



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BLOK KOPOLİMER SENTEZİ VE BİYOLOJİK UYGULAMALARI

Leman BUZOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalı

Kasım - 2012
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BLOK KOPOLİMER SENTEZİ VE BİYOLOJİK UYGULAMALARI

Leman BUZOĞLU

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Salih YILDIZ

2012, 82 Sayfa

Jüri
Danışman: Prof. Dr. Salih YILDIZ
Üye: Prof. Dr. Tevfik ATALAY
Üye: Prof. Dr. Mustafa ERSÖZ

Polimerler, ticari ve akademik açıdan önemli bir materyal sınıfını oluşturmaktadırlar. Sentez metodlarına bağlı olarak farklı morfolojiye sahip birçok polimer elde edilebilir. Geniş uygulama alanları ile multidisipliner çalışmalara olanak sağlayan ve nanoteknoloji ile uyumlu olan blok kopolimerler son yılların en çok dikkat çeken polimer sınıfı olup, birçok araştırmanın konusunu oluşturmaktadırlar. Blok kopolimerler; biyolojik materyaller ve nanomalzemeler ile kompozit oluşturması gibi üstün özellikler göstermektedirler. Sentezlenmek istenen materyaller için nano ölçekli yapının kontrolü kritik öneme sahiptir. Bu nedenle; bu çalışmada kontrollü radikalik polimerleşme yöntemlerinden biri olan Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu (ATRP) ile düşük polidispersiteli aktif brom uçuna sahip polistiren polimeri sentezlenmiştir. Gelişmiş nanoteknolojide birçok fonksiyonel grupla reaksiyon verebilen monomerler çok büyük öneme sahiptir. Bu sebeple, yapısında epoksi grubu bulundurması ve biyolojik çalışmalara olan uyumluluğu ile dikkat çeken glisidil metakrilat (GMA) monomeri ile kopolimer sentezi yapılmıştır. Sentezlenen polistiren makromolekülü; makrobaşlatıcı olarak kullanılarak diblok kopolimer yapısı elde edilmiştir. Ortam şartlarının optimize edilmesiyle farklı molekül ağırlıklarına sahip diblok kopolimerler sentezlenmiş ve çalışmanın ikinci aşaması olan biyolojik materyaller ile etkileştirilmiştir. Çalışmanın ikinci aşamasında farklı molekül ağırlıklarına sahip olarak sentezlenen diblok kopolimerlerin insan serum albümin (HSA), sığır serum albümin (BSA), Hemoglobin ve Globülin proteinleri ile etkileşimi araştırılmış ve her bir proteinin polistiren-b-poli(glisidil metakrilat)' a bağlanma kapasitesi fluoresans spektroskopisi ile saptanmıştır. Daha sonra bağlanan proteinler ve diblok kopolimerden oluşan hibrit materyallere 'Donepezil' ilaç etken madde ilave edilerek, bağlanma miktarları tespit edilmiştir. Ayrıca proteinlerin diblok kopolimere bağlanması Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile de incelenmiştir. Sentezlenen polimerlerin molekül ağırlığı ve karakterizasyonu ise Jel Dağılım Kromatografisi (GPC), Infrared Spektroskopisi (IR) ve Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) ile yapılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Atom Transfer Radikal Polimerleşmesi, Blok Kopolimerler, Glisidil Metakrilat, Protein Bağlanması

ABSTRACT

MS THESIS

SYNTHESIS of BLOCK COPOLYMER and ITS BIOLOGICAL APPLICATIONS

Leman BUZOĞLU

THE GRADUATE SCHOOL of NATURAL and APPLIED SCIENCE of SELÇUK UNIVERSITY

THE DEGREE of MASTER of SCIENCE of CHEMISTRY

Advisor: Prof. Dr. Salih YILDIZ

2012, 82 Pages

Jury

Prof. Dr. Salih YILDIZ

Prof. Dr. Tevfik ATALAY

Prof. Dr. Mustafa ERSÖZ

Polymer is one of an important class of materials by from the view of academic and commercial. Depending on the synthesis methods, the polymers can be obtained in many different morphology. During the last decades, studies on the incorporation of nanomaterials with block copolymers have been studied by many researchers. Block copolymers get much attention due to compatible with the nanotechnology that allow to work with multidisciplinary. Block copolymers exhibit superior properties like to form the composite of bio-materials and nano-materials which provide wide range of applications. The control of the molecular structure of polymers is a key issue for modern polymer synthesis. Owing to this reason; bromo-terminated polysytrene macroinitiator with low polydispersity was synthesized by atom transfer radical polymerization (ATRP) which is one of the best controlled radical polymerization method. Monomers which can be reacted with many fuctional groups are great of importance in advanced nanotechnology. Glycidyl methacrylate (GMA) was chosen for copolymerization because of epoxy groups. In this study, polystyrene macromolecule was synthesized and used as a macroinitiator for diblock copolymer structure. After the optimize to optimum conditions for synthesis, different molecular weights diblock copolymers were synthesized with GMA. In second stage of the study, we investigated interactions between protein and drug on diblock copolymers. Human Serum Albumin, Bovine Serum Albumin, Hemoglobin and Globulin were binded to epoxy groups of diblock copolymers which have different molecular weights. Binding capacity of each protein to each polystyrene-*b*-poly(glycidyl methacrylate) diblock copolymers were estimated by fluorescence spectroscopy. Then, pharmaceutical active ingredient *'Donepezil'* was added to the hybrid materials that compose of protein and diblock copolymer. The amount of binding capacity was determined by fluorescence intensity. Binding of all proteins to diblock copolymer were also examined by Scanning Electron Microscopy (SEM). Molecular weights of synthesized polymers and characterization according to the protein binding were examinated via Gel Permeation Chromatography (GPC), Infrared Spectroscopy (IR) and Nuclear Magnetic Resonance (NMR).

Keywords: Atom Transfer Radical Polymerization, Block Copolymers, Glycidyl Methacrylate, Protein Binding

ÖNSÖZ

Tez çalışmamın hazırlanmasında bana yol gösteren çok değerli hocalarım Prof. Dr. Salih YILDIZ' a, Prof. Dr. Mustafa ERSÖZ' e ve bilgi ve birikimiyle bana her konuda destek olan ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Mahmut KUŞ' a teşekkürü bir borç bilirim.

Literatür araştırmaları ve deneysel çalışmalar boyunca desteği ve yardımıyla yanımda olan Uzm. Betül ERTEKİN' e, yeni ortamıma alışma sürecimi hızlandıran Dr. Esra MALTAŞ' a ve Dr. Mustafa ÖZMEN' e, çalışma ortamımı kolaylaştıran ve beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum Leyla GÜLFİDAN' a ve Ayşenur ERDOĞAN' a teşekkür ederim.

Beni hiç bir koşulda yalnız bırakmayan başta ev arkadaşlarım Esin DEMİR ve Çiğdem YÜKÇÜ olmak üzere tüm dostlarıma teşekkür ederim.

Başladığım bu yolda ve hayatımın her aşamasında sevgi, güven ve destekleri ile maddi ve manevi her zaman yanımda olan ve desteğini esirgemeyen canım anneme, babama ve kardeşlerim Merve ve Sadık' a sonsuz teşekkür ederim. İyi ki varsınız…

Leman BUZOĞLU
KONYA-2012

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iv**

ABSTRACT ..... **v**

ÖNSÖZ ..... **vi**

İÇİNDEKİLER ..... **vii**

ŞEKİLLER ve ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **ix**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **xi**

1. GİRİŞ **1**

1.1. Polimerler 2
1.1.1. Polimerlerin sınıflandırılması 2
1.1.2. Polimerlerin morfolojisi 3
1.1.3. Polimerlerin mol kütlesi 5
1.1.4. Heterojenlik indisi 6
1.1.5. Moleküller Arası Kuvvetler 7
1.2. Blok Kopolimerler 7
1.3. Proteinler 8
1.3.1. Aminoasitlerin Reaksiyonları 9
1.3.2. Konjuge Proteinler 10
1.3.3. Proteinlerin Fluoresans Özellikleri 12
1.3.4. Biyolojik Materyallerin Katı Yüzeye Adsorpsiyonu 13

2. BLOK KOPOLİMERLERİN SENTEZ YÖNTEMLERİ **15**

2.1. Serbest Radikalik (Zincir) Polimerizasyonu 15
2.2. İyonik Polimerizasyon 17
2.3. Kontrollü Yaşayan Serbest Radikalik Polimerizasyon (CRP) 18
2.3.1. Kararlı serbest radikal polimerizasyonu (SFRP) 19
2.3.2. Tersinir katılma-bölünme zincir transfer polimerizasyonu (RAFT) 21
2.3.3. Atom transfer radikal polimerizasyonu(ATRP) 24
2.4. Sentez Yöntemlerinin Karşılaştırılması 28

3. KAYNAK ARAŞTIRMASI **30**

4. MATERYAL ve YÖNTEM **39**

4.1. Kullanılan Malzemeler 39
4.2. Kullanılan Cihazlar 40
4.3. Makrobaşlatıcı PS-Br Sentezi 41
4.4. PS-b-PGMA Sentezi 42
4.5. PS-b-PGMA Faz Ayrılması 43
4.6. PS-b-PGMA ile HSA' nın Bağlanması 43
4.7. PS-b-PGMA ile Diğer Proteinlerin Bağlanması 45
4.7. BCP-Protein Hibrit Materyalinin Donepezil ile Etkileşimi 45

5. ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA 46

5.1. PS-Br Makrobaşlatıcı Karakterizasyonu 46
5.2. PS-b-PGMA Blok Kopolimerin Karakterizasyonu 50
5.3. PS-b-PGMA' nın Faz Ayrılma Sonuçları 59
5.4. PS-b-PGMA' a HSA' nın Bağlanma Sonuçları ve Karakterizasyonu 62
5.5. PS-b-PGMA-HSA' a Donepezil' in Bağlanma Sonuçları 66

6. SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ 69

6.1 Sonuçlar 69
6.2 Öneriler 71

KAYNAKLAR 72

EKLER 77

ÖZGEÇMİŞ 81

ŞEKİLLER ve ÇİZELGELER DİZİNİ

Şekiller

Şekil 1.1. Bir aminoasidin yapısı.....8
Şekil 1.2. Albüminin altı bağlanma bölgesinin gösterimi.....10
Şekil 1.3. Hemoglobinin şematik gösterimi.....11
Şekil 1.4. Fluoresans özelliğe sahip aminoasitlerin yapısı.....12
Şekil 2.1. TEMPO' nun kimyasal yapısı.....18
Şekil 2.2. SFRP' nin genel reaksiyon mekanizması.....19
Şekil 2.3. Ditiyoester yapısı.....20
Şekil 2.4. ATRP' nin genel reaksiyon mekanizması…….....23
Şekil 2.5. ATRP' de başlama basamağının gösterimi….....25
Şekil 2.6. ATRP' de ilerleme basamağının gösterimi….....25
Şekil 2.7. ATRP ile sentezlenebilecek polimer yapıları….....….26
Şekil 3.1. Morfolojinin A bloğunun hacim fraksiyonuna göre değişimi…….....29
Şekil 3.2. Nano-desenleme işleminin şematik gösterimi …….....….30
Şekil 3.3. Donör-akseptörün farklı ulaşım yollarının gösterimi.....32
Şekil 3.4. Sulindak ve tetrakainin salınım süreleri.....34
Şekil 3.5. DNA blok kopolimerleri.....35
Şekil 4.1. PS-Br sentezinin genel reaksiyon şeması.....39
Şekil 4.2.PS-b-PGMA sentezinin genel reaksiyon şeması.....41
Şekil 4.3.BCP' e HSA bağlanmasının şematik gösterimi.....42
Şekil 4.4. Donepezil' in kimyasal yapısı.....43
Şekil 5.1. PS-Br makrobaşlatıcının FT-IR spektrumu.....45
Şekil 5.2. PS-Br makrobaşlatıcının ^{1}H NMR spektrumu.....46
Şekil 5.3. PS-1 kodlu makrobaşlatıcının GPC kromatogramı.....47
Şekil 5.4. Sentezlenen PS-1, PS-2 ve PS-5 makrobaşlatıcıların GPC kromatogramları.47
Şekil 5.5. PS-2 kodu makrobaşlatıcının GPC kromatogramı.....48
Şekil 5.6. BCP-3 e ait PS-b-PGMA diblok kopolimerin FT-IR spektrumu.....50
Şekil 5.7. PS ile PS-PGMA diblok kopolimerlerin FT-IR spektrumu.....51
Şekil 5.8. BCP-1 e ait PS-b-PGMA diblok kopolimerin ^{1}H NMR spektrumu.....52
Şekil 5.9. BCP-6 kodu PS-b-PGMA diblok kopolimerin GPC kromatogramı.....53
Şekil 5.10. BCP-6 kodlu PS-b-PGMA diblok kopolimerin 0-10-20. dakikalarda alınan GPC kromatogramları.....53
Şekil 5.11. BCP-6 kodlu PS-b-PGMA diblok kopolimerin 180-150-120-90. dakikalarda alınan GPC kromatogramları.....54
Şekil 5.12. BCP-5 kodlu PS-b-PGMA diblok kopolimerin 0-10-30-60. dakikalarda alınan GPC kromatogramları.....55
Şekil 5.13. BCP-4 kodlu PS-b-PGMA diblok kopolimerin 10. dakikada alınan GPC kromatogramı ve sonuç raporu.....56
Şekil 5.14. BCP-4 kodlu PS-b-PGMA diblok kopolimerin 90. dakikada alınan GPC kromatogramı ve sonuç raporu.....56
Şekil 5.15. 140 °C' de, 12 saat (Termal tavlama).....57
Şekil 5.16. 50 °C' de, DMF ve Su ortamında, 3 saat (Çözücü ile tavlama).....58
Şekil 5.17. 2000 rpm hız ile kaplanmış, DMF ortamında, oda sıcaklığında, 3 saat (Çözücü ile tavlama).....59
Şekil 5.18. 3000 rpm hız ile kaplanmış, DMF ortamında, oda sıcaklığında, 3 saat (Çözücü ile tavlama).....59

Şekil 5.19. HSA proteinine ait eksitasyon grafiği**.....60**
Şekil 5.20. HSA proteinine ait kalibrasyon grafiği**.....61**
Şekil 5.21. HSA proteininin farklı polimerlere bağlanma miktarını gösteren grafik**.....62**
Şekil 5.22. C polimerine farklı proteinlerin bağlanma miktarını gösteren grafik.....**63**
Şekil 5.23. A (9 k) kodlu a) PS-b-PGMA diblok kopolimerin b) PS-b-PGMA-HSA hibrit materyalinin SEM görüntüsü**.....64**
Şekil 5.24. Donepezil' e ait eksitasyon grafiği**..... 64**
Şekil 5.25. Donepezil' e ait kalibrasyon grafiği**.....65**
Şekil 5.26. Bağlanan "Donepezil" miktarını gösteren grafik**.....65**
Şekil 6.1. BCP-1 e ait PS-b-PGMA diblok kopolimerin FT-IR spektrumu**..... 72**
Şekil 6.2. BCP-2 e ait PS-b-PGMA diblok kopolimerin FT-IR spektrumu**..... 72**
Şekil 6.3. BCP-3 e ait PS-b-PGMA diblok kopolimerin FT-IR spektrumu**.....73**
Şekil 6.4. BCP-4 e ait PS-b-PGMA diblok kopolimerin 10. ve 90. dakikalarda alınan GPC kromatogramları**.....73**
Şekil 6.5. BCP-4 e ait PS-b-PGMA diblok kopolimerin 30., 60., 10. ve 90. dakikalarda alınan GPC kromatogramları**.....74**
Şekil 6.6. BSA proteinin kalibrasyon grafiği**.....74**
Şekil 6.7. Hemoglobin proteinin kalibrasyon grafiği**.....75**
Şekil 6.8. Globülin proteinin kalibrasyon grafiği**.....75**

Çizelgeler

Çizelge 5.1. PS-Br Makrobaşlatıcı sentezinin reaksiyon koşulları ve sentez sonuçları**.....44**
Çizelge 5.2. PS-b-PGMA diblok kopolimer sentezinin reaksiyon koşulları ve sentez sonuçları**.....49**
Çizelge 5.3. Farklı polimerlere (mg) bağlanan HSA miktarlarını (mg/mL) gösteren Çizelge**.....61**
Çizelge 5.4. C polimerine (mg) bağlanan farklı proteinlerin bağlanma miktarlarını (mg/mL) gösteren çizelge**.....63**
Çizelge 5.5. Donepezil' in bağlanma miktarlarını (10^{-6} M) gösteren çizelge**.....66**

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

k_a	:	Aktivasyon Hız Sabiti
k_{bs}	:	Birleşerek Sonlanma Hız Sabiti
k_{da}	:	Deaktivasyon Hız Sabiti
k_i	:	İlerleme Hız Sabiti
k_{KSR}	:	Kombinasyon Hızı
k_{os}	:	Orantısız Sonlanma Hız Sabiti
k_p	:	Çoğalma Hız Sabiti
k_t	:	Sonlanma Hız Sabiti
I	:	Başlatıcı
M	:	Monomer
M_i	:	Tekrarlanan Zincirin Mol Kütlesi
M_n	:	Sayı Ortalamalı Mol Kütlesi
M_W	:	Kütle Ortalamalı Mol Kütlesi
M_W/M_n	:	Moleküler Ağırlık Dağılımı
N_A	:	Avogadro Sayısı
N_i	:	Tekrarlanan Zincir Sayısı
R•	:	Serbest Radikal

Kısaltmalar

1-FeBr	:	1-Feniletilbromür
2-FeBr	:	2-Feniletilbromür
AFM	:	Atomik Kuvvet Mikroskobu
AMA	:	Allil metakrilat
ATRP	:	Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu
API	:	1- (3-aminoproil)
BCP	:	Blok Kopolimer
BPN	:	2-bromopropionitril
CRP	:	Kontrollü Yaşayan Radikal Polimerizasyonu
$CDCl_3$	:	Dötero-kloroform
CuBr	:	Bakır (I) Bromür
CuCl	:	Bakır (I) Klorür
Da	:	Dalton
DMF	:	N,N-Dimetilformamid
DMSO	:	Dimetil Sülfoksit
DP	:	Polimerleşme Derecesi
DSC	:	Diferansiyel Taramalı Kalorimetri
DTA	:	Diferansiyel Termal Analiz
EBİB	:	Etil 2-bromoizobütirat
EDA	:	Etilen diamin
EDMA	:	Etilen dimetakrilat
FTIR	:	Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometresi
GMA	:	Glisidil Metakrilat
GPC	:	Jel Geçirgenlik Kromatografisi
HEMA	:	2-(hidroksietil metakrilat)
H-NMR	:	Hidrojen Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
HSA	:	İnsan Serum Albümin
KSRP	:	Kararlı Serbest Radikal Polimerizasyonu
PBS	:	Fosfat Tamponlu Tuz
PC	:	Polikarbonat
PDMS	:	Poli(dimetil siloksan)
PDI	:	Polidispersite indisi
PEO	:	Poli(etilen oksit)
PGMA	:	Poli(glisidil metakrilat)
PLA	:	Poli(laktik asit)
PMDETA	:	*N,N,N′,N′′,N′′P*entametildietilentriamin
PMMA	:	Poli(metil metakrilat)
PS	:	Polistiren
RAFT	:	Tersinir Katılma-Bölünme Zincir Transfer Polimerizasyonu
S	:	Stiren
SEM	:	Taramalı Elektron Mikroskobu
TEMPO	:	2,2,6,6- tetrametil-1-piperidiniloxil
THF	:	Tetrahidrofuran
UV	:	Ultra Viyole

1. GİRİŞ

1930' lardan başlamak üzere, özellikle 2. Dünya Savaşı' ndan sonra, insanlar tarafından yapılmış ürünlerin çeşitliliğinde belirgin bir artış gözlenir. Bunun nedeni polimer kimyasındaki gelişmelere bağlı olarak değişik plastik, lif, elastomer türlerinin sentetik yöntemlerle üretilmesi ve kullanıma sunulmasıdır. Örneğin, Charles Goodyear ve Nelson Goodyear yapışkan karakterli doğal kauçuğu, az miktarda kükürtle ısıtarak (vulkanizasyon işlemi) kullanılabilir elastomere veya daha fazla kükürtle ısıtarak sert termoset polimere (ebonit) çevirmeyi başarmıştır. 1988 yılında ise John Dunlop kauçuğun otomobil lastiği olarak kullanılmasında öncülük yapmıştır. J.Mercer 1844 de pamuğu (selüloz), bazla etkileştirerek (merserizasyon) endüstriyel kullanıma uygun kristalitesi yüksek ve iyi boyanabilen merserize pamuğu geliştirmiştir. Schönbein daha sonraları 1947' de, pamuğu nitrik asitle etkileştirerek yüksek oranda nitrolanmış selülozu elde etmiştir (nitro selüloz veya selüloz nitrat). İlk yarı-sentetik polimer kabul edilen selüloz nitrat; uzun yıllar patlayıcı olarak kullanılmış, ayrıca sinema filmleri, bilardo topu, golf topu, otomobil emniyet camları gibi ürünlerin yapımında da kullanılmıştır (Atar, 2006).

1952' de Max Planck Enstitüsü araştırmacılarından K. Ziegler bazı alüminyum alkali bileşiklerini katalizör olarak kullanarak etilenin düşük basınçta polimerizasyonunu gerçekleştirmiştir. Ziegler ve Giulio Natta stereo spesifik polimerizasyonu diğer olefinlere de uygulamışlardır. 1954' de polikarbonat ve 1956' da polifenil oksit sentezlenmiştir. Son yıllarda yüksek termal ve mekanik dayanıklılığa sahip poliimid, poliarilsülfonlar, poliarilamidler, polifenilsülfit, polibütil teraftalatpolietereketon, polifenil gibi önemli plastikler geliştirilmiştir (Erhan Pişkin, 1987). Temel yapıları polimer olan bu malzemelerin insanların yaşamlarını kolaylaştırıcı etkileri günümüzde de hızla sürmektedir.

Polimerler ucuz, hafif, mekanik özellikleri çoğu kez yeterli kolay şekillendirilebilen, değişik amaçlarda kullanıma uygun, dekoratif, kimyasal açıdan inert ve korozyona uğramayan maddeler oldukları için yalnız kimyacıların değil; makine, kimya, tekstil, endüstri ve fizik mühendisi gibi alanlarda çalışanlarında ilgisini çeken materyallerdir (Basan, 2001). Tıp, biyokimya, biyofizik ve moleküler biyoloji açısından da polimerlerin önemi büyüktür. Bu üstün özelliklerinden dolayı beslenme, ulaşım, giyim, teknoloji faaliyetlerinin hepsinde polimerik ürünleri kullanmakla beraber her türlü sağlık uygulamalarında da polimerik malzemelerden faydalanmaktayız.

Polikarbonat bir CD ile verilerimizi kolaylıkla depolarken, bozulan sağlığımızı yeniden kazanmak için yapılan tüm tedavilerde bir enjektör, bir röntgen filmi ve hatta suni bir organ olarak karşımıza polimerik malzemeler çıkmaktadır (Özcan, 2008). Bu değerlendirmeler ışığından polimer kimyası, kimya yanında yukarıda sözü edilen çoğu bilim alanını kapsayan ayrı bir bilim disiplini olarak gözükmektedir (Saçak, 2006).

1.1. Polimerler

Monomer, birbirlerine kovalent bağlarla bağlanarak büyük moleküller oluşturabilen küçük mol kütleli kimyasal maddeler için kullanılan bir tanımlamadır. Polimer ise çok sayıda monomerin kovalent bağlarla birbirlerine bağlanarak oluşturduğu iri molekülün adıdır.

Polimer kelime olarak çok anlamına gelen poly- ve tanecik, küçük parça anlamına gelen -meros kelimelerinden türetilmiştir. Polimerleri incelemek için amaca uygun olarak sınıflandırılmaları gerekmektedir (Saçak, 2006).

1.1.1. Polimerlerin sınıflandırılması

- Kaynağına göre,
  - Doğal polimerler: Selüloz, nişasta, doğal kauçuk…
  - Sentetik polimerler: Poliimid, poliarilamidler, polifenilsülfit…
- Yapılarına göre,
  - Organik Polimerler: Organik moleküllerden oluşmuş polimerlerdir.
  - İnorganik Polimerler: Metal ve ametallerden oluşan polimerlerdir.
- Makromolekül zincir şekline göre,
  - Düz Zincirli
  - Dallanmış
  - Çapraz Bağlı
- Termal davranışlarına göre,
  - Termoplastik: Isıtıldıklarında yumuşayan ve şekil verilebilen düz zincirli polimerlerdir.
  - Termoset: Isı ile bozunarak parçalanan ve yeniden şekillendirilemeyen çapraz bağlı polimerlerdir.

- Uzaydaki yapılarına göre,
  - İzotaktik
  - Sindiotaktik
  - Ataktik
- Sentez yöntemine göre,
  - Basamaklı Polimerleşme
  - Katılma Polimerleşmesi
- Monomer çeşitlerine göre,
  - Homopolimer: Tek bir monomerin birleşmesiyle oluşan polimerlerdir.
  - Kopolimer: İki ya da daha fazla monomerin bir araya gelerek oluşturdukları polimerdir.
    - Gelişigüzel kopolimer:

      -A-B-B-A-A-A-B-A-B-B-A-B-A-A-B-B-B-B-
    - Blok kopolimer:

      -A-A-A-A-B-B-B-B-A-A-A-A-B-B-B-B-
    - Ardarda(periyodik) kopolimer:

      -A-B-A-B-A-B-A-B-A-B-A-B-A-B-A-B-A-B-

      (Evcin, 2012).

1.1.2. Polimerlerin morfolojisi

Polimerler katı, sıvı veya çözelti halinde bulunabilirler. Bu durumlardaki yapı farklılıkları; termal, mekanik ve fiziksel özellikleri ile ilgilidir. Polimerlerin bu yapıdaki kimyasal formülü ve morfolojisi de önemlidir. Morfoloji; polimerin katı halinde bulunan kristal veya amorf bölgelerin varlığı, büyüklüğü, yerleşme düzeni gibi özelliklerini kapsamaktadır. Katı haldeki bir polimerde üç temel düzen vardır;

1. Amorf yapı
2. Kristalin yapı
3. Yarı-amorf yapı

Polimer zincirleri, polimer örgüsü içerisinde düzenli bir şekilde istiflenerek kristal yapıda bölgeler oluşturabilmektedir. Ancak bu aşamada tüm polimer zincirlerinin bir düzen içerisinde paketlenerek tam kristal bir yapı vermesi beklenemez. Bu nedenle, çeşitli amaçlar için kullanılan endüstriyel polimerlerin çoğu amorf ve kristal bölgeleri

birlikte (yarı-kristal) bulundururlar. Yarı-kristal polimerlerin genelde örgüsü, amorf faz içine gömülmüş kristal bölgelerden oluşan bir sisteme benzetilir. Tamamen amorf polimerlerde vardır (Saçak, 2006).

Amorf yapıda polimeri oluşturan zincirler sürekli olarak gelişi güzel dönme ve bükülme hareketleri yaparlar. Sıcaklık artışı hareketliliği arttırır. Zincir hareketleri camsı geçiş sıcaklığı (Tg) altında düşük enerjiye sahiptir bu sebeple yapı donmuş gibi camsı ve kırılgandır. Tg sıcaklığının üzerinde ise hareketlilik artmış yapı kauçuğumsu bir hal almıştır [1].

Yarı- kristal polimerlerde amorf ve kristal bölgeler birlikte bulundurduklarından dolayı camsı geçiş sıcaklıkları altında amorf polimerler gibi kırılgandırlar. Kırılganlık özeliklerini camsı geçiş sıcaklığına kadar korurlar. Camsı geçiş sıcaklığı geçildiğinde belli derecede yumuşaklık kazanmakla birlikte kristal yapılarından dolayı esnek termoplastik davranışa geçerler. Erime sıcaklığına kadar termoplastik özelliklerini değiştirmezler ve erime sıcaklığında kristal yapıları yıkılarak viskoz bir sıvı verecek şekilde erirler.

Tam kristal polimerler serttirler, camsı geçiş göstermezler. Belli bir erime sıcaklığında erirler. Polimer zincirindeki tekrar eden birimler küçükse ve polimer zincirleri arasında çekim kuvvetini oluşturacak hidrojen bağı varsa kristallenme oranı yüksektir. Polimerde ana gövdeye bağlı gruplar büyük moleküllerse; C-C bağının dönmesini engelledikleri için zinciri sertleştirirler. Bu yüzden PS, PMMA, PVC gibi polimerlerde kristallenme oranı düşüktür. Polimerdeki çapraz bağlar da benzer etkiden dolayı kristallenmeyi güçleştirir. Kristallenme moleküller arası hareketi azaltır. Kristallenme oranının artması ile malzeme rijitleşir. Gelişi güzel kopolimerler kristallenmezken düzenli kopolimerler iyi kristallenir. Kristallik genel olarak polimer yapısına sertlik, termal ve mekaniksel dayanıklılık sağlamaktadır. Buna karşın polimerin çözünürlüğü, difüzyon, geçirgenlik, boyanabilirlik, plastikleştiriciyi kabul etme gibi özelliklerinde önemli şekilde azalmaya sebep olmaktadır [1].

Genelde eşya ve malzemelerin yapımında sertlik ve boyutsal kararlılıklarından dolayı polistiren ve poli(metil metakrilat) türü camsı geçiş sıcaklığı yüksek polimerler kullanılır. Bu polimerlerden sertlik yanında vurma dayanımlarının da iyi olması istenir.

Camsı geçiş sıcaklığı Vicat Testi, Dilatometrik Yöntem, Diferansiyel Termal Analiz (DTA), Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC) gibi yöntemlerle belirlenebilirler. Camsı geçiş sıcaklığının belirlenmesinde; zincir esnekliği (veya zincir

sertliği), yan grup, dallanma ve çapraz-bağ, mol kütlesi gibi etmenler etkilidir (Saçak, 2006).

1.1.3. Polimerlerin mol kütlesi

Polimerlerin mol kütlesinin büyüklüğü, polimerlerin fiziksel özelliklerini etkileyen ve doğrudan kullanım yerlerini belirleyen önemli bir kriterdir. Genelde, mol kütleleri 5,000-10,000 sınırını geçmeyen polimerler şekillendirilmiş sert malzemelerin yapımında kullanılamaz. Bu nedenle, bir polimerin karakterizasyonu yapılırken bulunması gereken ilk özelliklerinden birisi mol kütlesinin sayısal değeri olmalıdır.

Polimerler uçucu olmadıkları, her zaman iyi çözünmedikleri ve iri moleküllü oldukları için basit bir işlemle veya yöntemle mol kütleleri bulunamaz. Ayrıca, hangi mol kütlesi belirleme yöntemi seçilirse seçilsin, yapılacak işlemlerde polimer çözeltileri kullanılır.

- **Sayı ortalamalı mol kütlesi**

Sayıca-ortalama mol kütlesi, Avagadro sayısı (N_A) olan 6.02 x 10^{23} tane molekülün kütlesine karşılık gelir. Donma noktası alçalması, kaynama noktası yükselmesi, osmotik basınç, buhar basıncı düşmesi gibi kolligatif özelliklerin ölçülmesine dayanan yöntemlerle elde edilir. Polimer örneği içerisinde i sayıda yinelenen birim bulunduran zincirlerin sayısı N_i ve mol kütleleri M_i ile gösterilerek,

$$M_n = \frac{\sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i}{\sum_{i=1}^{\infty} N_i} \qquad (1.1)$$

eşitliği yazılabilir.

- **Kütlece ortalamalı mol kütlesi**

Işık saçılması ultra santrifüj ile sedimantasyon gibi dağılımda büyük moleküllerin taşıdığı ağırlığı yansıtan yöntemlerle elde edilen molekül ağırlığıdır.

Ağırlık ortalaması molekül ağırlığı,

$$M_w = \frac{\sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i^2}{\sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i} \qquad (1.2)$$

bağıntısı ile verilir.

- **Viskozite ortalamalı mol kütlesi**

Viskozite-ortalama mol kütlesi,

$$M_v = \left(\frac{\sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i^{1+a}}{\sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i} \right)^{1/a} \qquad (1.3)$$

bağıntısına eşittir. Bağıntıdaki a, zincir şekline göre değişen bir sabittir. M_v ' nin sayısal büyüklüğü M_n ve M_w arasına düşer. M_w' ye daha yakındır. Sabit olan a' nın değeri 1 olursa, $M_v = M_w$ eşitliği sağlanır (Saçak, 2006).

1.1.4. Heterojenlik indisi

Kütle ortalamalı mol kütlesi ile sayı ortalaması mol kütlesinin oranı heterojenlik indisi olarak tanımlanır. Heterojenlik indisi bir polimerin polidisperslikten uzaklaşma eğilimini gösterir. Heterojenlik indisi ne kadar küçükse polimeri oluşturan zincirlerin boyutlarının birbirlerine o kadar yakın ve (ya) eşit uzunlukta ve monodispers yapıda olduğu söylenebilirken, heterojenlik indisi ne kadar büyükse polimeri oluşturan

zincirlerin birbirinden o kadar farklandığı yani yapının polidisperse kaydığı söylenebilir. Sentetik polimerlerde polimerizasyon durumuna göre M_w/M_n oranları değişim göstermektedir.

1.1.5. Moleküller Arası Kuvvetler

Bağ kuvvetleri moleküllerin katı veya sıvı fazlar şeklinde bir arada tutulmasını sağlar. Uçuculuk, viskozite, yüzey gerilimi, sürtünme özellikleri, karıştırma ve çözünme gibi çoğu fiziksel özellikler moleküller arası kuvvetlere bağlıdır. Kuvvetli polar grupları olan bir molekülün komşuları üzerindeki çekim kuvveti yüksektir. Bu durum kaynama ve erime noktalarının da yükselmesine neden olur.

Polimerdeki moleküller arası çekim kuvveti küçük, bağ enerjileri düşükse ve molekülde esnek zincirler bulunuyor ise, polimer elastomer özelliği gösterir. Elastomerler, oda sıcaklığında kuvvet uygulandığında uzama gösteren ve yine oda sıcaklığında uygulanan kuvvet kalktığında eski haline dönebilen malzemeler olarak tarif edilebilirler [1].

Polimerdeki moleküller arası çekim kuvveti büyük, bağ enerjileri yüksek ise ve kalabalık yan gruplar varsa polimer plastik özelliği göstermektedir. Bağ enerjisinin çok yüksek olması, gerilmeye karşı direnç göstermesine, çok kuvvetli olmasına ve özellikle fiberlerin iyi mekanik özellikler göstermesine olanak sağlar.

Termoplastikler ısı ile yumuşayan ve tekrar şekil verilebilen özelliğe sahip polimerlerdir. Termoset plastikler ise ısı ile yumuşayıp, şekil değişikliliği yapılamayan polimer türleridir. Termoset plastiklerinin bu özellikleri polimerleşme sırasında meydana gelen çapraz bağlardan kaynaklanmaktadır.

1.2. Blok Kopolimerler

Kimyasal olarak farklı monomerlerden elde edilen ve genellikle birbiriyle uyuşmayan farklı bloklardan oluşan makromoleküllerdir. Çoğunlukla farklı iki homopolimerik bloğun lineer AB diblok oluşturmasıyla elde edilir. Yapıya üçüncü bir bloğun eklenmesiyle bloğun yapısına bağlı olarak ABA, BAB ya da ABC tipinde triblok kopolimerler elde edilir. Bu kavramın daha da genişletilmesiyle multiblok

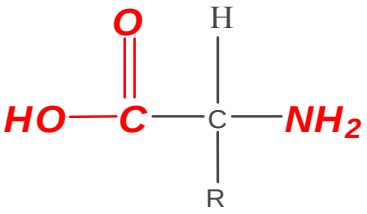
kopolimerler elde edilmektedir. Blok kopolimerlerin düz zincir yapılarının dışında, yıldız ve tarak gibi diğer kopolimer yapıları da mevcuttur.

Her bloğun, homopolimerin fiziksel karakteristiklerinden çoğunu sergilediği farklı bloklar, birbirleriyle bağlanarak, birleştirilmiş özelliklere sahip yeni bir materyali oluştururlar. Kimyasal bileşimleri ve moleküler yapılarına sebebiyle blok kopolimerler, birçok uygulama alanı sahip olup ilginç fizikokimyasal özellikler ortaya koymaktadırlar (Justynska, 2005).

Son yıllarda ileri teknoloji uygulamalarında polimer çeşitlerinden biri olan blok kopolimerler dikkatleri üzerine çekmektedirler. Modern, sentetik, kimyevi bloklar ve monomerler; yapıları ve dolayısıyla özellikleri değiştirmeyi sağlar. Moleküler yapıya dikkat edildiği zaman katı fazdaki mekanik, elektrik ve optik davranışlar bu yolla ayarlanabilmektedir (Darling, 2007). Aynı zamanda blok kopolimerler çözeltileri de, misel oluşumuyla ilaç taşınımı ve diğer medikal uygulamalarıyla çok büyük önem taşımaktadırlar (Jeong, 1997; Torchilin VP, 2005).

1.3. Proteinler

Proteinler; küresel (globüler) ya da lifli (fibrus) formu ile iç içe katlanmış bir ya da birden çok polipeptit zincirinden oluşan biyokimyasal yapılardır. Bir polipeptit; komşu aminoasitlerin karboksil ve amino gruplarının arasındaki peptit bağlarıyla birbirine bağlanan aminoasitlerden oluşan düz bir zincirdir [2]. Yapılarında karbon, hidrojen, oksijen elementlerinin yanı sıra azot elementi bulunur. Proteinlerde ayrıca kükürt, fosfor gibi elementler de bulunabilir. Tüm canlıların yapısında sudan sonra en çok bulunan temel yapı maddeleridir. Bu nedenle canlıların ağırlıklarının yaklaşık yarısı proteinlerdir ve bütün biyolojik olaylarda rolleri vardır.



Şekil 1.1. Bir aminoasidin yapısı

Tüm proteinler 20 çeşit farklı aminoasitten oluşur. Binlerce çeşit protein; aminoasitlerin farklı sayıda ve dizilişteki kombinasyonları sonucu oluşur. Aminoasitler

renksiz, kokusuz, kristalli yapılardır ve suda iyi çözünürler. Yapılarında hem $-COOH$ (asidik) hem de $-NH_2$ (bazik) grup bulundurmaları sebebiyle amfoter özellikli bileşiklerdir. Her ne kadar aminoasitler basit formüllerinde serbest amin ve karboksilik asit grubu ile gösterilseler de; gerçekte iç tuz yapısındadırlar. Yani karboksilik asit grubu protonunu amin grubuna vermiş kendisi anyon, amin grubu da amonyum oluşturarak katyon hale geçmiş haldedir (Tüzün, 2002).

Protein türlerinin çokluğu, fiziksel ve kimyasal özelliklerinin farklılıkları, onların kesin olarak sınıflandırılmalarını güçleştirmektedir. Ancak, halen proteinler en basit ve geniş anlamda "basit proteinler" ve "bileşik (konjuge) proteinler" olarak iki büyük gruba ayrılarak tanımlanabilmektedirler. Basit proteinlerin yapısında yalnızca aminoasitler bulunur. Bileşik proteinlerin yapısında ise aminoasitlerin dışında nükleik asit, glikoproteinlerde karbonhidrat, lipoproteinlerde lipitler ve metalloproteinlerde kompleks yapan metaller bulunur. Keratin, Kollajen, Elastin gibi proteinler basit protein iken, Albümin, Globülin, Hemoglobin, Transferin, Kazein ve Vitellin bileşik proteinlerdir.

Metal iyonları aminoasitler ile kompleksler oluşturabilirler bu şekilde oluşan proteinlere metalloprotein adı verilir. Demir, kalsiyum, bakır, çinko, magnezyum, kobalt, manganez, molibden ve krom iyonları enzimatik ya da yapısal biyokimyasal sistemlerde görev yaparlar (Gürdöl ve Ademoğlu, 2006).

1.3.1. Aminoasitlerin Reaksiyonları

Aldehitlerden ve karboksilik asitlerden kimyasal reaksiyonlar yardımıyla aminoasitler sentezlenebilmektedir. Örneğin; propiyonik asidin mono halojenlendikten sonra amonyakla etkileştirilmesi sonucu "alanin" aminoasidi sentezlenebilmektedir. Ayrıca aminoasitler; amino gruplarıyla, karboksilik asit gruplarıyla, hem amino grupları hem de karboksilik asit gruplarıyla, yan grupları $(-R)$ ile ve tüm grupların katılımıyla verdikleri reaksiyonlar olmak üzere beş farklı kimyasal reaksiyon verirler.

Aminoasitlerin amino gruplarıyla verdikleri tepkimelere peptit oluşumu, metillenme ile betainlerin oluşumu, Sanger tepkimeleri, Van Slyke reaksiyonları, aldehitlerle Shiff bazı oluşması ve ketoasitlerin oluşması örnek verilebilir.

Karboksilik asit gruplarının etkin olduğu tepkimeler ise asitamid oluşturma, tuz oluşturma, amid oluşturma, ester oluşturma ve dekarboksilasyondur.

Ayrıca aminoasitlerin amino grupları, karboksil grupları ve varsa –SH grupları, bakır, kobalt, mangan ve demir gibi birçok ağır metal katyonlarıyla kompleks şelatlar oluştururlar [3].

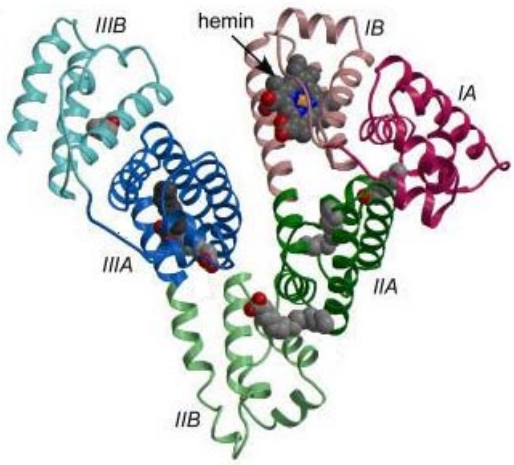
1.3.2. Konjuge Proteinler

- **Albümin**

Albümin, kandaki proteinlerin % 60' ını oluşturup, kan plazmasında en yaygın olarak bulunan albümin türüdür. Albümin, olgunlaşmamış proteinlerden endoplazmik retikuluma salınan N-terminal peptite sahip olan preproalbümin olarak karaciğerde sentezlenmektedir. Yarı ömrü yaklaşık 20 gün olup, molekül ağırlığı 67 kilodalton (kDa)' dur. İnsan serum albüminin kan ile doku sıvıları arasında suyun dengelenmesi gibi hayati bir görevi vardır [4].

Albüminin en dikkat çekici özelliklerinden biriside taşıdığı maddelerin çeşitliliğidir. Suda çözünürlükleri düşük olan yağ asitleri, ilaç, ağır metal iyonları ve vitaminler gibi küçük organik bileşiklerin taşıyıcılarıdır. Albüminin yapısına molekülleri bağlayabildiği altı farklı bölge mevcuttur [5].

Albümin bir glikoprotein olmasına karşılık, plazma proteinleri, glikokaliks proteinleri ve salgılanan enzimleri yapısında bulundurmaz.



Şekil 1.2. Albüminin altı bağlanma bölgesinin gösterimi (Patricia, 2003)

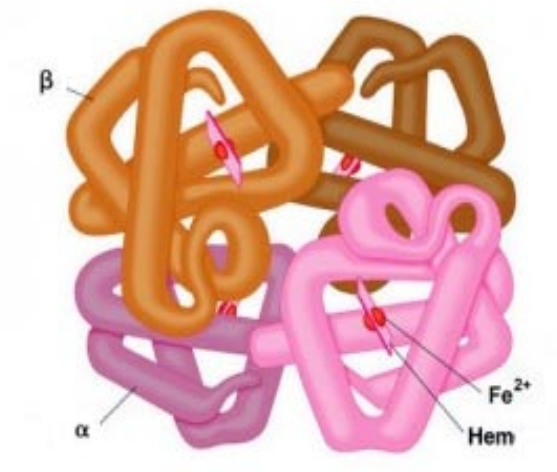
- **Sığır serum albümin (BSA)**

BSA ya da “Fraction V” olarak da bilinen Sığır serum albümin ineklerden türetilen bir proteindir. BSA, 607 aminoasit zincirinden oluşmakta olup molekül ağırlığı 66.5 kDa olarak hesaplanmıştır. BSA’ nın enzim işaretli immuno çözücü işaretlemesi (ELISA), immunoblot ya da bilinmeyen proteinin konsantrasyonun bulunması gibi birçok sayıda biyokimyasal uygulaması mevcuttur. BSA’ nın en önemli özelliği; diğer proteinlerle etkileşime girmediği için stabilizasyona ihtiyaç bırakmamasıdır. BSA’ nın en çok kullanılmasının bir diğer sebebi de fiyatı ve elde edilmesinin kolay olmasıdır [6].

- **Hemoglobin**

Hemoglobin demir içeren oksijen taşıyıcı bir metaloproteindir. Biçimine göre globüler, içeriğine göre bileşik, fonksiyonuna göre taşıyıcı, oligomerik bir proteindir. Her fonksiyonel protein gibi suda çözünebilir. Hemoglobin protein olan globin kısmına ek olarak hem denilen ve yapıca ferroprotoporfirin olan bir grup içerir.

Hemoglobinin kuaterner yapısını her birinden iki adet bulunan iki farklı polipeptit oluşturur. Her polipeptit, ferroprotoporfirin bileşiminde bir grup içerir. Kısaca, hemoglobin molekülü dört hem ve bir globin' den ibarettir (Gürdöl ve Ademoğlu, 2006).



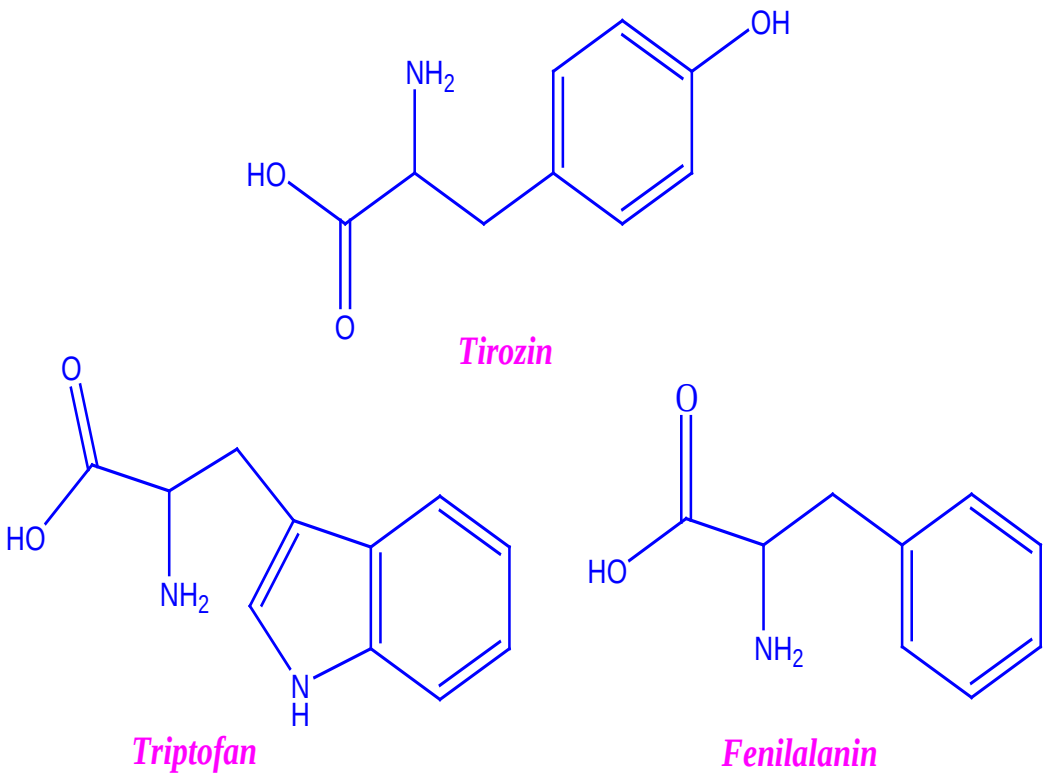
Şekil 1.3. Hemoglobinin şematik gösterimi

- **Globin**

İnsan vücudunda üç tip serum proteininden birisi olan globin, karaciğerde üretilir. Globin' in 92 kDa' dan 120 kDa' a kadar geniş ve yüksek molekül ağırlığına sahip çeşitleri bulunmaktadır. Sodyum klorür, sodyum sülfat, magnezyum sülfat gibi elektrolit içeren çözeltilerde çözünür. Globin, fizyolojik önemleri büyük olan, glikoprotein, lipoprotein yapısında konjuge proteinler içerir.

1.3.3. Proteinlerin Fluoresans Özellikleri

Son yıllarda proteinlerin fluoresans özellikleri birçok çalışmaya yol gösterici olmuştur. Spektroskopi tabanlı yaklaşımlar; biyolojik bir doku örneği üzerinde kimyasal bileşimi ve bileşenlerin dağılımının ele alınmasında temeli oluşturmaktadır (Carlsson, 2011). Bu tür uygulamalar biyolojik doku hastalıklarının saptanmasında meydana gelen kimyasal değişikliklerin izlenmesine olanak tanır. Birçok metabolik belirteçlerin (NADH, kollajen, tirozin, triptofan, lipo-pigmentler, elastin, pridoksinler) ışık altında uyarılmasıyla karakteristik fluoresans emisyon spektrumları elde edilir.



Şekil 1.4. Fluoresans özelliğe sahip aminoasitlerin yapıları

Proteinler ayrıca UV (mor ötesi) fluoresansına katkıda bulunacak 3 farklı aminoasit içerirler. Bunlar; triptofan (tryptophan), tirozin (tyrosine) ve fenilalanin (phenylalanine)'dir. Şekil 1.4 de yapıları gösterilen fenilalanin, tirozin ve triptofanın fluoresans emisyon spektrumları sırasıyla; 282 nm, 303 nm ve 348 nm' dir. Bu aminoasitlerden kuantum verimi en yüksek olan triptofandır. Triptofanın emisyonunda meydana gelen kaymalar; makromoleküllerle olan etkileşimlerin ve bağlanmaların etkisi sonucudur (Battal,2006).

Fluoresans emisyon spektrumları lokal çevre yada oksidasyon ile alakalı olarak değişiklik gösterebilmektedir (Pallu S.,2012). Örneğin; Triptofan molekülünün fluoresansı iyot, oksijen, akrilamit, süksinamit, hidrojen peroksit ve geçiş metallerinin katyonları gibi çeşitli maddeler tarafından sönüme duyarlıdır. Protein fluoresansı genelde 280 nm ve daha yüksek dalga boylarında uyarılır.

1.3.4. Biyolojik Materyallerin Katı Yüzeye Adsorpsiyonu

Biyoteknoloji ve biyomedikal uygulamalarda adezyon, adsorpsiyon, biyouyumluluk ve diğer özelliklere ihtiyaç duyulur ve bu özellikler materyalin yüzeyine bağlı olarak değişiklik gösterir (Bayramoğlu, 2011). Adsorpsiyon, katı faz ile sıvı faz arasındaki ara yüzeyde meydana gelir ve yüzeyde tutunma olarak tanımlanabilir. Tutunma, Van der Walls kuvvetleri, hidrofobik etkileşimler veya kuvvetli iyonik bağlarla gerçekleşir. Adsorpsiyon yöntemi kolay olmakla beraber, çözeltinin pH' sı, iyonik gücü ve sıcaklığıyla kolaylıkla değişir.

Protein, DNA, enzim gibi biyolojik materyallerin yüzeyde adsorpsiyonu için seçimli adsorplayan yüzeylerin oluşturulması, destek yüzeyin hidrofilik, hidrofobik, pozitif ya da negatif yüklü gibi yüzey özelliklerinin modifikasyonuna ile gerçekleştirilebilir (Arıca, 2004). Yüzeyde tutunma olayı kimyasal olabildiği gibi fiziksel olarak da gerçekleşebilir. Kovalent bağlanma ve çapraz bağlanma kimyasal immobilizasyon olarak bilinirken, hapsetme ve mikrokapsülasyon ise fiziksel immobilizasyon olarak bilinir.

Kovalent bağlanma yüzeyinde hidroksil, epoksi, amin ve karboksilik asit bulunduran katı destek materyallerine bağlanma olarak tanımlanabilir. Kovalent bağlanmada proteinin yüzeyden ayrılması zordur. Yüzeyde bağlanma olduğu için katı yüzeye bağlanan proteinin ya da biyolojik materyalin aktivitesi azalmaz. Fakat kovalent bağlanmayı sağlayan ortam şartlarının optimize edilmesi zordur. Yukarıda da

bahsedildiği gibi, bağlanma olayında destek katı materyalin bağlanacak ucunun aktive edilmesi gerekir. Kovalent bağlanma için kullanılan ve suda çözünmeyen katı destek materyalleri stiren, akrilik ve metakrilat polimerler gibi sentetik ya da selüloz, dextran, cam nişasta gibi doğal malzemeler olabilir. Yüzeyde bağlanma aktivasyonu, polimerinin fonksiyonel grubunun kimyasal dönüşümü olarak bilinir.

Hapsetme ile yüzeye immobilizasyonda, biyolojik materyaller çapraz bağlı polimerlerin içine hapsedilir ve biyolojik materyal aktivitesini kaybeder. Kullanılan maddenin hapsolduktan sonra akması söz konusu değildir [7].

2. BLOK KOPOLİMERLERİN SENTEZ YÖNTEMLERİ

Monomer birimlerinden başlayarak polimer moleküllerinin elde edilmesine yol açan tepkimelere polimerleşme tepkimeleri denir. Polimerin yapı birimleri monomere hemen hemen eşittir. Makromolekül denilen bu polimer moleküllerinde bu yapı birimlerinden yüzlerce, binlerce, bazen daha fazlası birbirine bağlanır. Ancak, gerek laboratuvarda gerekse pratik uygulamalar için hazırlanan polimerlerin çoğu genellikle, 5.000-250.000 molekül ağırlığı bölgesinde bulunur (Baysal, 1981). Geleneksel yöntemlerle elde edilen kopolimer yapıları genellikle ardışık ya da gelişigüzel kopolimerlerdir. Blok ve graft yapıda kopolimerleri sentezlemek için özel sentez metotlarına ihtiyaç vardır.

2.1. Serbest Radikalik (Zincir) Polimerizasyonu

Serbest radikal zincir reaksiyonu, 1930' lu yıllardan beri bilinmekte olup günümüzde de özel polimer üretimine olanak vererek, sayısız endüstriyel ve kimyasal araştırmalarda kullanılmaktadır. Dünyadaki plastik üretiminin hemen hemen yarısı, bu mekanizma ile yapılan polimerlerden elde edilmektedir.

Zincir polimerizasyonu ile üretilen önemli ürünler arasında polietilen, polipropilen, polistiren, poli(metil metakrilat), poli(vinil klorür) ve politetrafloroetilen gibi plastikler; poliizopren, polikloropren, polibütadien, stiren ve akrilonitrille polibütadien kopolimerleri gibi elastomerler; viniliden klorür ve akrilonitrik kopolimerlerine dayanan fiberler sayılabilir.

Doymamış moleküllerin zincir büyüme reaksiyonları radikaller veya iyonlarla başlatılır. Başlatıcı bir monomer ile etkileşerek diğer bir monomerin bağlanabileceği aktif merkezli bir ara bileşik oluşturur; bu ara bileşiğe yeni bir monomerin katılmasıyla daha büyük bir aktif merkezli bileşik meydana gelir ve böyle devam ederek zincir hızla büyür.

Zincir büyüme polimerizasyonunda her bir monomer molekülü, büyüyen zincirleriyle sırayla ve hızla reaksiyona girer ve çok düşük monomer konsantrasyonlarında bile reaksiyon hızı yüksektir.

Büyüyen zincirdeki serbest radikal bir monomer molekülüne, bir zincir transfercisine veya bir polimer molekülüne geçebilir. Zincir büyümesi reaktif merkezin kaybolmasıyla sonlanacağından, transfer edilen reaktif merkez diğer bir polimer

zincirinin veya bir polimer zincirindeki bir dalın büyümesini başlatır. Bu polimerizasyonda transfer edici maddeler kullanılarak molekül ağırlığında istenilen kontroller sağlanabilir. Büyüyen serbest radikal zincirler birleşmeyle veya orantısız olarak sonlanabilirler. Büyüyen tanecikler iyon ise sonlanma (orantısız ve birleşme) reaksiyonları, aynı yüklü iyonlar arasındaki itme kuvvetleri nedeniyle gerçekleşemez.

Serbest-radikal polimerizasyonu üç temel kademeden oluşur; başlama, ilerleme ve sonlanma.

Başlama: Bir başlatıcıdan (I) ‘’birincil radikal’’ denilen bir serbest radikal (R•) oluşur ve bir monomere eklenir. Böylece monomerin katılmasıyla bir ‘’aktif merkez’’ elde edilir ve devamlı olarak çoğalabilme prosesi başlar.

$$B \xrightarrow{yavas} nR\cdot \qquad (1.4)$$

$$nR\cdot + M \xrightarrow{hizli} RM\cdot \qquad (1.5)$$

İlerleme: Çoğalma veya bölünme reaksiyonu monomer moleküllerinin (M) radikal taneciklere (RM•) hızla katılmasıdır.

$$RM_m\cdot + M \xrightarrow{k_i} M_{m+1}\cdot \qquad (1.6)$$

Sonlanma: Sonlanmada polimer zincirlerinin büyümesi, çoğalan radikallerin yok edilmesiyle engellenir. Sonlanma engelleyici maddelerin bulunmaması durumunda bimoleküler radikallerin birbirleriyle etkileşimi sonucunda gerçekleşir. Bu işlemler radikal birleşmesi (birleşmeyle sonlanma) veya orantısızlaşma (orantısız sonlanma) reaksiyonlarıdır.

$$M_m\cdot + M_k\cdot \xrightarrow{k_{bs}} M_{m+k} \qquad (1.7)$$

$$M_m\cdot + M_k\cdot \xrightarrow{k_{os}} M_m + M_k \qquad (1.8)$$

Orantısız sonlanmada biri doymuş; diğeri bir uçta çift bağ içeren iki polimer molekülü oluşur. Monomerlerin çoğu her iki tip sonlanmayı da gösterir (Saçak, 2006).

Bu yöntem ile yüksek molekül ağırlıklı polimerler çok düşük monomer derişimlerinde bile hızlı olacak bir şekilde sentezlenebilmektedir. İnert atmosferde,

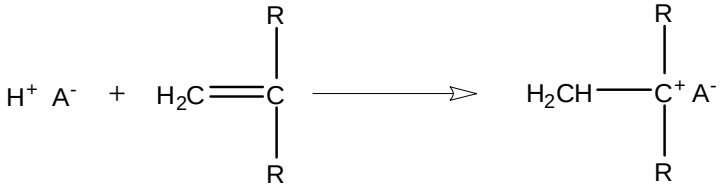
tepkime şartlarının uygun olduğu, suya karşı tolere edilebilirliği ve geniş sıcaklık aralığına sahip olması ile birçok monomer için kullanılabilir.

Bu yöntemde dezavantaj makromoleküllerin yapıları, polimerizasyon dereceleri, fonksiyonel uçları, zincir yapıları ve bileşimleri de dahil kontrolünün zayıf olmasıdır. Başlama basamağı çok yavaş ve büyüme basamağı çok hızlı olduğu için zincir uzunluğu dağılımı geniş, polidispersite yüksektir.

2.2. İyonik Polimerizasyon

İyonik polimerizasyon yöntemi, serbest radikallerin aktif olduğu bir katılma polimerizasyonudur. Bu yöntemin farkı sadece polimerizasyonun ilerleme basamağındaki elektronların akışından kaynaklanmaktadır. Bir çift bağ; bir tek bağ ve ilave iki elektrona eşittir. İyonik polimerizasyon anyonik ve katyonik olmak üzere kendi içinde iki bölümde incelenebilir. Anyonik polimerizasyonda başlatıcı negatif yüklü bir anyona dönüşürken, katyonik polimerizasyonda pozitif yüklü bir katyona dönüşür. Polimerizasyonun ilerleme basamağında aktif yüklü serbest başlatıcı molekülleri (katyon veya anyon), monomer moleküllerine katılarak polimer molekülünü büyütürler. Vinil, dien, aldehit, stiren gibi çift bağ ya da heterosiklik halka içeren monomerler bu yöntem ile polimerleştirilebilirler. Elektron-alıcı ve verici yan grupların etkisiyle kararlı karbanyon ve karbokatyonlar oluşmaktadır.

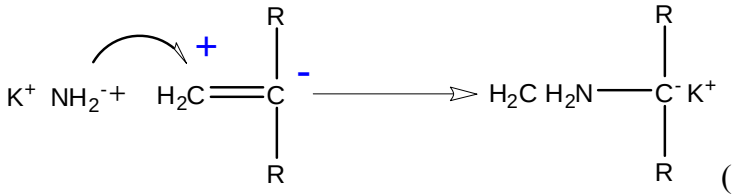
Katyonik polimerizasyonda, başlama basamağı aşağıdaki reaksiyonda da gösterildiği gibi sisteme katalizör olarak protonik asit veya lewis asidinin ilave edilmesiyle başlar. İlerleme basamağı ise serbest radikalik polimerizasyonda olduğu gibi aktif uçlara monomerlerin sırayla katılması yoluyla gerçekleşir. Tek moleküllü iyon çiftinin tekrar düzenlenmesiyle sonlanma gerçekleşeceği gibi, zincir transferi ile sonlanma gerçekleşebilir.



(1.9)

Anyonik polimerizasyonda ise alkil metal amit, organometalik bileşikler ya da radikal anyonlar gibi negatif yüklü iyonlar oluşturacak katalizörler kullanılır.

Karbanyona monomerin ilavesiyle polimerleşme ilerler. Kararlı olmayan metal anhidritleri ve aktiflenme enerjisinin yüksek olmasından dolayı iyon çiftinin tekrar düzenlenmesi ile sonlanmanın oluşması oldukça güçtür [8].



(1.10)

İyonik reaksiyonlar elektrostatik kuvvetlerden etkilenir ve bu tip reaksiyonlarda reaksiyon hızı; ortamın polaritesi, iyon çifti yakınlığı ve iyonik solvatasyon ile değişir. İyonik polimerizasyonda büyüme iyon çiftinin bulunduğu yerden olur ve iyon çiftlerinin yüksek dielektrik sabitli bir ortamda çözünmesiyle ya da çözücüde ayrılmaları ile reaksiyon hızı artar [9]. Çok hızlı olarak ilerleyen iyonik polimerizasyon sisteminde ortamda az miktarda bulunan katalizör, sistemdeki safsızlıklardan çok fazla etkilenir. Bu nedenle çoğu kez tekrarlanabilir kinetiklerin elde edilmesi zordur.

2.3. Kontrollü Yaşayan Serbest Radikalik Polimerizasyon (CRP)

Molekül ağırlığı önceden belirlenebilen, dar molekül ağırlık dağılımına sahip ve blok oranları dizaynedilebilen blok kopolimerler, 1990' lı yılların ortalarından beri kontrollü (yaşayan) radikalik polimerizasyon yöntemleri ile hazırlanabilmektedir (Zhang, 2012). Sentezlenen polimerin; hem kimyasal yapısı hem de moleküler mimarisini kontrol edebilmek için kullanılan yeni bir sentez yöntemi olan Kontrollü Yaşayan Serbest Radikalik Polimerizasyon' da serbest radikal polimerizasyonundan farklı olarak büyüyen aktif türler (yani ucunda aktif bir radikal bulunan büyüyen polimer zinciri) ile geçici türler arasında denge söz konusudur. CRP yöntemi birinci derecede kinetik davranış gösterir.

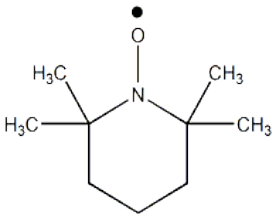
Bu tür polimerizasyonlarda, polimerleşme monomerin tamamı tükeninceye kadar devam edebilmektedir. Ayrıca kontrollü yaşayan polimerleşme ile sonradan çeşitli monomerler eklenerek çeşitli fonksiyonlara sahip, iyi tanımlanmış blok ve graft kopolimerler daha ılımlı şartlar altında sentezlenebilmektedir. CRP tekniğindeki en önemli iki özellik ise başlama basamağının hızlı olması ve aktif atom ve (ya) moleküllerin hızlı değişimidir. Bu özellikler sayesinde polimerizasyon derecesi önceden belirlenebilir

(DP_n = [monomer]/[başlatıcı]) ve dar molekül ağırlık dağılımlı (M_w/M_n) polimerler elde edilebilir (Matyjaszewski ve Qui, 1997). Geçmiş yıllarda birçok yaşayan polimerizasyon yöntemleri geliştirilmiş ve bu sayede birbirinden farklı topolojiye, kompozisyona ve fonksiyonelliğe sahip polimerler sentezlenmiştir. "Atom Transfer Radikalik Polimerizasyonu", "Kararlı Serbest Radikal Polimerizasyonu" ve "Tersinir-Katılma Bölünme Zincir Transfer Polimerizasyonu" olmak üzere etkin şekilde kullanılan üç farklı kontrollü yaşayan polimerizasyon tekniği vardır.

2.3.1. Kararlı serbest radikal polimerizasyonu (SFRP)

Nitroksit Aracılıklı Polimerizasyon (Nitroxide Mediated Polymerization-NMP) ismiyle de bilinen Kararlı Serbest Radikal Polimerizasyon reaksiyonu Eşleşme ile Tersinir Deaktivasyon mekanizmasını takip eden bir sentez yoludur.

SFRP mekanizmasında, reaksiyonu başlatan bir başlatıcı ve başlatıcının yanında *2*,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxil yani kısaca TEMPO adlı kararlı nitroksit radikal kullanılır. TEMPO, polimer zincirinin büyüme adımını kontrol altına alan bileşiktir. SFRP mekanizmasına nitroksit aracılıklı polimerizasyon ismi verilmesinin sebebi de nitroksit radikali olan TEMPO kullanılmasıdır. Kullanılan nitroksit radikali reaksiyonda katalizör gibi görev yapar, reaksiyonu tek başına başlatamaz.

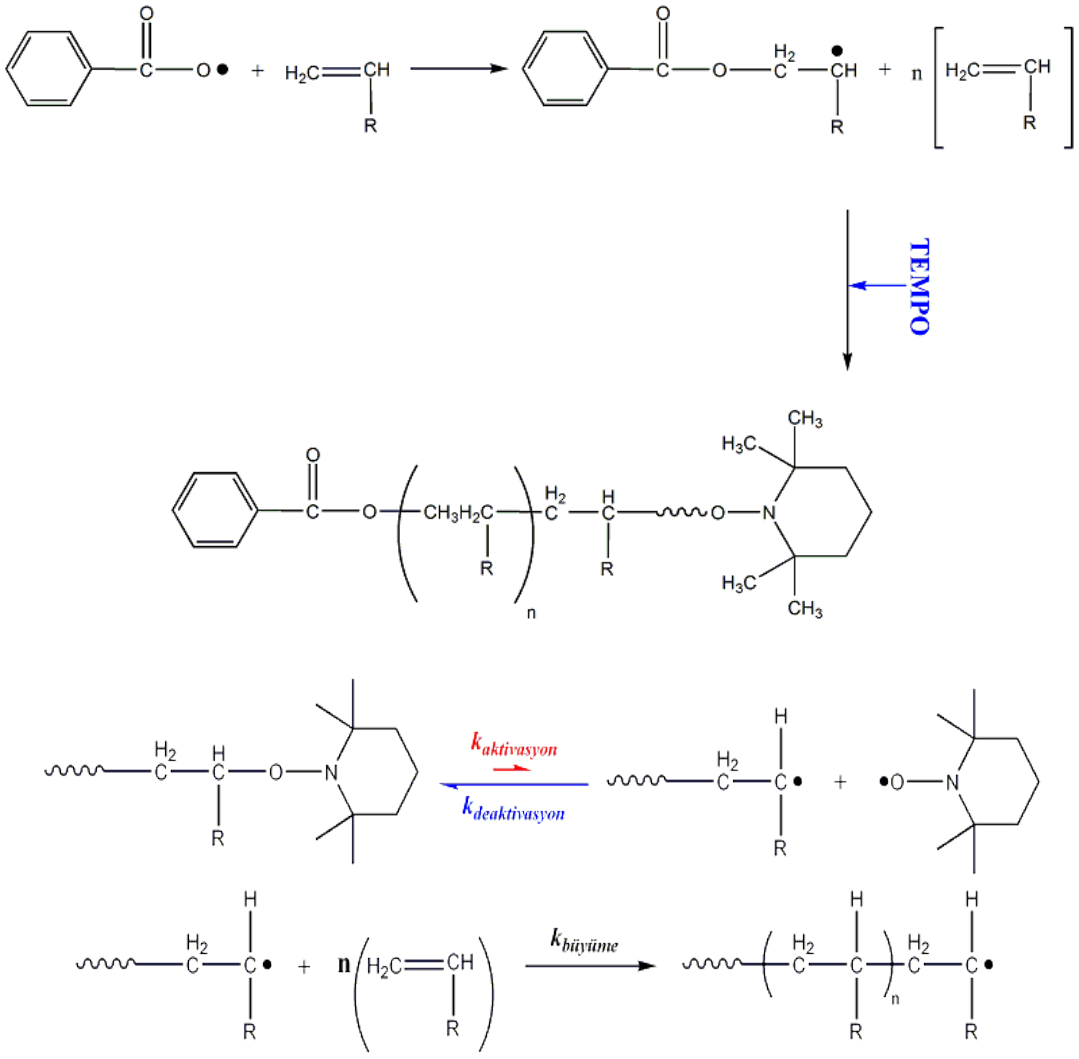


Şekil 2.1. TEMPO' nun kimyasal yapısı

Serbest radikal polimerizasyonunda sadece başlatıcı ile başlatılan ve kontrolsüz olarak gerçekleşen polimerleşme sonucunda polidispers polimerler elde edilirken, TEMPO bileşiği, radikale eklenen her monomerden sonra polimer ucuna bağlanarak kontrollü büyümeyi sağlar ve monodisperse yakın polimerler elde edilir. Yalnız tepkime

sonucu oluşan alkoksi amin bağı, C-O-N, homolitik olarak kararsızdır ve geri dönüşümlü olarak TEMPO radikaline ve büyüyen radikal zincire parçalanır.

Kararlı serbest radikalik polimerizasyonun mekanizması Şekil 2.2' de gösterildiği gibidir.



Şekil 2.2. SFRP' nin genel reaksiyon mekanizması

Büyüme basamağı ortamda monomer bulunduğu sürece devam eder. TEMPO ile birleşerek pasif hale gelerek geçici olarak sonlandırılmış zincirler, aktif zincirlere göre daha tercih edilir ve bu sebeple yüksek molekül ağırlıklı polimerler elde edilir. Molekül

ağırlık dağılımı düşük molekül ağırlıklarında genelde 1.1 civarında iken; yüksek molekül ağırlıklarda ise 1.5 sınırını geçmez.

Kararlı serbest radikal polimerizasyonunun reaksiyon süresi, serbest radikal polimerizasyonundan daha uzundur; yani reaksiyon daha yavaş ilerler. Bu da TEMPO bileşiğinin sisteme kattığı kontrollü büyümeden kaynaklanmaktadır. İstenen molekül ağırlığına bağlı olarak SFRP reaksiyonu 30 ile 70 saat arası sürebilir. Ortama hızlandırıcı eklenerek reaksiyon süresi 6 saate kadar düşürülebilir.

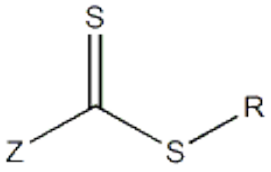
Kararlı serbest radikal polimerleşmesi, uzun ömürlü zincirleri ile yaşayan polimerleşmeye benzetilebilir. Ortam sıcaklığı düşürülerek TEMPO ile birleşmiş pasif haldeki radikal zincirleri dondurulabilir ve böylece polimerleşme durdurulmuş olur. Bir başka deyişle, SFRP mekanizması ile büyüyen polimer zincirleri dışarıdan kontrol edilerek istenildiği zaman durdurulabilir ve istenirse yeniden başlatılabilir.

Yöntemin dezavantajı olarak yukarıda da söylendiği gibi 30-70 saat süren uzun reaksiyon süresinin yanında reaksiyonun çok yüksek sıcaklıklarda (>125 °C) gerçekleşmesi ve dar monomer aralığına sahip oluşu sayılabilir.

2.3.2. Tersinir katılma-bölünme zincir transfer polimerizasyonu (RAFT)

Kararlı serbest Radikal Polimerizasyonu ve Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu yöntemlerinde polimer zincirinin büyümesi tersinir sonlanma ile kontrol edilirken, Tersinir Katılma-Bölünme Zincir Transferi mekanizmasında zincir büyümesini tersinir zincir transferi reaksiyonu kontrol eder. RAFT mekanizmasının KSRP ve ATRP' ye göre en büyük avantajı stiren, akrilamit, metakrilatlar, vinil asetat gibi birçok farklı monomerin polimerizasyonunu olanaklı kılmasıdır.

Reaksiyonun kontrol edilebilmesi için KSRP' de TEMPO' ya, ATRP' de yükseltgenebilir hale sahip bir geçiş metaline ihtiyaç duyulduğu gibi RAFT yönteminde de zincir transfer edici ajanlara ihtiyaç vardır. Ditiyoesterler, ditiyokarbamatlar, trityiokarbonatlar ve ksantat gibi tiyokarboniltiyo bileşikleri kullanılarak tersinir zincir transferi mekanizması harekete geçirilir. Kullanılacak olan zincir transfer edici ajanlar ticari olarak bulunmamakta ve sentezlenmesi gerekmektedir.



Şekil 2.3. Ditiyoester yapısı

Şekil 2.3' de gösterilen bileşik, RAFT polimerizasyonunda kullanılan zincir transfer ajanlarına örnek olarak verilebilir. Bu bileşiğin yapısına baktığımız zaman, polimer zinciri hem -*R* fonksiyonel grubundan, hem de -*Z* fonksiyonel grubundan eklenebilir. RAFT yöntemi bu özelliğinden dolayı çok yönlü kullanılabilen polimerizasyon reaksiyonlarından biridir.

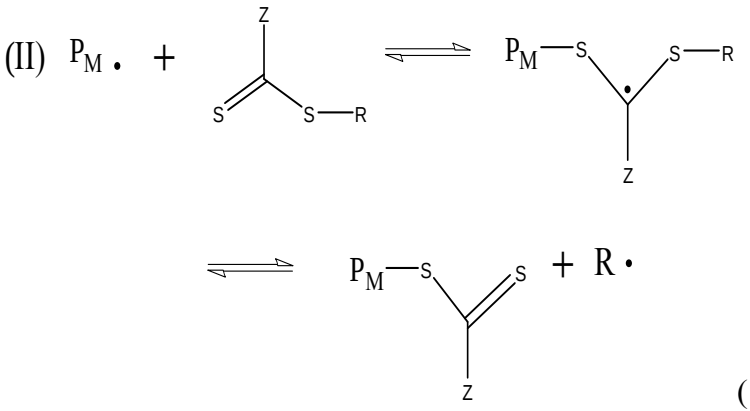
RAFT polimerizasyon yöntemi dört temel basamak ve sonlanma adımından oluşur.

Başlama adımı: RAFT yönteminde de diğer radikalik polimerizasyon yöntemlerinde olduğu gibi başlatıcılar kullanılarak reaksiyon başlatılır. Başlama adımında, başlatıcı ile monomer reaksiyona girerek radikal grup oluşturur ve aktif polimer zincirinin başlaması sağlanır. Başlatıcılara ilave olarak kullanılan zincir transfer edici ajanların derişimleri düşük olduğundan, RAFT reaksiyonunda kullanılan başlatıcı derişimi de normal radikal polimerizasyonda kullanılan başlatıcı derişimine göre daha düşüktür.

$$\text{(I)}\quad B \longrightarrow nR\cdot \qquad (1.11)$$

$$nR\cdot + M \longrightarrow P_M\cdot \qquad (1.12)$$

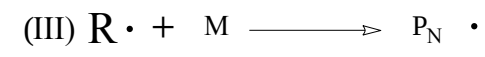
Katılma adımı: Yapılarında iki farklı fonksiyonel grup bulunduran zincir transfer edici ajanların her bir ucunun ayrı bir görevi vardır.



(1.13)

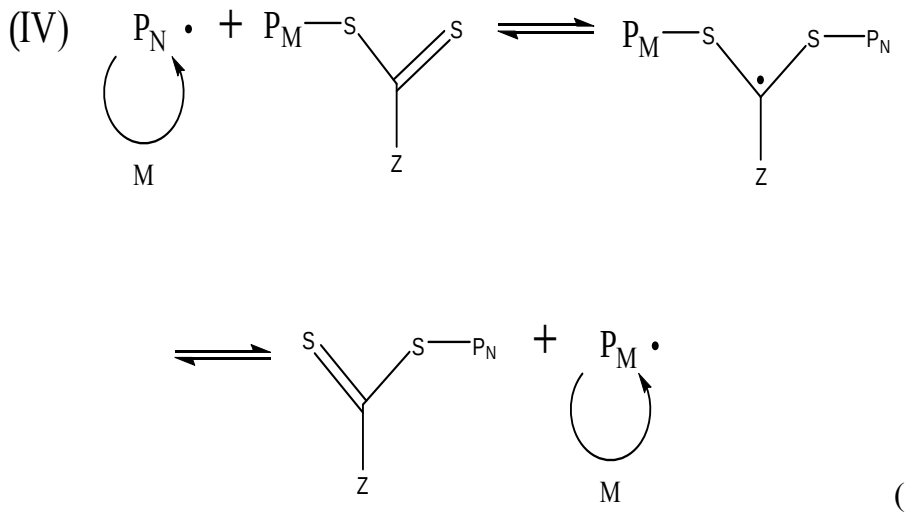
Şekil 2.3'deki ditiyoesterdeki -*Z* grubunun işlevi radikal grupların, tiyokarbonil (C=S) bağına kolayca bağlanmasını sağlamaktır. İyi bir homolitik ayrılma grubu olması gereken -R grubu ise, S-R bağı arasına yeni monomerler ekleyip, yeni polimer zincirlerinin başlatabilmesini sağlar. Tersinir zincir transferi mekanizması ancak bu iki grubun optimum aktifliği sayesinde ilerleyebilir.

Bölünme adımı: Katılma adımının sonunda açığa çıkan ayrılma grubu (-R·), ortamda bulunan monomerlerden biriyle tepkimeye girerek yeni bir aktif polimer zincirinin oluşmasını sağlar.



(1.14)

Dengelenme adımı: Bölünme adımında gösterilen reaksiyonda olduğu gibi yeni büyüyen polimer zincirleri aktif olmayan tiyokarbonil bileşikler tarafından yakalanır. Böylece bir polimer zinciri hareketsiz olarak RAFT ajanına bağlı dururken, diğer polimer zinciri aktif olarak polimerizasyon tepkimesi içindedir. P_M ve P_N olarak gösterilen polimer zincirleri, aktif ve aktif olmayan (durağan) adımlar arasında dengede bulunmaktadırlar. Sistemin sahip olduğu bu denge ile polimerizasyon canlı kalır.



(1.15)

Sonlanma adımı: RAFT polimerizasyonun sonlanma adımı, radikal konsantrasyonun azalması ile ya da dışarıdan kontrol ile gerçekleştirilir.

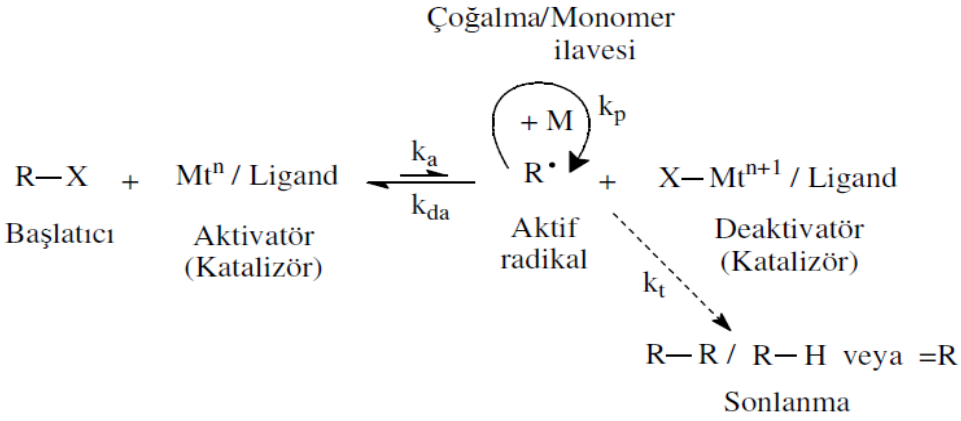
2.3.3. Atom transfer radikal polimerizasyonu(ATRP)

Atom transfer radikal polimerizasyonu (ATRP) yöntemi, 1995'li yıllardaki yayınlarla beraber yeni ufuklar açmış ve polimer bilimindeki birçok alanı etkilemiştir (Siegwart, Kwon Oh, Matyjaszewski, 2012). ATRP, diğer CRP yöntemlerinden karışık ve multifonksiyonel yapıları sentezlenme imkanı vermesi ile ayrılırken aynı zamanda en verimli kontrollü radikal polimerizasyon yöntemlerinden biridir. Düşük dispersiteye sahip kompleks yapılı polimerler bu yöntem ile elde edilebilir.

ATRP, başlatıcı olarak aktif bir halojen (RX), yükseltgenebilir hale sahip bir geçiş metali (Mt^n), geçiş metali ile kompleks oluşturan bir ligand (L) ve monomer (M) gerektirir. Geçiş metali olarak Cu, Fe, Ru, Ni, Pa ve Pt kullanılabilir. Bakır ve demir ucuzluğundan dolayı en yaygın olarak kullanılan geçiş metalleridir. Bu geçiş metallerinin CuBr, CuCl ve $FeCl_2$ bileşikleri kullanılmaktadır. Bakır bileşikleri için daha çok tersiyer amin türü bileşikler ligand olarak kullanılırken, demir bileşikleri için süksinik asit, izofitalik asit, iminodiasetik asit gibi bileşikler kullanılmaktadır.

ATRP yöntemi, bir geçiş metal kompleksine, Mt^n-Y/L, başlatıcıdan halojen transferine dayanır. Mt^n-Y/L kompleksi halojen radikaline bir elektron vererek geçiş

metali yükseltgenir, $X\text{-}Mt^{n+1}/L$ oluşturur ve serbest radikal, R^+, ortaya çıkar. Bu yöntem sırasıyla aktivasyon hız sabiti k_{akt} ve deaktivasyon hız sabiti k_{da} ile meydana gelir. Radikal polimerizasyonlarda da olduğu gibi, serbest radikallere monomerlerin katılmasıyla polimerizasyon ilerler, çoğalma hız sabiti ile k_p, polimer zincirleri büyür. Sonlanma reaksiyonu, k_t, çoğunlukla radikallerin birleşmesiyle ve orantısız olarak olmaktadır fakat ATRP de yok denecek kadar azdır. Basitçe başlama sonlanma basamakları aşağıda gösterilmiştir (Kul, 2009).



Şekil 2.4. ATRP' nin genel reaksiyon mekanizması

ATRP monomer, spesifik başlatıcı, katalizör, sıcaklık, reaksiyon süresi ve çözücüler gibi çok bileşenli bir sistemdir, dolayısıyla bütün bu bileşenlerin konsantrasyonları ve yapıları oluşacak olan polimerin yapısına ve polimerizasyon hızına etki eder. Polimerizasyon hızı ve polimerin yapısı;

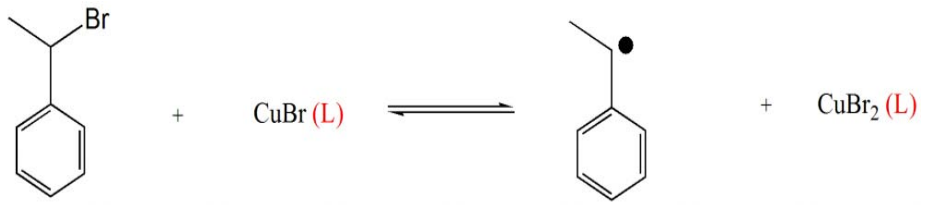
- Monomer,
- Spesifik başlatıcı,
- Ligandın kompleks oluşturabilme özelliği,
- Katalizörün çözelti içindeki yapısı,
- Reaksiyon sıcaklığı,
- Reaksiyon süresi
- Çözücünün özelliğine bağlıdır.

ATRP ile stiren, akrilat, metakrilat, metakrilamit, asetonitril, 4-vinil piridin, dimetil (1-etoksikarbonil) vinil fosfat, 2-akrilamido-2-metil-N-propan sülfonik asit *ve* akrilonitril gibi birçok monomer polimerleştirilebilir. ATRP akrilamit ve asidik monomerlerle iyi sonuç vermez. Bunun nedeni akrilamitlerin katalizörle etkileşmesi ve asidik monomerlerin katalizörü bağlamasıdır. Asidik monomerler ATRP ile polimerleştirilecek ise asidik uçlarının kapatılmaları gerekmektedir (Yorulmaz, 2009).

Reaksiyonda önemli bir yere sahip olan ligand seçimi tepkimenin dengede gitmesini sağlaması açısından önemlidir. En çok kullanılanları PMDETA (N,N,N′,N′′,N′′ Pentametildietilentriamin), PMe_6TREN (Tris (2-dimetilaminoetil) amin) ve TPMA (Tris [(2-piridil) metil] amin)'dir; çünkü bu ligandlar ile yüksek bağlanma ve ayrışma hızları ile yüksek reaksiyon hızı elde edilir. ATRP yönteminde başlatıcı olarak EBİB (Etil 2-bromoizobütirat), fenil etil bromür, bütil bromür gibi organik halidler ve türevleri kullanılır.

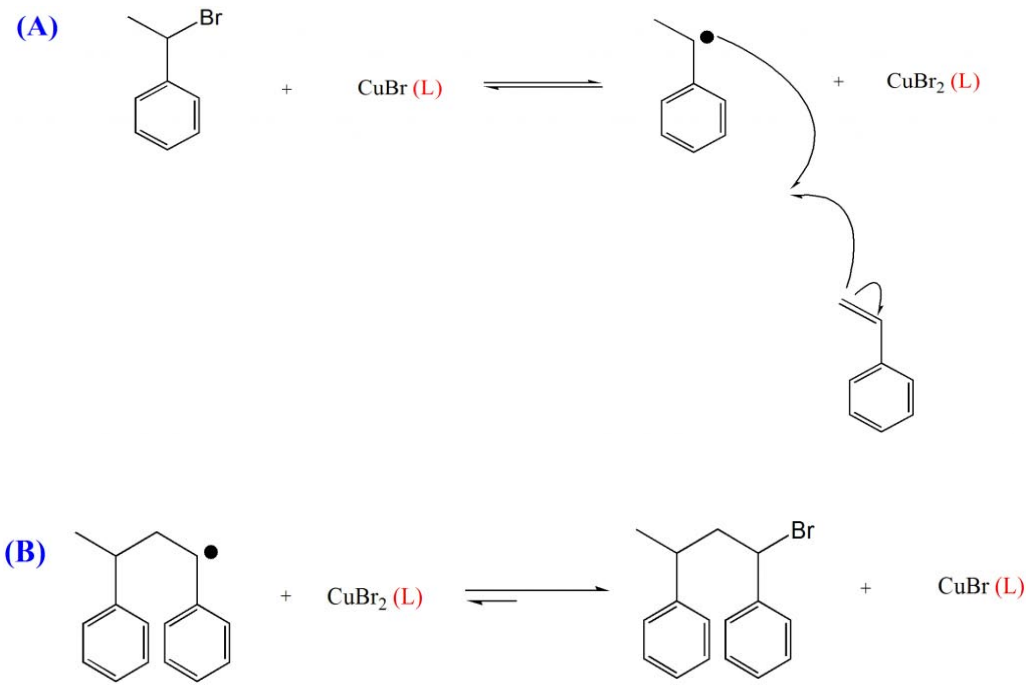
ATRP polimerleşmesi aktivasyon ve deaktivasyon basamaklarının ardı ardına tekrarlanması ile gerçekleşir ve reaksiyonun başarısı reaksiyonun sürekli olarak "denge"' nin deaktivasyon tarafına doğru itilmesine bağlıdır. Bu şekilde durağan polimer zincirlerinin oranı, aktif zincirlere oranla çok daha yüksek olacaktır ve kontrollü büyüme sağlanacaktır.

Başlama adımında aşağıdaki şekilde görüldüğü gibi ortama eklenen halojenli başlatıcı ve düşük oksidasyon basamağındaki bakır metal kompleksi reaksiyona girer ve başlatıcı aktif hale geçer. (L) kompleksi, bu reaksiyonda kullanılan ligandtır ve metal bazlı katalizörü dengede tutmaya yarar.



Şekil 2.5. ATRP' de başlama basamağının gösterimi

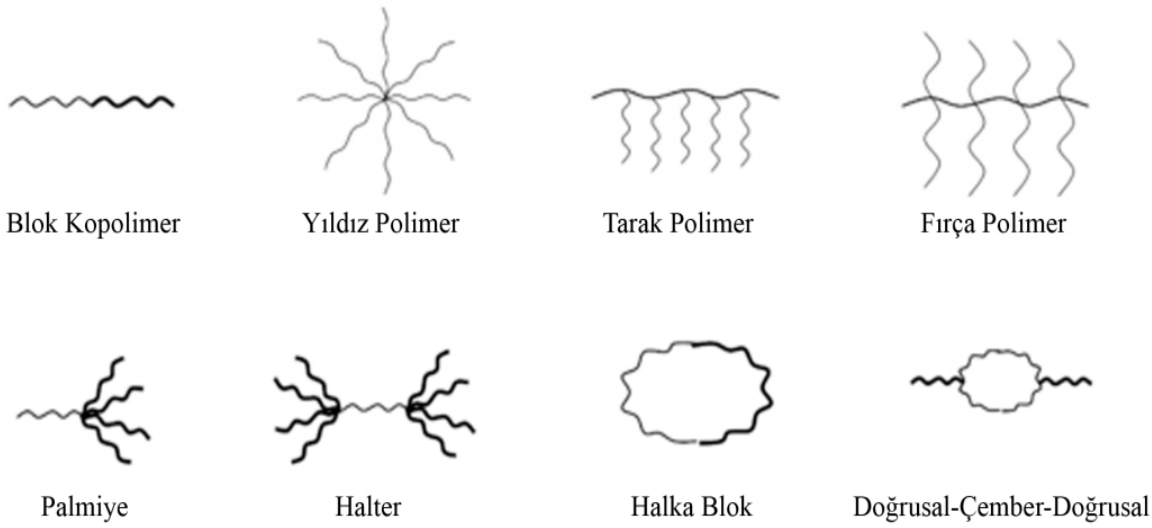
Aktif hale geçen başlatıcı, ortamdaki monomerlerle reaksiyona girmeye başlar (Şekil 2.6-A). Bir süre sonra büyümekte olan zincir halojenli bakır kompleksi ile reaksiyona girerek durağan hale geçer (Şekil 2.6-B). Aktivasyon ve deaktivasyon hız sabitlerinin oranına bağlı olarak bir süre sonra büyüyen zincir yine aktif hale gelir ve büyümeye devam eder. Bu basamaklar tekrarlanarak kontrollü zincir büyümesi sağlanmış olur.



Şekil 2.6. ATRP' de ilerleme basamağının gösterimi

ATRP yönteminin en önemli özelliği sonlanma reaksiyonlarının yok denecek kadar az olmasıdır. Polimerleşme ortamdaki monomerler bitene kadar devam eder. Reaksiyonun ortamının (sıcaklık, çözücü ilavesi, karıştırma hızı vb.) bozulması gibi dışarıdan bir müdahale ile polimerleşme durdurulabilir.

Şekil 2.7' de gösterildiği gibi çok zengin geometrilere sahip blok kopolimerler, hiper-dallanmış zincirler, dendrimerler ve ağsı-kopolimerler ATRP ile elde edilebilir. Her bir zincir mimarisinin sağladığı farklı fiziksel özellikler sayesinde sentezlenen polimerler birçok uygulamada kullanılabilir [10].



Şekil 2.7. ATRP ile sentezlenebilecek polimer yapıları

Bu yöntemde kullanılan katalizörün polimerden saflaştırılmasının gerekliliği ve oksijen olan yüksek duyarlılık karşımıza dezavantaj olarak çıkmaktadır. Buna karşılık atom transfer radikal polimerizasyon metodu kullanılarak random, blok, graft ve star gibi çeşitli bileşen ve yapılı kopolimerlerin hazırlanması ve monomerlerin uç fonksiyonellerini çok iyi bir şekilde kontrol edilmesi mümkündür.

2.4. Sentez Yöntemlerinin Karşılaştırılması

Radikalik Polimerizasyon, zengin monomer çeşitliliğine sahip olup, yüksek molekül ağırlıklı polimerlerin uygun reaksiyon ortamlarında elde edilmesi için ideal bir yöntemdir. Bu yöntemde başlama basamağı, ilerleme basamağından daha yavaş olduğu için heterojenlik indisi yüksek, polidispers zincirlere sahip polimerler elde edilir. Fonksiyonel uçlar, zincir yapıları ve boyutları gibi yapının mimarisinin kontrolü zayıftır.

İyonik Polimerizasyon da, polimerleşme çok hızlıdır, bu nedenle ortamda olabilecek az miktardaki safsızlıklardan sistem yüksek oranda etkilenir. Tekrarlanabilir kinetiklerin elde edilmesi zordur.

Kontrollü Radikalik Polimerleşme yöntemleri ise kendi içinde üç ana başlık altında incelenmiştir ve kullanılan monomere, hedeflenen polimere, çözücüye, katalizöre ve diğer ortam şartlarına göre seçilebilmektedir. Kontrollü Radikalik

Polimerleşme yöntemlerinin tüm avantaj ve dezavantajları sentez aşaması, saflaştırma ve son ürünün yapısına göre değişmektedir.

Kararlı serbest radikalik polimerizasyon (SFRP) reaksiyonları, her monomere uygun değildir. Akrilatlar, metakrilatlar ve akrilamitler bu polimerleşme yöntemi ile polimerleştirilemezler, yani çalışma aralığı bazı monomerlerle sınırlıdır. Polimerizasyon süresinin uzun oluşu (60-70 saat gibi) ve yüksek sıcaklıklarda çalışılması gerekmesi gibi dezavantajları vardır. SFRP yönteminin en belirgin avantajı herhangi bir metal katalizöre ihtiyaç duyulmaması ve saflaştırma işleminin olmamasıdır.

Tersinir katılma-bölünme zincir transfer polimerizasyonu (RAFT) yöntemiyle, kontrollü olarak birçok monomer çeşidi polimerleştirilebilir ve canlı polimer zincir ucu sayesinde, istenilen mimariye sahip polimerler elde edilebilir. Polimerizasyonda zincir transfer basamağının etkili olması sebebiyle, polimerizasyon hızı düşüktür. Kullanılan zincir transfer maddeleri ticari olarak satılmazlar. Bu nedenle sentezde kullanılan ajanların sentezlenmesi gerekir ve zehirlidirler. Ditiyoester gruplarından dolayı sarı ya da kırmızı renk ve koku gözlemlenir. İçinde metal olan polimerlerin sentezinde ise bu yöntem kullanılamaz.

Atom transfer radikalik polimerizasyonu (ATRP) yönteminin, safsızlıklara karşı yüksek duyarlılık göstermesi, asidik monomerlerle iyi sonuç vermemesi ve kullanılan geçiş metalinin polimerden uzaklaştırılması gibi dezavantajları vardır. Ayrıca sentezde kullanılan geçiş metali nedeniyle polimerler yeşil renktedir. Fakat neredeyse tüm monomerlerin ATRP reaksiyonlarında kullanılması ve geniş sıcaklık aralığında çalışmaya olanak sağlaması bu yöntemi diğer yöntemlerden üstün tutmaktadır. Ayrıca ATRP ile diğer polimerizasyon şartları ile aynı şartlar altında farklı monomerlerin polimerleri polidispersite indeksi düşürülmeden sentezlenebilir.

Genel olarak yukarıda anlatılan 3 kontrollü radikalik polimerleşme yöntemi ile de polidispersitesi düşük, zincir boyut dağılımları monodisperse yakın polimerler sentezlenebilir. Ayrıca monomer ilavesi ile polimerleşmeye devam edebilecek aktif, yaşayan uca sahip ve molekül ağırlığı sentezden önce belirlenebilen yapıda polimerlerin sentezlenebildiği söylenebilir.

3. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Son yıllarda yapılan çalışmalarda blok kopolimerler, uygulama alanlarının geniş olması sebebiyle oldukça geniş yer bulmaktadır. Yapılan araştırmalarda en çok kullanılan blok kopolimer sentez yöntemleri; SFRP, RAFT ve ATRP gibi kontrollü radikalik polimerleşme yöntemleridir. Her bir polimerizasyon yöntemi kendi içinde farklılık göstermektedir. Bu nedenle yapılan çalışmalarda sentez yöntemi aynı olmasına karşılık, işlem prosedürü sentezlenen polimerin uygulama alanına bağlı olarak değişmektedir. Örneğin; sentezlenen fonksiyonel uçlu blok kopolimerler, biyolojik sistemler ile uyumlu monomerlerden yola çıkılarak sentezlendiklerinde; ilaç salınımı, yapay organ mühendisliği ve medikal görüntüleme gibi birçok biyolojik ve biyomedikal uygulamalarda önem arz eden moleküller haline gelirler (Siegwart, Kwon Oh, Matyjaszewski, 2012). Bu bölümde, sentez çalışmaları ve elde edilen blok kopolimerin uygulama alanları için yapılan benzer çalışmalar ve ileri uygulamalar araştırılmış ve özetlenmiştir.

2003 yılında Krishnan ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada glisidil metakrilatın kontrollü radikalik polimerizasyonu ATRP yöntemi ile farklı sıcaklıklarda çalışılmış ve sentezde CuBr ile N-(n-propil)-2-piridilmetanimin katalizör sistemi kullanılmıştır. Başlatıcı olarak 2-bromopropionitril (BPN), 1-fenil etilbromür, p-dibromoksilen, benzilbromit, metil 2-bromopropionat gibi farklı başlatıcılar kullanılarak, bulk ortamda ve difenil eter, anisol, metanol, etil metil keton, su gibi çözücü ortamlarında iyi tanımlanmış PGMA homopolimeri sentezlenmiştir. Sentez sonuçlarına bakıldığında su ortamında 20 dakikada % 93 dönüşüm sağlanırken, anisol ile 240 dakika da % 83 dönüşüm sağlanabilmiştir. Benzer şekilde başlatıcı olarak p-dibromo ksilen kullanıldığında 120 dakikada % 86.6 dönüşüm sağlanırken, metil 2-bromopropionat ile 180 dakikada % 71.4 dönüşüm sağlanmıştır (Krishnan R., 2003).

2008 yılında Rodrigo Paris tarafından yapılan iyi tanımlanmış epoksi ucuna sahip 4 kolllu yıldız diblok kopolimerler çalışmasında, stiren, metil metakrilat ve glisidil metakrilat monomerleri kullanılarak ATRP yöntemiyle sentez yapılmıştır. Blok kopolimer sentezinin ilk adımında, stirenin ve metil metakrilatın, aktif –Br ucuna sahip 4 kollu yıldız homopolimeri sentezlenmiştir. İkinci adımda, sentezlenen $[PS\text{-}Br]_4$ ve $[PMMA\text{-}Br]_4$ homopolimerleri makrobaşlatıcı olarak kullanılmış ve glisidil metakrilat (GMA) monomeri ile blok kopolimeri sentezlenmiştir. Bu polimerizasyon diğer polimerleşme yöntemlerine göre daha düşük bir sıcaklık olan 50 °C' de, kataliz sistemi

olarak bakır klorür ile N,N,N′,N′′,N′′ Pentametildietilentriamin (PMDETA) kullanılarak ve benzonitril ortamında yapılmıştır. Sentez 75 dakika sürmüş ve reaksiyon sonlandırıldığında, GMA bloğunun molekül ağırlığı Boyut Dağılım Kromatografisi (SEC) ile 71,000 g/mol olarak saptanmıştır (Paris ve ark., 2008a). Rodrigo Paris'in 2008 yılında yaptığı bir diğer çalışmada Allil metakrilat (AMA) ve glisidil metakrilat (GMA) monomerleri ATRP ile 50 °C' de, monomer ve başlatıcı oranı 200:1 kullanılarak ve hacimce % 50-% 50 difenil eter ortamında polimerleştirilmiştir. Ligand olarak PMDETA, metal-halojen çifti olarak CuCl kullanılmıştır. Fakat bu polimerizasyonda, GMA ve AMA aynı deney tüpünün içinde olup, reaksiyon ortamına daha sonra Etil 2-bromoizobütirat (EBİB) başlatıcısı ilave edilerek polimerleşme başlatılmıştır. Belli bir süre sonunda elde edilen polimer çözeltisi kloroform ile seyreltilerek, nötral alümina kolondan geçirilmiş ve daha sonra çözücüsü evapore edilmiştir. Fazla miktardaki hekzan çözücüsü içine polimer çözeltisi dökülerek, vakum altında kurutulmuştur (Paris ve ark., 2008b).

Benzer şekilde PS-b-PGMA sentezi 2006 yılında Tuba Erdoğan tarafından ATRP yöntemiyle sentezlenmiştir. Fakat bu çalışmada Rodrigo Paris' den farklı olarak halojen ve geçiş metali çifti olarak CuBr kullanılmış ve polimerizasyon 60 °C' de sadece 5 dakika süre içinde yapılmıştır ve GMA' ait bloğun molekül ağırlığı 1800 g/mol olarak saptanmıştır (Erdoğan T., 2006) .

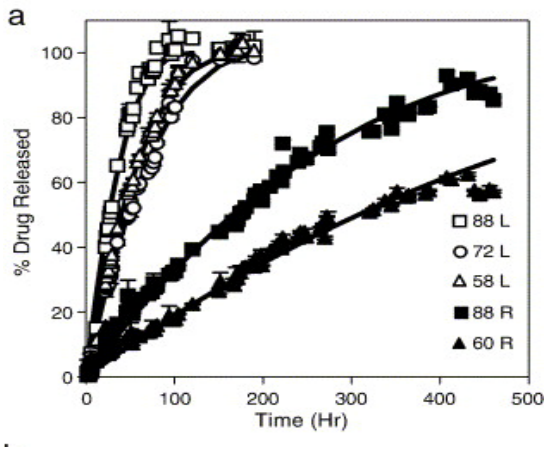
Brar tarafından 2008 yılında, stiren ve glisidil metakrilatın ATRP ile kopolimerizasyonu deneyinde ise başlatıcı, çözücü ortamı, ligand ve sıcaklığın polidispersite ve polimerleşme kinetiğine etkisi incelenmiştir. Başlatıcı olarak EBİB' in, katalizör sistemi olarak PMDETA/CuBr' ün, çözücü olarak Toluen' in kullanıldığı ve 60 °C' de yapılan çalışmalarda polimerleşmenin birinci dereceden kinetik davranış sergilediği ve molekül ağırlığının monomerin dönüşümü ile orantılı olarak değişip, polidispersitenin düşük olduğu gözlenmiştir (Brar A.S., 2008).

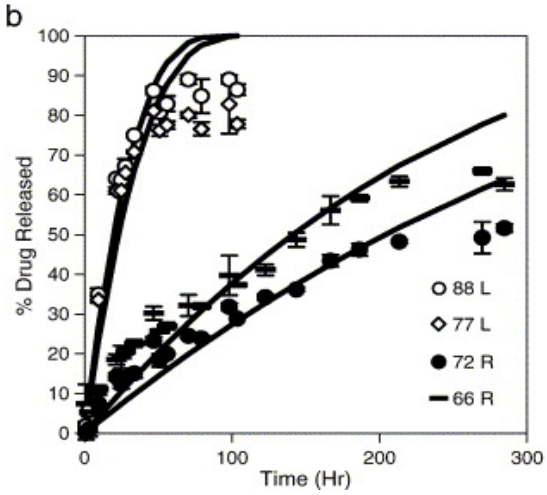
Biyolojik çalışmalar ve ilaç uygulamalarında multifonksiyonel, nano ölçekli malzemelerin hazırlanması ve dizaynedilmesinde ATRP yöntemi çok etkili bir yöntemdir. Bu yöntem ile biyomedikal dizaynlar için önemi büyük olan makromoleküller yapıların kontrolü, düzenlenmesi ve fonksiyonelliği kontrol edilebilir. Polimer-ilaç, polimer-protein, polimer-DNA gibi polimer konjugatları yeni bir potansiyel çalışma alanı oluşturmaktadır (Siegwart D., 2012).

Blok kopolimerler; 10 nm ile 900 nm arasında çözelti ortamında kendiliğinden toplanabilir ve misel oluşturabilirler bu özellikleri nedeniyle etkili ve kontrollü ilaç

dağıtım araçları olarak bilinirler (Kwon GS., 2003; Kataoka K., 2001). Oluşan misellerin anti kanser ilaçları da dahil hidrofobik ilaçların, sudaki çözünürlüğünü belirgin olarak arttırdığı gözlemlenmiştir (Xu P., 2006; Gao Z., 2005). Hidrofobik ilaçların çözünürlüğünün arttırılabilmesi, kontrollü ilaç taşınımında en önemli parametredir. Çünkü bu sayede, ilacın daha etkili bir şekilde ve istenilen lokal bölgeye kan yoluyla taşınması sağlanır (Tyrrel L. ve ark., 2010). Ayrıca kandaki ilaç miktarı belirli bir konsantrasyonda (optimum düzeyde) tutularak, dozajın zamana bağlı değişiminin önüne geçilmesi ve vücudu daha az toksik maddeye maruz bırakılarak iyileşmenin daha kısa sürede gerçekleşmesi de blok kopolimerler ile gerçekleştirilebilir (Hürtürk, 2011).

Amfifilik miseller gibi, mikro kapsüller, mikro küreler ya da nanopartiküller vasıtasıyla kontrollü ilaç salınımı da yapılabilir. Etken madde monomerlerin ve katalizörün bulunduğu ortama eklenir polimerleşme partiküllerin çevresinde gerçekleşirken mikro kapsüller oluşur. Çekirdekte etken madde, çeperde ise kaplama yapılan polimerler bulunur. Hücrelerden küçük boyutta olmalarından dolayı, nanopartiküller ince kapillerler aracılığı ile dokuların içine penetre olabilirler, epitel üzerindeki açıklıktan geçebilirler (örneğin, karaciğer) ve genellikle hücreler tarafından etkin bir şekilde alınırlar (Taktak, 2009). Yapılan bir çalışmada Poli (laktik asit) – poli (etilen oksit) – poli (laktik asit) (PLA-PEO-PLA) triblok kopolimerlerinin %5' lik misel çözeltisi kullanılarak Sulindak ve Tetrakainin 4−6 saat olan salım süreleri 10−20 güne çıkarılmıştır. (Agrawal ve ark., 2006)

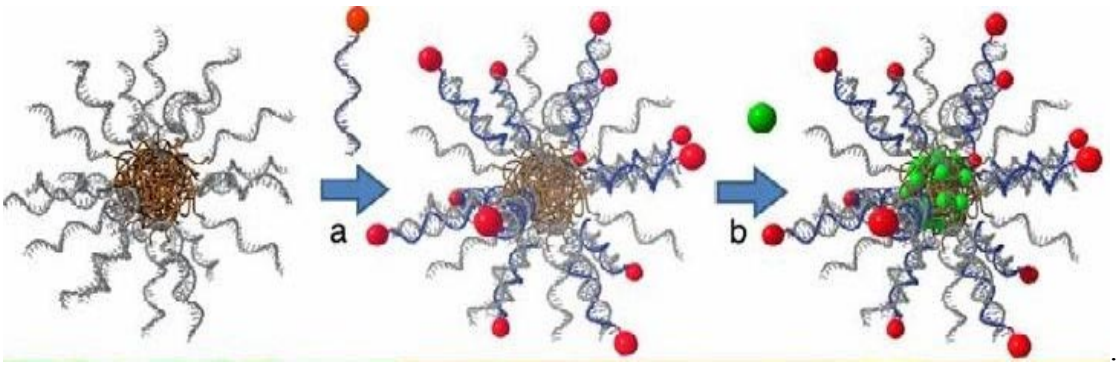




Şekil 3.1. (a) Sulindak ve (b) Tetrakainin salınım süreleri

Son yıllarda gelişme gösteren alanlardan biride gen terapisidir. Gen terapisinde kullanılmak üzere iyi tanımlanmış poli (glisidil metakrilat-b-propilen oksit-glisidil metakrilat), P(GMA-b-PO-GMA), BAB şeklinde triblok kopolimer ATRP yöntemiyle sentezlenmiştir. Gen terapisinde kullanılabilmesi için yapı etilen diamin(EDA) ve 1-(3-aminoproil) imidazol (API) ile katyonik ve amfifilik hale getirilmiştir. EDA ve API, DNA bağlama kapasitesi, boyut, zeta potansiyeli gibi faktörlerin değişmesinde etkili olmuştur. Sentezlenen katyonik ve amfifilik özellikteki polimerler düşük toksisite ve iyi transfeksiyon aktivitesi göstermiştir (Li Feng, 2011).

Benzer şekilde yapılan bir diğer çalışmada da DNA parçacıkları ve sentetik organik polimerlerin çözeltide ya da katı bir destek üzerinde sentezlenmesiyle biyoorganik hibritler oluşturulmuştur. Hidrofobik ve hidrofilik uç taşıyan amfifilik hibritler, kabukta hidrofilik DNA ve çekirdekte hidrofobik polimer olacak şekilde kendiliğinden toplanarak misel oluşturabilmektedirler. Bu çalışmalar için değişik uzunluk ve sırada oligodeoksinükleotid ve sentetik polimer sentezlenmiştir. Bu iki materyalin birleşmesiyle elde edilen DNA blok kopolimerler, tek başına nükleik asitlerden ya da polimerlerden elde edilemeyecek özellikler sergilemektedirler. Bu biyoorganik hibritler DNA saptama, ilaç taşınımı, gen terapi ve nanobilim alanındaki uygulamalarda kullanılabilmektedirler.



Şekil 3.2. DNA blok kopolimerleri

Alemdaroğlu tarafından yapılan çalışmada amfifilik DNA blok kopolimerlerin küresel miseller olarak toplanması Şekil 3.2' de olduğu gibi gösterilmiştir. Oligonükleotid hedef tamamlayıcısı ile eşlenir. (a) yaklaşık 10 nm çapında hidrofobik anti kanser ilaçları içeriye doğru dahil olur. (b) DNA nano yapıları kanserli hücreler tarafından alınır. Bu sayede, DNA blok kopolimer agregatları görüldüğü gibi ilaç taşıyıcı sistem özelliği sağlamış olur (Alemdaroğlu, 2006).

Hidrojel uygulamalarında da blok kopolimerler tercih edilir. Hidrojelleri çok miktarda su ya da biyolojik sıvıları absorblayabilen ve suda çözünmeyen yapıda polimerler olarak tanımlayabiliriz. İlk uygulaması, 2-(hidroksietil metakrilat) (HEMA) ve etilen dimetakrilat (EDMA)' ın bir kopolimer üretimi olan kontak lenstir (Hoffman, 2002). Mekanik kararlılıklarının oluşu, yüksek oksijen geçirgenliği ve uygun kırınım indisine sahip oluşları, kontakt lenslerde kullanılmalarının temel nedenidir. Son yıllarda akıllı hidrojel olarak tanımlanan pH ve sıcaklığa duyar ve uyarıları algılayıp, fiziksel ve kimyasal davranışlarında değişiklikler göstererek bu uyarıya cevap verebilen polimerler sentezlenmektedir (Ke Wang, 2012; Lim HJ., 2012; Taktak, 2009).

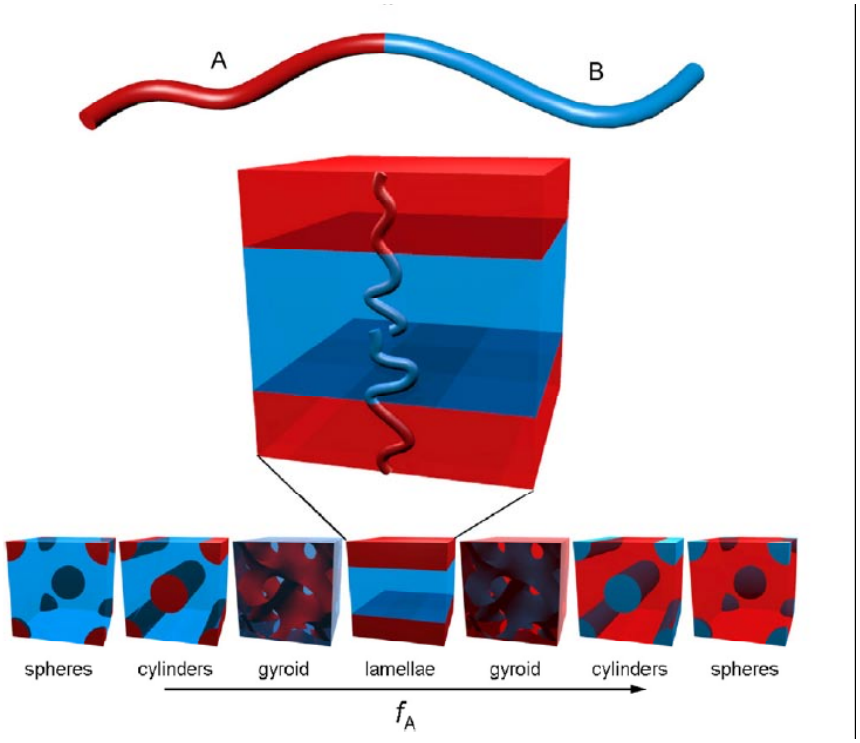
Blok kopolimerler; Jin Kon Kim ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda membran elde etmek için kullanılmıştır. Yapay membranlar laboratuar ve endüstri ortamında saflaştırma ve yalıtma işlemlerinde kullanılır. Membranda bulunan küçük delikler büyük tanecikleri tutup küçük taneciklerin geçmesini sağlar. Özelleşmiş membranlar küçük molekülleri büyük moleküllerden ayırmakta kullanılır. Membranların üretilmesinde polimerler, seramikler, cam veya ender olarak metaller kullanılarak seçici geçirgenlik özelliği sağlanır. En yaygın olan membranlar polimer membranlardır. Membranlar da akış gözenek boyutu, gözenek alanı ve kalınlığa bağlı olarak değişmekte iken seçicilik ise boyut dağılımıyla değişmektedir.

Kendiliğinden toplanan blok kopolimerlerden oluşan ayırma tabakası ile dar boyut dağılımı ve çok ince kalınlık sağlanmakta iken çok gözenekli yardımcı katman ile de mekanik dayanım ve akış kolaylaştırılmaktadır. Bu özelliklerinden dolayı çok gözenekli yardımcı katman ve blok kopolimerlerin kompoziti ile nano-gözenekli yüksek akış ve seçiciliği sahip membranlar sentezlenebilmektedir. Bu nano-gözenekli membranlar biyolojik ayırma için kullanışlı materyallerdir.

Yapılan bir çalışmada çapı 30,6 nm olan insandaki HRV 14 virüsü ile çapı 7.2 nm olan Serum Albümin Protein karışımı nano-gözenekli membrandan geçirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre daha ince kalınlığı (80 nm) ve yüksek yüzey gözenekliliğine (% 20) sahip polikarbonat (PC) membrana nazaran (6,5 mikron ve % 2 gözeneklilik) polistiren- poli(metil metakrilat) (PS-PMMA) membranın 100 kat daha fazla akış gösterdiği tespit edilmiştir. Membran seçimli olarak protein moleküllerini geçirirken virüslerin membranın üst yüzeyinde kaldığı gözlemlenmiştir (Jin Kon Kim, 2006).

Son yıllarda blok kopolimerlerin elektronik devre elemanlarının yapımı ve uygulamaları üzerinde de oldukça fazla çalışma mevcuttur. Bu ilginin temelinde sentezlenen yapıların boyutları (<100 nm), kendiliğinden toplanabilme özellikleri ve monomerlerin ya da oluşturdukları materyallerin eşsiz özellik ve uygulamaları yatmaktadır (J. Rodrıguez, 2005). Kendiliğinden toplanabilme ile kullanışlı mezo yapıdaki materyallerin üretiminin, sürekli ve doğal sistemlerde kullanılabilmesi söz konusudur (Ball, 2000). Parça boyutu inceldikçe birim kütle için yüzey alanı artışı, malzemenin kimyasal reaktivitesini artırır. Bu özelliğiyle, nano-malzemeler yakıt hücreleri ve pillerde katalizör görevi görebilmektedir. Nano-elektronik devre elemanlarında anot-katot elektrotlar kullanılır ve boyutlar önemlidir. Nano-desenlemede blok kopolimerlerin morfolojisinin kontrolü ile istenilen desen oluşturularak, istenilen yapıda elektrotlar elde edilebilir.

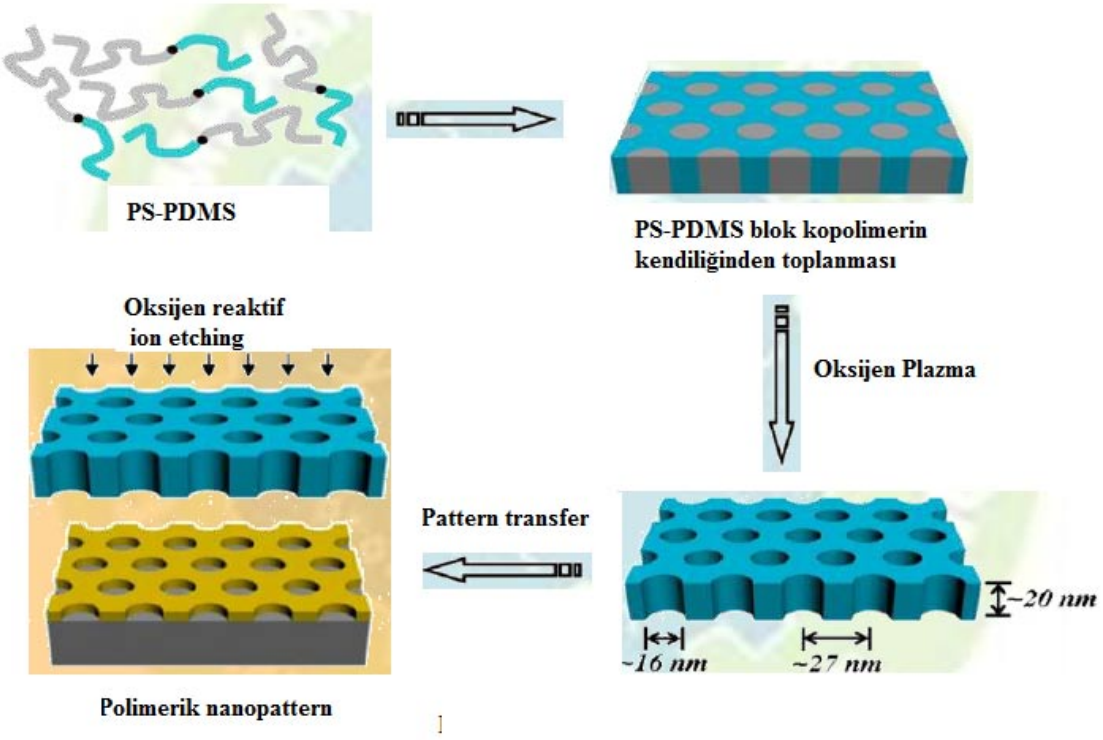
Blok kopolimerlerde morfoloji; kopolimer kompozisyonu, hacim fraksiyonu ve Flory-Huggins etkileşim parametresi gibi parametreler değiştirilerek küreselden lamelere doğru değiştirilebilmektedir.



Şekil 3.3. Morfolojinin A bloğunun hacim fraksiyonuna göre değişimi

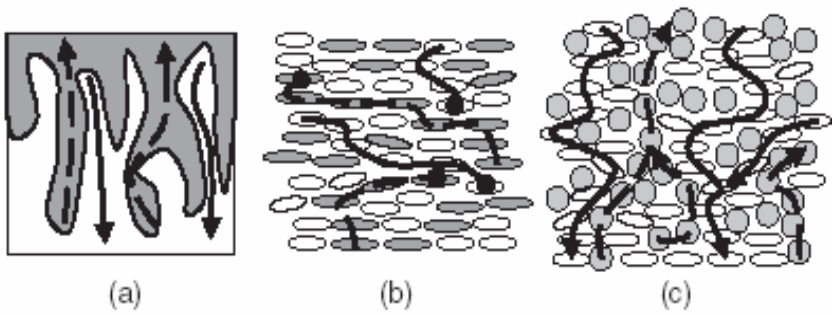
Yukarıdaki şekilde hacim fraksiyonu yani blokların birbirlerine göre oranının değişmesi ile farklı morfolojiye sahip olarak elde edilen polimer yapıları gösterilmiştir. Her iki bloğun oranı % 50-% 50 olduğunda (mol ya da ağırlıkça) yapı lameller (parmak izi) haldeyken, A ya da B fraksiyonun diğerinden çok yüksek olmasıyla yapı küresel hale geçmektedir. Sonuçta blok kopolimerler kullanılarak nano ölçekte küresel, silindirik ya da lameller morfolojiye sahip materyaller sentezlenebilmektedir (Darling, 2007).

% 25-% 75 hacim fraksiyonuna sahip polistiren-b-poli(dimetilsiloksan) (PS-b-PDMS) blok kopolimerleri sentezlenmiş ve nano-desenleme çalışmalarında Şekil 3.4' deki gibi kullanılmıştır. Sentezlenen blok kopolimer; tavlama işleminden sonra kendiliğinden toplanarak silindirik hale geçmiş daha sonra oksijen plazma yöntemi ile seçimli olarak polistiren bloğu aşındırılmıştır. Elde edilen silindirik patternler istenilen bir yapı üzerine şekil verilerek, reaktif iyon etch yöntemiyle PDMS bloğu aşındırılmış ve istenilen materyal nano-pattern işlemiyle nano ölçekte desenlendirilmiştir. Pattern transfer edilen yapı kullanılacak uygulamaya göre krom, altın, bakır, titanyum vb. metaller olabildiği gibi substrat yüzeyleri de olabilir.



Şekil 3.4. Nano-desenleme işleminin şematik gösterimi (Chao C., 2010)

Fotovoltaik hücreler blok kopolimerlerin kullanıldığı bir diğer çalışma alanıdır. Bu hücrelerin verimini etkileyen en önemli faktörlerden biri nano-ölçekli yapıdır bu nedenle iyi tanımlanmış blok kopolimerler tercih edilir. Işık geldikten sonra boşluk ve elektronun birbirinden ne kadar iyi ayrıldığı da oluşturulan sistemin verimliliğini etkileyen bir diğer önemli faktördür. Bu ayrılma ara yüzeyde meydana gelir. Ayrılma ne kadar yüksek ise verim o kadar yüksek olacaktır. Tipik cihazlar rastgele düzenlenmiş elektron alıcı ve elektron verici yarı iletkenlerden oluşmaktadır. Blok kopolimerler iki ya da daha fazla her bir zinciri farklı özelliğe sahip uzun zincirlerden oluştuğu ve yapılar düzenli bir şekilde kendiliğinden toplandıkları için bu özelliği ile mükemmel şekilde dizayn edilebilirler. Yüzey alanı arttırılarak en iyi ulaşım yolu sağlanabilir.



Şekil 3.5. Donör-akseptörün farklı ulaşım yollarının gösterimi

Forrest ve arkadaşları tarafından 2005 yılında yapılan çalışmada kullanılan blok kopolimer ile Şekil 3.5' de olduğu gibi yapı kendiliğinden doğal olarak ayırılmıştır. Yük ayrımı daha öncede ifade edildiği gibi temas yüzeyinde meydana geleceğinden temas yüzeyi ne kadar fazla ise o kadar iyi ayrılma ve o kadar iyi verim Şekil 3.3' deki (a) yapısında elde edilmiştir. (Forrest, 2005).

Blok kopolimerler birbirine kovalent bağlarla bağlanmış olduklarından fazlar birbirinden ayrılmaz ve daha iyi fiziksel özellik gösterirler. Bu özelliklerinden dolayı homopolimerlere üstünlük sağlarlar ve yukarıda da ifade edildiği gibi birçok uygulama alanları mevcuttur. Aynı zamanda bunlar, stabilizörler, emülsiyon yapıcılar, dispersiyon yapıcı ajanlar, elastomerik materyaller, surfaktanlar olarak kullanılabildiği gibi, kozmetikte ve diğer endüstriyel uygulamalarda da kullanılabilmektedirler.

4. MATERYAL ve YÖNTEM

Yapılan çalışmada polistiren-b-poli(glisidil metakrilat) (PS-b-PGMA) diblok kopolimerinin sentezi, en verimli ve etkili kontrollü radikalik polimerizasyon yöntemi olan Atom Transfer Radikalik Polimerizasyon (ATRP) yöntemi ile yapılmıştır. Stiren monomeri kullanılarak aktif brom ucuna sahip yaşayan polimer sentezlenmiş ve sentezlenen polimer glisidil metakrilat ile diblok polimerler oluşturmak için makrobaşlatıcı olarak kullanılmıştır. Polimer sentez şartları kullanılan başlatıcı, monomer konsantrasyonu, sıcaklık, süre gibi parametrelerin değiştirilmesi ile optimize edilmiştir. Deneyler boyunca farklı molekül ağırlıklarına sahip diblok kopolimerler sentezlenmiştir. Elde edilen diblok kopolimerlere insan serum albümin (HSA) proteini bağlanmış ve her polimerin aynı proteini bağlama miktarı tespit edilmiştir. Daha sonra en yüksek bağlanma sağlayan polimere; sığır serum albümin (BSA), globin ve hemoglobin proteinleri de bağlanmış ve farklı proteinlerin bağlanma kapasiteleri hesaplanmıştır. Protein ve diblok kopolimer (BCP)' den oluşan yeni hibrit materyallere ise "Donepezil" ilaç etken maddesi ilave edilerek ilaç ile etkileşimi incelenmiştir.

Polimer sentezinde kullanılan cam malzemeler ve iğneler kullanılmadan önce ultrasonik banyoda ve toluen ile temizlenmiştir. Protein ve ilaç bağlama işlemleri, pH:7.4 olan tris tampon çözeltisi ortamında yapılmıştır.

4.1. Kullanılan Malzemeler

Stiren (S, 99 %, Merck) ve glisidil metakrilat (GMA, 95 %, Alfa Aesar) kullanılmadan önce bazik alümina kolonundan geçirilmiştir.

2-Feniletilbromür (2-PeBr, Alfa Aesar), 1-Feniletilbromür (1-PeBr, Alfa Aesar), Etil 2-bromoizobütirat (EBİB, Alfa Aesar), CuCl (≥99.999 %, Alfa Aesar), *N,N,N′,N″,N″* Pentametildietilentriamin (PMDETA, Alfa Aesar) ve İyon Değiştirici (Sigma Aldrich) firmadan alındığı gibi kullanılmıştır.

Anisol (99 %, Merck), Asetik asit (100 %, Merck), Sülfürik asit (98 %, Merck), Hidrojen peroksit (30 %, Merck), Hidroklorik asit (37 %, Honey Well), Aseton (Merck), Benzonitril (99 %, Alfa Aesar), n-hekzan (95 %, Lab Scan), Etanol (Merck), Metanol (Merck), Toluen (99.7 %, Sigma Aldrich), N,N-Dimetilformamid (DMF, 99 %, Aldrich), Tetrahidrofuran (THF, 99.9 %, Merck), Diklorometan (99.8 %, VWR),

Kloroform (99.2 %, VWR), 1,2-diklorobenzen (99 %, Merck) firmadan alındığı gibi kullanılmıştır.

CuBr (99.99 %, Sigma Aldrich) asetik asit ile muamele edilip 3 kez metanol ile yıkandıktan sonra kullanılmıştır.

İnsan serum albümin (HSA, 97-99 %, Sigma Aldrich), Globin (Sigma Aldrich), Hemoglobin (Sigma Aldrich), Sığır serum albümin (BSA, Sigma Aldrich)' nin Tris tampon ile çözeltisi hazırlanarak kullanılmıştır.

Tris tampon çözeltisi (Trizma baze, 99.9 %, Sigma Aldrich) su ile pH:7.4 olacak şekilde HCl asit ile hazırlanmıştır.

Donepezil' in DMF ve Tris tamponu karışımındaki çözeltisi hazırlanmıştır.

4.2. Kullanılan Cihazlar

Nükleer Manyetik Rezonans (NMR), ^{1}H NMR spektrumlar Bruker AM 400/AC 200 cihazı ile çözücü olarak DMSO, standart olarak tetrametilsilan (TMS) kullanılarak alınmıştır. Kimyasal kayma değerleri TMS rezonans frekansına göre aşağı alandan ppm (δ) cinsinden verilmiştir.

Fourier Transform Infrared Spektrometresi (FT-IR), Perkin Elmer marka Spectrum 100 Universal ATR Sampling Accessory kullanılmıştır.

Jel Geçirgenlik Kromatografisi (GPC) ile ölçümler UHPLC Flexar (Perkin Elmer) cihazı ile ve çözücü olarak dakikada 1 mL THF kullanılarak yapılmıştır.

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile görüntüler ZEISS EVO LS10 LaB_6 (Lantanyum Hekzaborat) Filament (Lamba) ve kaplayıcı olarak Cressington Sputter Coater auto 108 kullanılarak görüntülenmiştir.

Spektrofluorometre olarak Perkin Elmer LS55 Luminescence Spectrometer kullanılmıştır.

Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM), NT-MDT SPM marka SMENA A model % NTEGRA R=-32767 cihazı kullanılmıştır.

Spin Coater, Laurell Techonologies Corperation marka WS-400BZ-6NPP/LITE (REV.MS) model olan cihaz kullanılmıştır.

Vakumlu Etüv, JSR-JVSO-301 marka model cihazı kullanılmıştır.

Santrifüj olarak Eppendorf Centrifuge 5417 R cihazı kullanılmıştır.

Rotator-Mixer olarak Biosa Multi RS-60 programmable rotator-mixer kullanılmıştır.

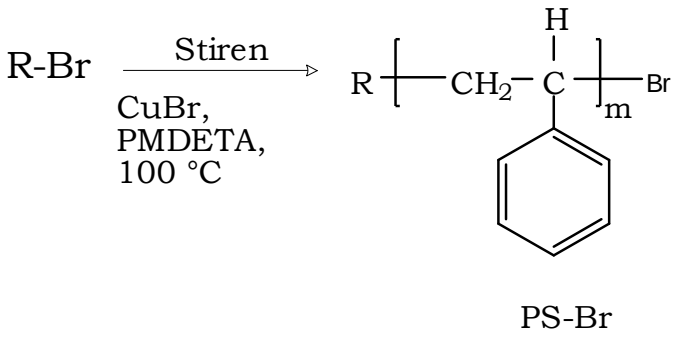
Evaporatör olarak Heidolph marka Hei-Vap Value G1 model Rotary evaporatör kullanılmıştır.

Ultrasonik banyo olarak Uniseclean Ultrasonic Cleaner WUC-AO34 model ultrasonik kullanılmıştır.

4.3. Makrobaşlatıcı PS-Br Sentezi

ATRP yöntemiyle aktif brom ucuna sahip polistiren polimeri, sıcaklık, süre, monomer/başlatıcı oranı ve kullanılan başlatıcının çeşidi değiştirilerek 100 °C' de sentezlenmiştir. Sentez için iki boyunlu bir balonun içine CuBr eklenmiş ve 3 kez vakumlama ve Argon gazı geçirilerek inert ortam sağlanmıştır. Daha sonra başka bir balonun içine stiren monomeri ve ligand olarak kullanılan N,N,N′,N′′,N′′ Pentametildietilentriamin (PMDETA) uygun miktarlarda alınarak, Argon atmosferi altında içindeki oksijen uzaklaştırılmıştır. Aynı işlem başka bir balonda çözücü ve başlatıcı karışımına da uygulanmıştır. Çözücü olarak anisol kullanılmıştır. Yaklaşık 30 dakika sonra reaksiyon balonun içine ters basınç etkisiyle monomer ve PMDETA karışımı gönderilmiş ve 100 °C' ye ısıtılmış yağ banyosunun içine reaksiyon kabı daldırılarak reaksiyon hücresinin homojen olarak ısınması sağlanmıştır. Reaksiyon balonuna başlatıcı ve çözücü karışımı ilave edilerek reaksiyon başlatılmıştır.

İstenilen reaksiyon süresi sonunda elde edilen polimerden bakır tuzlarını uzaklaştırmak için çözelti iyon değiştirici ile karıştırılmıştır ve kolondan geçirilerek, çözücüsü rotari evaporatör kullanılarak evapore edilmiştir. Çözücü olarak toluen, kloroform ve aseton kullanılmıştır. Elde edilen saf polimer soğuk metanol içinde çöktürülmüş ve süzme işlemi yapıldıktan sonra 60 °C' de vakumlu etüvde kurutularak beyaz katı halde makrobaşlatıcı elde edilmiştir.



PS-Br

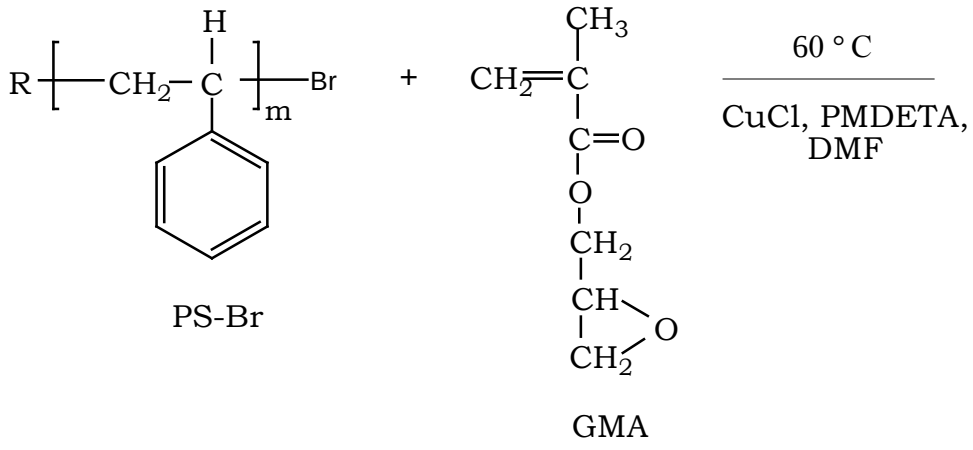
Şekil 4.1. PS-Br sentez reaksiyonunun gösterimi

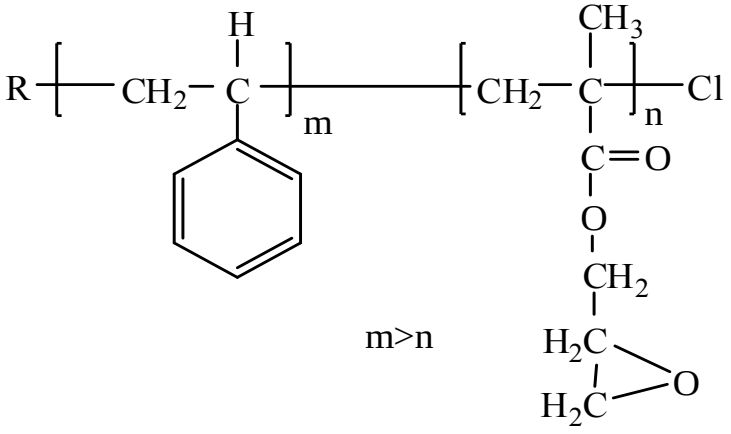
Makrobaşlatıcı reaksiyonları çalışma şartlarında oranlar [Monomer]:[Başlatıcı]:[Ligand]:[Katalizör] sırası ile belirlenmiştir. Bulk ortamı dışında tüm makrobaşlatıcı sentezlerinde yukarıda anlatılan işlemler uygulanmıştır. Bulk ortamında makrobaşlatıcı sentezi çözücü kullanılmadan yapılmıştır.

4.4. PS-b-PGMA Sentezi

PS-b-PGMA diblok kopolimerleri, ATRP yöntemiyle yukarıda anlatıldığı gibi elde edilen aktif –Br ucuna sahip polistiren makrobaşlatıcısından yola çıkarak sentezlenmiştir. Farklı oranlarda (100:1, 200:1, 500:1), farklı sürelerde, farklı çözücü ortamlarında ve farklı molekül ağırlığına sahip makrobaşlatıcılar kullanılarak 3 farklı sıcaklıkta diblok kopolimerler sentezlenmiştir. Sentez işleminin basamakları makrobaşlatıcı olarak sentezlenen Ps-Br ile aynıdır. Çözücü olarak benzonitril ve dimetil formamid (DMF) kullanılmıştır.

Elde edilen diblok kopolimer önce soğuk n-hekzan içinde çöktürülmüştür ve daha sonra kloroform içinde çözülerek soğuk metanol ile ikinci çöktürme işlemi yapılmıştır. Süzme işlemi yapıldıktan sonra 50 °C' de vakumlu etüvde kurutularak katı halde diblok kopolimer elde edilmiştir.





Şekil 4.2.PS-b-PGMA sentezinin genel reaksiyon şeması

4.5. PS-b-PGMA Faz Ayrılması

Blok kopolimerlerin faz ayrılmasını gözlemek için 2×2 cm' lik yüzeyler kullanılmıştır. Silikon Wafer' lar kullanılmadan önce pirina çözeltisi (% 25 Peroksit + %75 Sülfürik asit) ile temizlenmiştir.

Temizlenen yüzeylere % 1' lik 6,000 g/mol molekül ağırlığına sahip polistirenin toluen içindeki çözeltisi 3000 rpm' de 30 saniye boyunca kaplanıp, daha sonra kaplanan yüzeyler 170 °C' deki fırında 4 saat boyunca tavlanmıştır.

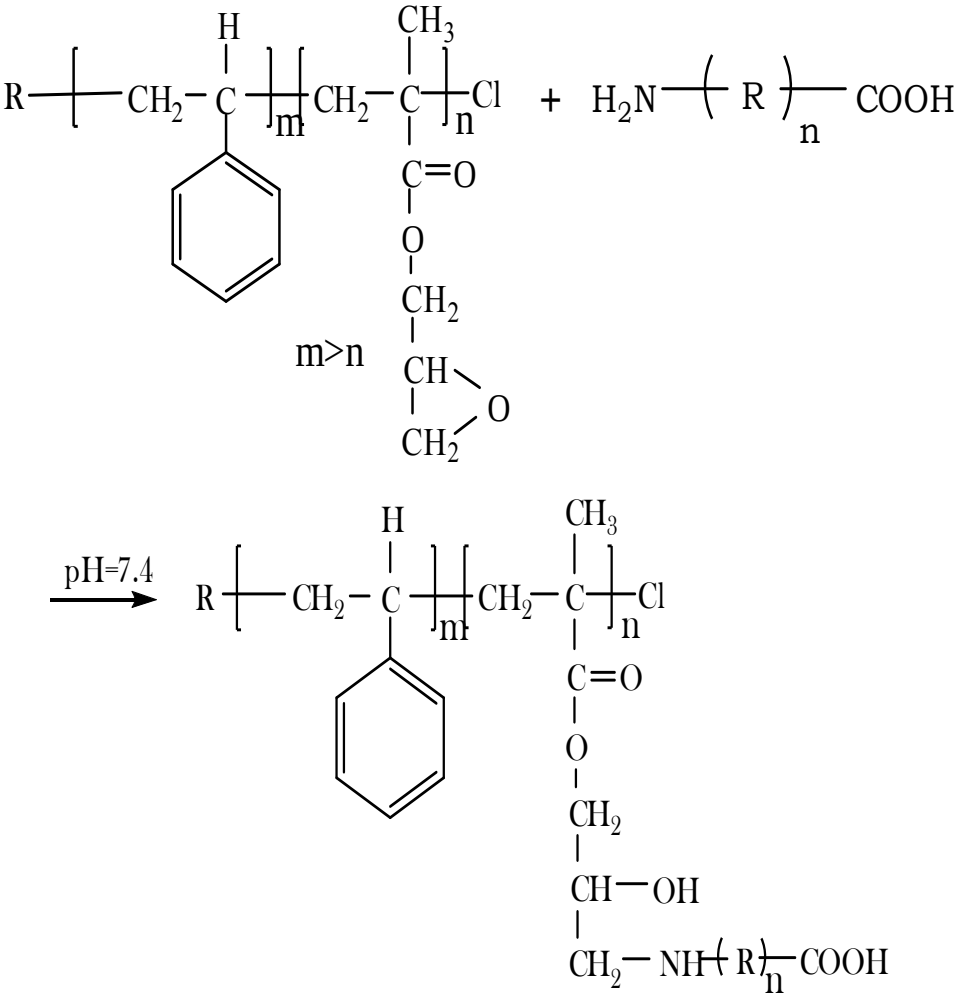
200:1 oranında sentezlenen 33,000 g/mol molekül ağırlığına sahip PS-b-PGMA diblok kopolimerinin ağırlıkça % 1' lik çözeltisi DMF içerisinde hazırlanmıştır. Polistiren ile aktif hale getirilen yüzeylere, hazırlanan diblok kopolimer çözeltisi 4 farklı hızla (1000, 1500, 2000 ve 3000 rpm), 30 saniye boyunca spin coater ile kaplanmıştır. Termal tavlama işlemi için diblok kopolimer ile kaplanan yüzeyler 80 °C' deki ve 140 °C' deki fırında farklı sürelerde tutulmuştur.

Çözücü ile tavlama işlemi için toluen, DMF, etanol ve DMF-su, toluen-etanol karışımları kullanılmış ve farklı sıcaklık ve sürelerde çalışılmıştır. Bu tavlama işlemi BCP çözeltileriyle kaplanan yüzeylerin, içinde çözücü olan cam tüplere yerleştirilmesiyle yapılmıştır.

4.6. PS-b-PGMA ile HSA' nın Bağlanması

Molekül ağırlığı 9000 (9 k), 30000 (30 k), 33000 (33 k) ve 40000 (40 k) g/mol olan PS-b-PGMA diblok kopolimerleri sırasıyla A, B, C ve D harfleriyle kodlanmıştır.

A, B, C ve D diblok kopolimerlerinden; 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40 ve 60' şar mg tartılmıştır. Tartılan tüplerdeki polimerler önce etanol ile yıkanmış, daha sonra pH:7.4 olan 20 nM' lık tris tampon çözeltisi ile üç kere yıkanmıştır. İnsan serum albümin proteininden 10 mg alınıp 100 ml tris tampon içerisinde çözülmüştür. Her bir tüpe hazırlanan bu karışımdan 1000 µL ilave edilmiştir. Hazırlanan çözeltiler rotator-mixer ile oda sıcaklığında 2 saat karıştırılmış ve daha sonra + 4 °C' de santrifüjlenmiştir. Yüzeyden alınan çözeltinin (süpernatant) fluoresans şiddeti sırasıyla, 280 nm ve 342 nm' de eksitasyon ve emisyon dalga boylarında ölçülerek, yüzeye bağlanan protein miktarı HSA' nın konsantrasyonuna karşı fluoresans şiddetine ilişkin çizilen kalibrasyon eğrisinden hesaplanmıştır.



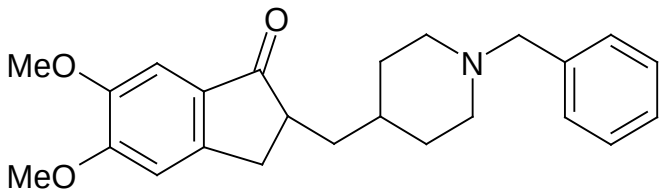
Şekil 4.3.BCP' e HSA bağlanmasının şematik gösterimi

4.7. PS-b-PGMA ile Diğer Proteinlerin Bağlanması

Sığır serum albümin (BSA), hemoglobin ve globin proteininin HSA ile aynı oranlardaki çözeltileri hazırlanmış ve elde edilen sonuçlar doğrultusunda C kodlu diblok kopolimer ile aynı şartlar altında etkileştirilmiştir.

4.7. BCP-Protein Hibrit Materyalinin Donepezil ile Etkileşimi

Üzerlerine HSA, BSA, hemoglobin ve globin bağlanan polimerler, yüzeyde bağlanmadan kalan proteinleri uzaklaştırmak için tris tampon ile üç defa yıkanmıştır. Elde edilen yeni hibrit materyaller, DMF ve tris tampon karışımındaki ilaç etken madde olan "Donepezil" ile etkileştirilmiştir. Bu işlem için Donepezil' in 10^{-3} M' lık DMF içindeki çözeltisi hazırlanmış ve hazırlanan çözelti 10^{-4} M' a tris tampon ile seyreltilmiştir. Her bir deney tüpüne 40 µL 10^{-4} M Donepezil ilave edilmiş ve tris tampon ile 2000 µL' e tamamlanmıştır ve 1 saat boyunca rotator-mixer ile karıştırılmıştır. Donepezil' in sırasıyla 325 nm ve 387 nm' de eksitasyon ve emisyon dalga boylarında fluoresans şiddeti ölçülerek kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Çizilen kalibrasyon eğrisinden protein ile kaplanmış diblok kopolimer yüzeyine bağlanan Donepezil miktarı hesaplanmıştır.



Şekil 4.4. Donepezil' in kimyasal yapısı

5. ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA

Bu çalışmada PS-b-PGMA diblok kopolimeri iki aşamada sentezlenmiştir. Birinci aşamada BCP sentezinde kullanılmak üzere PS-Br makrobaşlatıcısı sentezlenmiştir. İkinci aşamada ise PS-Br makrobaşlatıcısının üzerine GMA monomeri ile BCP elde edilmiştir. Farklı molekül ağırlıklarında sentezlenen diblok kopolimerler; HSA, BSA, hemoglobin ve globin proteinleri ve daha sonrada "Donepezil" ilaç etken madde ile etkileştirilmiştir.

Aynı zamanda sentezlenen diblok kopolimerin termal tavlama ve çözücü ile tavlama çalışmaları ile faz ayrımı görüntüleri elde edilmiştir.

5.1. PS-Br Makrobaşlatıcı Karakterizasyonu

ATRP yöntemiyle, CuBr/PMDETA katalizörlüğünde, monomer konsantrasyonu, başlatıcı ve süre parametreleri değiştirilerek bulk ve anisol ortamında sentezlenen PS-Br makrobaşlatıcıların ortam koşulları ve sonuçları Çizelge 5.1' de verilmiştir.

Çizelge 5.1. PS-Br makrobaşlatıcı sentezinin reaksiyon koşulları ve sentez sonuçları

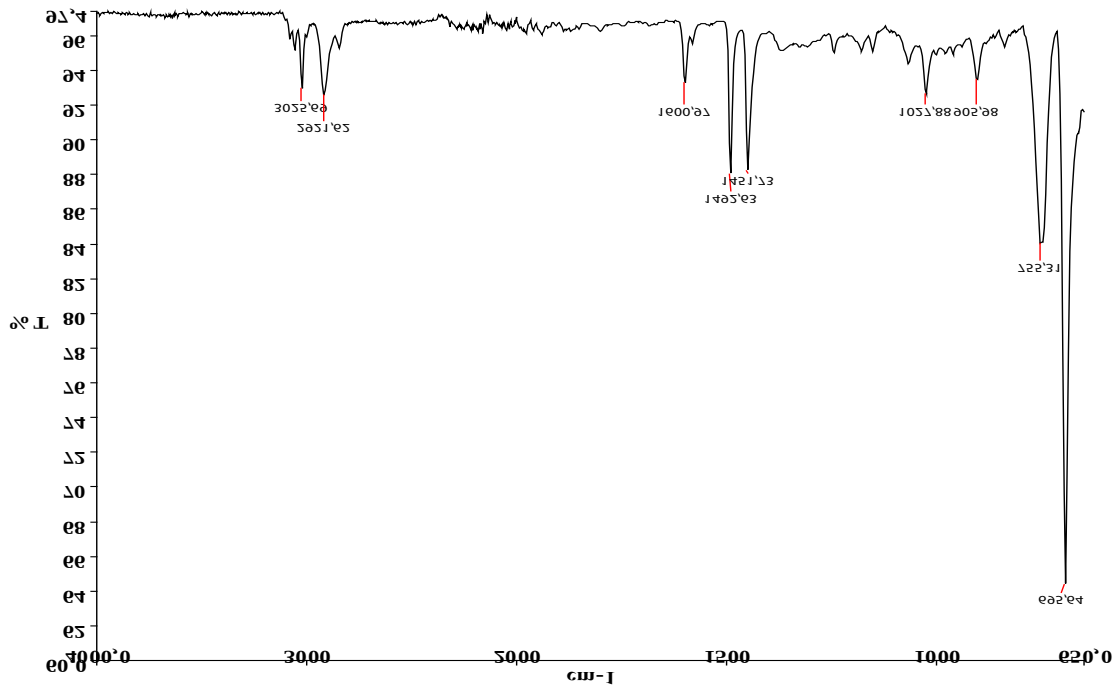
Polimer Kodu	Oran	Sıcaklık	Süre	Çözücü	Başlatıcı	Mn	PDI
PS-1	200:1:1:1	100	5 h	Anisol	1- FeBr	5000	1,06
PS–2	400:1:1:1	100	8,5 h	Anisol	1- FeBr	7000	1,07
PS-3	200:1:1:1	100	5 h	Anisol	2- FeBr	3500	1,03
PS-4	200:1:1:1	100	5 h	Anisol	EBİB	3600	1,06
PS-5	200:1:1:1	100	6 h	Bulk	1- FeBr	8000	1,07
PS-6	200:1:1:1	100	15 h	Anisol	1- FeBr	7500	1,07

[Monomer]:[Başlatıcı] oranı ve süre arttırıldığında, elde edilen polimerin molekül ağırlığının arttığı gözlemlenmiştir. Çözelti ortamının molekül ağırlığına etkisini incelemek için bulk ortamında sentez yapılmış ve bulk ortamında yapılan sentezde, polimerin molekül ağırlığının çözücü içeren ortama göre hemen hemen değişmediği, fakat reaksiyon süresinin bulk ortamında yapılan sentezde daha kısa sürdüğü yani molekül ağırlığının daha hızlı arttığı gözlenmiştir.

Aynı oranlarda EBİB, 1-FeBr ve 2-FeBr başlatıcılarıyla sentez yapılmıştır. Başlatıcı olarak 1-FeBr kullanılarak yapılan sentezlerde daha yüksek molekül ağırlığına sahip polimerler elde edilirken, 2-FeBr başlatıcı olarak kullanıldığında sentezlenen polimerlerin daha düşük heterojenlik indisine sahip olduğu gözlemlenmiştir.

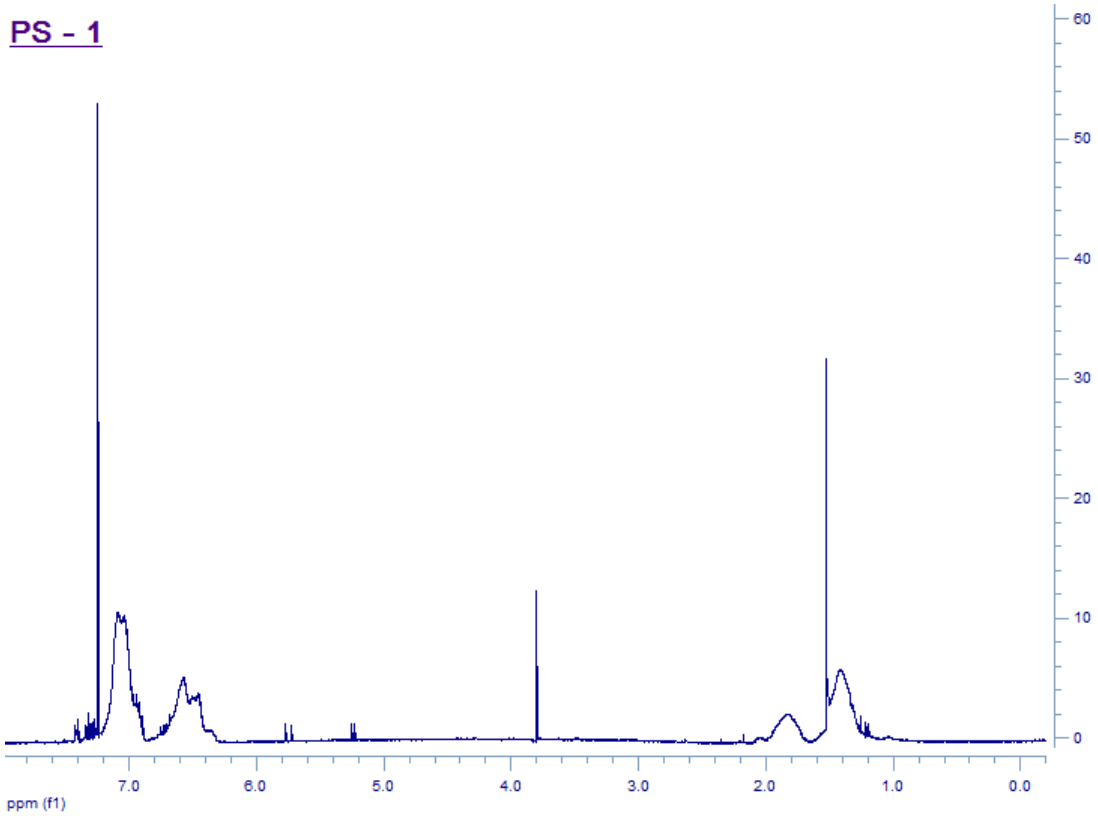
Sentezlenen tüm makrobaşlatıcıların heterojenlik indisi değerleri 1.03-1.07 arasında olduğu için elde edilen polimerlerin monodisperse yakın, homojen zincir dağılımına sahip oldukları görülmüştür.

PS-Br makrobaşlatıcılar, FT-IR cihazı ile katı numune üzerinden karakterize edilmiştir. Şekil 5.1' de gösterilen FT-IR spektrumunda gözlenen 1450 cm^{-1}' deki pik, stiren monomerinin karakteristik aromatik halka pikidir. 2921 cm^{-1} civarında gelen pik ise polistiren polimerindeki –CH bağı gerilmesine aittir.



Şekil 5.1. PS-Br makrobaşlatıcının FT-IR spektrumu

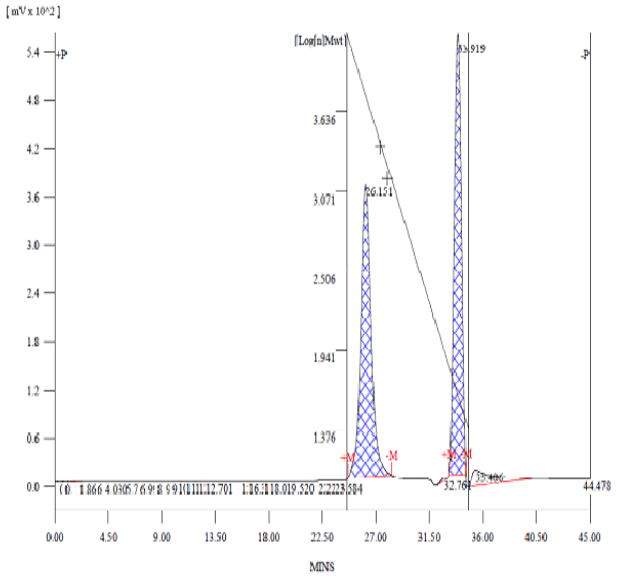
Safsızlıklarından arındırılan PS-Br polimerinden alınan katı numune, $CDCl_3$ çözücüsü ile çözülerek, ^1H NMR spektrometresi ile Şekil 5.2' deki spektrum elde edilmiştir. Stiren' in yapısındaki aromatik halkaya ait karakteristik pikler 6.3 ve 7.1 ppm arasında aşağıdaki spektrumda gözlenmiştir. Aromatik halkaya bağlı –CH bağındaki H atomuna ait pik ise 3.8 ppm de gözlemlenmiştir. Spektrumda 1,0 ppm ile 2,0 ppm arasında gelen piklerin ise R-CH ait pikler olduğu düşünülmektedir.



Şekil 5.2. PS-Br makrobaşlatıcının ^1H NMR spektrumu

Sentezlenen makrobaşlatıcı, GPC analizi için THF içinde çözülmüş, 1ml/dk. THF akış hızı ile molekül ağırlığı ve heterojenlik indisi saptanmıştır. Şekil 5.3' de PS-1 kodlu makrobaşlatıcının GPC sonuç raporu görülmektedir. Çöktürme işleminden önce alındığı için kromatogramda 2 pik görülmektedir. Polistiren daha büyük molekül ağırlığına sahip olduğu için ilk önce Polistiren' e ait pik, daha sonra ise reaksiyona girmeyen stiren monomerine ait pik gözlemlenmektedir. Şekil 5.4' deki kromatogram ise 5000, 7000 ve 8000 g/mol molekül ağırlığına sahip makrobaşlatıcılara aittir.

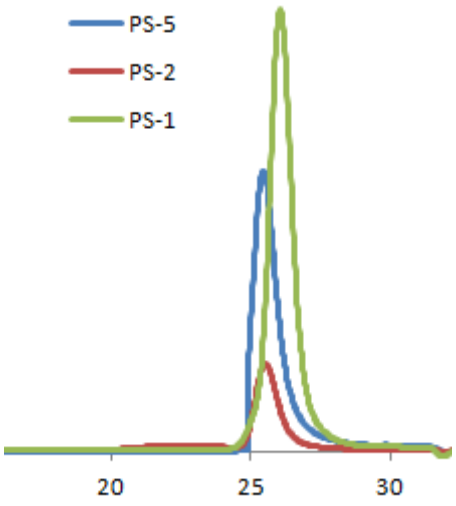
Sentezlenen polimerlerin kolonda tutulma sürelerinin molekül ağırlığına göre değiştiği gözlenmektedir.



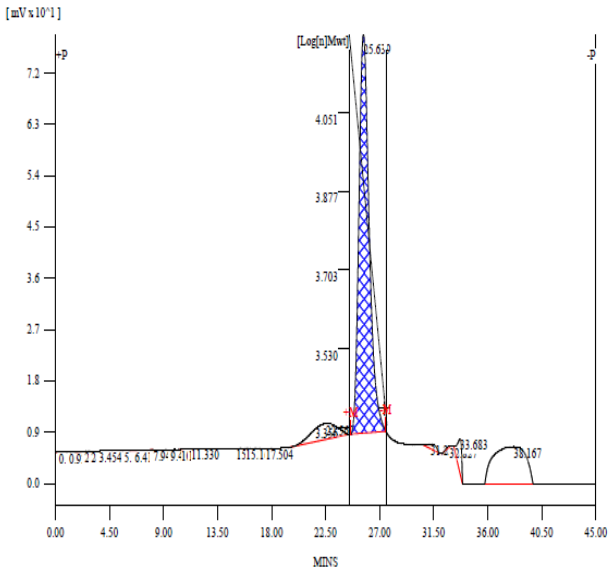
Peak Molecular Weight Report

Peak	Component	RT	Area	%Area	PMwt	Mw	Mn	Mw/Mn	StartMw	EndMw
24		26.151	22145006.6	48.299	5736.0	5746.7	5250.1	1.0946	14673.2	1442.9
25		32.761	118951.0	0.259	87.2	96.2	95.0	1.0129	132.5	73.4

Şekil 5.3. PS-1 kodlu makrobaşlatıcının GPC kromatogramı



Şekil 5.4. Sentezlenen PS-1, PS-2 ve PS-5 makrobaşlatıcıların GPC kromatogramları



Peak Molecular Weight Report

Peak	Component	RT	Area	%Area	PMwt	Mw	Mn	Mw/Mn	StartMw	EndMw
18		25.639	4132606.7	100.000	7932.2	7617.6	7075.1	1.0767	15476.8	2459.2

Şekil 5.5. PS-2 kodlu makrobaşlatıcının GPC kromatogramı

Şekil 5.5'deki kromatogram polimerleşme işleminden sonra metanol içinde çöktürülen PS-2 kodlu makrobaşlatıcıya ait olup, ortamda senteze girmeyen monomer piki görülmeyip, sadece polimerden kaynaklı tek bir pik görülmektedir.

5.2. PS-b-PGMA Blok Kopolimerin Karakterizasyonu

Farklı molekül ağırlıklarına sahip PS-Br makrobaşlatıcılardan yola çıkarak PS-b-PGMA diblok kopolimerler ATRP yöntemiyle sentezlenmiştir. BCP sentezleri CuCl/PMDETA ve CuBr/PMDETA katalizörlüğünde, farklı molekül ağırlığına sahip makrobaşlatıcılardan yola çıkarak üç farklı sıcaklıkta ve süre değiştirilerek sentezlenmiştir. Ayrıca çözücü ortamının BCP sentezine etkisi incelenmek için anisol, benzonitril, DMF ve bulk ortamında sentez yapılmıştır. BCP sentez koşulları ve sonuçları Çizelge 5.2 de verildiği gibidir.

Çizelge 5.2 incelendiğinde CuBr/PMDETA katalizörlüğünde yapılan BCP-1 kodlu diblok kopolimerin sentez süresinin 18 saat olduğu görülmektedir. Bu nedenle sentezlerde CuCl/PMDETA katalizör sistemi kullanılmış ve süre 1 saate kadar indirilmiştir. Ayrıca bu kısa sürede daha yüksek molekül ağırlığına sahip diblok kopolimerler elde edilmiştir.

	Oran (Monomer/ başlatıcı)	Sıcaklık (^{0}C)	Süre (dk.)	Çözücü	Başlatıcı Mn	Mn	PDI
BCP-1	**70:1**	**50**	**1080**	**DMF**	**5000**	**9000**	**1.24**
BCP-2	500:1	50	360	DMF	5000	25000	1.33
BCP-3	**200:1**	**60**	**60**	**DMF**	**7000**	**33.000**	**-**
BCP-4	200:1	60	180	DMF	5000	25.000	1.20
BCP-5	**500:1**	**50**	**120**	**DMF**	**5000**	**40.000**	**1.43**
BCP-6	70:1	60	120	DMF	5000	12.000	1.21
BCP-7	**500:1**	**70**	**90**	**DMF**	**5000**	**30.000**	**1.38**
BCP-8	100:1	60	180	Bnz	8000	-	-

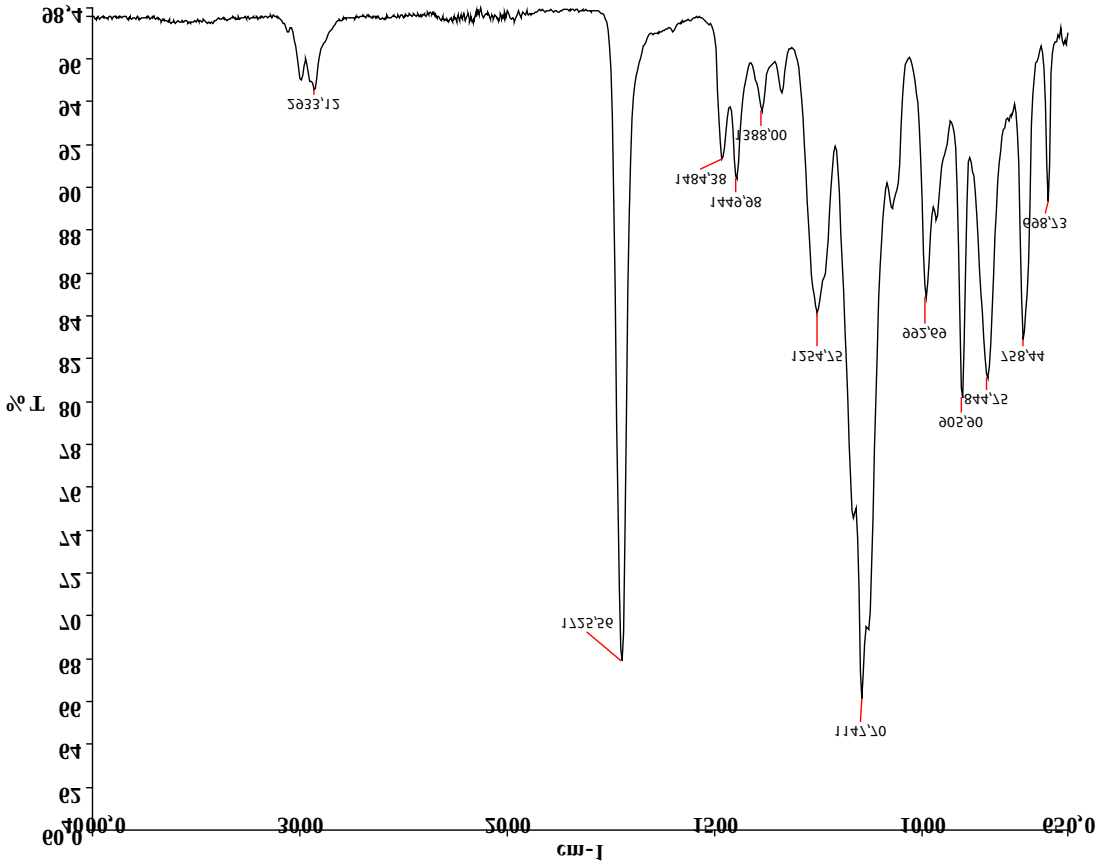
Çizelge 5.2. PS-b-PGMA diblok kopolimer sentezinin reaksiyon koşulları ve sentez sonuçları

[Monomer]:[Başlatıcı]:[Ligand]:[Tuz] oranı arttırıldığında elde edilen kopolimerlerin daha yüksek molekül ağırlığına sahip olduğu gözlenmiştir.

Deneyde reaksiyon sıcaklığının senteze etkisini incelemek için 50 °C, 60 °C ve 70 °C olmak üzere üç farklı sıcaklıkta sentez yapılmıştır. 50 °C ve 70 °C' de yapılan sentezlerde molekül ağırlığı hızla büyümekte ve polidispersite değerleri 1.3 ile 1.4 arasında değişmektedir. Buna karşılık 60 °C' de yapılan sentezlerde molekül ağırlığı kontrollü olarak büyümekte ve heterojenlik indisi 1.2 civarlarında çıkmaktadır.

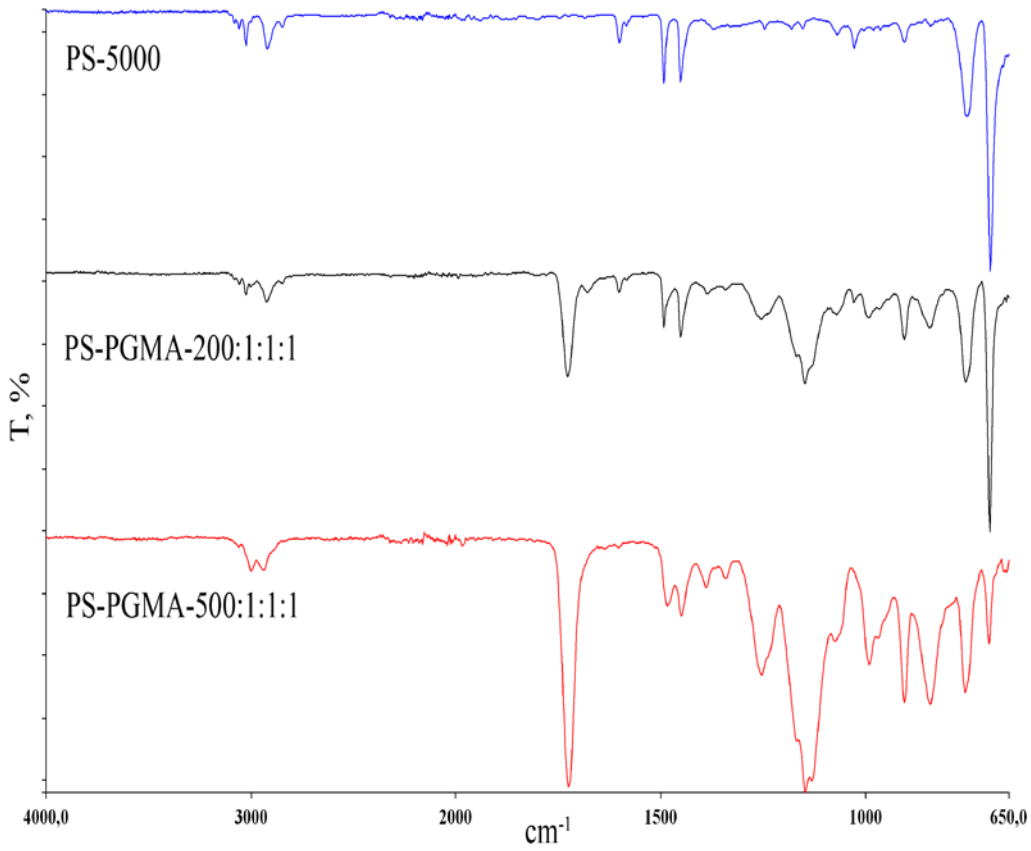
Ayrıca anisol, DMF ve benzonitril çözücüleriyle yapılan deney sonuçları karşılaştırıldığında polaritesi yüksek olan benzonitril ve DMF ile daha iyi sonuçların elde edildiği görülmüştür.

Şekil 5.6' daki FT-IR spektrumunu BCP-3 olarak kodlanan 500:1:1:1 oranında, benzonitril çözeltisi içinde 60 °C ve 80 dakikada, 5000 g/mol molekül ağırlığına sahip makrobaşlatıcıdan yola çıkarak sentezlenen diblok kopolimere aittir.



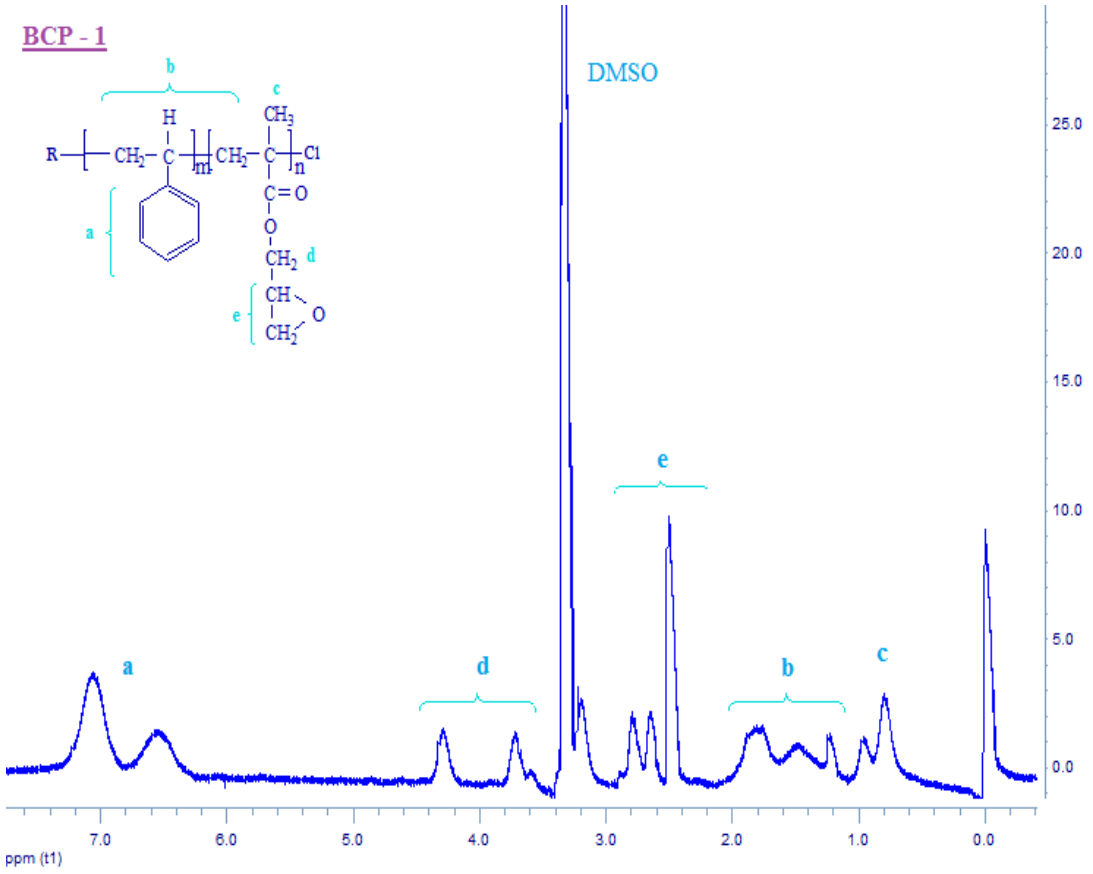
Şekil 5.6. BCP-3 e ait PS-b-PGMA diblok kopolimerin FT-IR spektrumu

FT-IR spektrumunda Poli(glisidil metakrilat)' ın yapısında bulunan C=O (ester) gerilme titreşimlerine ait pik 1725 cm^{-1} de, C-O gerilme titreşimlerine ait pik ise 1147 cm^{-1} de açıkça görülmektedir. 760 cm^{-1} de epoksi halkasındaki C-H eğilme titreşimini ve 1244 cm^{-1} de ise karakteristik epoksi halkasına ait simetrik halka gerilme titreşimi gözlenmiştir. 1450 cm^{-1} deki pik ise polistiren homopolimer bloğuna ait karakteristik aromatik halka pikidir.



Şekil 5.7. PS ile PS-PGMA diblok kopolimerlerin FT-IR spektrumu

Şekil 5.8' deki NMR spektrumu BCP-1 kodlu, 50 °C' de, 70:1:1:1 oranlarında ve 5000 g/mol molekül ağırlığına sahip makrobaşlatıcıdan yola çıkarak [CuBr]:[PMDETA] katalizör sistemi kullanılarak, 18 saatte sentezlenen diblok kopolimere aittir. Saflaştırılan diblok kopolimer DMSO çözücüsü içinde çözülerek spektrum alınmıştır.



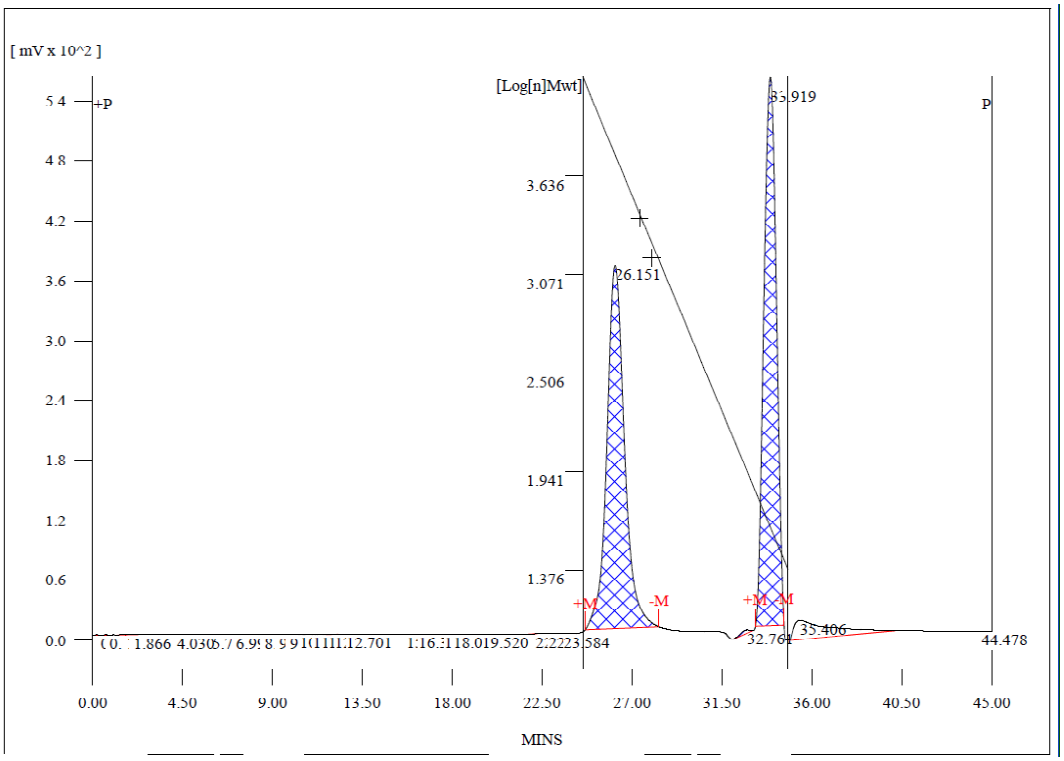
Şekil 5.8. BCP-1 e ait PS-b-PGMA diblok kopolimerin ^{1}H NMR spektrumu

Şekil 5.8' deki spektrumda ilk bloğu oluşturan polistirene ait aromatik halka karakteristik pikleri 6.3 ve 7.1 ppm arasında (a) ile gösterilen bölgede gözlenmiştir.

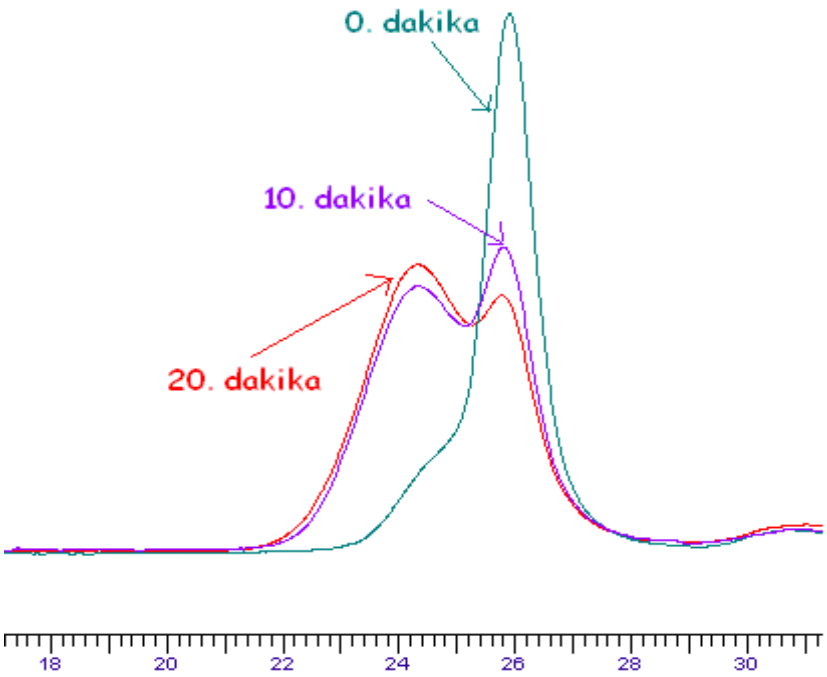
Aromatik halkaya bağlı karbon atomu ve karbon atomuna bağlı komşu bağlardaki H den kaynaklı pikler (b) ile gösterilmiş olup, 1,0 ppm ile 2,0 ppm arasında gözlemlenmiştir.

Spektrumda 0.7 civarında gelen (c) pikin, glisidil metakrilattaki $-CH_3$ grubundan kaynaklı ve 2,0 ppm ile 3,0 ppm arasındaki (e) piklerin ise epoksi grubundaki H atomlarından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, 3.5 ppm ile 4.5 ppm arasında gelen (d) pikin oksijene bağlı $-CH_2$ grubundaki hidrojen atomundan kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

GPC analizleri için kopolimer THF içinde çözülmüş, 1ml/dk. THF akış hızı ile polimerlerin, molekül ağırlığı ve heterojenlik indisi saptanmıştır.



Şekil 5.9. BCP-6 kodu PS-b-PGMA diblok kopolimerin GPC kromatogramı

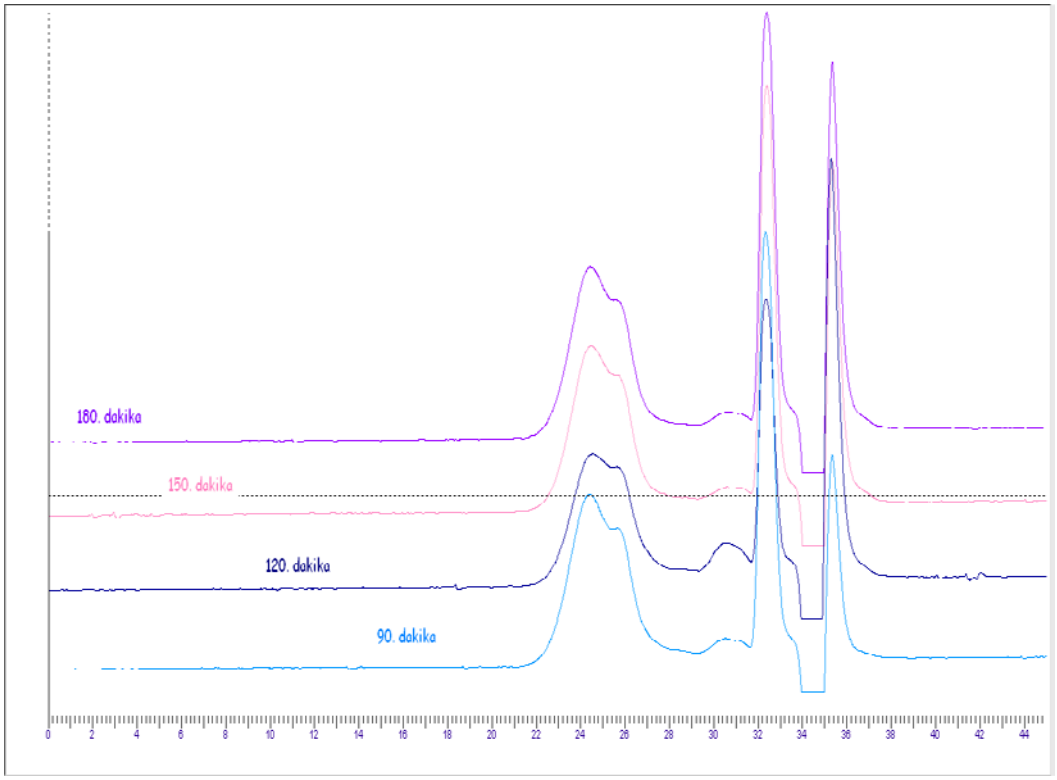


Şekil 5.10. BCP-6 kodlu PS-b-PGMA diblok kopolimerin 0-10-20. dakikalarda alınan GPC kromatogramları

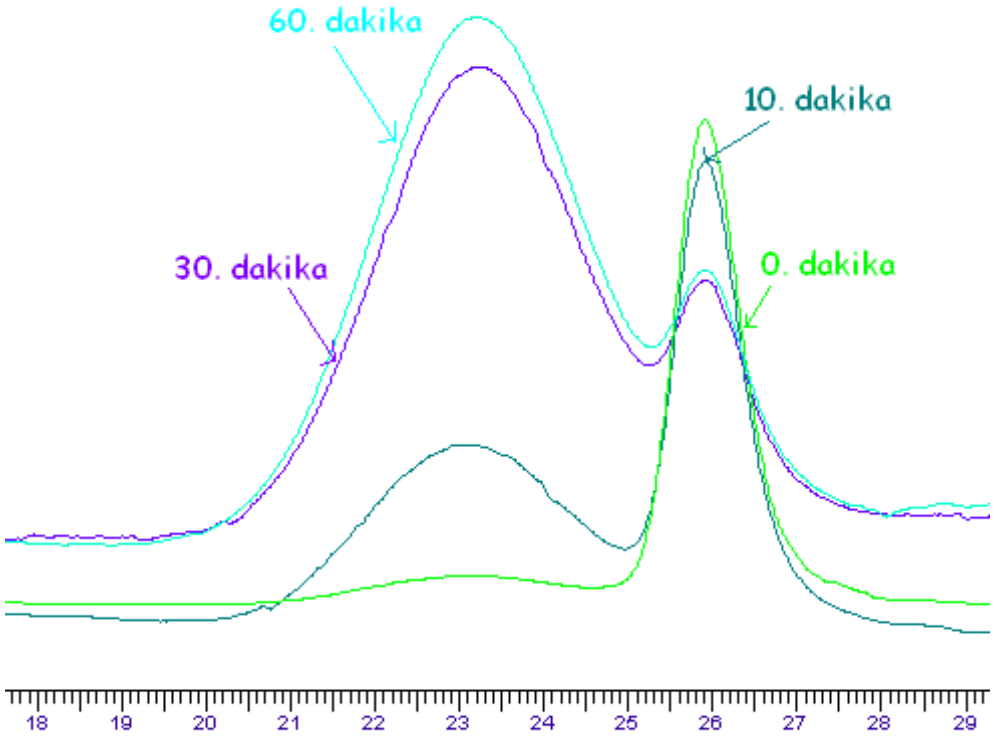
5000 g/mol polistiren makrobaşlatıcıdan yola çıkarak, 200:1:1:1 oranlarında, CuCl/PMDETA katalizör sistemi kullanılarak ve 60 °C' de sentezlenen diblok kopolimerden 0., 10. ve 20. dakikalarda örnek alınmıştır. Alınan örnekler THF içinde çözülerek filtreden geçirilip GPC kolonuna verilmiştir. GPC sonuçları kıyaslandığında beklenen sonuçlarla mükemmel derecede uyumlu kromatogramlar elde edilmiştir. Makrobaşlatıcı pikinin şiddeti azalırken, diblok kopolimere ait pikin şiddetinin arttığı söylenebilmektedir.

BCP-6 kodlu diblok kopolimerden ayni zamanda 90., 120., 150. ve 180. dakikalarda alınan örneklerin kromatogramları göstermektedir ki ilk 20 dakika geçtikten sonraki sürenin sonuca kayda değer bir etkisi yoktur.

180 dakika olan reaksiyon süresi sonlanınca heterojenlik indisi 1.20 ve molekül ağırlığı 25.000 g/mol olan diblok kopolimer elde edilmiştir.



Şekil 5.11. BCP-6 kodlu PS-b-PGMA diblok kopolimerin 180-150-120-90. dakikalarda alınan GPC kromatogramları

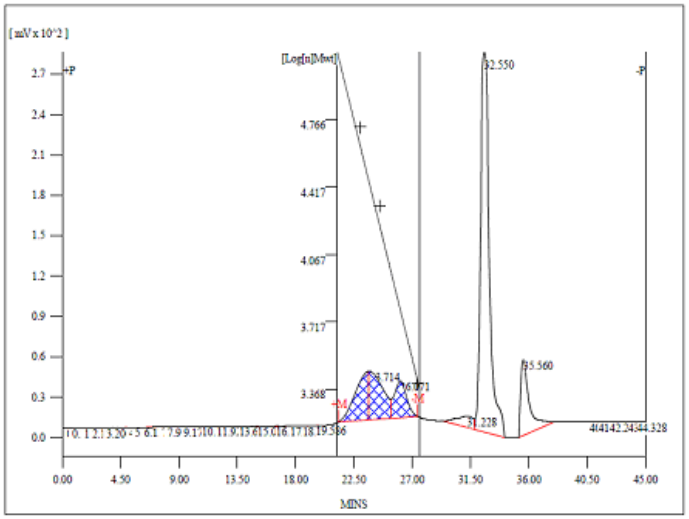


Şekil 5.12. BCP-5 kodlu PS-b-PGMA diblok kopolimerin 0-10-30-60. dakikalarda alınan GPC kromatogramları

5000 g/mol polistiren makrobaşlatıcıdan yola çıkarak 500:1:1:1 oranlarında, CuCl/PMDETA katalizör sistemi kullanılarak ve 50 °C' de sentezlenen diblok kopolimerden 0., 10., 30. ve 60. dakikalarda örnek alınmıştır. Yukarıda da ifade edildiği gibi alınan örnekler THF içinde çözülerek filtreden geçirilip GPC kolonuna verilmiştir. Elde edilen kromatogramlara bakarak makrobaşlatıcı pikinin şiddetinin ilk 30 dakika içinde azaldığı ve diblok kopolimere ait pikin şiddetinin ise arttığı söylenebilirken, 30 dakikadan sonra elde edilen piklerde kayda değer bir değişiklik olmadığı söylenebilir.

120 dakika olan reaksiyon süresi sonlanınca heterojenlik indisi 1.43 olan 40000 g/mol molekül ağırlığına sahip diblok kopolimer elde edilmiştir.

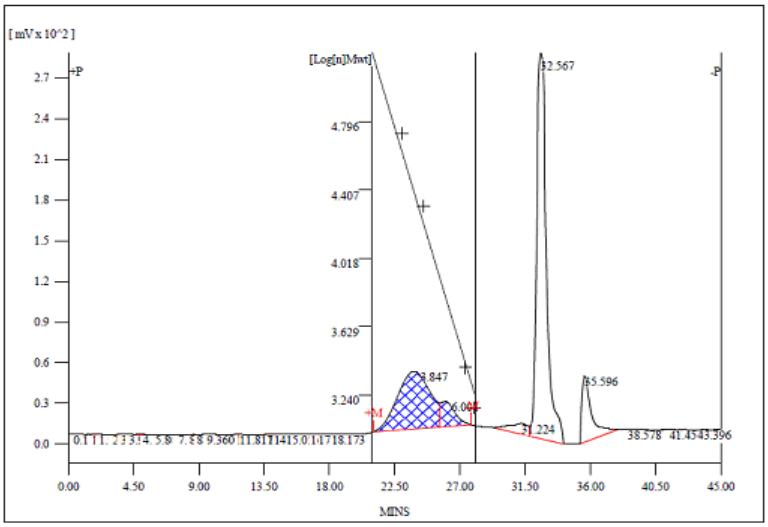
Şekil 5.13' deki kromatogramın sonuç raporuna bakıldığında ilk 10 dakikada reaksiyonun hızlıca gerçekleştiği ve monodisperse yakın, heterojenlik indisi 1.09 olan diblok kopolimerin elde edildiği söylenebilir.



Peak Molecular Weight Report

Peak	Component	RT	Area	%Area	PMwt	Mw	Mn	Mw/Mn	StartMw	EndMw
21		23.714	2609182.6	37.485	26840.6	18464.0	16956.1	1.0889	27663.8	9511.6
22		26.071	1790655.3	25.725	6033.1	6103.8	5698.3	1.0712	9511.6	2593.8

Şekil 5.13. BCP-4 kodlu PS-b-PGMA diblok kopolimerin 10. dakikada alınan GPC kromatogramı ve sonuç raporu



Peak Molecular Weight Report

Peak	Component	RT	Area	%Area	PMwt	Mw	Mn	Mw/Mn	StartMw	EndMw
22		23.847	6600339.9	84.111	24678.5	30447.8	21463.3	1.4186	145293.1	8008.4
23		26.001	1246825.8	15.889	6307.6	5527.1	5105.5	1.0826	8008.4	2040.5

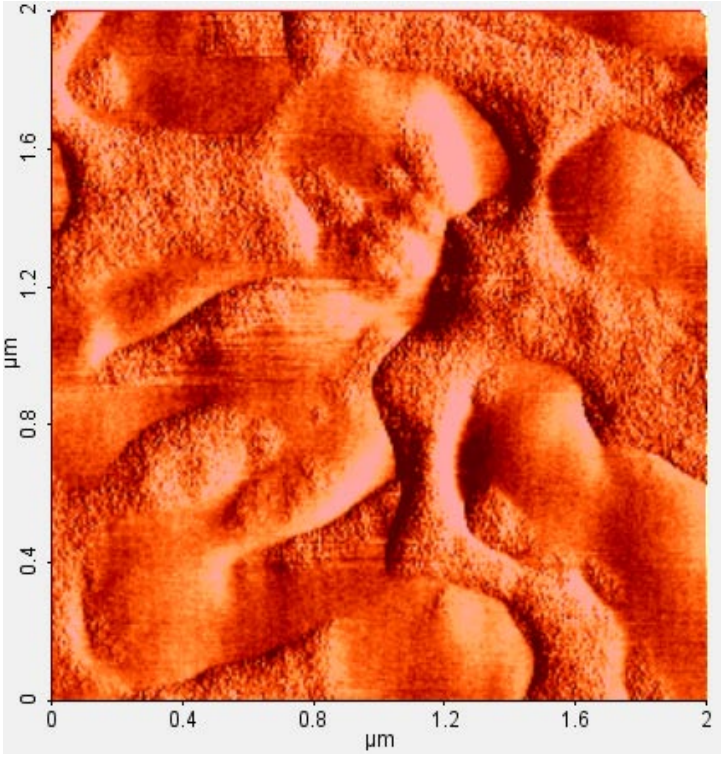
Şekil 5.14. BCP-4 kodlu PS-b-PGMA diblok kopolimerin 90. dakikada alınan GPC kromatogramı ve sonuç raporu

Yukarıdaki kromatogramın sonuç raporuna bakıldığında polidispers, heterojenlik indisi 1.42 olan ve molekül ağırlığı yaklaşık 21000 g/mol olan diblok kopolimerin elde edilebildiği söylenebilir.

Şekil 5.13 ve Şekil 5.14 karşılaştırıldığı zaman ile molekül ağırlığında ciddi bir değişim olmadığı fakat heterojenlik indisinin arttığı yani polimerlerin polidisperse kaydığı gözlenmiştir.

5.3. PS-b-PGMA' nın Faz Ayrılma Sonuçları

Bölüm 4.5' de anlatıldığı gibi termal tavlama ve çözücü ile tavlama işlemlerinden sonra yüzeyler Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) ile incelenmiş ve aşağıdaki görüntüler elde edilmiştir.

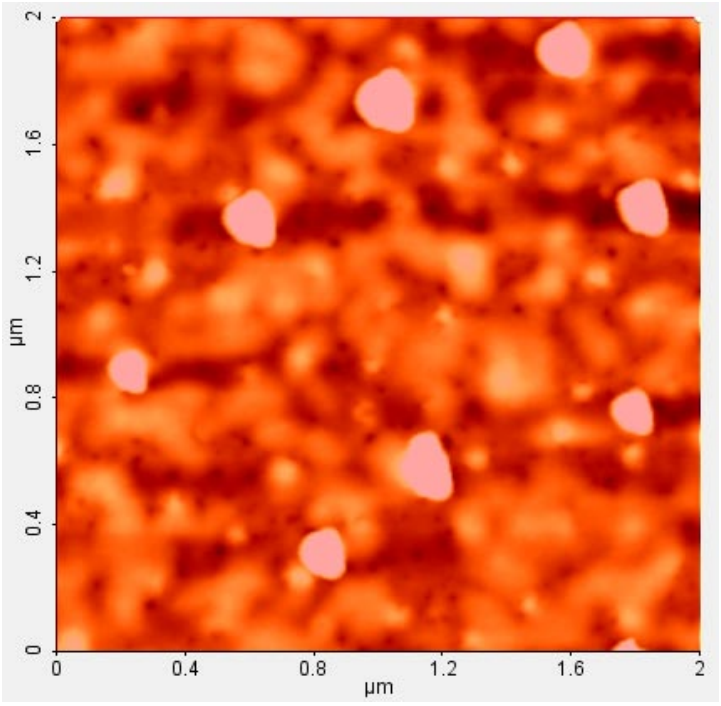


Şekil 5.15. 140 °C' de, 12 saat (Termal tavlama)

33000 g/mol molekül ağırlığına sahip diblok kopolimerler ile kaplanan yüzeyler, 12 saat boyunca 140 °C' deki fırında tutulduktan sonra yüzeyler incelenmiş ve Şekil 5.15' deki görüntü elde edilmiştir. Elde edilen görüntülerde net bir faz ayrımı

gözlemlenmemiş olup, yüzeyin bazı bölgelerinde küresel halde toplanmalar fark edilmektedir.

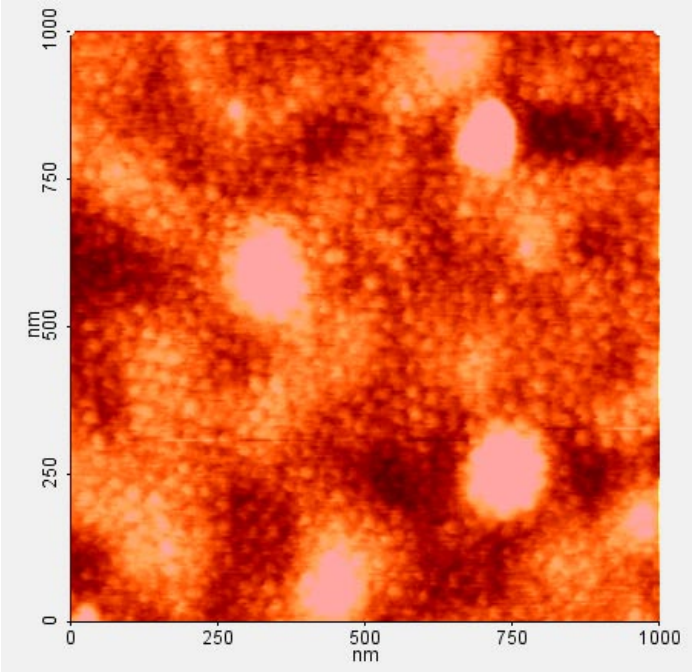
33000 g/mol molekül ağırlıklı BCP çözeltisi, yüzeyi 6000 g/mol molekül ağırlıklı random polistiren çözeltisi ile kaplanmış silikon waferların üzerine spin coater cihazı ile kaplanmıştır. Çözücü etkisiyle faz ayrımı gözlemlemek için içerisinde ayrı tüplerde su ve DMF bulunan, ağzı kapaklı bir beherin içerisine yüzeyler konulup, 50 °C' de 3 saat boyunca tutulmuştur.



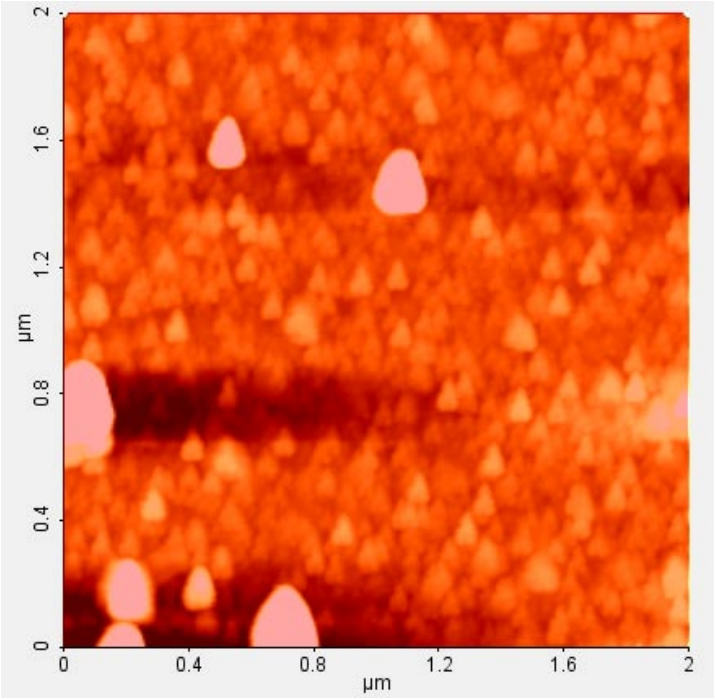
Şekil 5.16. 50 °C' de, DMF ve Su ortamında, 3 saat (Çözücü ile tavlama)

Yüzeyi pirina çözeltisi ile temizlenmiş ve aktive edilmiş silikon yüzeylere, 33000 g/mol molekül ağırlıklı BCP çözeltisi 2000 rpm hızla kaplanmıştır. Kaplanan yüzeyler oda sıcaklığında, içerisinde DMF olan ağzı kapaklı bir beherde 3 saat boyunca tutulmuştur.

Benzer şekilde yüzeyinde random polimer kaplı olmayan silikon yüzeylere, 3000 rpm hızla BCP çözeltisi kaplanmış ve yüzeyler ağzı kapalı bir beherde DMF ile faz ayrılması gözlemlemek için 3 saat boyunca tutulmuştur.



Şekil 5.17. 2000 rpm hız ile kaplanmış, DMF ortamında, oda sıcaklığında, 3 saat (Çözücü ile tavlama)



Şekil 5.18. 3000 rpm hız ile kaplanmış, DMF ortamında, oda sıcaklığında, 3 saat (Çözücü ile tavlama)

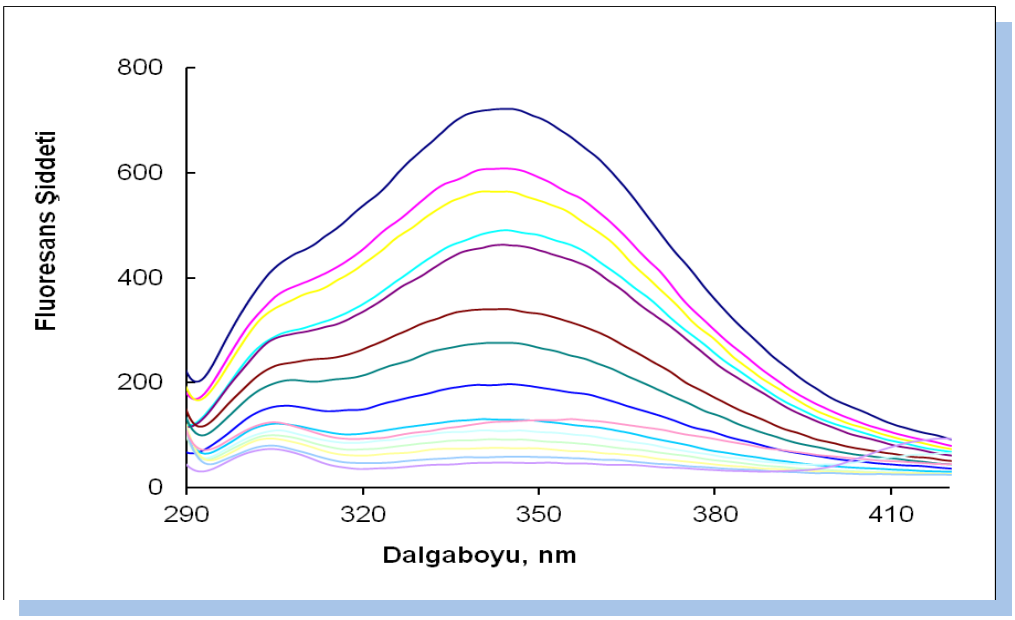
Elde edilen görüntüler incelendiğinde en iyi görüntülerin çözücü tavlama işlemiyle ve 3 saat sürede elde edildiği sonucuna varılmıştır. Termal tavlama işlemlerinde herhangi bir faz ayrılmasına rastlanmamıştır. Sentezlenen polimerin

molekül ağırlığı ve hacim fraksiyonuyla uyumlu olarak çözücü ortamında tavlama işlemlerinden sonra küresel halde toplanmalara rastlanmıştır. Sentezlenen polimerin yapısında glisidil metakrilat bloğunun molekül ağırlığı yaklaşık 27000 g/mol iken polistiren bloğunun molekül ağırlığı 7000 g/mol civarındadır. Dolayısıyla glisidil metakrilat dolgu maddesi iken yüzeyde küresel halde stiren molekülleri yer alacaktır.

Faz ayrımı gözlemlemek için yüzeye kaplanan BCP çözeltilerini yüzeye kaplama hızı değiştirildiğinde farklı yapıda yüzeyde toplanma görülmüştür. En ideal kaplama hızının 2000 rpm olduğu sonucuna varılmıştır.

5.4. PS-b-PGMA' a HSA' nın Bağlanma Sonuçları ve Karakterizasyonu

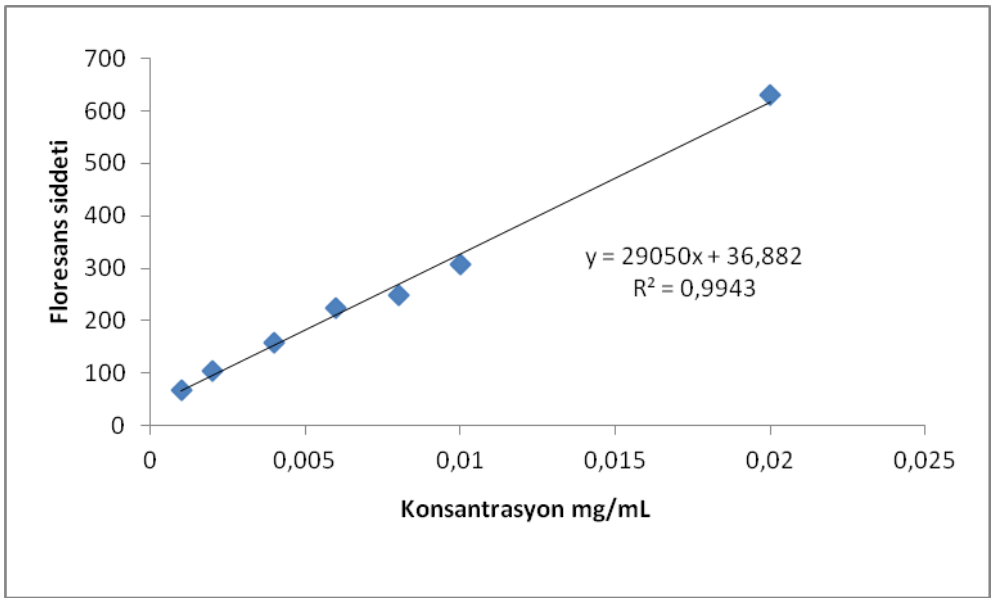
Bölüm 4.6' da anlatılan işlem prosesi uygulandıktan sonra analizler spektrofluorometre cihazı kullanılarak, süpernatant üzerinden yapılmıştır. Kullanılan proteinlerin yapısındaki fluoresans özelliğe sahip aminoasitlerden dolayı 280 nm de protein uyarıldığında, 342 nm' de eksitasyonu görülmektedir. Şekil 5.19' da HSA proteinine ait eksitasyon şiddetinin konsantrasyona bağlı değişimini gösteren grafik görülmektedir.



Şekil 5.19. HSA proteinine ait eksitasyon grafiği

Protein konsantrasyonuna karşı eksitasyon şiddetinin değişmesiyle her bir protein için ayrı ayrı kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Şekil 5.20' de HSA' nın

kalibrasyon grafiği görülmektedir. Bağlanan protein miktarının hesaplanabilmesi için çözeltide bağlanmadan kalan HSA proteinlerinin eksitasyon şiddeti ölçülerek hesaplamalar yapılmıştır.

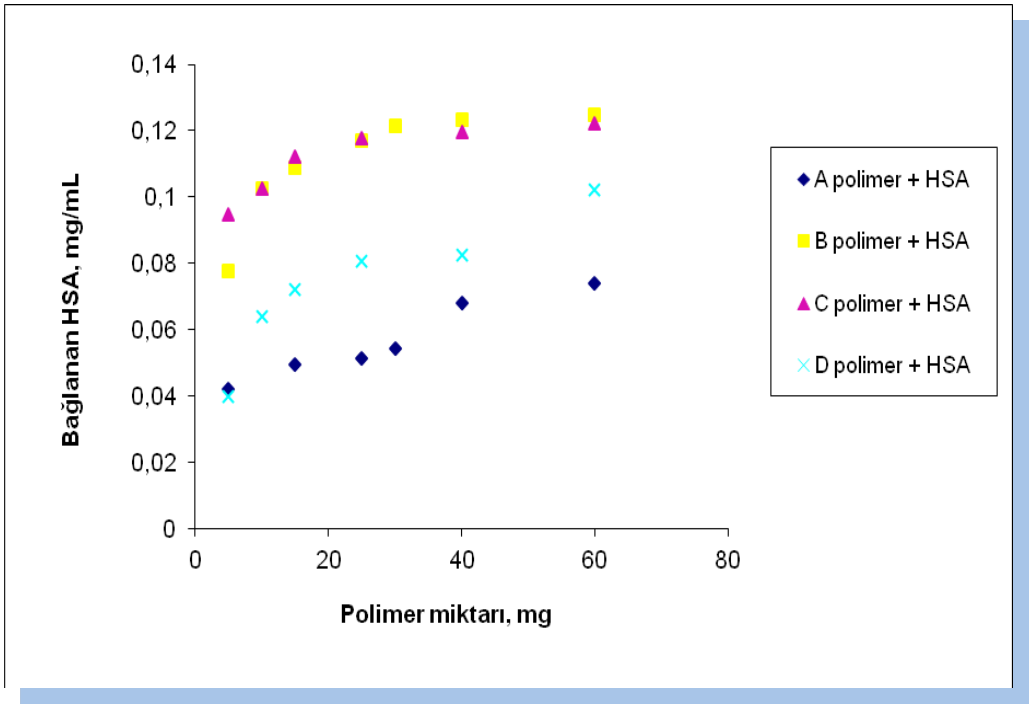


Şekil 5.20. HSA proteinine ait kalibrasyon grafiği

A (9 k), B (30 k), C(33 k) ve D (40 k) kodlarına sahip farklı molekül ağırlıklarına sahip polimerlerden aynı miktarlarda alınıp, 0.1mg/mL HSA içeren 1000 µL çözelti ilave edilip 2 saat karıştırıldıktan sonra spektrofluorometre ile bağlanan HSA miktarları Çizelge 5.3' deki gösterildiği gibi hesaplanmıştır.

Çizelge 5.3. Farklı polimerlere (mg) bağlanan HSA miktarlarını (mg/mL) gösteren çizelge

	5	10	15	25	30	40	60
A polimer-HSA	0.0420	0.0505	0.0493	0.0513	0.0544	0.0682	0.0739
B polimer-HSA	0.0860	0.0775	0.0788	0.0768	0.0736	0.0599	0.0541
C polimer-HSA	0.0949	0.1027	0.1123	0.1176	0.1114	0.1194	0.1223
D polimer-HSA	0.0398	0.0640	0.0721	0.0808	0.0775	0.0826	0.1020

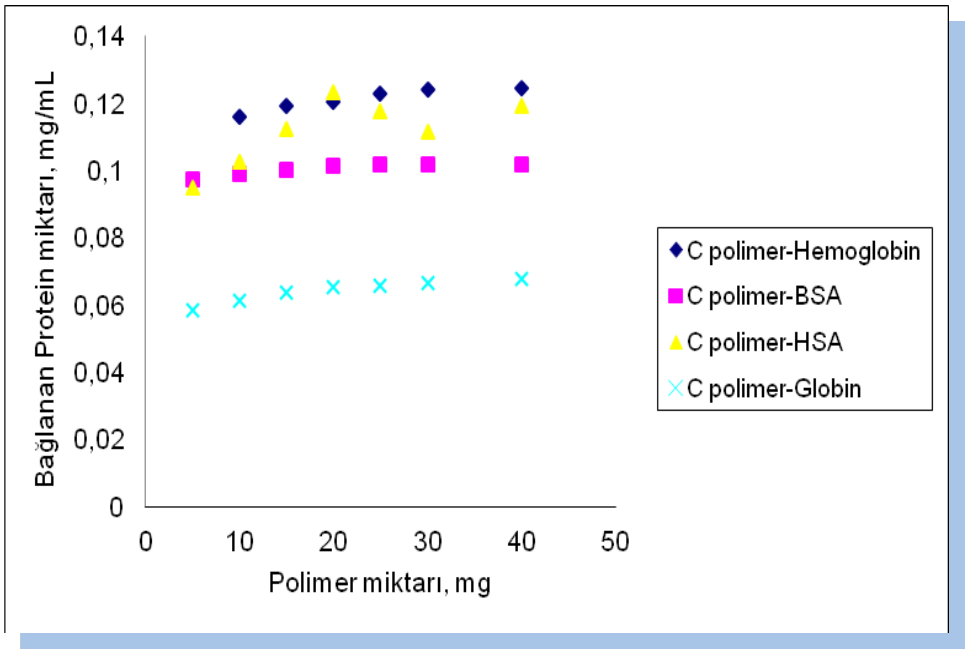


Şekil 5.21. HSA proteininin farklı polimerlere bağlanma miktarını gösteren grafik

Çizelge 5.3 ve Şekil 5.21' de elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde polimer miktarı arttıkça yüzeye bağlanan protein miktarının arttığı gözlemlenmiştir. Yapılan hesaplamalara göre; A polimeri 4000 g/mol, C polimeri ise 27000 g/mol miktarında glisidil metakrilat polimer bloğu içermektedir. HSA proteininin polimerdeki epoksi ucundan bağlandığı bilindiğine göre, sonuçlar beklenen ile uyumlu olup, yüzeye en yüksek bağlanma C (33 k) polimerinde gerçekleşirken, en düşük bağlanma A (9 k) polimerinde gerçekleşmiştir. D (40 k) polimerinin, C (33 k) ve B (30 k) polimerlerine göre daha yüksek molekül ağırlığına sahip olmasına karşılık, yüzeye bağlanan HSA miktarının düşük olmasının sebebinin sterik etkiden kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

Şekil 5.21' deki grafiğe bakıldığında B ve C polimerlerinin HSA proteini ile bağlanma miktarları yaklaşık olarak aynı gibi görünse de, C polimeri kullanıldığında yüzeye bağlanmanın daha orantılı gerçekleştiği sonucuna varılmış ve bu nedenle C polimeri yüzeyine aynı şartlar altında BSA, hemoglobin ve globin proteinleri bağlanmıştır.

Polimer yüzeyine en yüksek miktarda bağlanma Şekil 5.22' de görüldüğü gibi hemoglobin proteini ile gerçekleşmiştir. Hemoglobin proteini, 4 hem ve 1 globin' den olmak üzere ferroprotoporfirin yapıda ve oligomerik bir protein olduğundan polimer yüzeyine daha fazla bağlanma sağlamıştır.

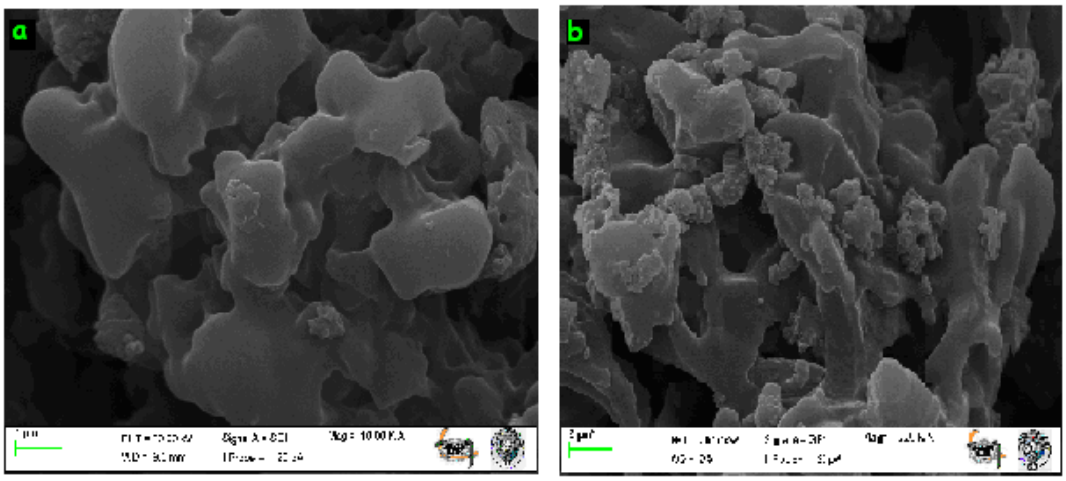


Şekil 5.22. C polimerine farklı proteinlerin bağlanma miktarını gösteren grafik

Çizelge 5.4. C polimerine (mg) bağlanan farklı proteinlerin bağlanma miktarlarının (mg/mL) çizelgesi

	5	10	15	20	25	30	40
C polimer-Hemoglobin	0.0963	0.1160	0.1194	0.1204	0.1228	0.1241	0.1244
C polimer-BSA	0.0976	0.0992	0.1003	0.1013	0.1017	0.1017	0.1018
C polimer-HSA	0.0949	0.1027	0.1123	0.1233	0.1176	0.1114	0.1194
C polimer-Globin	0.0586	0.0614	0.0637	0.0653	0.0658	0.0665	0.0676

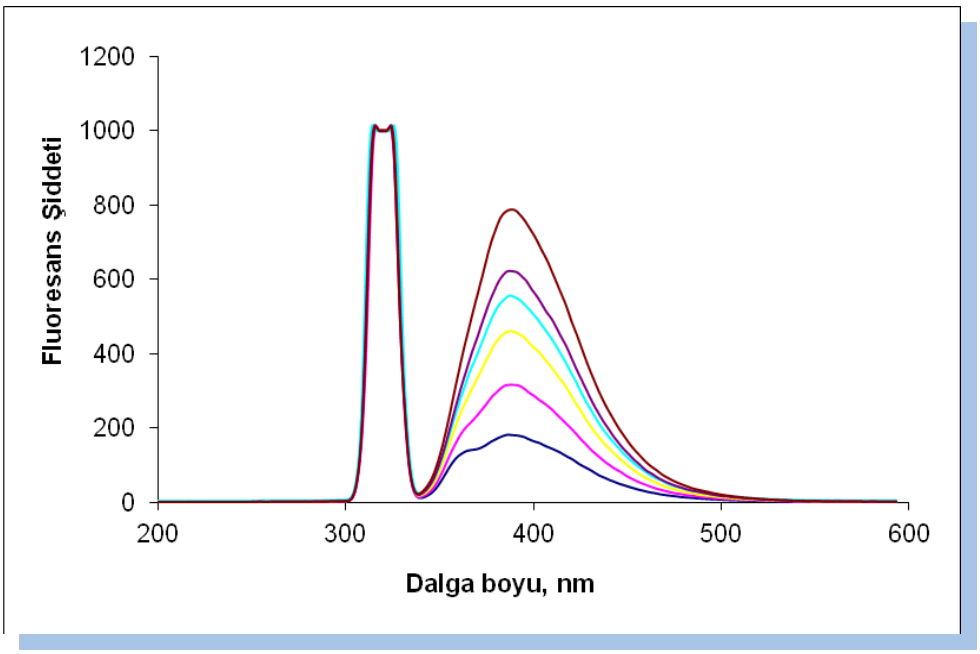
Ayrıca A (9 k) kodlu PS-b-PGMA diblok kopolimerine HSA proteininin bağlanıp bağlanmadığını görmek için, bağlanmadan önce ve sonra olmak üzere SEM görüntüleri alınmıştır. Yüzeyine HSA bağlı polimer numunesi önce saf su ile yıkanıp, sonra fırında kurutularak SEM analizine hazır hale getirilmiştir. Şekil 5.23 (b) de görüldüğü gibi protein molekülleri polimer yüzeyine bağlanmıştır.



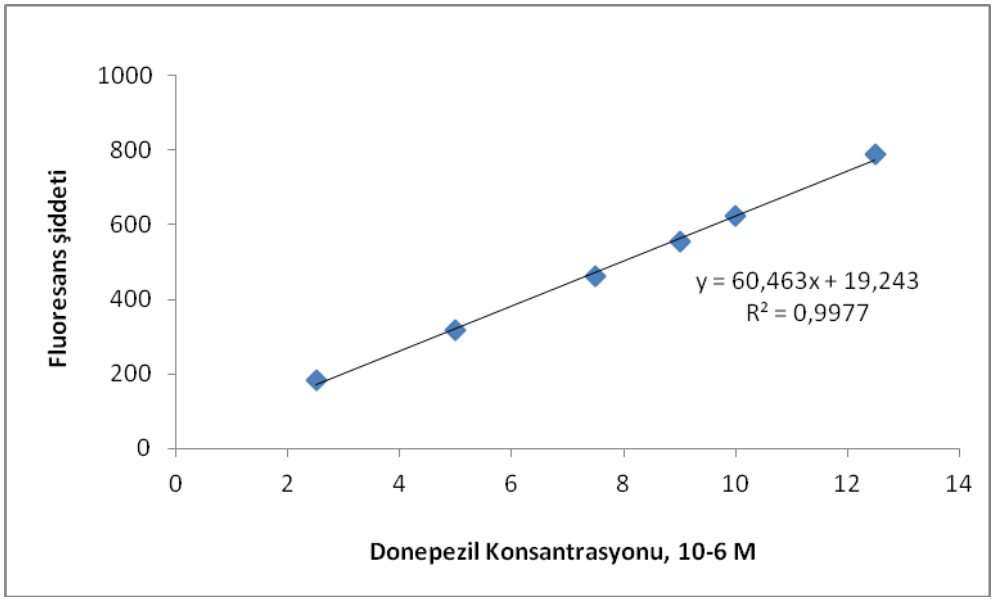
Şekil 5.23. A (9 k) kodlu a) PS-b-PGMA diblok kopolimerin b) PS-b-PGMA-HSA hibrit materyalinin SEM görüntüsü

5.5. PS-b-PGMA-HSA' a Donepezil' in Bağlanma Sonuçları

Tris tampon ile yıkanan yeni hibrit materyallere Bölüm 4.7.' de anlatılan işlem prosesi ile "Donepezil" ilaç etken maddesi bağlanmıştır. Donepezil' in fluoresans özelliğe sahip olmasından dolayı; Şekil 5.24' de görüldüğü gibi Donepezil molekülü 325 nm' de uyarıldığında, 387 nm' de eksitasyon vermektedir.



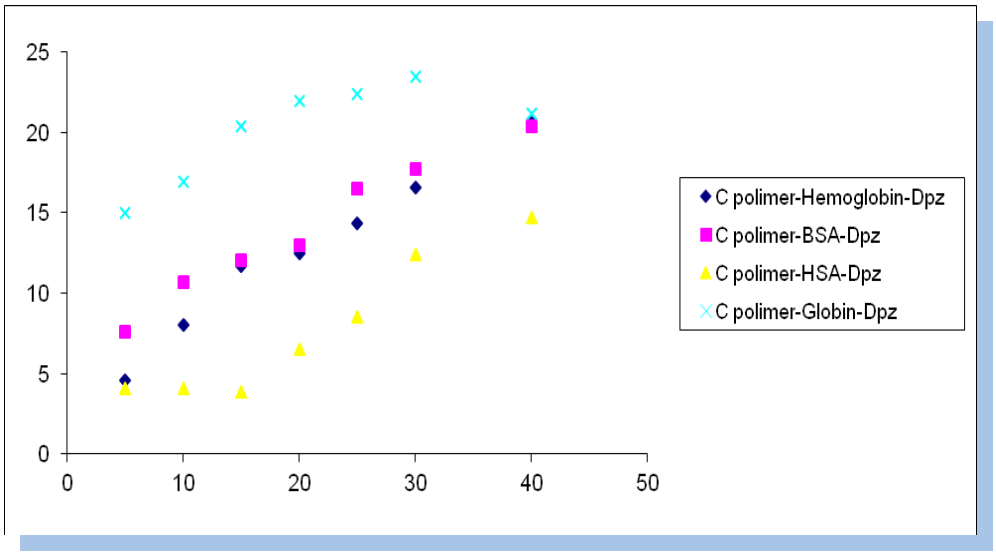
Şekil 5.24. Donepezil' e ait eksitasyon grafiği



Şekil 5.25. Donepezil' e ait kalibrasyon grafiği

Donepezil' in farklı konsantrasyonlardaki fluoresans şiddeti, spektrofluorometre ile ölçülerek kalibrasyon grafiği Şekil 5.25' deki gibi çizilmiştir. C kodlu diblok kopolimerinin üzerine HSA, BSA, hemoglobin ve globin bağlandıktan sonra "Donepezil" ile etkileştirilmiştir.

Çizilen kalibrasyon grafiği kullanılarak 1 saat sonunda bağlanmadan kalan "Donepezil" miktarı süpernatant üzerinden saptanmıştır. Başlangıçtaki "Donepezil" miktarıyla, bağlanmadan çözeltide kalan "Donepezil" miktarının farkından bağlanan "Donepezil" miktarının sayısal değeri hesaplanmıştır.



Şekil 5.26. Bağlanan "Donepezil" miktarını gösteren grafik

Çizelge 5.5. Donepezil' in bağlanma miktarlarını (10^{-6} M) gösteren çizelge

	5	10	15	20	25	30	40
C polimer-Hemoglobin-Dpz	4.592	8.003	11.703	12.469	14.319	16.584	20.578
C polimer-BSA-Dpz	7.602	10.704	12.060	12.949	16.495	17.729	20.375
C polimer-HSA-Dpz	4.110	4.110	3.842	6.511	8.545	12.408	14.708
C polimer-Globulin-Dpz	14.974	16.910	20.374	21.919	22.344	23.470	21.187

Çizelge 5.5' de yüzeyi farklı proteinler ile etkileştirilmiş C kodlu diblok kopolimere Donepezil' in bağlanma miktarı verilmiştir. Şekil 5.26' da görüldüğü gibi en yüksek bağlanma yüzeyinde globülin olan diblok kopolimerde gerçekleşmiştir. Globülin elektrolit içeren, zayıf tuzlu çözeltide çok iyi çözünür ve molekül ağırlığı yüksek bir proteindir. Bu nedenle tris tampon içerisinde iyi çözünürek Donepezil ile yüksek bir bağlanma gerçekleştirmiştir.

6. SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

6.1. Sonuçlar

Bu çalışmada biyolojik uygulamalar ile uyumlu olabilecek aktif uca sahip diblok kopolimer sentezi ve sentezlenen yapının protein ve ilaç ile etkileşiminin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu nedenle; epoksi ucuna sahip glisidil metakrilat monomeri ile kararlı yapısından dolayı stiren monomeri tercih edilerek diblok kopolimer sentezlenmiştir. Sentez yöntemi olarak hem yüksek kontrol sağlayan hem de biyolojik çalışmalar ile uyumlu olan Atom Transfer Radikalik Polimerizasyonu (ATRP) tercih edilmiştir.

Çalışmanın birinci aşamasında, heterojenlik indisi oldukça düşük polistiren polimerleri ATRP yöntemiyle sentezlenmiş ve daha sonra glisil metakrilat bloğu ile diblok kopolimer oluşturmak üzere makrobaşlatıcısı olarak kullanılmıştır. Sentez şartları çözücü, süre ve başlatıcı değiştirilerek optimize edilmiş ve sentezlenen polimerlerin karakterizasyonu Jel Geçirgenlik Kromatagrafisi, ^{1}H NMR Spektroskopisi ve IR Spektroskopisi ile yapılmıştır. Polistiren makrobaşlatıcı sentezinde optimize tepkime şartları; çözücü olarak anisol, katalizör sistemi olarak CuBr/PMDETA, başlatıcı olarak 1-fenil etilbromür (1-FeBr) ve uygun sıcaklık değeri 100 °C olarak bulunmuştur. Tablo 5.1'e bakıldığında polistiren makrobaşlatıcıların heterojenlik indisinin 1.03 - 1.07 arasında değiştiği görülmektedir. Bu sonuçlara göre birbiriyle yaklaşık aynı zincir uzunluğuna sahip polimer zincirlerin mükemmel olarak sentezlendiği söylenebilir.

PS-b-PGMA diblok kopolimer sentez şartları optimize edilirken, önce geçiş metali ve halojen çifti için CuBr seçilerek sentez yapılmış fakat sentez işlemi çok yavaş (yaklaşık 18 saat) ilerlediği için daha sonra CuCl denenmiştir ve tepkime hızının dakikalar civarına indiği gözlenmiştir. Aynı sentez anisol çözücü ortamında denenmiş ve daha sonra anisole göre polaritesi daha yüksek olan benzonitril ve DMF kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlarda polar çözücüler ile daha kısa surede aynı verim elde edilmiştir. Fakat benzonitril çok toksik olduğu için sentezlerde genellikle DMF tercih edilmiştir. Sentezin ilk 10 dakikasında diblok kopolimerin polidispersite indisinin 1.10 civarlarında olduğu görülmektedir. Ancak sentezlenen diblok kopolimerler, reaksiyon ortamında 10 dakikadan daha fazla tutulduğunda kontrolün kaybolup polidispersite indisinin arttığı gözlemlenmiştir.

Sentezlenen diblok kopolimerlerin faz ayrılmalarında, PGMA bloğunun molekül ağırlığı yaklaşık PS bloğunun 5 katı olduğu için morfolojinin küresele kaydığı görülmektedir.

Elde edilen farklı molekül ağırlığındaki diblok kopolimerlerden 5, 10, 15, 25, 30, 40 ve 60 mg tartılmış ve tris tampon ile yıkanarak 2 saat boyunca İnsan serum albümin proteini ile tris tampon çözeltisi içinde etkileştirilmiştir. Bağlanma miktarları albümin proteininin içinde bulunan Triptofan ve Tirozin aminoasitlerinden kaynaklı eksitasyon ve emisyon dalga boylarındaki şiddet değişimine karşı çizilen kalibrasyon grafiğinden yola çıkarak spektrofluorometre cihazı ile hesaplanmıştır.

Bağlanma mekanizması olarak proteinin amin ucu ile glisidil metakrilatın epoksi ucunun reaksiyona girdiği düşünülmüştür. En yüksek bağlanmanın D kodlu diblok kopolimere göre sterik engeli az, A ve B kodlu diblok kopolimerlere göre yapısında daha fazla glisidil metakrilat dolayısıyla epoksi grubu bulunduran 33000 g/mol molekül ağırlığına sahip C kodlu diblok kopolimerde gerçekleştiği görülmüştür. Bağlanma aynı zamanda Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile de gözlemlenmiştir. Daha sonra yapılan denemelerde bu sebepten dolayı C kodlu diblok kopolimer kullanılarak; sığır serum albümin, hemoglobin ve globülin proteinlerinin PS-b-PGMA diblok kopolimere bağlanması incelenmiştir. Her bir protein için ayrı ayrı çizilen kalibrasyon grafiklerinden yapılan hesaplamalar sonucu, en yüksek bağlanma hemoglobin proteini tarafından gerçekleşmiştir. Hemoglobin proteini ferroprotoporfirin yapıda olduğu ve bir globin ve dört “hem” den oluştuğu için yüzeye daha iyi bağlanma sağlamıştır.

Donepezil ilaç etken maddenin fluoresans özelliği olmasından dolayı, 325 nm’ de uyarıldığında, 387 nm’ de eksitasyonu görülmektedir. Bu sayede yüzeylerinde insan serum albümin, sığır serum albümin, globülin ve hemoglobin bulunan diblok kopolimerler “Donepezil” ilaç etken maddesi ile DMF ve tris tampon ortamında etkileştirilmiş ve yüzeye bağlanmaları tespit edilmiştir. Bu denemelerde en iyi etkileşimin yüzeyinde globülin bağlı diblok kopolimer ile gerçekleştiği görülmüştür.

6.2. Öneriler

Sentezlenen PS-b-PGMA diblok kopolimerlerin sentezi, farklı başlatıcı ya da geçiş metali halojen çifti kullanılarak ve çalışma ortamları değiştirilerek denenebilir. Elde edilen PS-b-PGMA diblok kopolimeri yapısında aktif epoksi ucu bulundurduğu için DNA bağlanma, membran oluşturma gibi diğer biyolojik uygulamalarda uygun bir materyal haline getirilip çalışılabilir. Ayrıca ilerleyen çalışmalarda sentezlenen BCP polimeri misel çalışmalarına uygun hale getirilerek, misel oluşum şartları optimize edilebilir. İn vitro ya da in vivo ortamda yüzeye bağlanan ilaç için hücrede dağılım çalışmaları yapılıp, dağılım kinetiği incelenebilir.

KAYNAKLAR

Agrawal, S.K., Sanabria-Delong, N., Coburn, J.M., Tew, G.N., Bhatia, S.R., **2006**, Novel drug release profiles from micellar solutions of PLA-PEO-PLA triblock copolymers, *Journal of Controlled Release*, 112, 64-71.

Akçay A., **2008**, Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu ile Stiren Esaslı Yeni Makroperoksi Başlatıcı Sentezi ve Karakterizasyonu; Bu Başlatıcı ile Blok ve Graft Kopolimerlerin Eldeleri, Yüksek Lisans Tezi, *Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri*, Trabzon.

Arica, M.Y., Bayramoglu, G., **2004**, Reversible immobilization of tyrosinase onto polyethyleneimine-grafted and Cu(II) chelated poly(HEMA-co-GMA) reactive membranes. *Journal of Molecular* Catalysis *B*: Enzymatic , 27, 255–265.

Atar N., **2006**, Suda Çözünen Polimerlerin Çimento ve Beton Özellikleri Üzerine Etkisinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kütahya.

Ball P., **2000**, The self-made tapestry: pattern formation in nature, *Journal of Chemical Education*, 77, 450-452.

Battal Y., **2006**, Anyonik Polielektrotların Sığır Serum Albümin ile Etkileşiminin Fluoresans Yöntemi ile İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul.

Baysal B., **1981**, Polimer Kimyası, Cilt-1.

Bayramoğlu G., Karagoz B., Yilmaz M., Bicak N., Arica Y., **2011**, Immobilization of catalase via adsorption on poly(styrene-d-glycidylmethacrylate) grafted and tetraethyldiethylenetriamine ligand attached microbeads, *Bioresource Technology*, 102, 3653–3661.

Brar A.S, Goyal A., 2008, Characterization and optimization of poly(glycidyl methacrylate-co-styrene) synthesized by atom transfer radical polymerization, *European Polymer Journal*, 44, 4082–4091

Carlsson N., Borde A., Wölfel S., Åkerman B., Larsson A., **2011**, Quantification of protein concentration by the Bradford method in the presence of pharmaceutical polymers, *Analytical Biochemistry* , 411, 116–121

Chao C. C., Wang T. C., Ho R. M., Georgopanos P., Avgeropoulos A., Thomas E. L., Robust, **2010**, Block Copolymer Mask for Nanopatterning Polymer Films, *Acs Nano*, 4, 2088-2094.

Eren F., **2011**, Kontrollü Polimerizasyon Yöntemleri ve Klik tepkimeleri İle Amfifilik Polimerlerin Sentezi ve Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, *Fatih Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul.

Erdoğan T., Hızal G., Tunca U., 2006, A new strategy for the preparation of multiarm star-shaped polystyrene via a combination of atom transfer radical polymerization and cationic ring-opening polymerization, *Designed Monomers and Polymers*, 9, 393–401

F. E. Alemdaroglu, K. Ding, R. Berger and A. Herrmann, **2006,** DNA-Templated Synthesis in Three Dimensions: Introducing a Micellar Scaffold for Organic Reactions, *Angewandte Chemie International Edition*, 45, 4206–4210.

Gao Z, Lee D, Kim D, Bae Y., **2005**, Doxorubicin loaded pH-sensitive micelle targeting acidic extracellular pH of human ovarian A2780 tumor in mice, *Journal of Drug Targeting*, 13, 391-7.

Gürdöl F., Ademoğlu E., **2006**, Biyokimya, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, *Nobel Tıp Kitapevleri*,1.Baskı.

Hoffman, A.S., **2002**, Hydrogels for biomedical applications, *Advanced Drug Delivery Review*, 54, 3-12.

Hürtürk E., **2011**, Laktat Blok Kopolimerlerinden Oluşan Misellere Albümin Yüklenmesi ve Salınımı, Yüksek Lisans Tezi, *Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul.

Jeong B, Bae YH, Lee DS, Kim SW., **1997**, Biodegradable block copolymers as injectable drug-delivery systems, *Nature*, 388, 860–862.

Jin Kon Kim., **2006**, Block Copolymer Thin Films for New Functional Nanomaterials, *The 3rd Korea-US Nano Forum*, Kyungbuk 790-784, Korea.

J. Rodrı´guez-Herna´ndez, F. Che´cot, Y. Gnanou, S. Lecommandoux, 2005, Toward 'smart' nano-objects by self-assembly of block copolymers in solution, *Progress in Polymer Science* , 30, 691–724.

Kataoka K, Harada A, Nagasaki Y. , **2001**, Block copolymer micelles for drug delivery: design, characterization, and biological significance, *Advanced Drug Delivery Review*, 47, 113–31.

Krishnan R., Srinivasan S.V., **2003**, Controlled/"Living" Radical Polymerization of Glycidyl Methacrylate at Ambient Temperature, *Macromolecules*, 36, 1769-1771

Kul D., **2006**, Poli(etilenoksit) Merkezli ve Poli(tert-Bütilakrilat) Kabuklu Yıldız Şekilli Blok Kopolimerlerin Sentezi ve Misel Özelliklerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, *Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Trabzon.

Ke Wang, Wei Feng Li, Jian Feng Xing, Kai Dong, Yang Gao, **2012**, Preliminary assessment of the safety evaluation of novel pH-sensitive hydrogel, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 82, 332-339

Kwon GS., **2003**,Polymeric micelles for delivery of poorly water-soluble compounds, *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 20, 357–603.

Li Feng, Ming Ma, Zhe-Fan Yuan, Jing-Yi Huang and Ren-Xi Zhuo, **2011**, Novel poly(glycidyl methacrylate-b-propylene oxide-b-glycidyl methacrylate) derivatives with low cytotoxicity and efficient gene delivery, *Journal of Bioactive and Compatible Polymers,* 26, 388–404.

Lim HJ., Cho EC., Lee JA., Kim J., **2012**, A novel approach for the use of hyaluronic acid-based hydrogel nanoparticles as effective carriers for transdermal delivery systems, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 402, 80-87

Matyjaszewski K., **1999**, Transition Metal Catalysis in Controlled Radical Polymerization: Atom Transfer Radical Polymerization, *Chemistry A European Journal*, 5, 3095-3102.

Matyjaszewski K., **2000**, Editor, Controlled/Living Radical Polymerization Progress in ATRP, NMP, and RAFT, *ACS Symposium Series*, 768, 138-151, New Orleans.

Matyjaszewski K., Jo S.M., Paik H.J., Shipp D.A., **1999**, An Investigation into the CuX/2,2'-Bipyridine (X = Br or Cl) Mediated Atom Transfer Radical Polymerization of Acrylonitrile, *Macromolecules*, 32, 6431-6438.

Matyjaszewski, K.; **1998**, Editor, Controlled Radical Polymerization*, ACS Symposium Series,*. 685, San Francisco.

Matyjaszewski, K., Wang, J. -L., Grimaud, T. and Shipp, D. A., **1998**, Controlled/"Living" Atom Transfer Radical Polymerization of Methyl Methacrylate Using Various Initiation Systems, *Macromolecules*, 31, 1527-1534.

Matyjaszewski, K., Wei, M., Xia, J. ve Gaynor, S. G., **1998**, Atom Transfer Radical Polymerization of Styrene Catalyzed by Copper Carboxylate Complexes, *Macromolecular Chemistry and Physics*, 199, 2289-2292.

Matyjaszewski, K.and Xia, J., **2001**, Atom Transfer Radical Polymerization, *Chemical Reviews*, 101, 2921-2990.

Özcan Y., **2008**, Çevresel Etkilere Duyarlı Blok Kopolimerlerinin Yapılarının SAXS Yöntem ile İncelenmesi, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara.

Paris R., Fuente L., **2008**a, Synthesis of epoxy functionalized four-armed star diblock copolymers by atom transfer radical polymerization, *Reactive & Functional Polymers* 68, 1004–1012.

Paris R., Mosquera B., Fuente L., **2008**b, Atom transfer radical copolymerization of glycidyl methacrylate and allyl methacrylate, two functional monomers, *European Polymer Journal*, 44, 2920–2926.

Pallu S., Rochefort G. Y., Jaffre C., Refregiers M., Maurel D.B., Benaitreau D., Lespessailles E., Jamme F., Chappard C., Benhamou C.L., **2012**, Synchrotron Ultraviolet Microspectroscopy on Rat Cortical Bone: Involvement of Tyrosine and Tryptophan in the Osteocyte and Its Environment, *Plos One*, 7,43930.

Patricia A. Zunszain, Jamie Ghuman, Teruyuki Komatsu, Eishun Tsuchida and Stephen Curry, **2003**, Crystal structural analysis of human serum albümin complexed with hemin and fatty acid, *BMC Structural Biology*, 3,6.

Qui, Y. and Park, K., **2001**, Environment-sensitive hydrogels for drug delivery, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 53, 321-339.

Saçak M., **2006**, Polimer Kimyası, *Gazi Kitapevi*, 3.Baskı.

S.B. Darling., **2007**, Directing the self-assembly of block copolymers, *Progress in Polymer Science*, 32, 1152–1204.

Siegwart D., Kwon Oh J., Matyjaszewski K., **2012**, ATRP in the design of functional materials for biomedical applications, *Progress in Polymer Science* 37, 18– 37.

Taktak F., **2009**, Yeni Tip Yüzey Aktif Triblok Kopolimerlerin Sentezi, Karakterizasyonu, Çözelti Davranışlarının İncelenmesi ve Hidrojel Eldesinde Kullanılmaları, Doktora Tezi, *Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Eskişehir.

Torchilin VP., **2005**, Block copolymer micelles as a solution for drug delivery problems, *Expert Opin Therapeut Patents*; 15, 63–75.

Tüzün C.; **2002**, Biyokimya, *Palme Yayıncılık*, 4.Baskı.

Tyrrell L.Z, Shen Y., Radosza M., **2010**, Fabrication of micellar nanoparticles for drug delivery through the self-assembly of block copolymers, P*rogress in Polymer Science,* 35, 1128–1143

Wenwen Wang, Qiuyu Zhang, **2012**, Synthesis of block copolymer poly (n-butyl acrylate)-b-polystyrene by DPE seeded emulsion polymerization with monodisperse latex particles and morphology of self-assembly film surface, *Journal of Colloid and Interface Science,* 374, 54–60.

Xu P, **2006**, Van Kirk E, Li S, Murdoch W, Ren J, Hussain M, Radosz M, Shen Y. Highly stable core-surface-crosslinked nanoparticles as cisplatin carriers, *Colliods and Surfaces B: Biointerfaces*, 48, 50–57.

Xue JG., Rand BP., Uchida S., Forrest SR., **2005**, A hybrid planar-mixed molecular heterojunction photovoltaic cell, *Advanced Materials*, 17, 66-71.

Yeşilyurt N., **2007**, Fırça Tipi Poli(3-Hidroksialkanoat)-*g*-Polimetilmetakrilat Graft Kopolimerlerin Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu Yöntemi ile Sentezi ve Karakterizasyonu, Bilim Uzmanlığı Tezi, *Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Zonguldak.

Yorulmaz E., **2009**, Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu ile Glisidil Metakrilat Bazlı ABA Tipi Triblok Kopolimerlerin Sentez ve Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, *Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Eskişehir.

Zhang, X.Z., Lewis, P.J., Chu C.C., **2005**, Fabrication and characterization of a smart drug delivery system: Microsphere in hydrogel, *Biomaterials*, 26, 3299–3309.

Web Sayfası Kaynak Listesi:

[1]http://megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/modul_pdf/543M00004.pdf

[2]http://en.wikipedia.org/wiki/Protein

[3]http://80.251.40.59/veterinary.ankara.edu.tr/fidanci/Ders_Notlari/Ders_Notlari/Aminoasitler.html

[4]http://en.wikipedia.org/wiki/Human_serum_albumin

[5]http://tr.wikipedia.org/wiki/Alb%C3%BCmin

[6]http://en.wikipedia.org/wiki/Bovine_serum_albumin

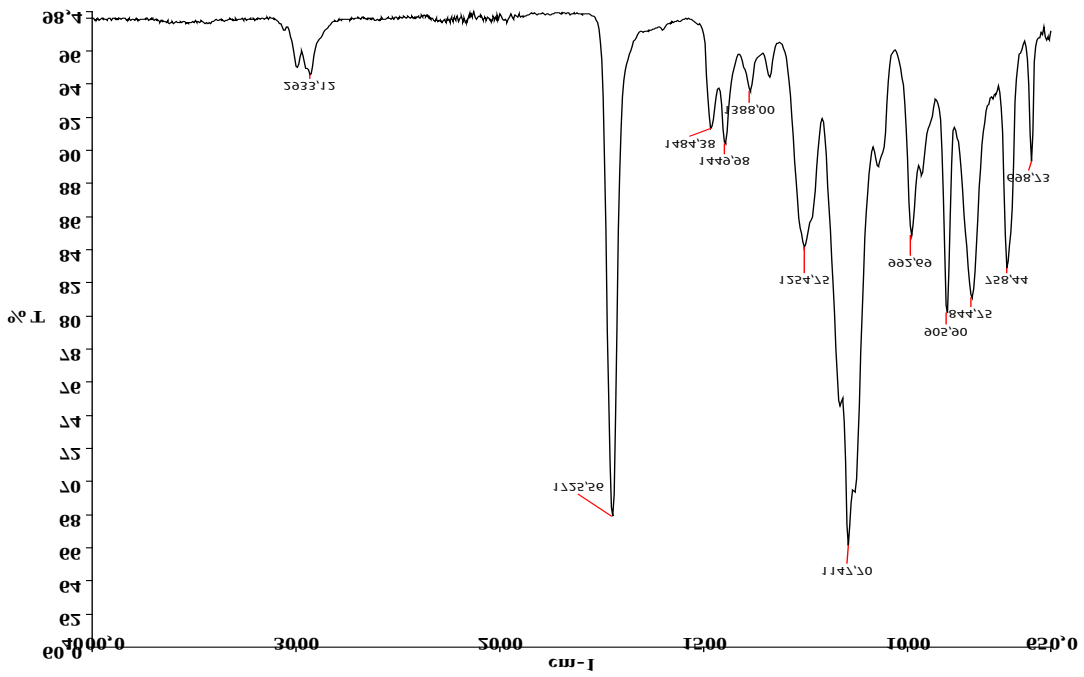
[7]http://home.anadolu.edu.tr/~bbozan/bio2012/2012/3.immobilizeenzimler%20%202012.pdf

[8]http://www.ic.kmutnb.ac.th/wpr/webpage/Current%20semester%20(Lecture%20and%20Lab)/PolymerChem/4%20Ionic%20polzn%20(050552).pdf

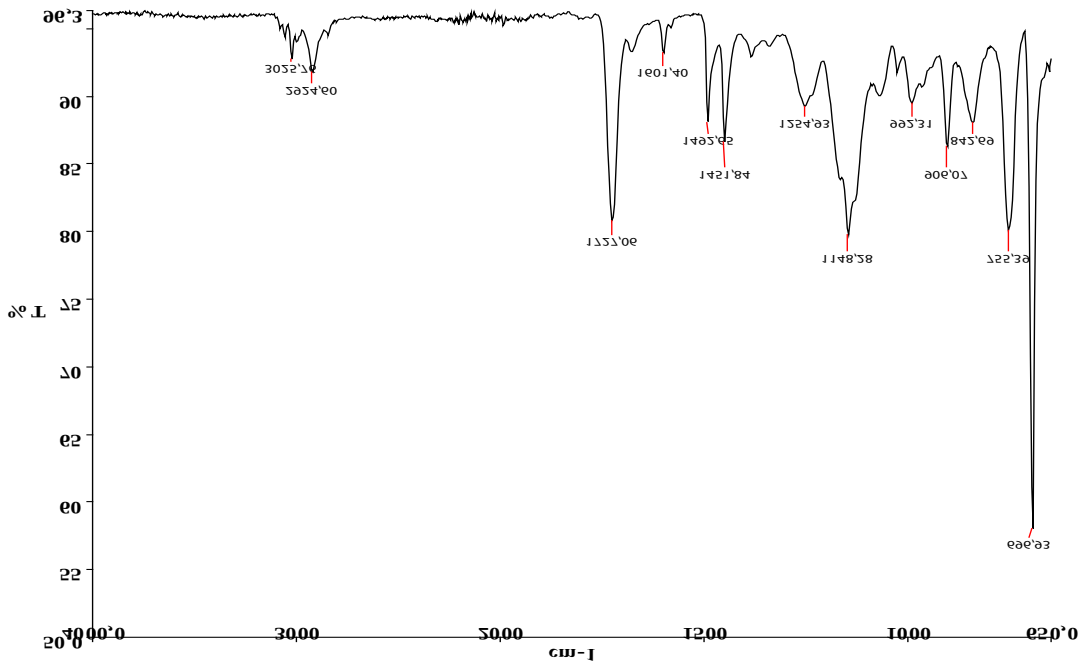
[9] http://taner.balikesir.edu.tr/dersler/polimer_kimyasi/

[10]http://www.polimernedir.com/polimer-kimyasi/kontrollu-polimerizasyon-mekanizmalari/atom-transfer-radikal-polimerlesmesi-atrp/

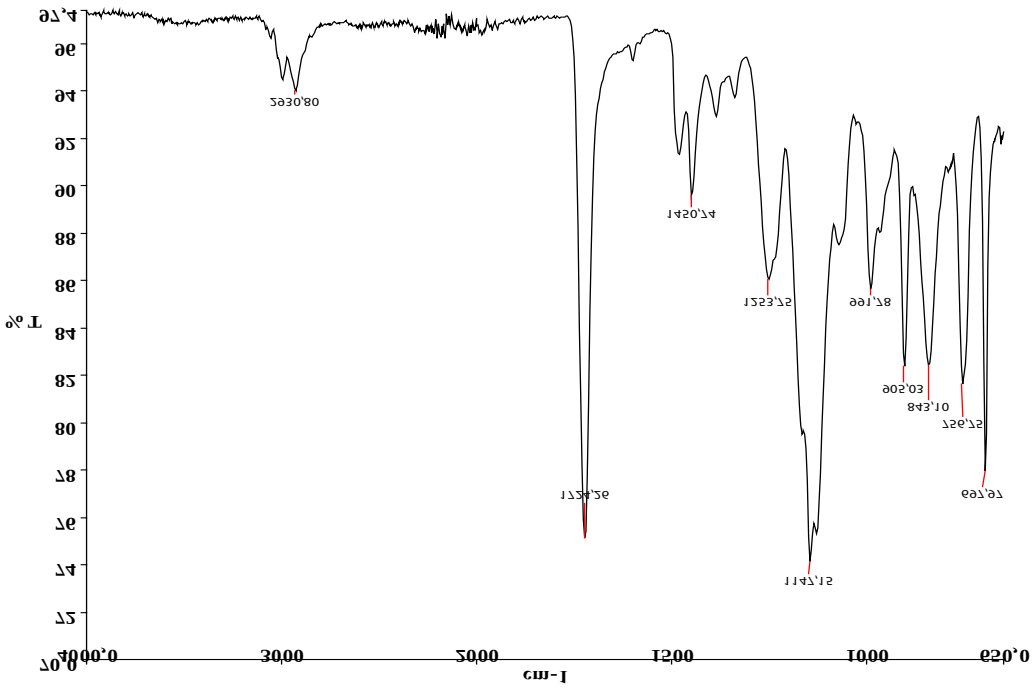
EKLER



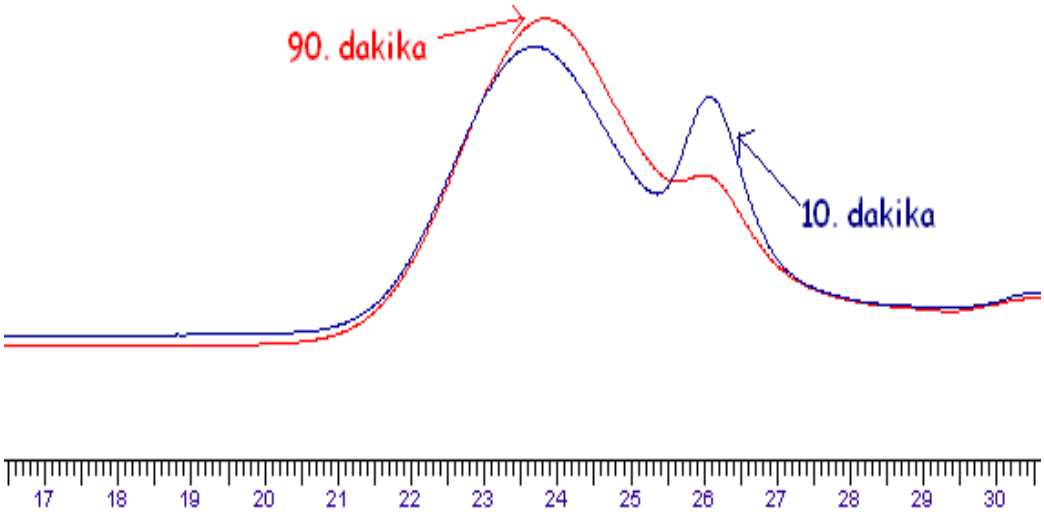
Şekil 6.1. BCP-1 e ait PS-b-PGMA diblok kopolimerin FT-IR spektrumu



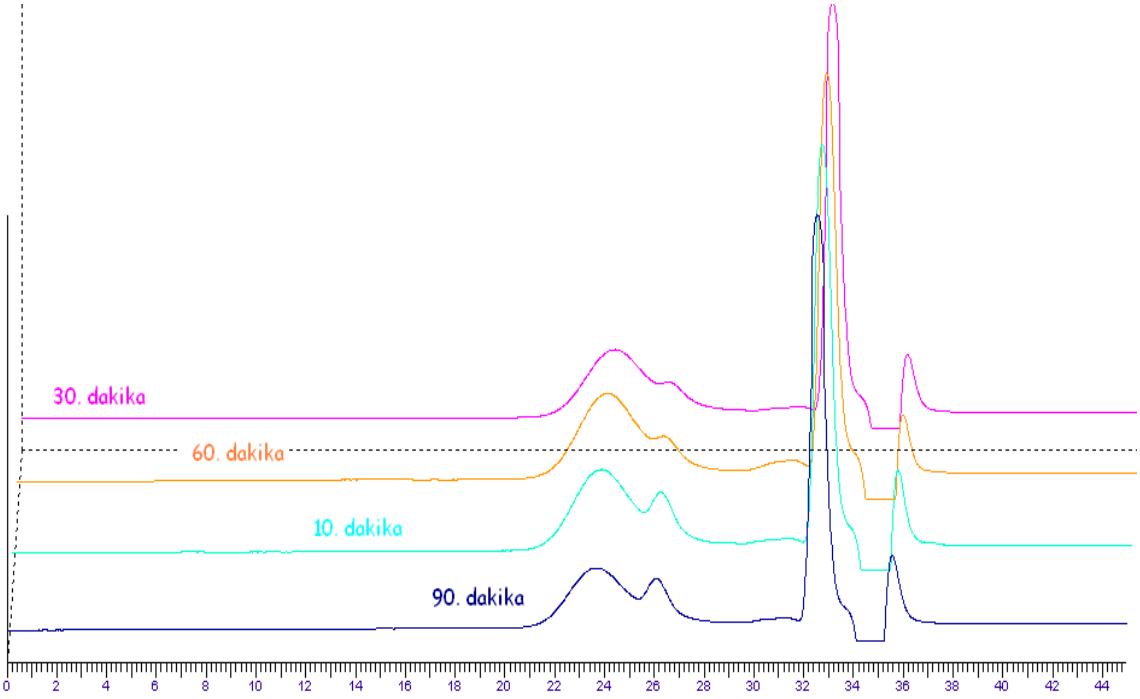
Şekil 6.2. BCP-2 e ait PS-b-PGMA diblok kopolimerin FT-IR spektrumu



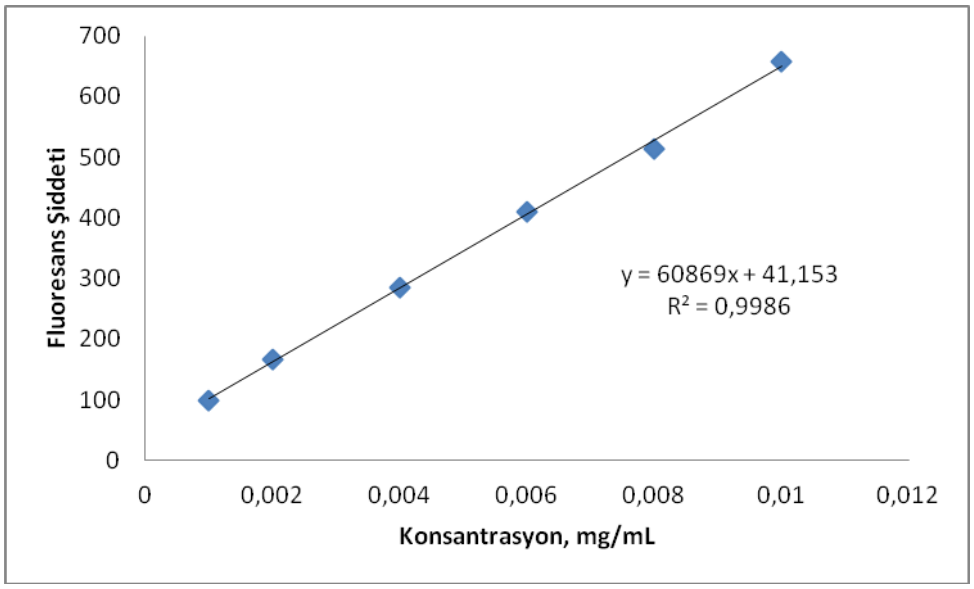
Şekil 6.3. BCP-3 e ait PS-b-PGMA diblok kopolimerin FT-IR spektrumu



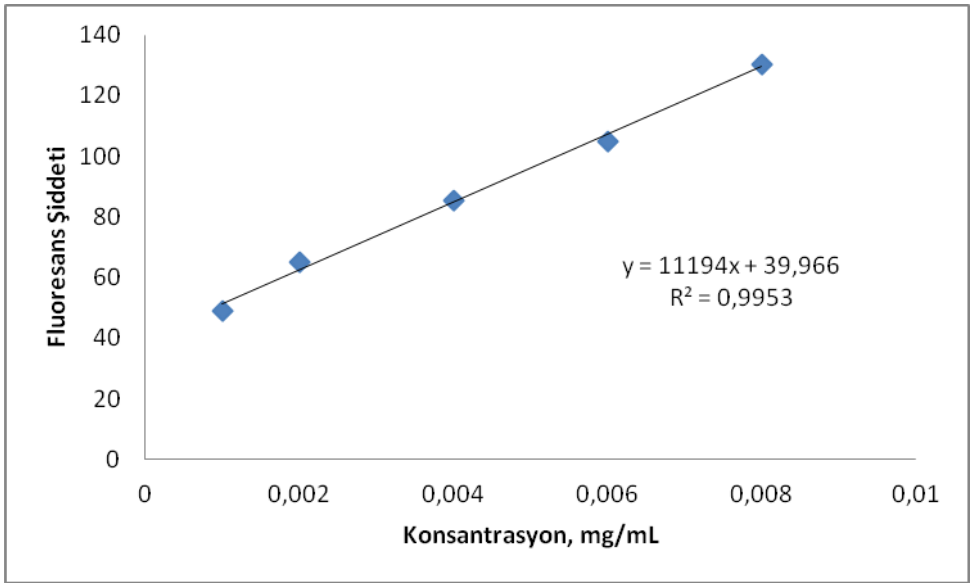
Şekil 6.4. BCP-4 e ait PS-b-PGMA diblok kopolimerin 10. ve 90. dakikalarda alınan GPC kromatogramları



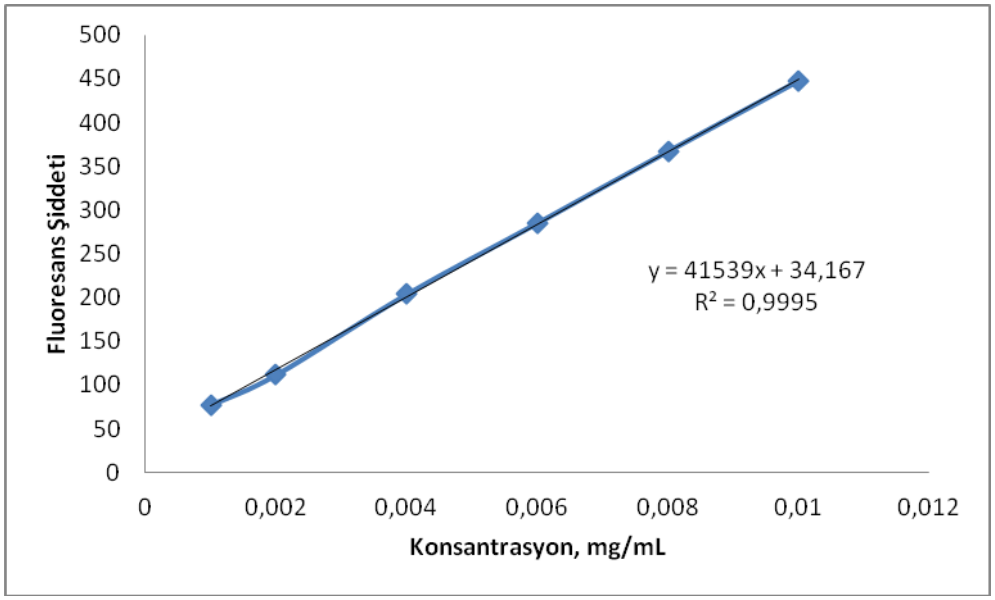
Şekil 6.5. BCP-4 e ait PS-b-PGMA diblok kopolimerin 30., 60., 10. ve 90. dakikalarda alınan GPC kromatogramları



Şekil 6.6. BSA proteinin kalibrasyon grafiği



Şekil 6.7. Hemoglobin proteinin kalibrasyon grafiği



Şekil 6.8. Globin proteinin kalibrasyon grafiği

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Leman BUZOĞLU
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : İZMİR 22.11.1988
Telefon : 0532 344 52 94
Faks : 0332 241 24 99
e-mail : lemanbuzolu@gmail.com

EĞİTİM

Derece	**Adı, İlçe, İl**	**Bitirme Yılı**
Üniversite :	Ege Üniversitesi, Bornova, İZMİR	2010
Yüksek Lisans :	Selçuk Üniversitesi, Selçuklu, KONYA	2012
Doktora :	-	

UZMANLIK ALANI

Polimer Sentezi

YABANCI DİLLER

İngilizce