2003. Preparation And Characterization Of Polymeric Micelles As Drug Carrier System. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 32 (2), 125.
- Shamim, N., Hong, L., Hidajat, K., Uddin, M.S., 2007. Thermosensitive polymer coated nanomagnetic particles for separation of bio-molecules. *Separation and Purification Technology*, 53, 164–170.
- Shiotani, A., Akiyama, Y., Kawano, T., Niidome, Y., Mori, T., Katayama, Y., Niidome, T., 2010. Bioconjugate Chemistry, 21, 11.
- Sonu, K., Saswati, G.R., Priyadarsi, D., 2012. Cationic methacrylate polymers containing chiral amino acid moieties: controlled synthesis via RAFT polymerization. *Polymer Chemistry Published*, 3, 1239.
- Sroog, C. E. 1991. Polyimides. *Progress in Polymer Science*, 16, 561-694.
- Toraman, T., Hazer, B., 2014. Synthesis and characterization of the novel thermoresponsive conjugates based on poly(3-hydroxy alkanoates), *Journal of Polymers and The Environment*, 22,159–166.
- Torchilin, V.P., 1999. Polymeric micelles in diagnostic imaging. *Colloids Surf., B: Biointerfaces*, 16, 305.
- Torchilin, V.P., 2001. Structure and design of polymeric surfactant-based drug delivery systems. *Journal of Controlled Release*, 73,137-72.
- Tuzar, Z., Kratochvil, P., 1976. Block and graft copolymer micelles in solution. *Advances in Colloid and Interface Science*, 6, 201-232.
- Vulic, I., Okano, T., Kim, S.W., Feijen, J., 1988. Synthesis and characterization of polystyrene–poly(ethylene oxide)–heparin block copolymers. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 26, 381-391.
- Weber, C.J., 2000. Biobased packaging materials for the food industry, The EU Directorate 12, Frederiksberg.
- Wesslen, B., Kober, M., Freij-Larsson, C., Ljungh, A., Paulsson, M., 1994. Protein adsorption of poly(ether urethane) surfaces modified by amphiphilic and hydrophilic polymers. *Biomaterials*, 15(4), 278-284.

- Wilhelm, M., Zhao, C.L., Wang, Y.C., Xu, R.L., Winnik, M.A., Mura, J.L., 1991. Poly(styrene-ethylene oxide) Block Copolymer Micelle Formation in Water: A Fluorescence Probe Study. *Macromolecules*, 24,1033-1044.
- Wu, Q., Huang, H., Hu, G., Chen, J., Ho, K., Chen, G., 2001. Production of poly-3-hydroxybutyrate by *Bacillus* sp. Jma5 cultivated in molasses media. *Antonie van Leeuwenhoek*, 80, 111-118.
- Xia, J.H., Zhang, X., Matyjaszewski, K., 2000. Transition metal catalysis in macromolecular design; L. S. Boffa, B. Novak, M., Eds., ACS Symposium Series 760; *American Chemical Society*, Washington, DC, 768, Chapter 13, 207–223.
- Yanatma, S., 2011. Kontrollü Polimerizasyon Yöntemiyle Organik / Anorganik Polimerik Kompozit Malzemelerin Sentezi ve Karakterizasyonu.Yüksek Lisans Tezi. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya, Türkiye
- Yılmaz, N., 2013. Raft Polimerizasyon Yöntemi İle Akrilik/Alkid Blok Kopolimer Sentezi ve Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye
- Zhou, Z., Chu, B., Peiffer, D.G., 1993. Temperature-induced micelle formation of a diblock copolymer of styrene and tert-butylstyrene in N,N-dimethylacetamide. *Macromolecules*, 26, 1876.

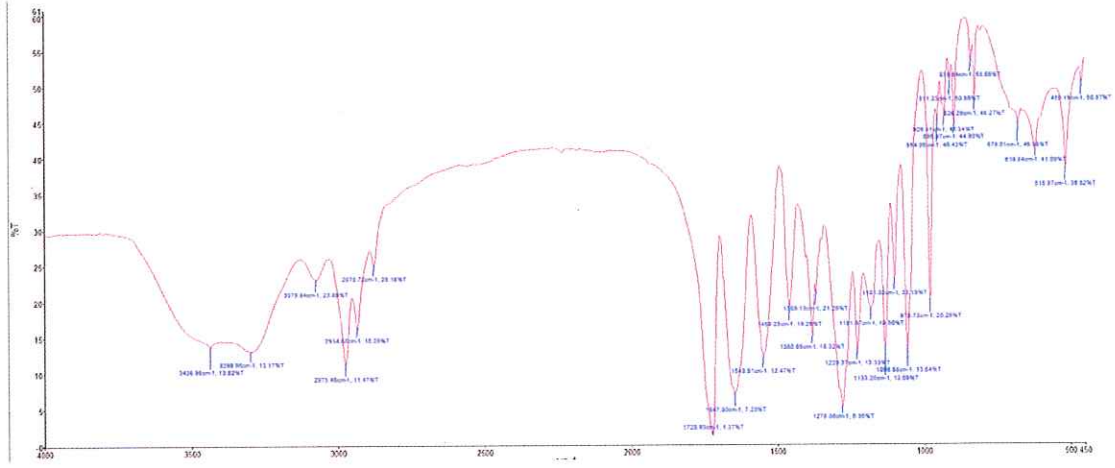
EKLER



EK 1-Şekil 3.1. Klorlanmış PHB'nin (PHB-Cl) FTIR spektrumu



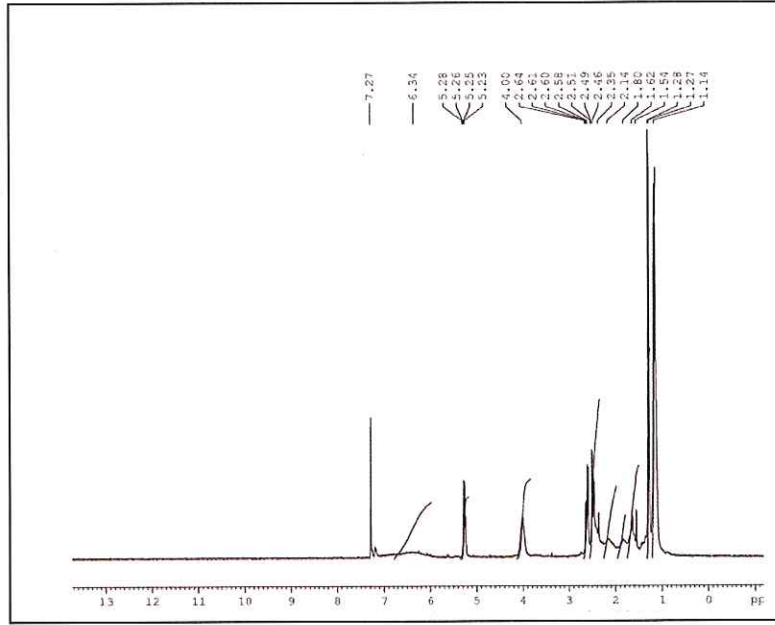
EK 2-Şekil 3.2. PHB-Xa Makro RAFT ajanının FTIR spektrumu



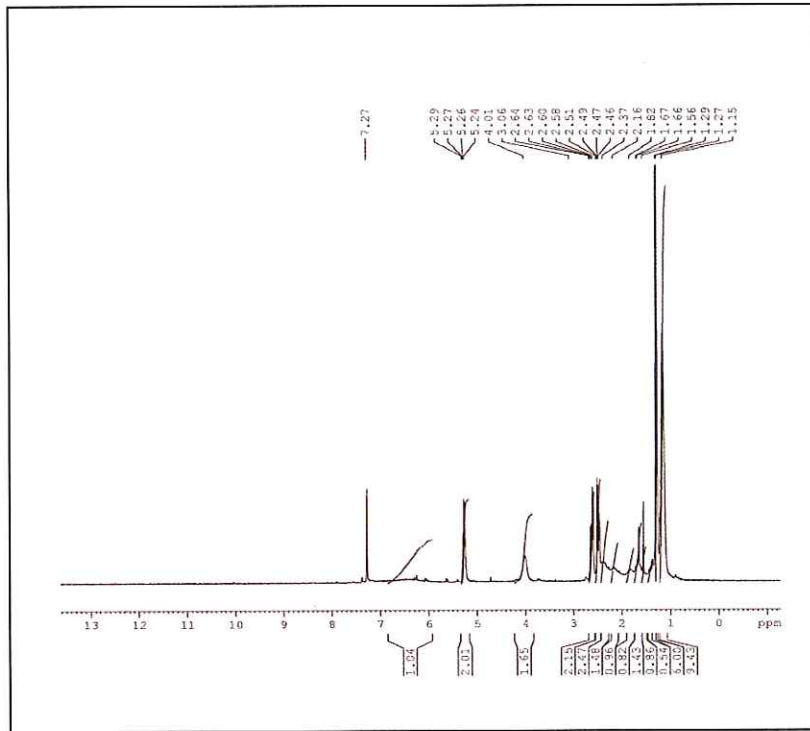
EK 3-Şekil 3.3. PHB-g-NİPAM polimerinin FTIR spektrumu



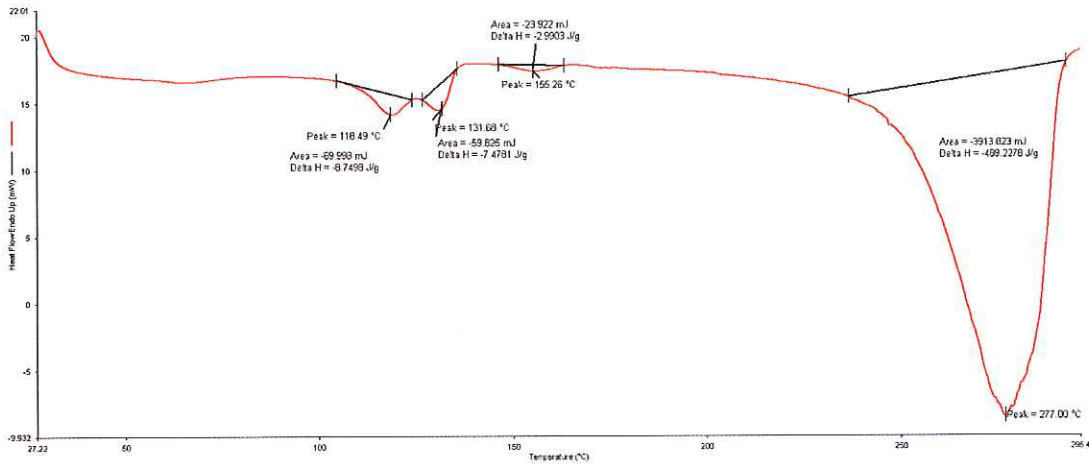
EK 4-Şekil 3.4. PHB-g-PNİPAM-Kitosan kopolimerinin FTIR spektrumu



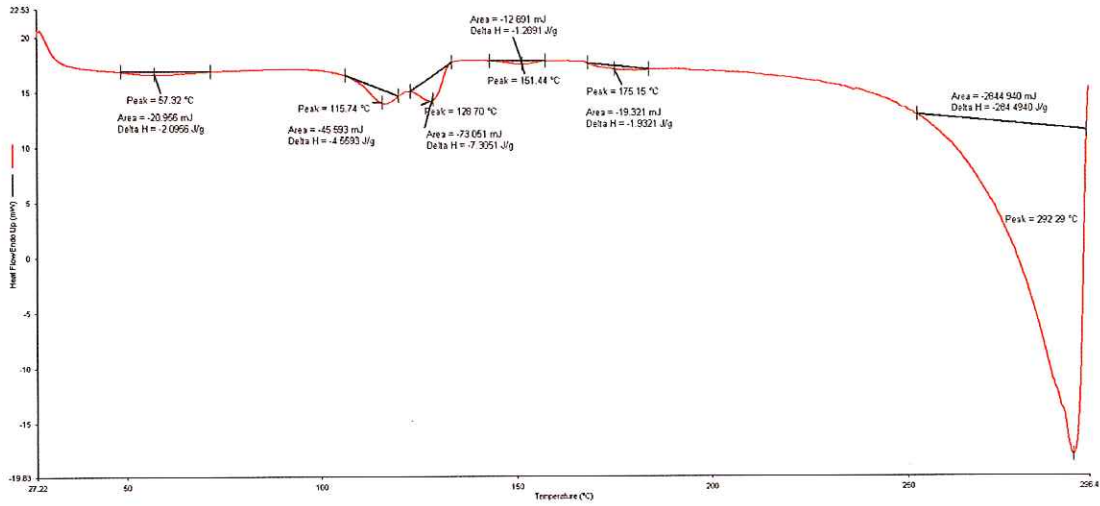
EK 7-Şekil 3.7. PHB-g-NİPAM (EM-10) polimerinin ^1H NMR spektrumu



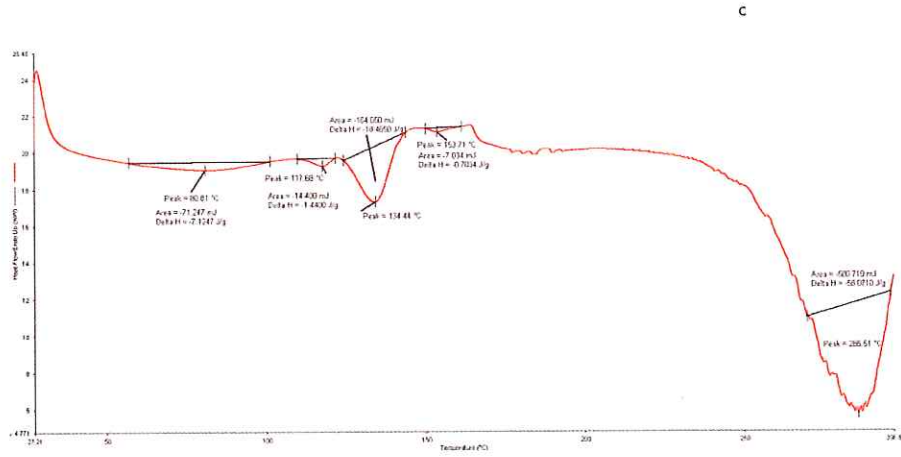
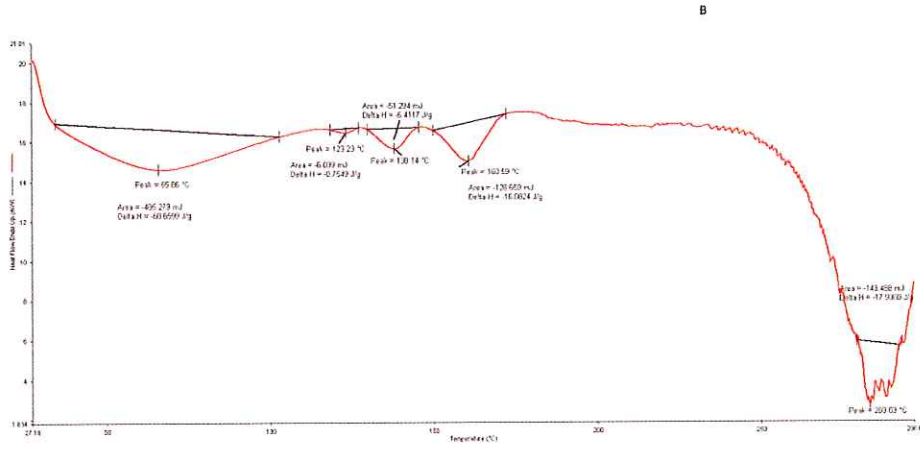
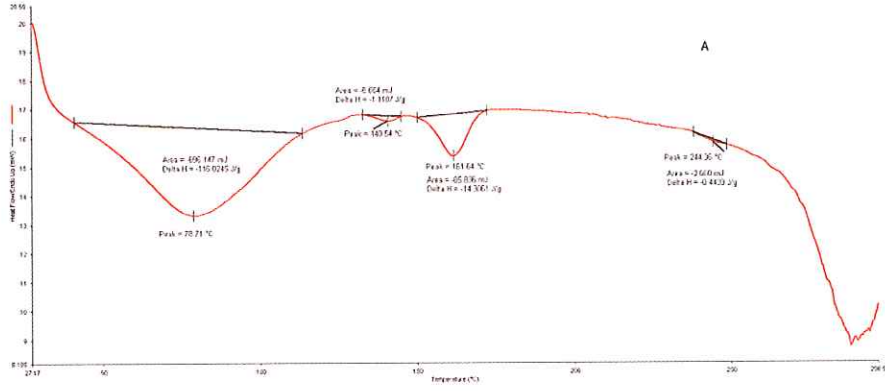
EK 8-Şekil 3.8. PHB-g-NİPAM (EM-12) polimerinin ^1H NMR spektrumu



EK 11-Şekil 3.11. MR3 (PHB-Xa) Makro RAFT ajanının DSC termogramı

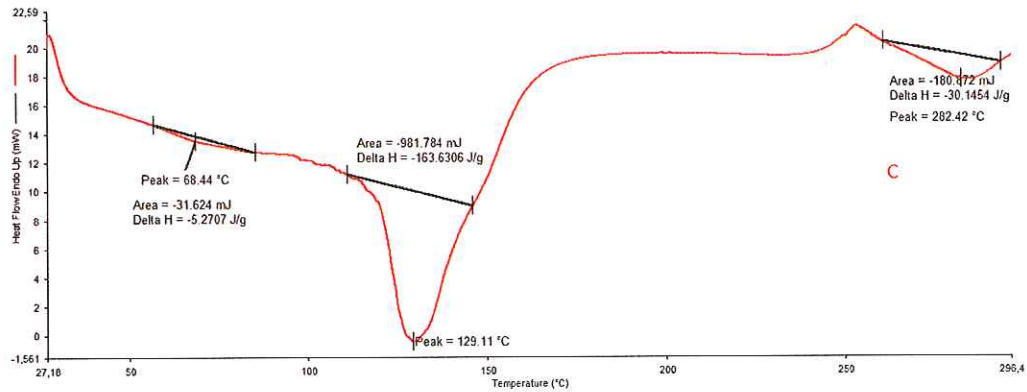
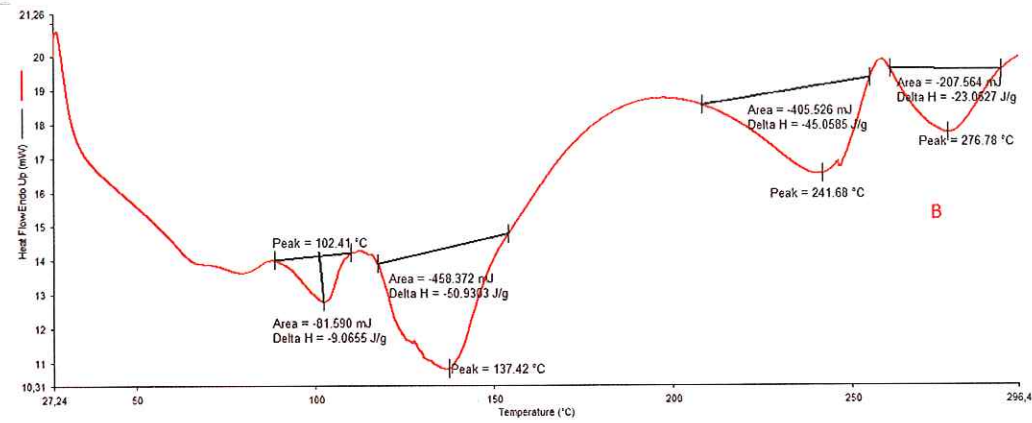
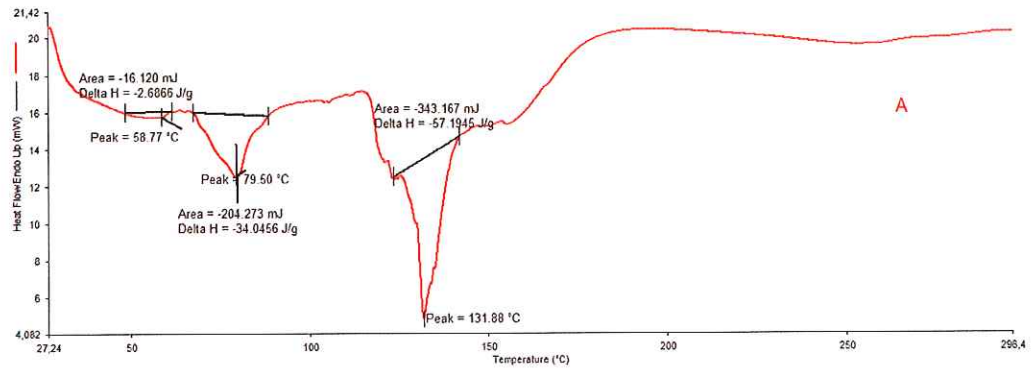


EK 12-Şekil 3.12. MR4 (PHB-Xa) Makro RAFT ajanının DSC termogramı



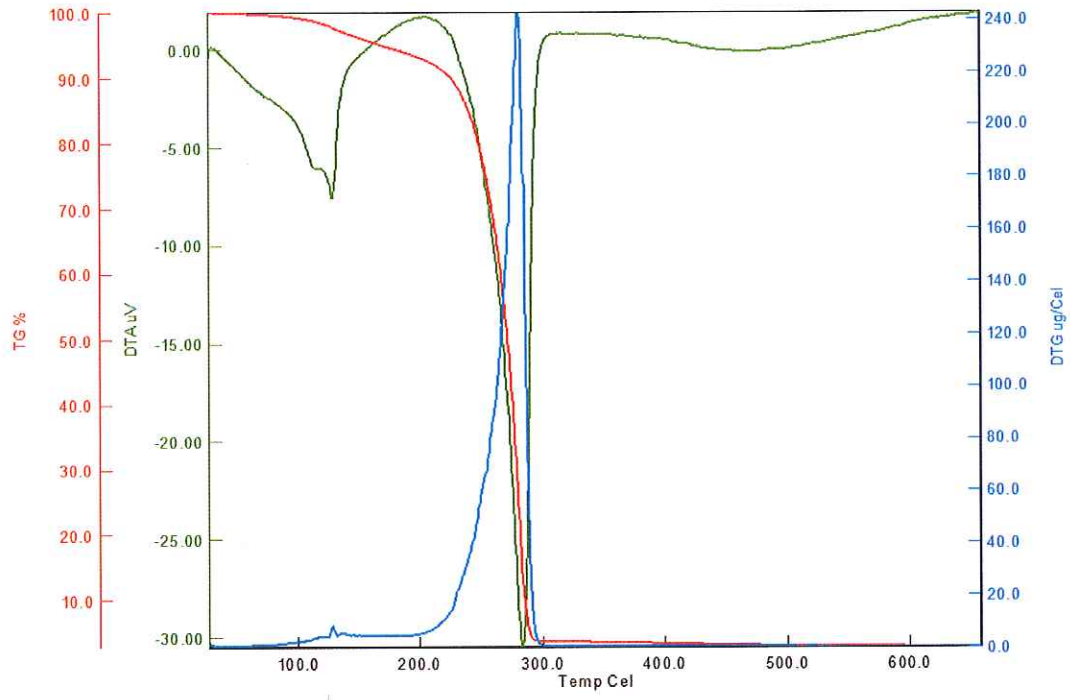
EK 13-Şekil 3.13. PHB-g-NİPAM polimerinin DSC termogramları

a) EM10, b) EM12, c) EM13

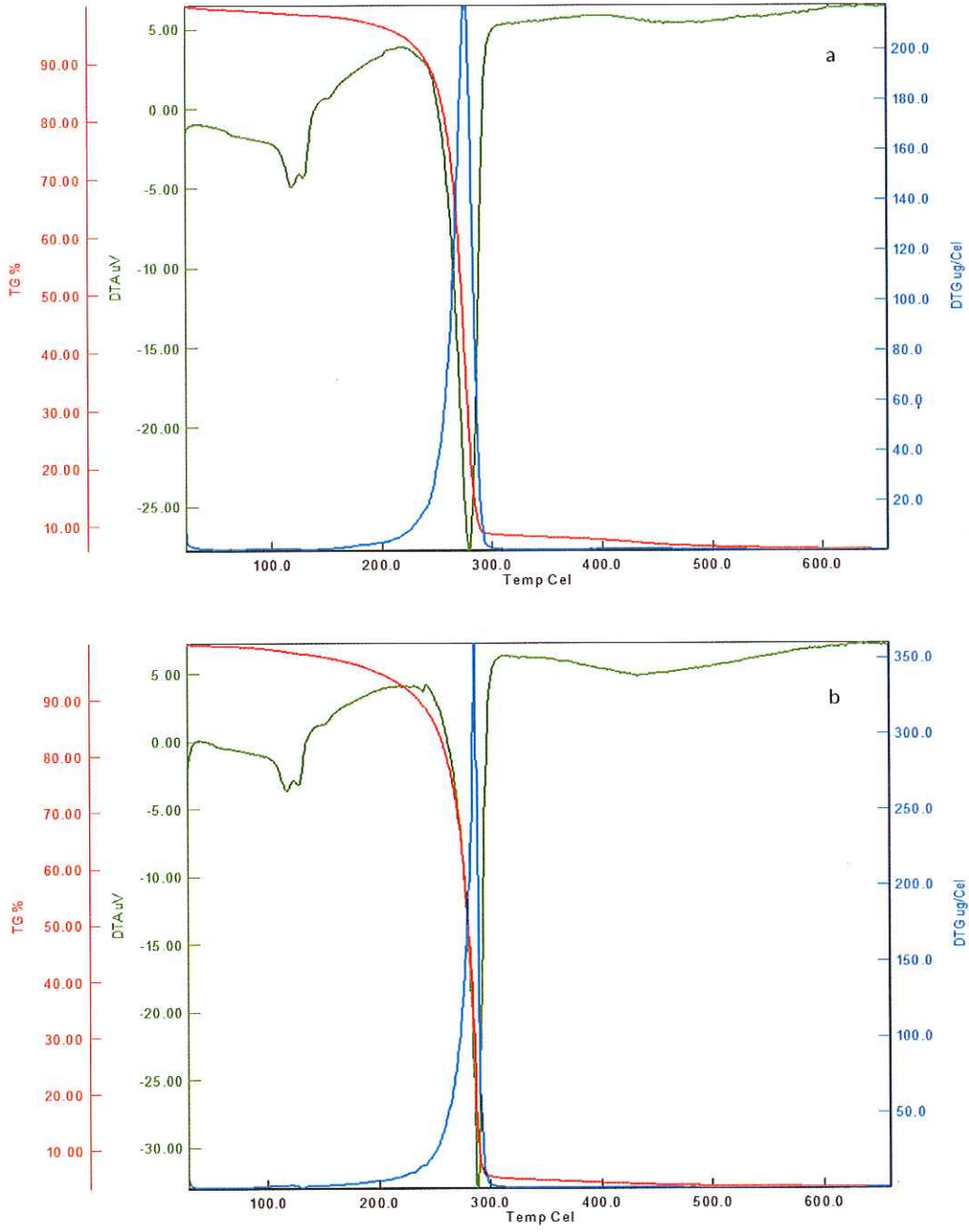


EK 14-Şekil 3.14. Elde edilen bazı graft kopolimerlerin DSC termogramları

A) NMC 1, B) NMC 2, C) NMC 3

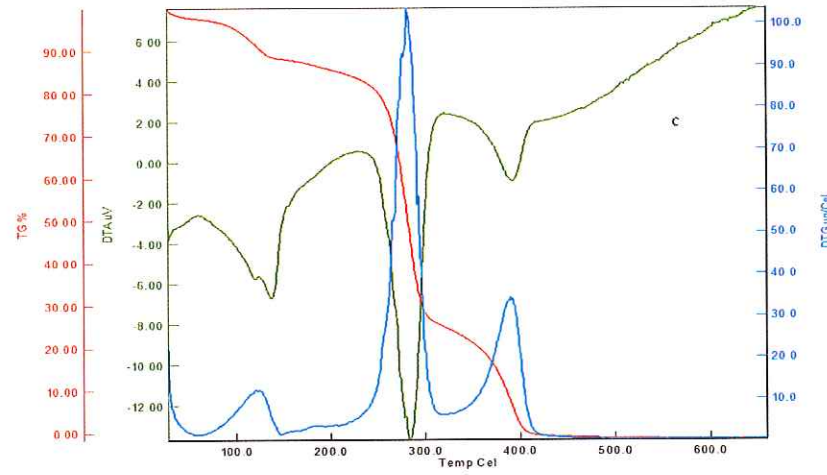
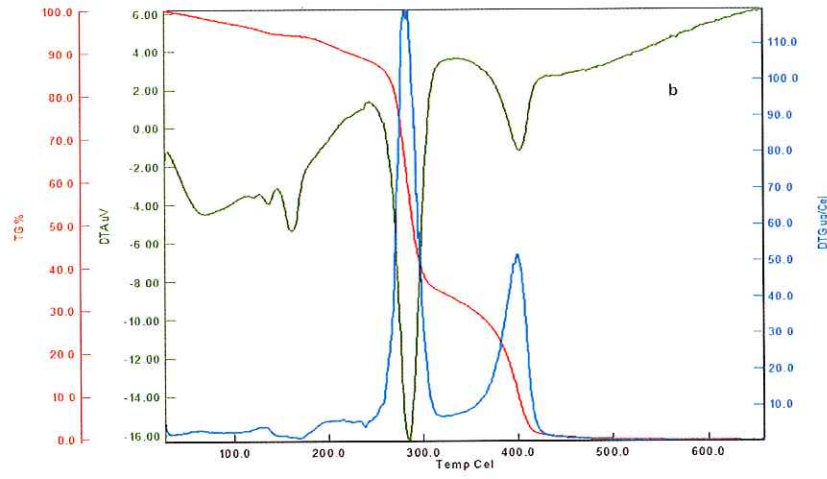
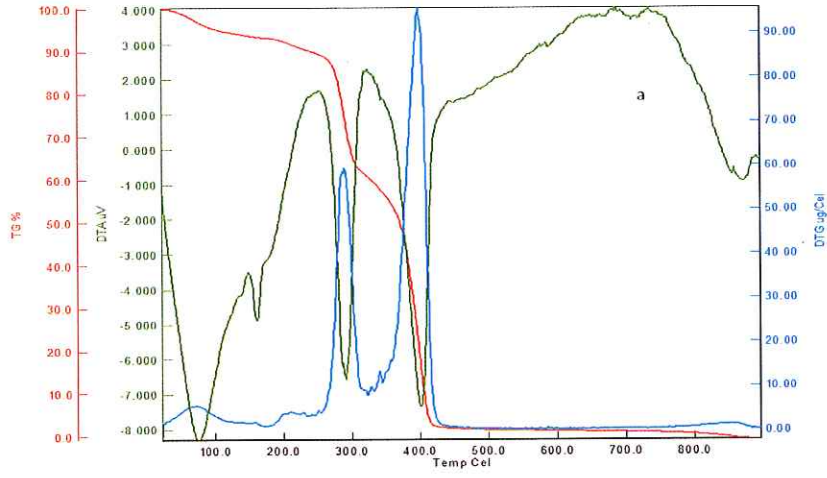


EK 15-Şekil 3.15. Klorlanmış PHB'nin (PHB-Cl) TGA eğrileri



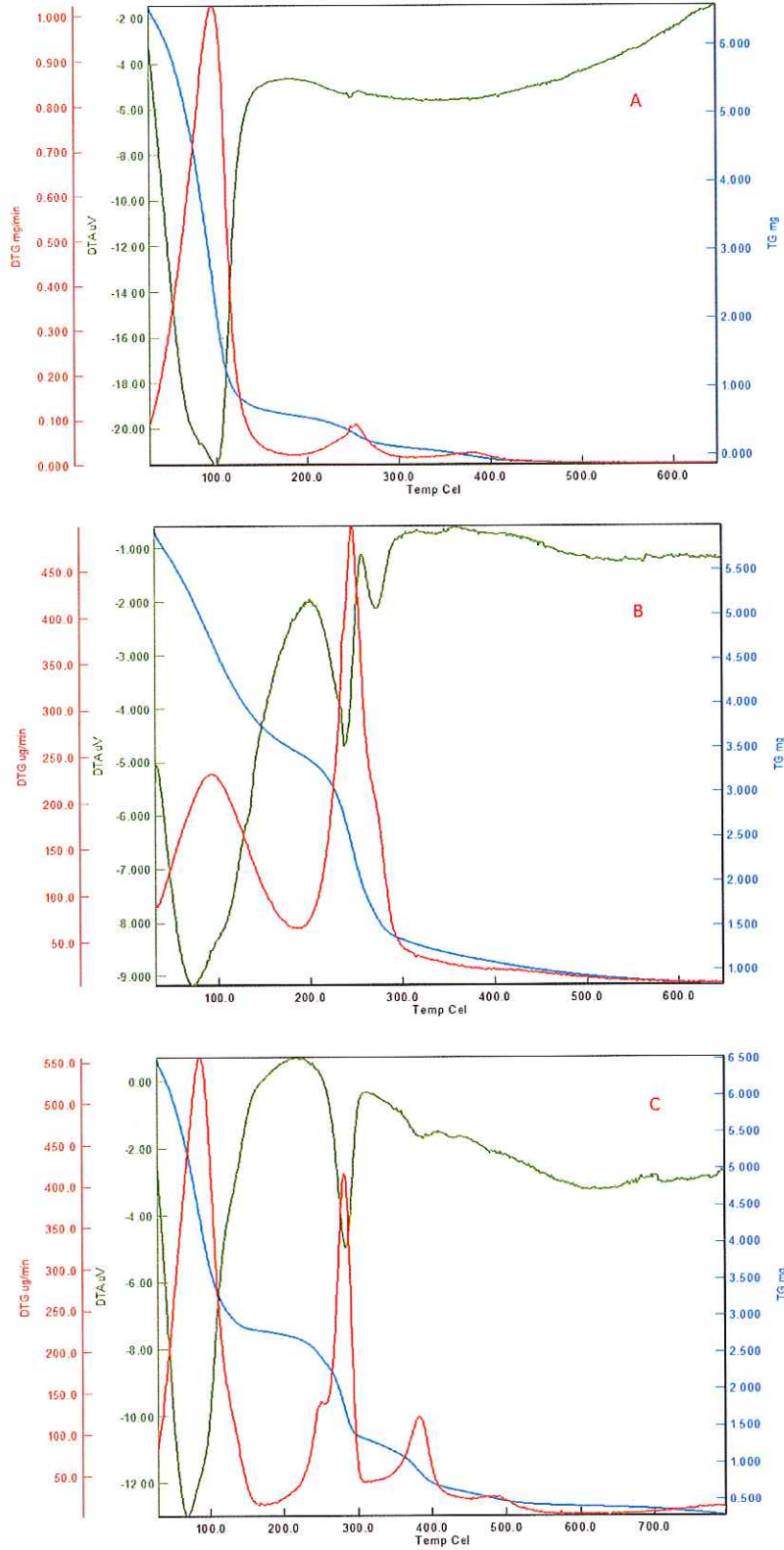
EK 16-Şekil 3.16. PHB-Xa Makro RAFT ajanının TGA eğrileri

a) MR3, b) MR4



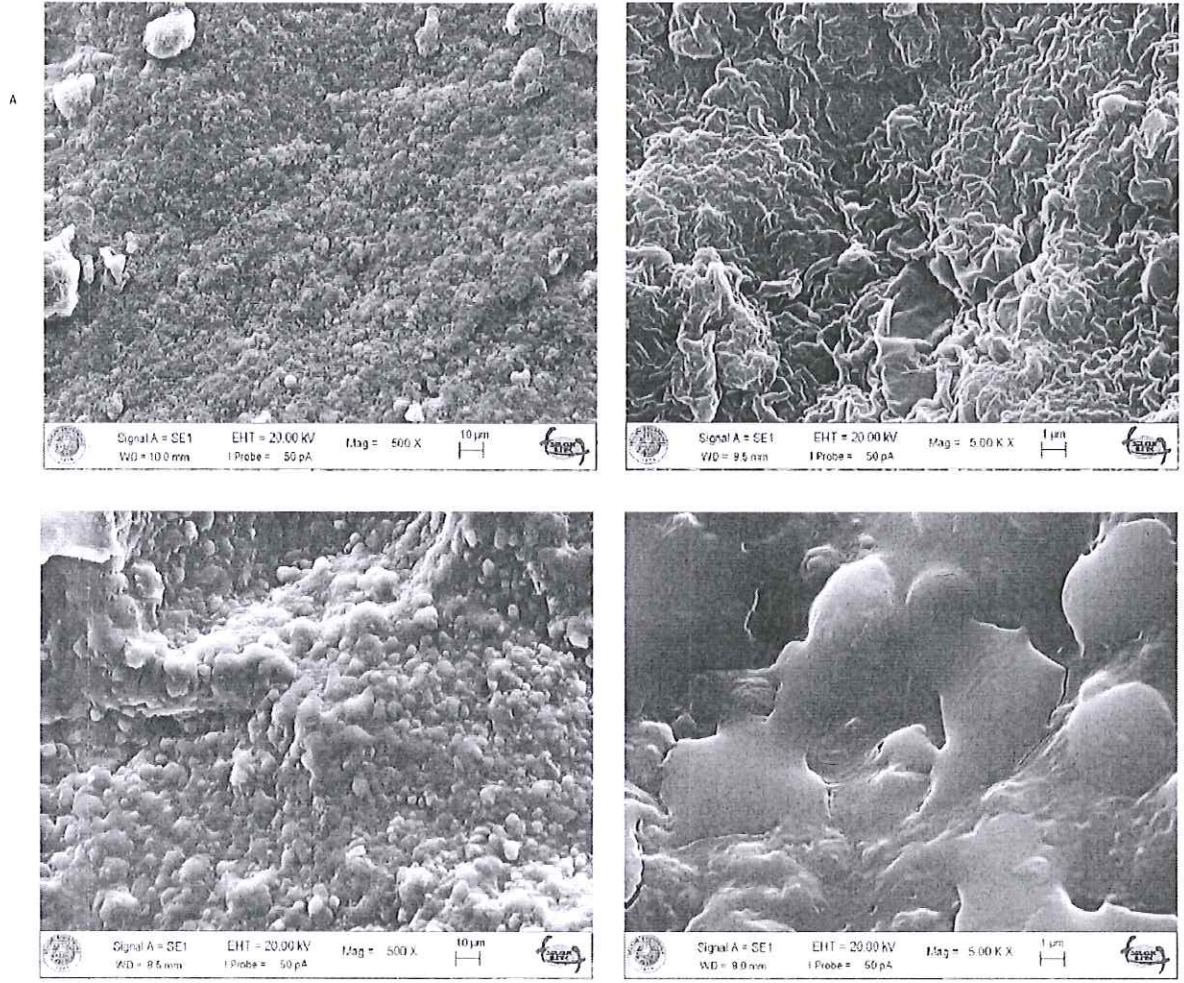
EK 17-Şekil 3.17. PHB-g-NİPAM polimerinin TGA eğrileri

a) EM 10, b) EM 12, c) EM 13

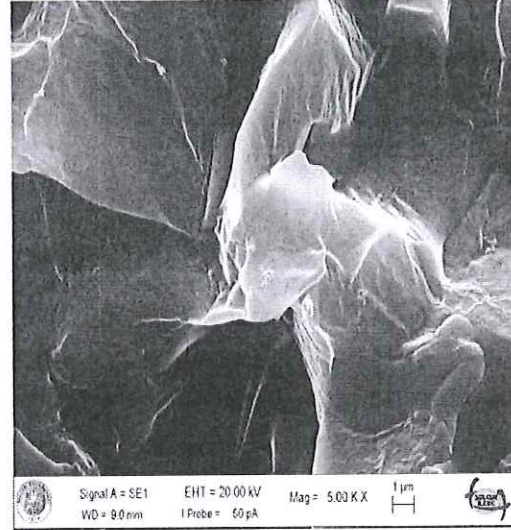
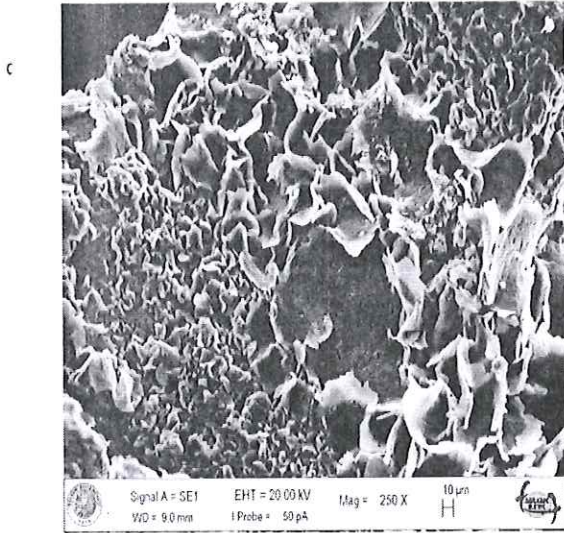
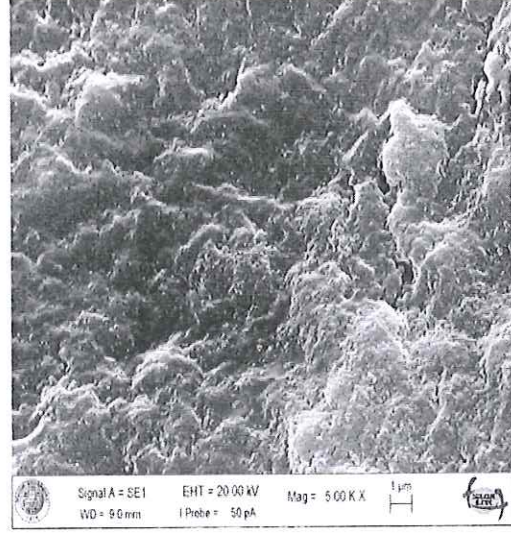
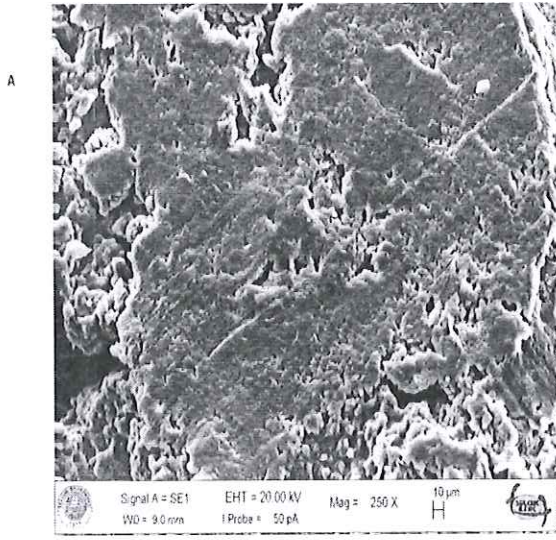


EK 18-Şekil 3.18. Elde edilen graft kopolimerlerin TGA eğrileri

A) NMC 1, B) NMC 2, C) NMC 3



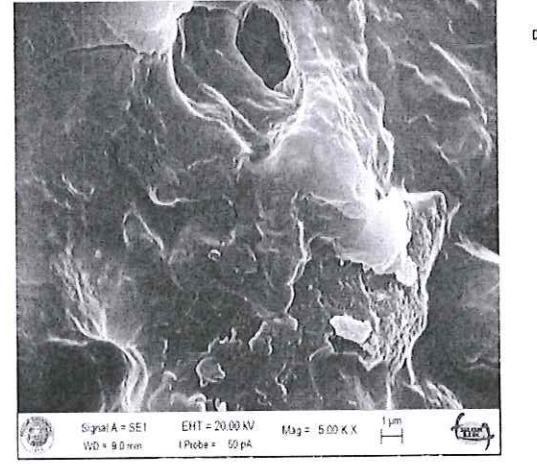
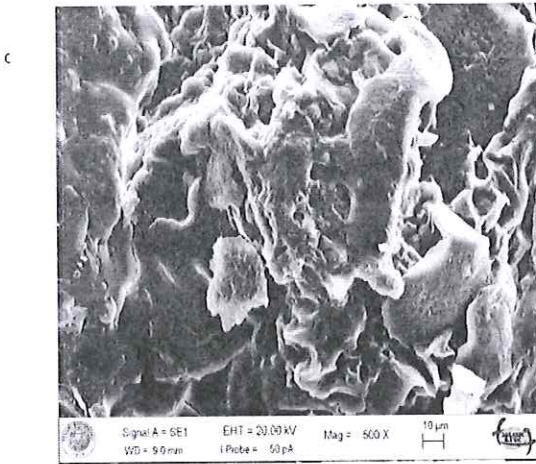
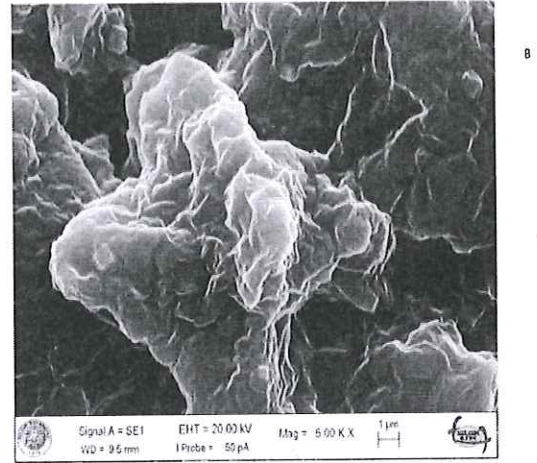
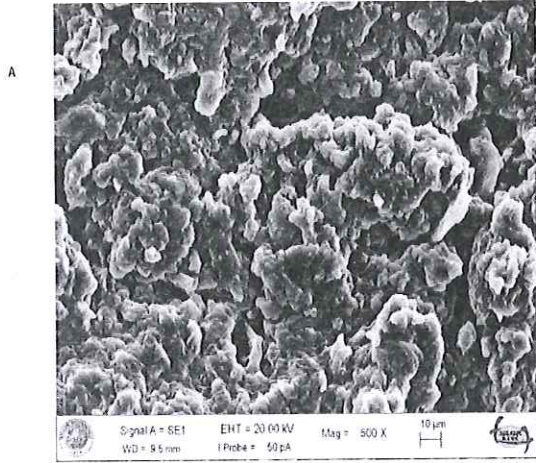
EK 19-Şekil 3.19. PHB-g-PNIPAM-Chitosan kod:(MNC1) kopolimerinin SEM görüntüleri
A) İlaç yüksüz (büyütme x 500), B) İlaç yüksüz (büyütme x 5.000)
C) İlaç yüklü (büyütme x 500), D) İlaç yüklü (büyütme x 5.000)



EK 20-Şekil 3.20. PHB-g-PNIPAM-Chitosan kod:(MNC2) kopolimerinin SEM görüntüleri

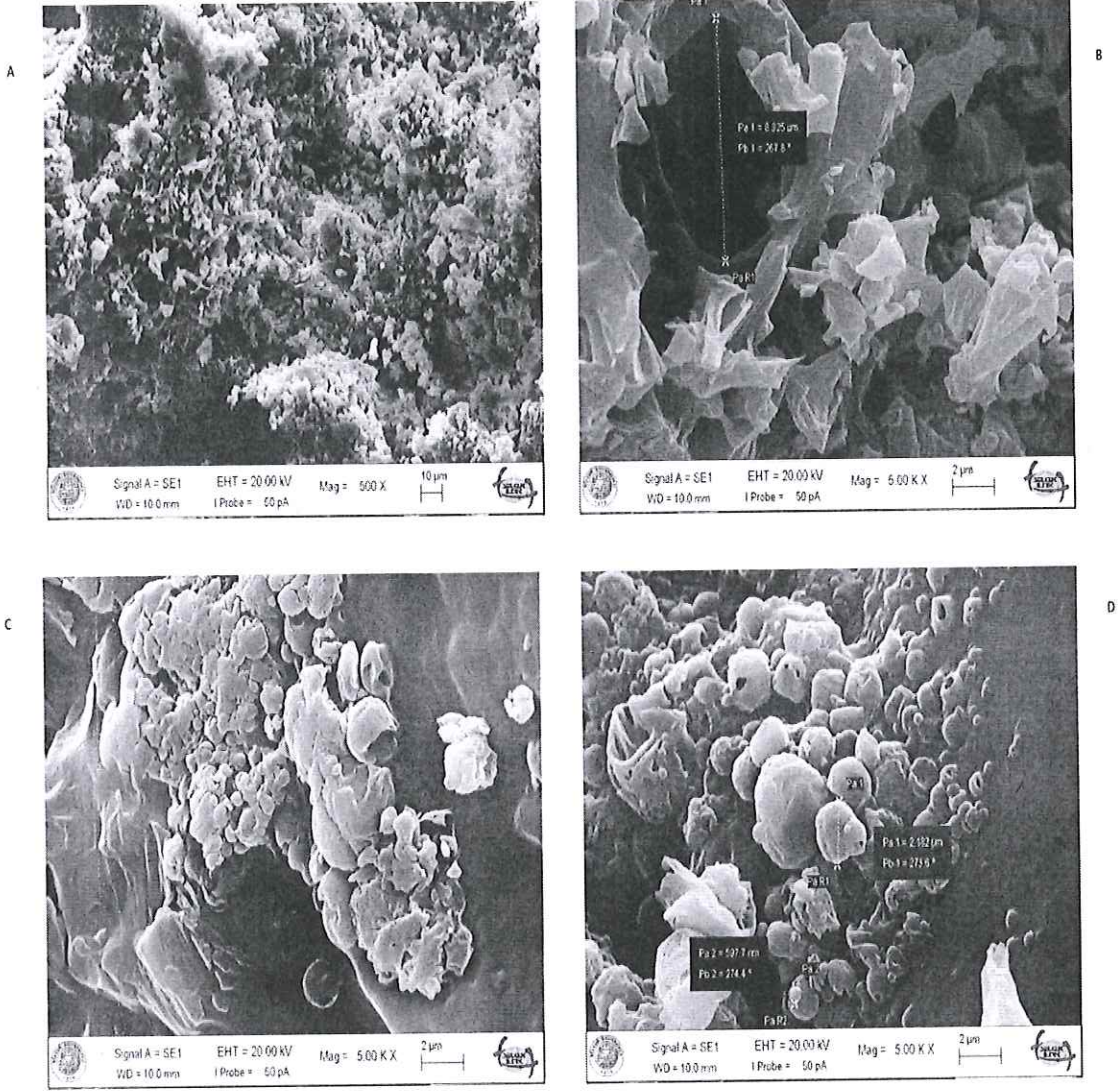
Λ) İlaç yüksüz (büyütme x 500), B) İlaç yüksüz (büyütme x 5.000)

C) İlaç yüklü (büyütme x 500), D) İlaç yüklü (büyütme x 5.000)



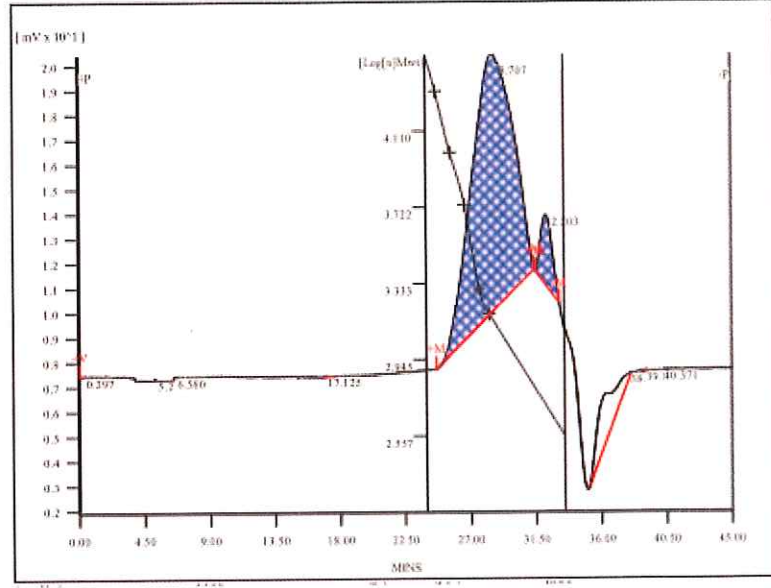
EK 21-Şekil 3.21. PHB-g-PNIPAM-Chitosan kopolimerinin SEM görüntüleri

- A) İlaç yüksüz (büyütme x 500), B) İlaç yüksüz (büyütme x 5.000)
C) İlaç yüklü (büyütme x 500), D) İlaç yüklü (büyütme x 5.000)



EK 22-Şekil 3.22. PHB-g-PNIPAM(kod: EM 51- EM 60) mikro/nano kürelerinin SEM görüntüleri

- Λ) İlaç yüksüz boş (büyütme x500), B) İlaç yüksüz (büyütme x 5.000)
 C) İlaç yüklü (büyütme x 500), D) İlaç yüklü (büyütme x 5.000)



EK 25-Şekil 3.25. PHB-g-PNİPAM kopolimerinin GPC kromatogramı

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Ece MURAÇAL
Doğum Yeri ve Yılı : İZMİR, 07.06.1989



Eğitim Durumu

		<u>Yıl</u>
Lise	: Nevvar Salih İşgören Lisesi	2006
Lisans	: Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi / Kimya Bölümü	2012
Yüksek Lisans	: Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi / Kimya A.B.D	-
Yüksek Lisans	: Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi / Malzeme Teknolojileri A.B.D	