T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

L-TİROZİN METİL ESTERİ BASKILANMIŞ/SORPLANMIŞ N-(R)-α-METİLBENZİL AKRİLAMİT-EGDMA KOPOLİMERİNİN HAZIRLANMASI VE BU KATI FAZ ÜZERİNDEN RASEMİK DL-TİROZİN METİL ESTERİNİN REZOLÜSYONU

Remziye YEŞİL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

DİYARBAKIR
Haziran-2019

T.C

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

DİYARBAKIR

Remziye YEŞİL tarafından yapılan "L-Tirozin Metil Esteri Baskılanmış/Sorplanmış N-(R)-α-Metilbenzil Akrilamit-EGDMA Kopolimerinin Hazırlanması Ve Bu Katı Faz Üzerinden Rasemik DL-Tirozin Metil Esterinin Rezolüsyonu" konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Kimya Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyesinin

Ünvanı Adı Soyadı

Başkan: Prof. Dr. Giray TOPAL (Danışman)

Üye : Prof. Dr. Servet TURAL

Üye : Dr. Öğr. Üyesi. Murat SÜNKÜR

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 27/06/2019

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

.../...../2019

Prof. Dr. Sevtap SÜMER EKER

ENSTİTÜ MÜDÜRÜ

(MÜHÜR)

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi, yürütülmesi ve bütün çalışmalarım boyunca bilgi, tecrübe ve hoşgörüsüyle bana yol göstericilik yapan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Giray TOPAL'a,

Deneysel çalışmalarım ve tez yazım esnasında yardımlarını ve tecrübelerini esirgemeyen Sayın Arş. Gör. Mutlu CANPOLAT'a, doktora öğrencisi arkadaşım Sayın Erdal ERTAŞ'a, doktora öğrencisi arkadaşım Sayın Filiz KOYUNCU'ya ve yüksek lisans öğrencisi arkadaşım Sayın Cumali YILMAZ'a,

Tezimin SEM ile parçacık analizi çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Murat YAVUZ'a,

Tezimin HPLC çalışmalarında her türlü bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen Sayın Doç. Dr.Tarık ARAL'a,

Tezimin NMR çalışmalarının gerçekleşmesi için yardımcı olan Sayın Arş. Gör. Murat KALOĞLU'na,

Son olarak çalışmalarım sırasında manevi olarak yanımda olup beni yalnız bırakmayan değerli arkadaşlarım Sayın Zelal ÇELİK, Sayın Gamze MÜJDECİ, Sayın Büşra SARGAN ve Sayın Beren BİLGETEKİN'e teşşekürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

		Sayfa
TEŞEKKÜR…….		I
İÇİNDEKİLER…….....		II
ÖZET…….....		IV
ABSTRACT…….....		V
ÇİZELGE LİSTESİ…….....		VI
ŞEKİL LİSTESİ…….....		VII
KISALTMA VE SİMGELER…….		IX
1.	**GİRİŞ**…….....	1
1.1.	Kiralite nedir ve önemi…….	2
1.2.	Kiral esterler ve kullanım alanları……	4
1.2.1.	Kafeik asidin fenil esteri…….	4
1.2.2.	L-Tirozin metil esteri……	4
1.3.	Kiral ayırmalar…….	6
1.4.	Moleküler baskılama yöntemi ve uygulama alanları……	8
1.4.1	Molekül baskılama yöntemi……..	10
1.4.1.1.	Ön kompleksleşme……	10
1.4.1.2.	Polimerizasyon……..	10
1.4.1.3.	Hedef molekülün uzaklaştırılması…….	10
1.4.2.	Kovalent baskılama……	10
1.4.3.	Kovalent olmayan baskılama……..	10
1.4.4.	Metal iyon baskılama……..	11
1.4.5.	Çözücüler…….....	12
2.	**ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR**……	13
3.	**MATERYAL ve METOT**……	19
3.1.	Materyal…….....	19
3.1.1.	Kullanılan kimyasallar……	19
3.1.2.	Kullanılan cihazlar……..	19
3.2.	Metot……	20
3.2.1.	L-Tirozin Metil Esterinin Hazırlanması……..	20

3.2.2. DL-Tirozin Metil Esterinin Hazırlanması…… 23

3.2.3. L-Tirozin metil esteri baskılanmış N-(R)-α-benzilmetil akrilamit -EGDMA ko-polimerinin sentezi……... 25

3.2.4. Baskılanmış L-tirozin metil esteri ko-polimeri kompleks içerisinden L-tirozin metil esterinin sıyrılması çalışmalarında hazırlanan çözeltiler……. 27

3.2.5. Baskılanmış L-Tirozin metil esteri ko-polimerden L-tirozin metil esterinin sıyrılması. 29

3.2.6. Sıyrılan ko-polimer ile DL-tirozin metil esterinin etkileştirilmesi sonucu L-tirozin metil esterinin çözelti fazından ekstraksiyonu…… 31

4. BULGULAR VE TARTIŞMA……. 37

5. SONUÇ VE ÖNERİLER……..... 41

6. KAYNAKLAR……..... 43

ÖZGEÇMİŞ……... 51

ÖZET

L-TİROZİN METİL ESTERİ BASKILANMIŞ/SORPLANMIŞ N-(R)-α-METİLBENZİL AKRİLAMİT-EGDMA KOPOLİMERİNİN HAZIRLANMASI VE BU KATI FAZ ÜZERİNDEN RASEMİK DL-TİROZİN METİL ESTERİNİN REZOLÜSYONU

YÜKSEK LİSANS

Remziye YEŞİL

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

2019

İlk olarak, L-tirozin metil esteri tarafımızdan hazırlandı. Daha sonra, hazırlanan ester, N- (R)-α-metilbenzil akrilamid, EGDMA ve MMA ve toluen, belirlenen tepkime mol oranlarına göre 2 boyunlu balona alındı. 0.1g Polivinilalkol su içinde çözüldü ve yukarıdaki karışıma eklendi. Balonun üzerine bir geri soğutucu yerleştirildi. Reaksiyon karışımı, oda sıcaklığında N_2 atmosferi altında karıştırıldı. Sonra sıcaklık 90 °C'ye yükseltilerek 4 saat karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımı, oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve vakum altında süzüldü. Baskılanmış Polimer, vakum fırınında kurutuldu. Daha sonra L-tirozin metil esteri, farklı oranlarda CH_3COOH/MeOH karışımları kullanılarak baskılı polimerden sıyırıldı ve optimum sıyırma süresi ve sıyırma reaktifi oranlarının koşulları belirlendi. Sonra DL-tirozin metil esteri, 25 °C'de etanolde inkübatör içinde sıyrılmış polimer ile farklı sürelerde ekstre edilerek optimum inkübasyon şartları belirlendi. Enantiyomerik fazlalık (ee) değerleri, Kiral-OD kolon üzerinden HPLC'de ölçüldü.

Anahtar kelimeler: Rezolüsyon, DL-Tirozin Metil Esteri, Kiral Polimer, N-(R)-α-metilbenzil akrilamit kopolimerleri

ABSTRACT

PREPARATİON OF N-(R)-α -METHYLBENZYL ACRYLAMİDE –EGDMA COPOLYMER IMPRINTED İN L-TYROSYN METHYLESTER AND RESOLUTİON OF DL-TYROSYN METHYLESTER ON THİS COPOLYMERE BY SOLİD-LİQUİD EXTRACTİOPN METHOD

MSc THESIS

Remziye YEŞİL

DEPARTMENT OF FIELD CROPS
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF DICLE

2019

Firstly, L-tyrosyn methylester was prepared by us. Then, prepared ester, N-(R)-α-methylbenzyl acrylamide, EGDMA and MMA and toluen the reaction was taken into a 2-neck flask according to the determined molar ratios .0.1 g Polyvinylalcohol was dissolved in water and added to above mixture. A condenser placed on the flask. The reaction mixture was stirred at room temperature under N_2 atmosphere The temperature was then raised to 90 °C and stirred for 4 hours. Then reaction mixture was cooled to room temperature and filtered under vacuum. The Printed Polymer was dried in a vacuum oven. Then L-tyrosyn methylester was striped from imprinted Polymer by use CH_3COOH/MeOH at different mixtures and optimum time and striping reagents rates conditions were determined. And then DL-tyrosyn methylester was extracted with the stripped polymer in the incubator in ethanol at 25 ° C at different times. Enantiomeric excess(ee) were recorded by HPLC with chiral-OD column.

Key Words: The Resolutions, DL-Tyrosine Methyl Ester Resolution, Chiral Polymers, N-(R)-α-methylbenzyl acrylamide copolymere.

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge No		Sayfa
Çizelge 1.1.	Moleküler Baskı Yönteminde Yaygın Olarak Kullanılan Bazı Çözücüler ve Fiziksel Özellikleri	12

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No		Sayfa
Şekil 1.1.	Bir S_N^1 Tepkimesinde Kiral Merkeze Yapılan Etkide Asimetrik Merkezin Farklı Yönlenmesi Sonucu Stereoizomerler Karışımı Oluşur	3
Şekil 1.2.	Kafeik Asit Molekülü	4
Şekil 1.3.	Kafeik Asit Fenil Esteri	4
Şekil 1.4.	Tirozin Molekülü	5
Şekil 1.5.	L-Tirozin Ve D-Tirozin Metil Esteri Molekülü	6
Şekil 1.6.	Fischer'in Kilit Metaforundan İlham Alan Moleküler Baskı Prensibi	9
Şekil 2.1.	ECHA İle Çapraz Bağlanan LLM PEI'nin Yapı Konfigürasyonu	14
Şekil 3.1.	L-Tirozin Metil Esteri Sentez Reaksiyonu	20
Şekil 3.2.	L-Tirozin Metil Esterinin Agilent Cary 60 Uv-Vis Spektrofotometresi İle Alınmış UV Spektrumu	21
Şekil 3.3.	L-Tirozin Metil Esterinin ATR Yöntemiyle Alınan FT-IR Spektrumu	22
Şekil 3.4.	DMSO-D6 İçinde Alınmış L-Tirozin Metil Esterinin ^{1}H-NMR Spektrumu	22
Şekil 3.5.	DMSO-D6 İçinde Alınmış L-Tirozin Metil Esterinin ^{13}C-NMR Spektrumu	23
Şekil 3.6.	DL-Tirozin Metil Esterinin Agilent Cary 60 Uv-Vis Spektrofotometresi İle Alınmış UV Spektrumu	24
Şekil 3.7.	DL-Tirozin Metil Esterinin ATR Yöntemiyle Alınan FT-IR Spektrumu	24
Şekil 3.8.	L-Tirozin Metil Esteri Baskılı EGDMA N-(R)-α-Metilbenzil Akrilamit Ko-Polimerleşme Reaksiyonunun Şeması	25
Şekil 3.9.	L-Tirozin Metil Esteri Baskılı EGDMA N-(R)-α-Metilbenzil Akrilamit Ko-Polimerinin ATR Yöntemiyle Alınan FT-IR Spektrumu	26
Şekil 3.10.	L-Tirozin Metil Esteri Baskısız EGDMA N-(R)-α-Metilbenzil Akrilamit Ko-Polimerinin ATR Yöntemiyle Alınan FT-IR Spektrumu	27
Şekil 3.11.	L-Tirozin Metil Esteri Baskılı EGDMA N-(R)-α-Metilbenzil Akrilamit Ko-Polimerinin SEM Görüntüsü	27
Şekil 3.12.	Ko-Polimerden L-Tirozin Metil Esterinin İnkubasyon/Ekstraksiyon İle Asetik Asit/Metanol Fazına Alınması Sonrası Çözücü Fazının Farklı Derişimlerdeki UV Spektrumları	30
Şekil 3.13.	Asetik Asit/Metanol Karışımı İle İnkubasyon Sonrası L-Tirozin Metil Esterinin Uzaklaştırılması Sonucu Ele Geçen Ko-Polimer FT-IR Spektrumu	31

Şekil 3.14. L-Tirozin Metil Esterinin Uzaklaştırılması İle Geride Kalan EGDMA N-(R)-α-Metilbenzil Akrilamit Ko-Polimerinin SEM Görüntüsü 31

Şekil 3.15. L-Tirozin Metil Esterinin Uzaklaştırılmasından Sonra EGDMA -N-(R)-α-Metilbenzil Akrilamit Ko-Polimerinin Etanol İçinde DL-Tirozin Metil Esteri İle Ekstraksiyonu Sonucu Ele Geçen Katı Fazın SEM Görüntüsü 33

Şekil 3.16. L-Tirozin Metil Esterinin Uzaklaştırılması İle Geride Kalan EGDMA N-(R)-α-Metilbenzil Akrilamit Ko-Polimerinin SEM Görüntüsü 33

Şekil 3.17. Tarafımızdan Hazırlanan DL-Tirozin Metil Esterinin HPLC Kromatogramı Ve Enantiomerlere Ait % Alan Değerleri 34

Şekil 3.18. DL-Tirozin Metil Esterinin L-Tirozin Metil Esteri Uzaklaştırılmış Ko-Polimer İle Etanol İçinde Ekstraksiyonu Sonucu Ele Geçen Sıvı Fazın HPLC Kromatogramı Ve Enantiomerlerin % ee Değerleri 35

KISALTMA VE SİMGELER

AcOH : Asetik asit
BET : Yüzey alanı ölçümü
D-TEE : D- tirozin etil ester
DMF : Dimetil form amid
DMSO-D6 : Dimetilsülfoksit dötero
CSP : Kiral durağan faz
DTA : Diferansiyel termal analiz
ECHA : Epiklorohidrin amonyak
EGDMA : Etilen glikol dimetil metakrilat
ESR : Elektron spin rezonans
FT-IR-ATR : Fourier dönüşüm infrared spektroskopisi
HEMA-MAH : 2-Hidroksietil metrakrilat-N-metakriloil-(L)-histidin metil ester
HPLC : Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
ISEC : Ters-boyut kromatografisi
LLM PEI : Doğrusal düşük moleküler ağırlıklı polietilenimin oligomeri
L-TBE : L-tirozin bütil ester
L-TEE : L- tirozin etil ester
L-TME : L-tirozin metil ester
L-Tyr : L-tirozin
MAA : Metakrilik asit
MAP : Metakrilamid antipirin
MIP : Moleküler baskılanmış polimer
MMA : Metil metakrilat
Mag-PHEMA : Manyetik poli(2-Hidroksietil metakrilat)
NMR : Nükleer manyetik rezonans
XRD : X-Işını difraktometresi
XPS : X ışını fotoelektron spektroskopisi

SEM : Taramalı elektron mikroskobu

SPE : Katı faz ekstraksiyonu

TCA : Trikloro asetik asit

TGA : Termogravimetrik analiz

UV-Vis : Ultraviyole spektrofotometre

VDW : Van der waals

e. n. : Erime noktası

g : Gram

λ : Dalga Boyu

δ : Kimyasal kayma değeri (ppm)

1. GİRİŞ

Canlı vücudundaki proteinleri meydana getiren amino asit molekülleri ile ayna görüntüleri çakışmazlar. Bu sebeple proteinleri meydana getiren amino asitlerin kiral ya da "el seçiciliğine" sahip olduğu ifade edilir (Solomons ve Fryhle 2002).

Rasemik karışımların ayrılması yönünde günümüzde farklı teknikler kullanılmaktadır (Sheldon 1992). Moleküler baskılanmış polimerler de bunlardan bir tanesidir. Tüm canlı sistemler, moleküller arasındaki etkileşime ve tanımaya dayanan bu etkileşimlerle gerçekleşir. Bu tür bağlayıcı işlemlerin membranlar gibi karmaşık yapıların oluşumu, DNA kompleksleri ve bütün hücreler esasen çokluğun bir sonucudur.

Bir MIP(moleküler baskılı polimer) ve hedefi arasında gerçekleşen belirli ve geri dönüşü olan bağlanma şekli analit ile doğal antikor ve antijen sistemlerinde görülen bağlanmalara benzer. Bu şekilde üretilmeleri nedeniyle, bu tür materyaller plastik antikorlar olarak adlandırmamıza neden olmuştur.

Doğada benzerleri doğal antikorlarda görülen MIP(moleküler baskılı polimer)'ler seçicidir. MIP hazırlandıktan sonra seçici tanıma özellikleri nedeniyle uzun süre bozunmadan kullanılabilir. Aynı zamanda MIP'ler enzimleri taklit edebilirler bu şekilde de kimyasal tepkimeyi katalize edebilirler (Yan ve Ramström 2005).

Moleküler baskılanmış polimer, kalıp molekülü için çok iyi bir seçiciliğe sahip olmasıyla birlikte mekanik stres, asit, baz, ısı, organik çözücü ve suya karşı dirençlidir (Wulff ve ark. 1997). Baskılanmış polimerlerin elde edilmeleri kolay ve ucuzdur. Hazırlanan baskılı polimerler birkaç yıl boyunca performanslarında herhangi bir değişim olmadan saklanabilirler (Piletsky ve ark. 2001, Rao ve ark. 2004, Haupt ve Ye 2004).

Amino asitler canlı organizmada sadece proteinler için değil aynı zamanda hormonlar, melanin ve nörotransmiterler gibi daha küçük moleküller için de yapı taşları olarak önemli bir rol oynamaktadır.

Amino asit bazlı ilaçlar genellikle bağırsaklarda kapsamlı metabolizma karaciğer tarafından hızlı bir temizleme ve düşük bağırsak geçirgenliği nedeniyle düşük biyoyararlanıma sahiptir (Oliyai ve Stella 1993, Nicolai ve ark. 2011). Bu nedenle, kimyasal türevlendirme yoluyla fizikokimyasal özelliklerin geçici bir modifikasyonu

olan ön ilaç stratejisi, bu tür ilaçlar için tercih edilen bir yaklaşımdır (Mndzhoyan ve ark. 1971, Oliyai ve Stella 1993, Nicolai ve ark. 2011).

Bu çalışma kapsamında öncelikle L-tirozin metil esteri hazırlanacaktır. Hazırlanan L-tirozinin metil esteri baskılama reaktifi olarak kullanılarak kiral akril amit bileşiği ile EGDMA ko-polimeri sentezlenecek ve baskılanmış esterin sıyrılması sonucu geride kalan ko-polimer sorplayıcı olarak kullanılıp rasemik tirozin metil esterlerinin enantiyomerik ayrılması çalışmaları yapılacaktır.

Tirozinin metil esteri ile daha önce yapılmış olan bir çalışma sonucu sentezlenen esterin uzun süre bozulmaya uğramadan kaldığının da kanıtı olmuştur. Yapılan çalışma sonucu 28 yıl boyunca karanlıkta ve oda sıcaklığında saklanan L-tirozin metil ester (metil (2S) -2-amino-3- (4-hidroksifenil) propiyonat) (L-TME), şans eseri Paris Eczacılık Fakültesi laboratuvarında bulunmuştur. Toz, seksenlerin başında Meram laboratuvarlarının bilim adamları tarafından olası terapötik uygulamaları araştırmak için sentezlenmiştir. Araştırma uzun süre önce terk edilmişken, örnek bu ilaç molekülünün uzun süre beklediği için yapısındaki herhangi bir değişim olup olmadığına bakmak için eşsiz bir fırsat sağlamıştır (Nicolai ve ark. 2011).

1.1. Kiralite nedir ve önemi

Ayna görüntüsü ile üst üste çakışmayan ve simetri düzlemi içermeyen objeler kiral olarak tanımlanmaktadır. Ayna görüntüleri ile çakışan objeler veya moleküller ise akiral olarak bilinmektedir (Solomons ve Fryhle 2000). Bu kiral objelere en çok bilinen örnek olarak sağ ve sol el verilebilir.

Kirallik bulunduğu molekülün bir özelliğidir. Asimetrik merkez içeren molekül kiraldir. Bir molekülde çok sayıda asimetrik merkez bulunabilir. Adlandırmada her asimetrik karbon ayrıca belirtilmelidir [(2R,4S,5R)-] gibi(Tümerdem 2004).

Enantiyomerik moleküllerin farmakolojik aktivitesindeki farklılıkların tanınması, bunları izole etme ve dolayısıyla onları izole edilmiş enantiyomerler olarak elde etme ihtiyacı yarattı. Ancak günümüzde bu problem sadece ilaçları etkilememektedir. Sanayi, aynı zamanda zirai ilaç endüstrisi ve gıda katkı maddesi üreticileri de bu konuya giderek daha fazla ilgi duymaktadırlar.

Kiral olduğunda, doğal kaynaklardan veya yarı sentez yoluyla elde edilen ilaçlar ve diğer moleküller genellikle olası enantiyomerik formlardan birini içerir. Bununla

birlikte, total sentez ile elde edilenler genellikle her iki enantiyomerin karışımından oluşur. Ticari olarak izole edilmiş enantiyomerlerin geliştirilmesi için iki alternatif yaklaşım düşünülebilir:

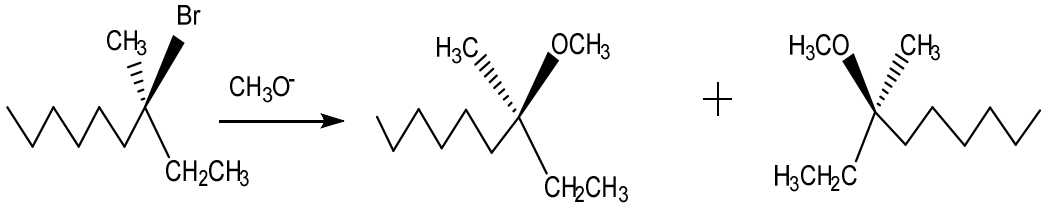
I) istenen enantiyomerin enantiyoselektif sentezi,

II) Her iki izomerin rasemik bir karışımdan ayrılması.

Her iki stratejinin de avantajları ve sakıncaları vardır. Rasemik bir karışımın enantiyomerlerinin ayrılması, bunlardan sadece birinin gerekli olması durumunda, hedef molekülün üretim aşaması sırasında verimde önemli bir azalma anlamına gelir (Subramanian 2001).

Kiral bileşikleri akirallerden ayırt eden en önemli faktörlerden birisi de onların polarize ışığa karşı davranış şekilleridir. Sağa çeviren (+) izomer ile sola çeviren (-) izomer arasında polarize ışık düzlemine karşı davranış farklılığı gözlenirken mutlak konfigürasyonla çevirme açısı arasında bir ilişki bulunamamıştır. (+)-Gliseraldehit (R) konfigürasyonuna sahipken aynı konfigürasyonu sergileyen (R)-Gliserik asit sağa çeviren değil sola çevirendir. Yani (-) çevirme açısına sahiptir. Kiral bileşiklerle ilgili bu temel bilgi bütün ders kitaplarında ve bilimsel makalelerde çok başvurduğumuz en temel kiralite bilgisidir.

Bir diğer temel faktör kiral bileşiklerin birbirleriyle etkileşimleridir. Kiral merkeze yapılan bir etki kiral bileşiğin tepkimede nasıl yönleneceğinin de belirleyicisi olur. Kiral merkezin dışında kalan bir etki ise tepkimenin mekanizmasına göre ya sadece tek bir enantiomer üzerinden ya da enantiomerler karışımı üzerinden yürüdüğünün göstergesi olabilir. Örneğin (S)-2- brom-2-metil nonanın metoksi anyonuyla tepkimesinde tepkimenin kiral merkez üzerinden yürümediği fakat reaksiyonun iyonik mekanizma üzerinden yürüdüğü ve ürünlerde de enantiomerler karışımının ele geçtiği bilindiğinden tepkime mekanizmasının yine kiralite üzerinden ispatlanabileceği Şekil 1.1 de gösterilmiştir.



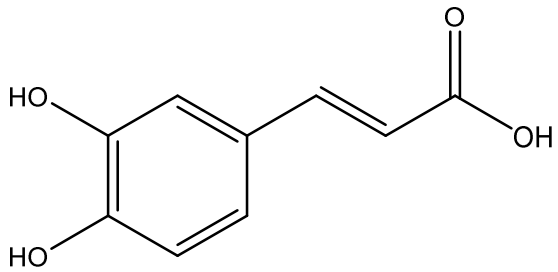
(S)-2- brom-2-metilnonan (S)-2- brom-2-metilnonan (R)-2- brom-2-metilnonan

Şekil.1.1. Bir S_N^1 Tepkimesinde Kiral Merkeze Yapılan Etkide Asimetrik Merkezin Farklı Yönlenmesi Sonucu Stereoizomerler Karışımı Oluşur

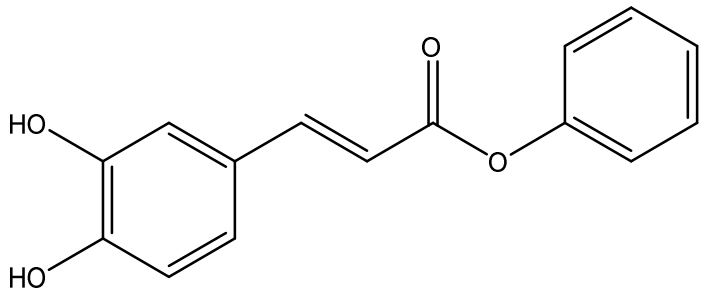
1.2. Kiral esterler ve kullanım alanları

1.2.1. Kafeik asidin fenil esteri

Kafeik asit fenil esteri metastaz ve kanser istilasında önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir. Bu nedenle ilk defa kafeik asit ve kafeik asidin fenil esteri'nin gen ekspresyonunu ve matris metaloproteinaz-9'un enzimatik aktivitesini baskıladığı gösterilmiştir (Chung ve ark. 2004). Kafeik asit fenil esteri bal arısı propolisinden ekstrakte edilip ve kafeik asidin esterleştirilmesi ile sentezlenmiştir (Grunberger ve ark. 1988, Nagaoka ve ark. 2002).



Şekil 1.2. Kafeik Asit Molekülü



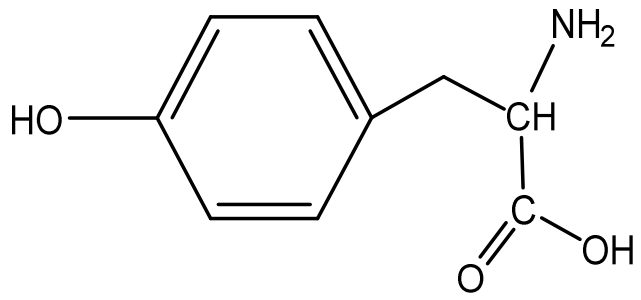
Şekil 1.3. Kafeik Asit Fenil Esteri

1.2.2. L-Tirozin metil esteri

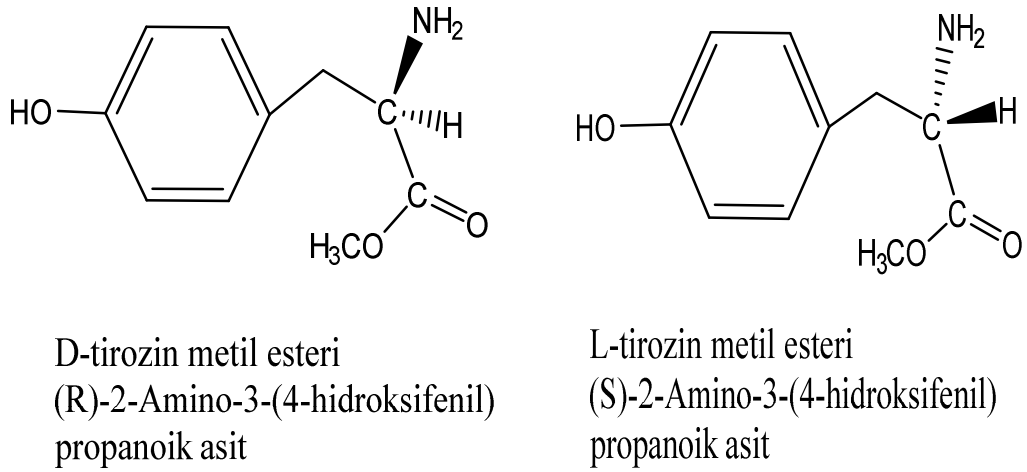
L-Tirozin alkil esterleri, L-tirozin için ön ilaçlar olarak kullanılır. Ön ilaçlar genellikle çözelti içindeki davranışları için tasarlansalar da, katı hal özelliklerini anlamak, ilaç dağıtımında uzmanlaşmada ilk adımdır. L-tirozin metil ester çok stabil olduğundan (28 yıl oda sıcaklığında saklanır) ve hidroliz oranı nispeten düşük olduğundan, tirozin alkil esterleri arasında daha iyi ön ilaçlardan biri olmalıdır (Nicolai ve ark. 2011).

L-Tirozin karboksilik esterler ön ilaçlar olarak kullanılabilir (Kumagai ve ark. 1989, Kawabata ve ark. 1993), örneğin antinosiseptif (Kawabata ve ark. 1993), bazı L-tirozin türevleri Parkinson hastalığının tedavisi için önerilmiştir (Carlsson ve Corrodi 1975, Kirik ve ark. 2002). L-tirozin esterlerin dönüşüm oranı üzerine çalışmalar, kısa lineer zincirlerin nispeten yavaş bir şekilde hidrolize olduğunu göstermektedir (McDonald ve Balls 1956, Glazer1966, Steffansen ve ark. 1989). L-TME ve L-tirozin etil ester (etil(S)-2-amino-3-(4-hidroksifenil)propiyonat) (L-TEE), hedeflenen bir bölgede L-Tirozinin yavaş salınması için faydalı lipofilik ön ilaç adaylarıdır.

L-Tirozin'in katı hali ayrıntılı olarak incelenmiştir. Birim hücre ve uzay grubu 1969'da (Khawas ve Murti 1969) ve kristal yapısı 1972'de yayınlandı (Mostad ve ark. 1972). Sonunda, D-Tyr yapısı da Cambridge yapısal veritabanına bırakılmıştır. Tirozin alkil esterleri daha az dikkat çektiler ancak bunlardan bazıları ve bazı tuzlar için kristal yapılar belirlendi. Bunlar, D-tirozin etil ester (D-TEE) (Pieret ve ark. 1970), L-tirozin n-bütil ester (n-bütil (S)) -2-amino-3- (4-hidroksifenil) propiyonat) (L-TBE) (Qian ve ark. 2006), L-tirozin metil ester hidroklorür (L-TME HC1) ve solvatlarından biri (L-TME HCl) CH30H) (Bryndal ve ark. 2006).



Şekil 1.4. Tirozin Molekülü



D-tirozin metil esteri
(R)-2-Amino-3-(4-hidroksifenil)
propanoik asit

L-tirozin metil esteri
(S)-2-Amino-3-(4-hidroksifenil)
propanoik asit

Şekil 1.5. L-Tirozin Ve D-Tirozin Metil Esteri Molekülü

1.3. Kiral ayırmalar

Kiral seçiciler ayırma sisteminin en önemli parçasıdır. Bu nedenle, yeni kiral ayırma ortamının geliştirilmesi sırasında dikkat her zaman seçicilere yöneliktir (Ahuja 1997, Subramanian 2001). Halen bilinen seçicilerin çoğunluğu aşağıdaki kategorilere ayrılabilir.

1. Proteinler: Silika üzerinde immobilize edilmiş α1-asit glikoproteini tanesi içeren kiral sabit bir faz Hermansson tarafından 1983 yılında bulundu (Hermansson 1983, Hermansson 1989).

2. Modifiye polisakkaritler: Mikrokristalin selüloz türevleri olmasına rağmen 1970'lerden bu yana kiral ayrılmalar için kullanılmışlardır (Hesse ve Hagel 1973). Yüksek performanslı sıvı kromatografisinde (HPLC) faydalı malzemeler 1980'lerin ortalarında sadece Okamoto tarafından geliştirilmiştir. Geniş gözenekli silika üzerine kaplanmış selüloz ve amilozun çeşitli esterleri ve karbamatlarını içeren CSP'ler, günümüzde hem analitik hem de preparatif ölçeklerde kromatografik ayırmalar için en sık kullanılan kiral ortamlardır (Okamoto ve ark. 1990, Okomoto ve Yashima 1998).

3. Sentetik polimerler: 1970'lerde Blaschke, N-akrilleşmiş L-amino asitlerden ve az miktarda bir etilen dimetakrilat ve divinilbenzen'den çapraz bağlanmış birkaç jel hazırladı. Bunları rasemik amino asit türevlerinin ve mandelik asidin düşük basınçlı kromatografik çözünürlüğü için kullandı (Blaschke ve Schwanghart 1976). Polimer bazlı bir CSP daha sonra Okamoto tarafından izotaktik politrifenilmetil metakrilatdan

hazırlandı. Bu malzeme, tek yönlü bir sarmal yapı içeren (sağ el kuralına uygun yönlenmiş) ve iyi tanımlanmış bir prototipik polimerik selektördür (Okamoto ve Nakano 1980). Bu kolonlar çok çeşitli rasematların ayrılmasında başarılı olsa da göreceli kimyasal kararlılık eksikliği ve yüksek maliyetleri, bunları büyük ölçekli uygulamalar için daha az uygun hale getirir.

4. Makrosiklik glikopeptitler: Bu CSP'lerin ilki silikaya bağlı antibiyotik vankomisinin "boşluğuna" dayanarak Armstrong tarafından tanıtıldı (Armstrong ve ark. 1994). Daha sonra iki polisiklik antibiyotik teicoplanin ve ristosetin A da gösterilmiştir. Bu seçiciler oldukça sağlamdır ve hem normal hem de ters faz kromatografik modlarında yeterli şekilde çalışır. Bununla birlikte, bu tür seçicilerin yalnızca sınırlı bir bölümü mevcuttur ve maliyetleri oldukça yüksektir.

5. Döngüsel düşük moleküler ağırlıklı bileşikler: Silika veya gözenekli polimer reçineleri üzerinde immobilize edilmiş kiral taç eterlerin kullanıldığı kiral ayrımlar ilk olarak 1970'lerin ortalarında bildirilmiştir (Sogah ve Cram 1976). Tersinir stereoselektif oluşumuna ek olarak kendi boşluklarına tam olarak uyan çözünen moleküllerin hidrofobik kısımları ile komplekslerin dahil edilmesi ile hidrojen bağı ve dipolar etkileşimlerini daha da geliştirmek için sıklıkla işlevselleştirilirler (Armstrong ve Demond 1984). Gözenekli silika taneciklerine kovalent olarak bağlanan, çok sayıda rasemat için mütevazı seçiciliği olan çok sağlam CSP'ler sağlarlar (Subramanian 2001).

6. Metal iyon kompleksleri: Bu "klasik" CSP'ler, 1960'ların sonunda Davankov ve Bernauer tarafından bağımsız olarak geliştirildi. Tipik bir uygulamada, bakır (II) iyonu bir Merrifield reçinesi gibi gözenekli bir polimer desteğin yüzeyine bağlı L-prolin parçaları ile kompleksleştirilir (Rogozhin ve Davankov 1970, Yamskov ve ark. 1981). Bu CSP'ler sadece amino asitler, amino alkoller ve hidroksi asitler gibi sınırlı sayıda rasematı iyi ayırırlar.

7. Küçük kiral moleküller: Bu CSP'ler Pirkle tarafından yaklaşık 20 yıl önce tanıtıldı (Pirkle ve ark. 1981, Pirkle ve Hyun 1984). Orijinal "sıyırma" fazları, gözenekli silika taneciklerine bağlı aromatik π-elektron alıcısı veya π-elektron vericisi fonksiyonelliğini taşıyan seçici kiral bir amino asit birimi içerirler. Amino asitlere ek olarak, 1,2-disübstitüe sikloheksan formunda olan çeşitli diğer kiral sabit faz (Gargaro

ve ark. 1987) ve Cinchona alkaloitler (Lämmerhofer ve Lindner 1996) sıyırma amaçlı CSP'lerin hazırlanmasında da kullanılırlar.

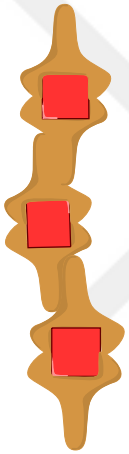
1.4. Moleküler baskılama yöntemi ve uygulama alanları

Moleküler baskı, substrat seçici tanıma bölgelerinin bir matris içinde hazırlanması ile oluşan ve doğayı taklit eden sentetik bir yaklaşımdır. Bir ön hazırlık aşaması olarak yapı molekülü ilk önce bir veya birkaç tür fonksiyonel eleman ile etkileşime girerek, yapı fonksiyonel elemana bağlanır. Daha sonra bu etkileşimlerin kilitlenmesi ile oluşan şablonda bağların içinde olduğu seçici tanıma alanlarını barındıran bir matrisin oluşturulmasına yol açar. Bu prosedür ile doğal bağlanma bölgeleri sentetik olarak taklit edilebilir. Basit ama etkili bir yol ve sonuçta ortaya çıkan moleküler baskılanmış malzemeler genellikle çok yüksek kimyasal ve fiziksel stabiliteye sahip olmaları ile karakterize edilirler.

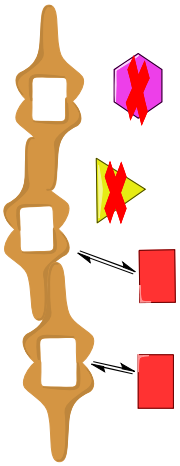
"Moleküler anahtar" prensipte ilaç hammaddeleri, amino asitler, steroidler veya metal iyonları gibi moleküller, peptitler gibi küçük boyuttaki maddeler veya proteinler gibi daha büyük moleküller olabilir. Büyük moleküller ve moleküler düzenekler, hücreler ve virüsler gibi algılanabilir. Ancak baskılı malzemelerin yapılmasındaki zorluk genellikle seçilen anahtar molekülün boyutuyla artar. Moleküler olarak baskılanmış polimerler hazırlanırken baskılanan birim, polimerizasyondan sonra polimer içinde kalıcı olarak tutunabilir. Şablon moleküllerinin tanıma alanlarının difüzyonuna dayanan yeniden birleşme süreci de bu boyutta etkili olacaktır (Yan ve Ramström 2005).



Polimerleşme öncesi seçilen ana molekül ilk adımda kilit yapı taşları ile karıştırılır.



Bu şekilde oluşturulan kompleksler anahtar arasındadır ve yapı blokları daha sonra anahtarın etrafına yapı bloğu konumlarını sabitlemek için yapıştırılmıştır.



Moleküler anahtarın sıyırılması daha sonra her şey düzgün çalışırsa orijinal anahtar için seçici olan yapıyı oluşturur.

Şekil 1.6. Fischer'in Kilit Metaforundan İlham Alan Moleküler Baskı Prensibi

1.4.1. Molekül baskılama yöntemi

Molekül baskılama tekniği üç aşamadan oluşmaktadır.

1.4.1.1.Ön kompleksleşme

Molekül baskılama için kullanılacak maddeler ve polimerleşme için uygun olan monomerler hedef moleküle kovalent olan ya da kovalent olmayan etkileşim ile bağlanarak kompleksleşir.

1.4.1.2. Polimerizasyon

Monomer ve hedef molekül kompleksi uygun bir bağlayıcının yardımıyla monomer üstünden polimerleştirilir (Karanfil 2013).

1.4.1.3. Hedef molekülün uzaklaştırılması

Polimer üzerinde hedef molekülün boşlukları kalacak şekilde hedef molekül polimerden uzaklaştırılır. Uygun şartlar altında bu boşluklar hedef molekülün boyutunu ve yapısını tanıyarak hedef molekülü seçici olarak boşluklara tekrardan bağlar (Komiyama ve ark. 2003, Karanfil 2013).

1.4.2. Kovalent baskılama

Bu baskılama şeklinde öncelikle polimerleşmeden önce monomer ve baskılanacak molekül arasında tersinir kovalent bir bağ oluşturulur. Bu işlemden sonra kovalent bağ kırılıp hedef molekül polimerden ayrılır (Kriz ve ark. 1997). Kalıp molekülü içeren bir karışım polimer ile etkileştirildiği zaman kovalent bağ tekrardan oluşur (Denizli ve Küfrevioğlu 2010).

1.4.3. Kovalent olmayan baskılama

Bir organizmanın herhangi bir hücresinde, hücre içi düzey ve hücreler arası seviyede kovalent olmayan etkileşimler neredeyse bütün iletişimi sağlar. Bu tür hazırlıklar biyoteknolojik ürünlerin kullanımı kolaylaştırarak imalatı üzerine önemli bir etkiye sahip olmuştur. MIP'nin çapraz bağlanmış yapısı onu sert kimyasallar ve aşırı sıcaklıklara karşı dayanıklı daha hale getirir. Nihai işlem sırasında enzimlerin ve bunların çıkarılmasını basitleştirme tetkikleri sentetik aşamalar halinde gerçekleştirilir.

Bu çalışmalar bağlamında, eğer enzimler immobilize edilmişse göreceli ve gevşek olarak boşluklara tutulur.

İmmobilize enzim polimer matrisin, büyüklüğü ve şekli tamamlayıcı boşlukları geride bırakarak orijinal enzimin veya benzerlerinin yeniden bağlama yerleri bu boşluklara daha sonra kendine özgü olarak enzimi bağlama işlevi görebilir. Karşılıklı yüklü iyonlar, iyonlar ve dipoller arasındaki etkileşimler baskıda son derece önemlidir.

Kovalent olmayan etkileşimler, geri dönüşümlü bağlama ve tanıma olaylarının temelidir. Tuz köprüleri gibi kovalent olmayan etkileşimlere dayanan biyokimyasal sistemler, hidrojen bağları ve hidrofobik etkileşimler bu tür bağların bağlanma enerjileri, kovalent bağlara kıyasla daha zayıftır.

Hidrojen bağları da en önemli mekanizmalardan biridir. Şablon ve fonksiyonel monomer arasındaki etkileşim temel olarak, bir hidrojen bağı içinde, bir H atomu bir elektronegatif atoma kovalent olarak eklenir (çoğunlukla O veya N). Yüksek bir dipol moment ile bir hidrojen bağ donörü oluşturulur. İkinci bir elektronegatif hidrojen bağ alıcısı olan atom, donördeki pozitif kutbuna çekilerek son derece güçlü bir dipol-dipol etkileşimi meydana getirir.

Kovalent olmayan baskı için en önemli etkileşimler van der waals (VDW) kuvvetleri, hidrojen bağı, iyonik etkileşimler ve hidrofobik kuvvetlerdir. Dispersiyon veya van der waals kuvvetlerinin tipik baskı için uyulması gereken yöntemlerde küçük bir rol oynadığı varsayılmaktadır. Çünkü bu etkileşim tipleri yüksek bağlanma enerjileri göstermemektedir.

1.4.4. Metal iyon baskılama

Bir metal iyon seçici polimer üretme işlemi tipik olarak aşağıdaki şu adımları içerir:

1) Ligand monomerlerinin seçimi ve hazırlanması,

2) Monomerlerin metal iyon komplekslerinin sentezi veya kompleksleştirici monomer ve matris monomerin doğrusal kopolimerlerinin hazırlanması,

3) Monomerik komplekslerden veya doğrusal kopolimer komplekslerinden çapraz bağlı kopolimerlerin hazırlanması,

4) Baskı iyonlarının kopolimerden çıkarılması,

5) İyonların bağlanma seçiciliği için polimerlerin test edilmesi.

Çoğu durumda, süreç yinelemeli polimer seçiciliğinin optimizasyonunu içerir. Optimizasyon, ligand monomerlerini değiştirmeyi, çapraz bağlanma miktarını değiştirmeyi, hazırlama adımlarının sırasını değiştirmeyi, post işlemeyi veya herhangi bir diğer ilgili parametreyi değiştirmeyi içerebilir (Yan ve Ramström 2005).

1.4.5. Çözücüler

Solvent seçimi, iyi baskılar elde etmek ve başarılı bir şekilde yeniden bağlama izotermleri ya da kromatografi sonuçları için son derece önemlidir. Ön polimerizasyon karışımının tüm bileşenlerini her koşulda çözen bir çözücü kullanın, bu optimal şablon-monomer etkileşimini sağlar ve nihai MIP'de iyi gözeneklilik özelliklerine katkıda bulunur.

Etkili şablon-monomer etkileşimleri için, genel olarak, düşük polariteli aprotik organik çözücüler gereklidir. Son derece polar aprotik çözücüler (örneğin, DMF), şablon ve fonksiyonel monomer arasındaki iyonik ve VDW kuvvetlerine müdahale etme eğilimindeyken protik çözücüler (metanol, su), hidrojen bağlanma etkileşimlerine müdahale eder.

Küçük molekülleri baskılamak için kullanılan bazı bilinen çözücüler arasında toluen, asetonitril ve kloroform da bulunur. Bu çözücüler, MIP'lerin sentezlenmesinde veya değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan diğer solventlerle birlikte, aşağıdaki tabloda listelenmiştir.

Çizelge 1.1. Moleküler Baskı Yönteminde Yaygın Olarak Kullanılan Bazı Çözücüler ve Fiziksel Özellikleri (Yan ve Ramström 2005).

Solvent	Hidrojen Bağ Türü	Baskı Çözücü Olarak Genel Etkisi
Toluen	Zayıf	+
Diklormetan	Zayıf	+
Kloroform	Zayıf	+
Metanol	Güçlü	-
Su	Güçlü	-

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Literatürde molekül baskılama yöntemi ile yapılmış çalışmalara rastlanılmaktadır. Fakat bu çalışmaların çoğu bizim çalışmamızla tamamen örtüşmemekle beraber yakın sonuçları içermektedirler.

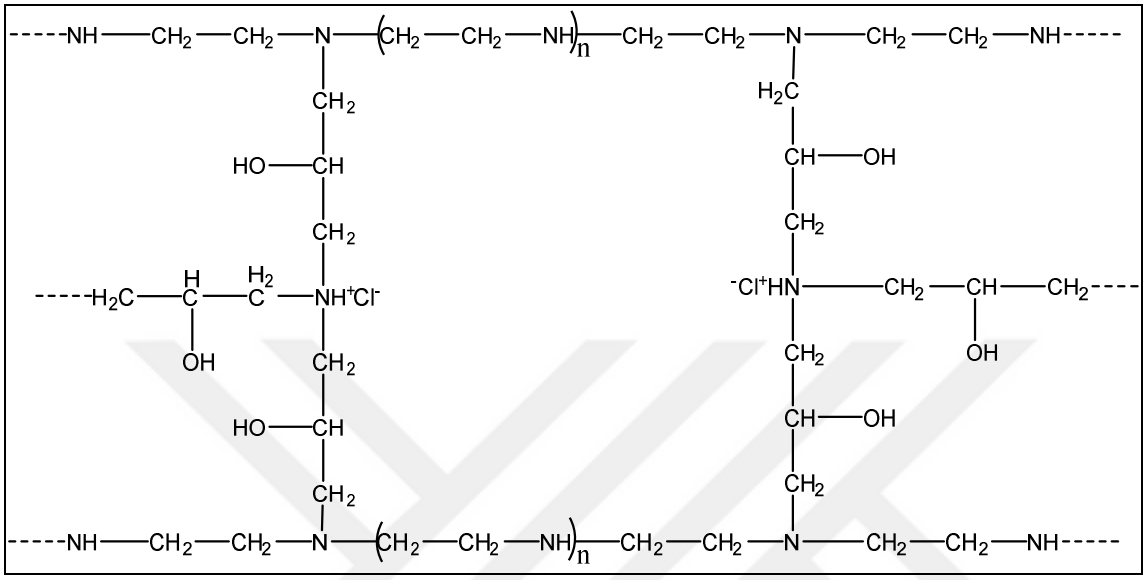
Stevenson tarafından yapılan bir çalışmada, başvurulan katı faz ekstraksiyonu (SPE) yöntemi, birçok laboratuvarda karmaşık numunelerin analizi için tercih edilen bir yöntem haline gelmiştir. Son zamanlarda, antikor kolonlarına veya moleküler baskılı polimerler (MIP'ler) düşüncesine dayanan, yüksek düzeyde seçicilik niteliğine sahip birçok ekstraksiyon yöntemi geliştirilmiştir. Bugüne kadar biyolojik antikorlar daha iyi seçicilik göstermiştir. Ancak MIP'lerin üretilmesi daha kolaydır. SPE için MIP'leri kullanan çeşitli prosedürler, atenololün SPE'sine ait bir MIP'nin hazırlanması ve değerlendirilmesi ile birlikte gözden geçirilmiştir (Stevenson 1999).

Biju ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, araştırmacılar, iyon baskılı polimer partikülleri analitik uygulamalar için uygun sentez, karakterizasyon ve disprosyum iyon alımı ve analitik uygulamalar için uygun özellikler üzerinde yoğunlaştılar. Çalışmada, disprosiyum (III) iyonu, polimerik birimler üzerinde bir boşluk bırakacak şekilde 1: 1 oranında HC1:H_2O ile etkileştirilip polimerik birimler üzerinden uzaklaştırıldı. Polimer partiküllerinin yapıları hem süzme ve sıyırma işlemleri öncesi hem de sonrası spektrumlar karşılaştırılarak, FT-IR, TGA, DTA ve XRD gibi spektroskopik verilerle ile karakterize edildi. Polimer parçacıkların tutma kapasitelerinin diğer baskı teknikleriyle hazırlanan MIP'lerden çok daha yüksek olduğu gözlemlendi (Biju ve ark. 2002).

Bir çalışmada, Mena ve arkadaşları tarafından karbamat pirimikarbın su numunelerinden ön deriştirme işlemleri için seçici bir katı faz ekstraksiyon sorbenti olarak kullanılmak üzere moleküler olarak baskılanmış bazı polimerlerin (MIP'ler) sentezi ve performansları araştırıldı. Polimer sentezi için farklı polaritelere sahip çözücüler kullanılarak yeniden bağlama / özütleme işlemiyle ilişkili farklı deneysel değişkenler (örnek pH, kullanılan eluent seçimi, eluent hacmi, analit ve eluent akış hızları ve örnek hacmi) optimize edildi (Mena ve ark. 2002).

Şekil 2.1 de polimerdeki kimyasal bağlanmanın nasıl olduğunu ortaya koyan bir çalışmada, bakır (II) ve nikel (II) ile baskılanan sorplayıcılar içindeki kompleks oluşum süreçlerinin araştırılmasında ESR yöntemi kullanılmış, reçine fazındaki komplekslerin

bileşimi, yapısı ve dağılımı incelenmiş, bakır (II) veya nikel (II) ile baskılanmış sorbentlerin elde edilmesi için optimum sentez koşulları belirlenmiş ve bu metal içeren baskılı sorbentlerin gelecekte katalizörler olarak kullanımları üzerine kritik bir yoğunlaşma olacağı öngörülmüştür (Molochnikov ve ark. 2003).



Şekil 2.1. ECHA ile çapraz bağlanan LLM PEI'nin yapı konfigrasyonu (Molochnikov ve ark. 2003)

Moleküler baskılanmış polimerlerin sentezi ve karakterizasyonunu konu alan başka bir derlemede farklı baskılama reaktifleri kullanılarak polimerleşme tepkimeleri yapılmış sentezlenen polimerlerin karakterizasyonları değişik spektroskopik yöntemler kullanılarak (FT-IR, elementel analiz, katı faz NMR, porozimetre, ters-boyut kromatografisi (ISEC), SEM) tayin edilmiştir (Cormack and Elorza 2004).

Lizozim adsorpsiyonunu konu alan bir çalışmada ise triazin boyası Cibacron Blue F3GA'e kovalent bir başka boya ligand olarak bağlanmıştır. Başlangıç konsantrasyonu, pH'nın, iyonik kuvvetin, sıcaklığın ve boya içeren taneciklerin gözenek boyutlarının adsorpsiyona etkileri incelenmiştir. Ortama Cibacron Blue F3GA yüklemesinin lizozim adsorpsiyonu üzerindeki etkileri de incelenmiştir. Tekrarlanan adsorpsiyon-desorpsiyon işlemleri, bu boya içeren manyetik boncukların lizozim adsorpsiyonu için uygun olduğunu ortaya koymuştur (Odabaşı ve Denizli 2004).

Çavuş tarafından hazırlanan bir yüksek lisans tezinde afinite adsorpsiyon yönteminin, hızlı, kolay, maliyeti düşük olan bir yöntem olmasının yanı sıra bu yöntemin proteinlerin seçici ayrılma üzerinden saflaştırılmasını gerçekleştiren bir

yöntem olduğu belirtilmektedir. Çalışmada insülinin seçici adsorpsiyonu için p(HEMA-MAH) kriyojellerin kullanılabilirliği, uygunluğu araştırılmış ve elde edilen deneysel verilerden, p(HEMA-MAH) kriyojelin insülinin afinite adsorpsiyonu için gereken özelliklere sahip olduğu belirtilmiştir. Bu yüzden p(HEMA-MAH) kriyojelin biyoteknolojik ve endüstriyel uygulamalarda kullanılabileceği önerilmiştir (Çavuş 2011).

Proteinlerin etkili moleküler baskılanmaları konusunda karşılaşılan zorlukları konu alan bir derlemede yazarlar kendi deneyimleri tarafından sunulan verilerin kritik bir analizini yaparak proteinlerin moleküler baskılanmasının hala bazı temel zorluklarla karşı karşıya olduğunu öne sürmektedirler. Şablon sökme için yaygın olarak kullanılan bir yıkayıcı ve AcOH kombinasyonunun, deneysel çalışmalar sırasında eser madde kalıntıları bırakabileceği düşünüldüğünde idealiteden kaçınılması gerektiğine vurgu yapılmıştır. Çoğu durumda, şablon ve yapının yeniden birleştirmesinin güvenilmez bir şekilde ölçüldüğü ve sonuçların kritik bir şekilde değerlendirilemediği, istatistiksel analiz yapılmadığı belirtilmiş, bu nedenle, günümüzde birçok yayında proteinlerin moleküler baskılanmasının bilimsel kanıtlarının ikna edici olmadığı ifade edilmiştir (Verheyen ve ark. 2011).

Arseniğin sulu çözeltilerden adsorpsiyonla çıkarılması, farklı sentetik adsorbanlar kullanılarak incelenmiş, yapılan çalışma sonuçları kriyojeller içerisine yerleştirilmiş parçacıklarla yapılan kompozit bir tasarımın, adsorpsiyon kapasitesi ve kinetiği muhafaza edilmiş sulu çözeltilerde küçük parçacıklara (nano ve mikro ölçekli) uygulamak için başarılı bir araç olduğu ispatlanmıştır. Baskılı kriyojel için deneysel olarak ortaya konan sonuçlar, sudaki sabit ve seçici adsorpsiyonun, baskısız bir polimer kullanılarak kontrol edilebilen, başarılı bir baskılamanın sonucu gerçekleştirilebileceği kanaatine varılmış, sonuç olarak düşük adsorpsiyon kapasitesi dikkate alındığında, baskılı kriyojel tekniğinin geliştirilmesi gerektiği önerilmiştir (Önnby ve ark. 2012).

Karanfil tarafından hazırlanan yüksek lisans tezinde kuvars kristal mikroterazi nanosensörlerin, Metakrilamid antipirin-Fe(III)[MAP-Fe(III)]-kafeik asit ön organize edici monomer sistemini kullanıp kafeik asidi tanıyan belleklerin kuvars kristal mikroterazi elektrodun yüzeyinde oluşturulması ile hazırlanmış olup baskılanan ve baskılanmayan sensörler kuvars kristal mikroterazi sistemine bağlanıp hedef moleküle bağlanma çalışmaları, seçicilik çalışmaları ve gerçek numunelerde hedef molekülün

tayin edilmesine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Çalışma sonucu baskılanmış kuvars kristal mikroterazi nanosensörünün kafeik asit için yüksek seçiciliğe sahip olduğu bulunmuştur (Karanfil 2013).

Uzun ve arkadaşları tarafından yapılan bu çalışmada, moleküler olarak baskılanmış floresan nanoparçacıkları içeren lantanit iyonu kompleksi sentezlenmiştir. Daha sonra, sentezlenen moleküler olarak baskılanmış floresan nanoparçacıklar, adsorpsiyon ve florimetrik saptama koşullarını optimize etmek için sulu çözeltiden L-histidin adsorpsiyonu için kullanılmışlardır. Son olarak, bu tip adsorpsiyon çalışmalarında nanopartiküllerin kullanılabilirliği üzerine, stereoizomer, D-histidin, rasemik karışım, DL-histidin, yüzeydeki L-histidin kalıntıları, lizozim, sitokrom C yüzeyli proteinler veya ribonükleaz A içermeyen kiral biyotanıma için uygun moleküller kullanılarak araştırma çalışmaları yapılmış, elde edilen sonuçlardan, istenilen uygun polimerizasyon stratejisinin, polimerlere floresan bileşeninin girmesinin kronik problemlerin çözümüne önemli katkı sağlayabileceği, belirli flüoresan nanoparçacıklarının, seçici ayırma ve flüoresan izleme amaçları için de kullanılabilecekleri önerilmiştir (Uzun ve ark. 2013).

Kuş tarafından sunulan bir çalışmada baskılama işlemini etkileyen kalıp, fonksiyonel monomer ve çözücü gibi faktörler, MIP'lerin hazırlanmasında kullanılan polimerleşme yöntemleri, MIP'lerin karakterizasyonları ve uygulama alanları incelenmiştir (Kuş 2013).

Öncel tarafından hazırlanan bir yüksek lisans tezinde ilaç salımı için moleküler baskılanmış kriyojel membranlar çalışılmıştır. Yapılan çalışmalarda polimer sistemine yüklenen ilaç miktarının artması ve derişim gradyentinin oluşmasının nedeninin Mitomisin C'nin kriyojel disklerinden difüzyonu için sürücü kuvvetin artması olduğu önerilmiştir (Öncel 2013).

Dimetil ftalatın sulu fazdan çıkarılması için, triptofan içeren mikrotanelerin sentezi ve karakterizasyonunu konu alan bir çalışmada, sentezlenmiş materyalin sulu fazdan uzaklaştırılması için kullanılabilirliği araştırılmış. Sentezlenen maddelerin yapıları N_2 adsorpsiyon/desorpsiyon izotermleri (BET), X ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS), taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile karakterize edilmiştir (Osman ve ark. 2013).

Sözen tarafından yüksek lisans tezi olarak sunulan bir çalışmada da Zn (II) iyon baskılanmış polimerlerin sulu ortamdan Zn (II) iyonunun seçici olarak adsorplanmasında kullanılabilirliği araştırılmıştır. Yapılan çalışma sonucu baskılanmış polimerin adsorpsiyon kapasitesi baskılanmamış polimere göre yüksek çıkmıştır. Adsorpsiyon kapasitesinin yüksek çıkmasının nedeninin baskılamadan kaynaklı olduğu belirtilmiştir (Sözen 2014).

Yapılan bir başka çalışmada ise Thiamethoxam moleküler baskılı polimerlerin geliştirilip uygulanmasıyla öne çıkan bir yöntemin, su örneklerinde pestisit tayini amacıyla pestisit MIP'lerinin geliştirilmesi için bir strateji oluşturabileceği tespit edilmiştir (Yıldırım 2015).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan kimyasallar

L-tirozin (Sigma-Aldrich), deneysel çalışmalarda kullanıldı.

DL- tirozin (Aldrich), deneysel çalışmalarda kullanıldı.

Etanol (Tekkim), deneysel çalışmalarda kullanıldı.

Metanol (Sigma-Aldrich), deneysel çalışmalarda kullanıldı.

Sülfürik asit (Merck), deneysel çalışmalarda kullanıldı.

Amonyak (Merck), deneysel çalışmalarda reaksiyon ortamını nötr hale getirmek için kullanıldı.

Trikloroasetik asit (Merck), deneysel çalışmalarda kullanıldı

Sodyum hidroksit (Sigma-Aldrich), deneysel çalışmalarda kullanıldı.

Asetik asit (Sigma-Aldrich), deneysel çalışmalarda kullanıldı.

EGDMA (Aldrich), deneysel çalışmalarda kullanıldı.

MMA (Aldrich), deneysel çalışmalarda kullanıldı.

Polivinil alkol (Aldrich), deneysel çalışmalarda kullanıldı.

Benzoil peroksit (Aldrich), deneysel çalışmalarda kullanıldı.

Toluen (Sigma-Aldrich), deneysel çalışmalarda kullanıldı

3.1.2. Kullanılan cihazlar

Kontakt termometre (Ika ETS-D6), deneysel çalışmalarda kullanıldı.

Manyetik ısıtıcı (Heidolph mr hei-standart), deneysel çalışmalarda kullanıldı.

Inkubatör (Ika ks 4000i control), deneysel çalışmalarda kullanıldı.

Hassas terazi (Radwag wtb 200), deneysel çalışmalarda kullanıldı.

Evaporator (Heidolph laborota 4001), L-tirozin metil esteri ve DL-tirozin metil esterinin sentezi işlemi sonrasında ortamda bulunan çözücünün uzaklaştırılması için kullanıldı.

HPLC (Agilent 1260 infinity), deneysel çalışmalarda kullanıldı.

Saf su cihazı (Sartorius), deneysel çalışmalarda kullanıldı.

NMR (Bruker AC 400 MHz Avence III HD), yapı aydınlatmada kullanıldı.

SEM (Quanta 250 FEG), yapı aydınlatmada kullanıldı.

UV (Agilent cary 60 uv-vis spectrophotometer), sentezlenen esterin çözelti fazındaki spektrumlarını almak için kullanıldı.

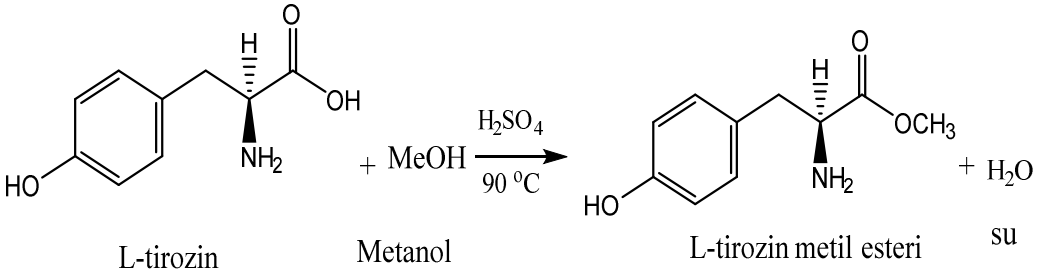
Vakum etüv (Precise vacuum oven wov-30), sentezlenen polimerin kurutulmasında kullanıldı.

FT-IR (PerkinElmer Spectrum 100 FT-IR), yapı aydınlatılmasında kullanıldı.

3.2. Metot

Sentezlenen maddeler metot açısından değerlendirildiğinde daha önce literatürde verilen prosedürlerden faydalanılarak hazırlanmışlardır. Yeni bir sentez yöntemine gerek duyulmamıştır. Yalnızca baskılanmış kopolimer sentezi L-tirozin metil esteri ile birlikte değerlendirildiğinde tarafımızdan tasarlanmış bir yöntem olarak değerlendirilebilir. Sentezlenen kopolimerden L-tirozin metil esterinin sıyrılma çalışmaları açısından bakıldığında sıyırma yöntemi literatürden alınmakla birlikte sıyırmanın ne ölçüde gerçekleştiğinin kanıtlanması tarafımızdan belirlenen yöntemlerle yapılmıştır. ekstraksiyon ve rezolüsyon işlemleri yine tarafımızdan belirlenen ve bilinen yöntemlerle gerçekleştirilmiştir.

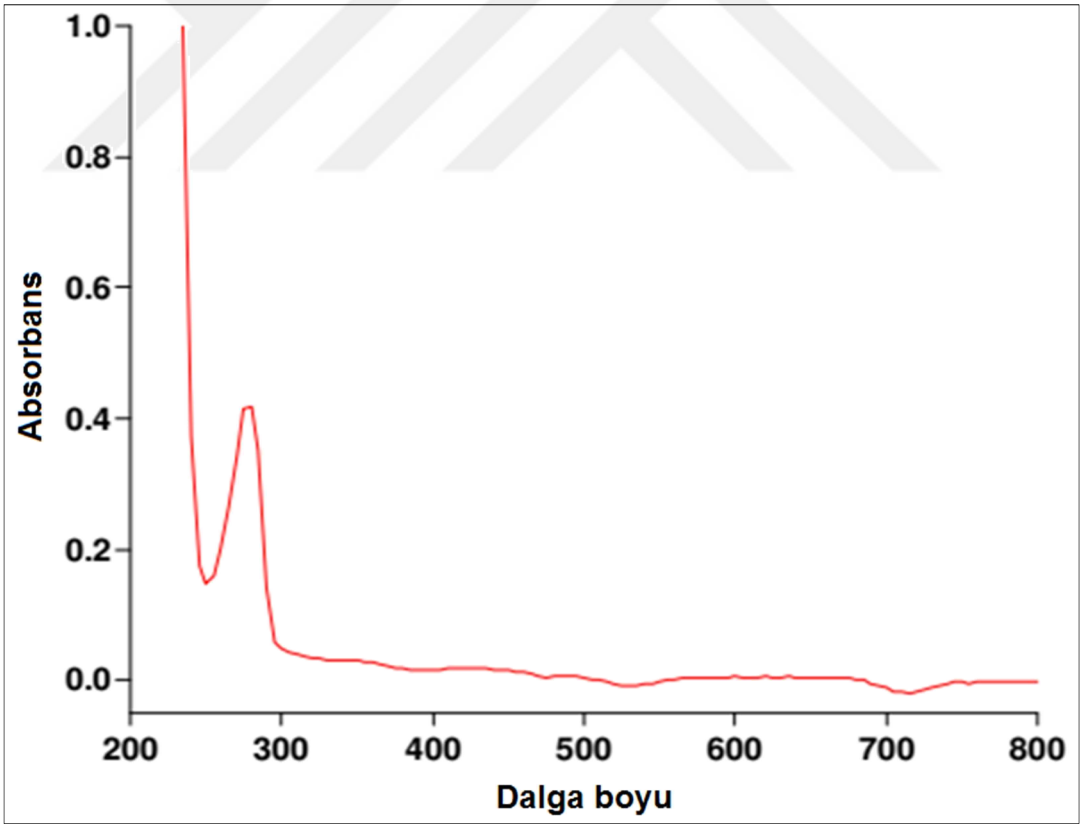
3.2.1. L-Tirozin Metil Esterinin Hazırlanması



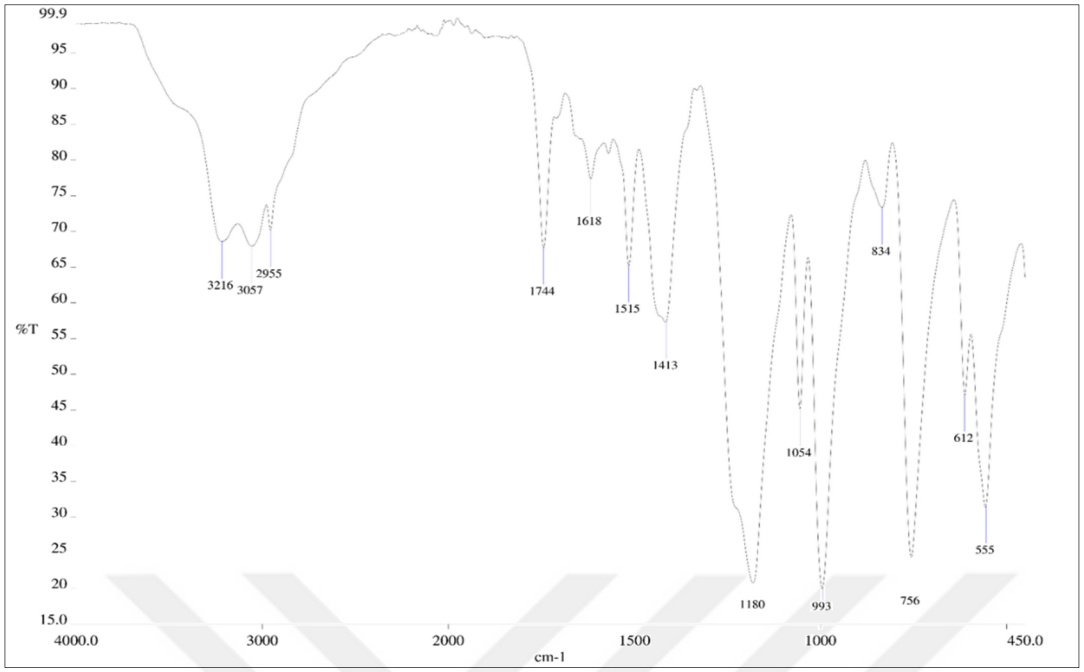
Şekil 3.1. L-Tirozin Metil Esteri Sentez Reaksiyonu

Geri soğutucu takılmış 100 ml'lik iki boyunlu bir balona 5,0 gr L-tirozin eklenerek üzerine 30 ml metanol ilave edildi. Manyetik karıştırıcıda balon içerisine magnet konularak (250 rpm'de) bir yandan karıştırılırken ortama damlatma hunisi içerisinde bulunan 4 ml H_2SO_4 balon içerisindeki karışıma damla damla ilave edildi. Ortama asit ekleme işlemi bittikten sonra karışım ısıtıldı. Isınan karışım 2 saat boyunca reflax edildi. Daha sonra balon oda sıcaklığına gelinceye kadar soğumaya bırakıldı. Soğuyan karışım 0 ^oC kadar soğuması için soğutucuda bekletildi. 0 ^oC'ye kadar soğuyan

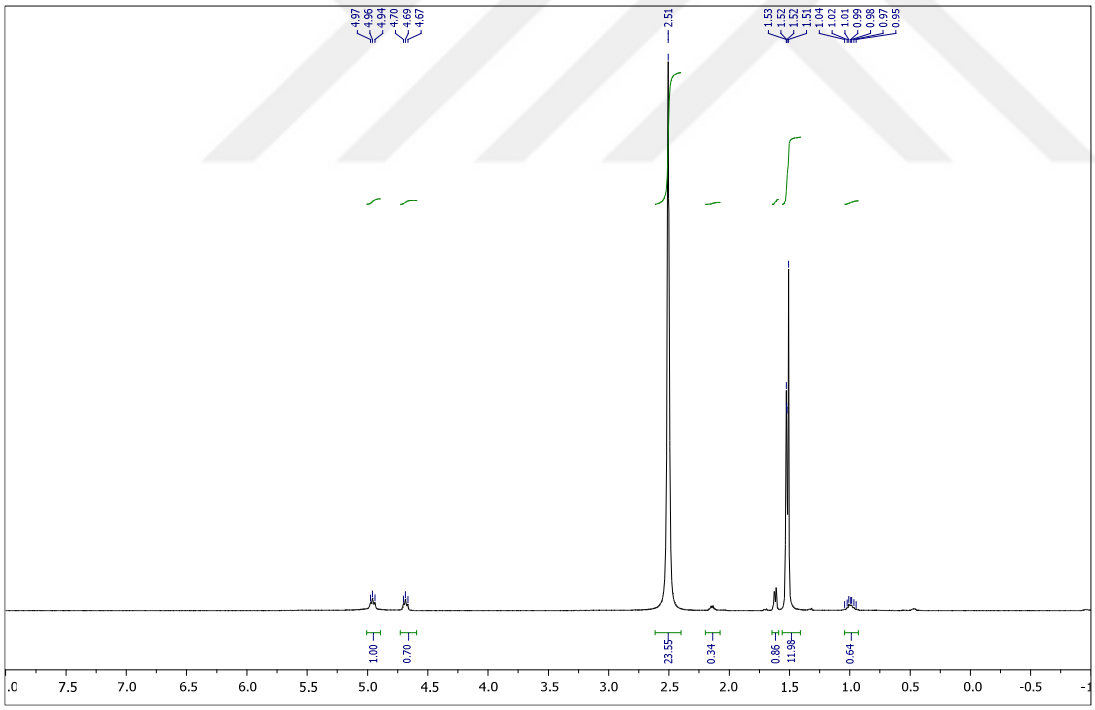
karışıma ortam bazik oluncaya kadar (pH=8) damla damla NH_3 eklendi. NH_3 ilavesi ile çözücü içerisinde çökme meydana geldi. Yukarıdaki reaksiyona göre ele geçen madde trompta süzülerek çözücüden ayrıldı. Kalan sarı renkli yağsı sıvı içerisindeki esterin çökmesi için oda sıcaklığında kristallenmeye bırakıldı. Bir gün bekleyen sıvı içerisinde oluşan beyaz renkli katı, çözelti ortamından trompta süzülerek uzaklaştırıldı. Çözücünün ortamdan uzaklaşması için kalan sarı renkli yağımsı sıvı oda sıcaklığında bekletildi. Çözücünün tamamı uzaklaşınca kalan sarı renkli yağsı madde üzerine etanol ilave edilerek ısıtıcıda ısıtıldı kaynama sıcaklığına gelmeden karışım sıcak olarak süzüldü ve ham ürün etanolden kristallendirildi. İşlem sonunda 2,8 gr L-tirozin metil esteri elde edildi. (Verim: %52, kirli sarı kristal E.n. :134-137 ^oC) bileşiğin UV spektrumu Şekil 3.1 de, FT-IR spektrumu Şekil 3.2 de ^{1}H-NMR spektrumu Şekil 3.3 de ^{13}C-NMR spektrumu Şekil 3.4 de verilmiştir. Bileşik yeni olmadığından elementel analize gerek duyulmamıştır.



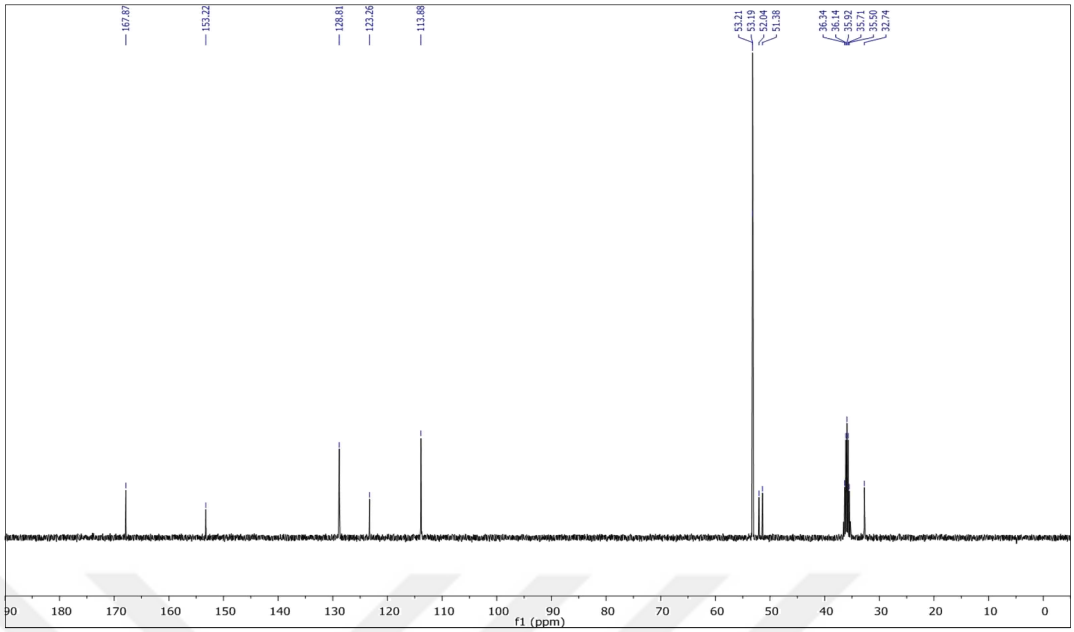
Şekil 3.2. L-Tirozin Metil Esterinin Agilent Cary 60 Uv-Vis Spektrofotometresi İle Alınmış UV Spektrumu



Şekil 3.3. L-Tirozin Metil Esterinin ATR Yöntemiyle Alınan FT-IR Spektrumu



Şekil 3.4. DMSO-D6 İçinde Alınmış L-Tirozin Metil Esterinin ^{1}H-NMR Spektrumu

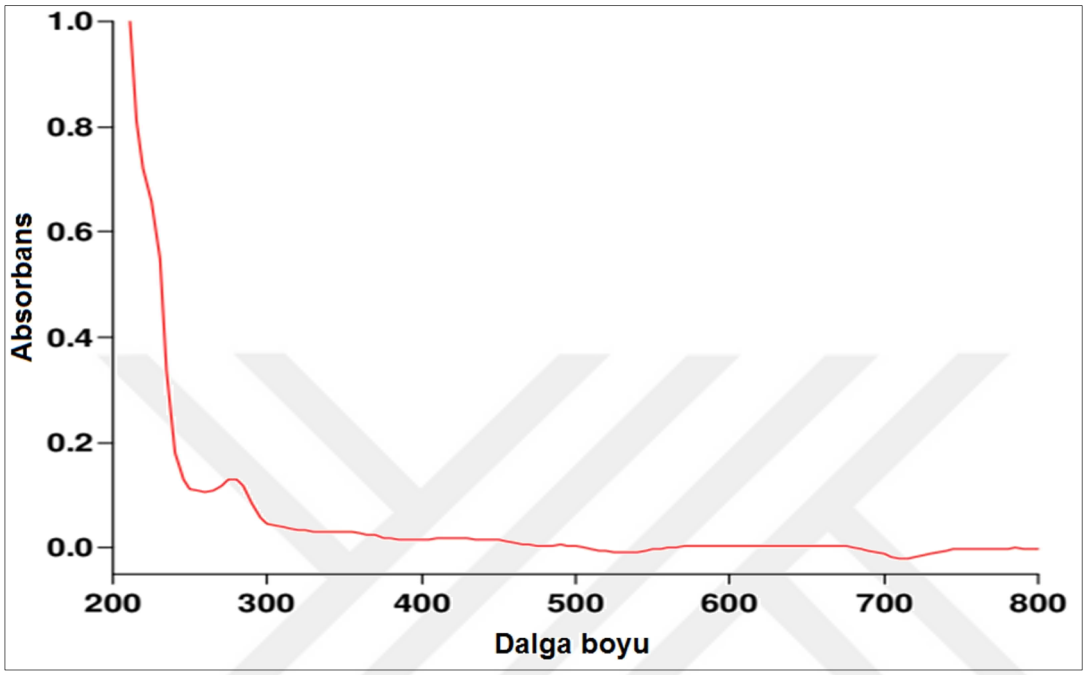


Şekil 3.5. DMSO-D6 İçinde Alınmış L-Tirozin Metil Esterinin ^{13}C-NMR Spektrumu

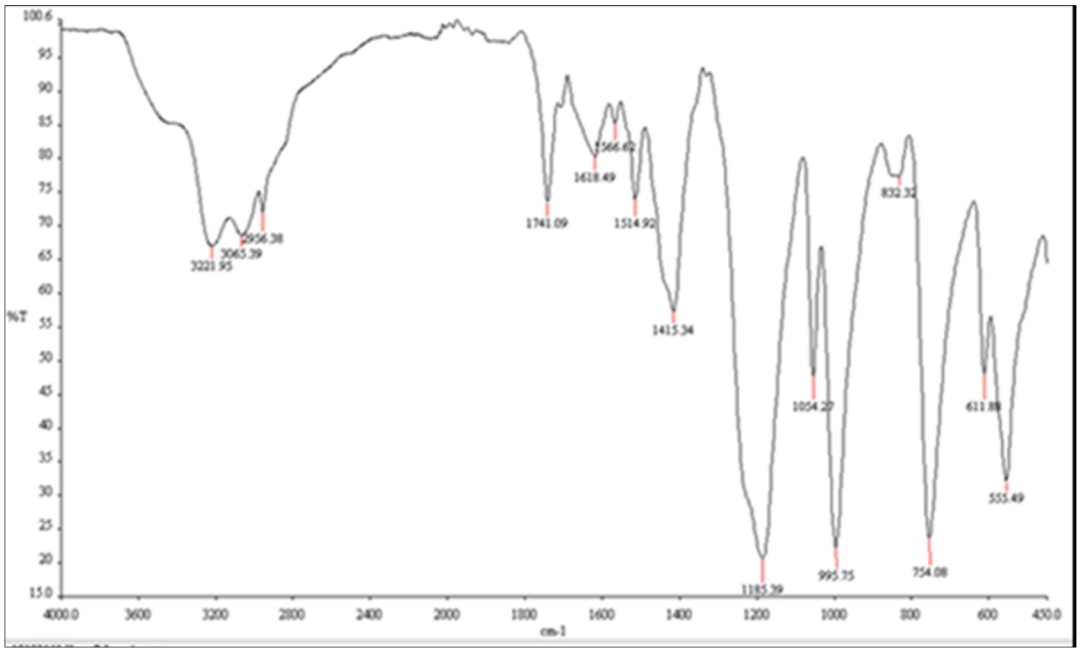
3.2.2. DL-Tirozin Metil Esterinin Hazırlanması

Geri soğutucu takılmış 100 ml'lik iki boyunlu bir balona 5,0 gr DL-tirozin eklenerek üzerine 30 ml metanol ilave edildi. Manyetik karıştırıcıda balon içerisine magnet konularak (250 rpm'de) bir yandan karıştırılırken ortama damlatma hunisi içerisinde bulunan 4 ml H_2SO_4 balon içerisindeki karışıma damla damla ilave edildi. Ortama asit ekleme işlemi bittikten sonra karışım ısıtıldı. Isınan karışım 2 saat boyunca reflax edildi. Daha sonra balon oda sıcaklığına gelinceye kadar soğumaya bırakıldı. Soğuyan karışım 0 ^oC kadar soğuması için soğutucuda bekletildi. 0 ^oC'ye kadar soğuyan karışıma ortam nötr oluncaya kadar damla damla NH_3 eklendi. NH_3 ilavesi ile çözücü içerisinde çökme meydana geldi. Çöken madde trompta süzülerek çözücüden ayrıldı. Kalan sarı renkli yağsı sıvı içerisindeki esterin çökmesi için oda sıcaklığında kristallenmeye bırakıldı. Bir gün bekleyen sıvı içerisinde oluşan beyaz renkli katı çözelti ortamından trompta süzülerek uzaklaştırıldı. Çözücünün ortamdan uzaklaşması için kalan sarı renkli yağsı sıvı oda sıcaklığında bekletildi. Çözücünün tamamı uzaklaşınca kalan sarı renkli yağsı madde üzerine etanol ilave edilerek ısıtıcıda ısıtıldı kaynama sıcaklığına gelmeden karışım sıcak olarak süzüldü ve ham ürün etanol de kristallendi. İşlem sonunda 2,01 gr DL- tirozin metil esteri elde edildi. (Verim % 37 kirli beyaz kristal E.n. :134-137 ^oC) Bileşiğin UV spektrumu Şekil 3.5 te FT-IR spektrumu da Şekil 3.6 da verilmiştir. Tarafımızdan hazırlanan bileşik daha önce

literatürde sentezlenmiş olduğundan yalnızca saflık kontrolü yapıldı ve fiziksel parametrelerin literatürle uyum içinde olduğu tespit edildi (Kristallendirme ve e.n tayini). L-tirozin metil esterinin fiziksel özellikleri ile aynı olduğundan ve maddemiz yeterince saflaştırıldığından ^{1}H nmr ve ^{13}C nmr spektrumları alınmadı.

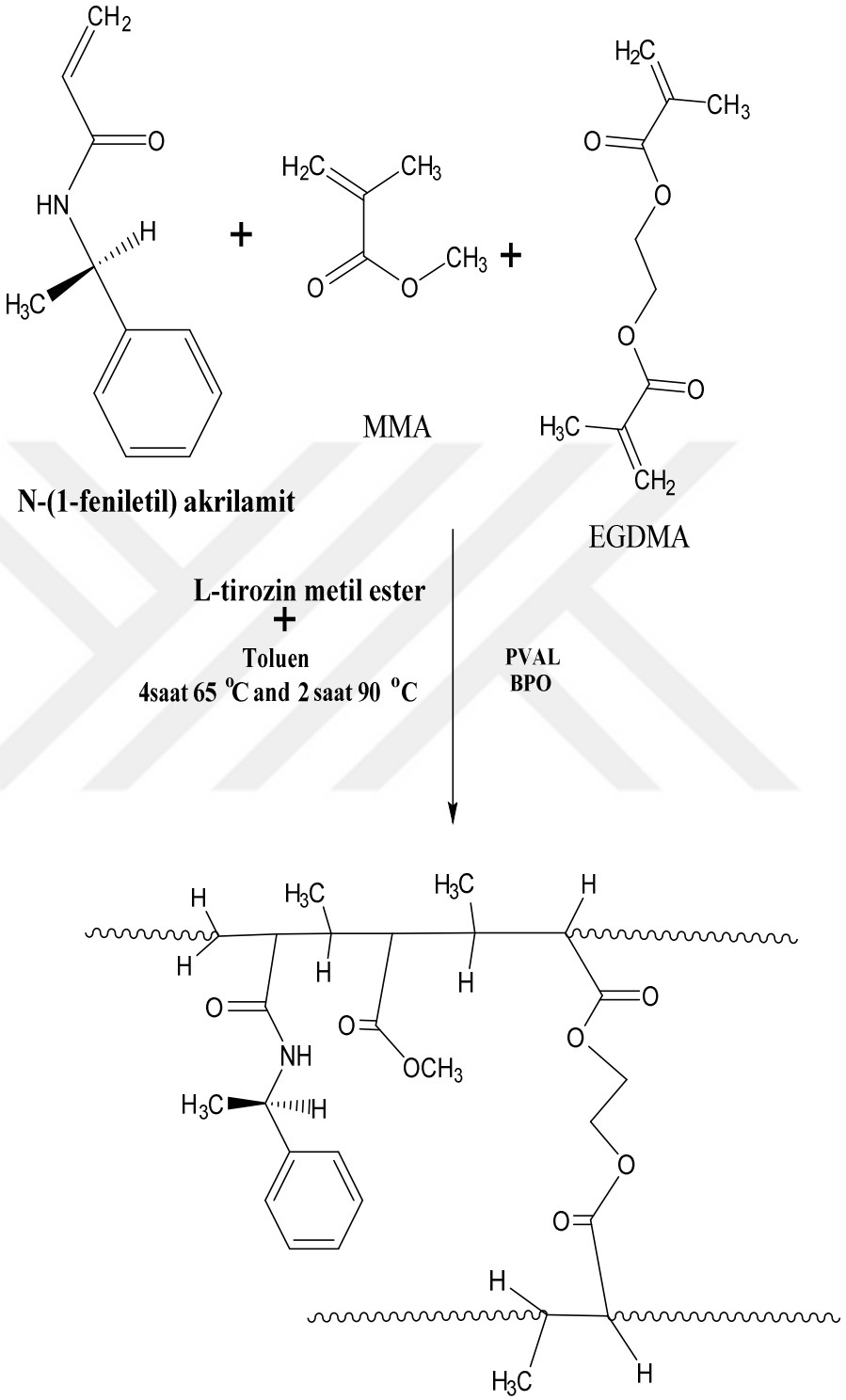


Şekil 3.6. DL-Tirozin Metil Esterinin Agilent Cary 60 Uv-Vis Spektrofotometresi İle Alınmış UV Spektrumu



Şekil 3.7. DL-Tirozin Metil Esterinin ATR Yöntemiyle Alınan FT-IR Spektrumu

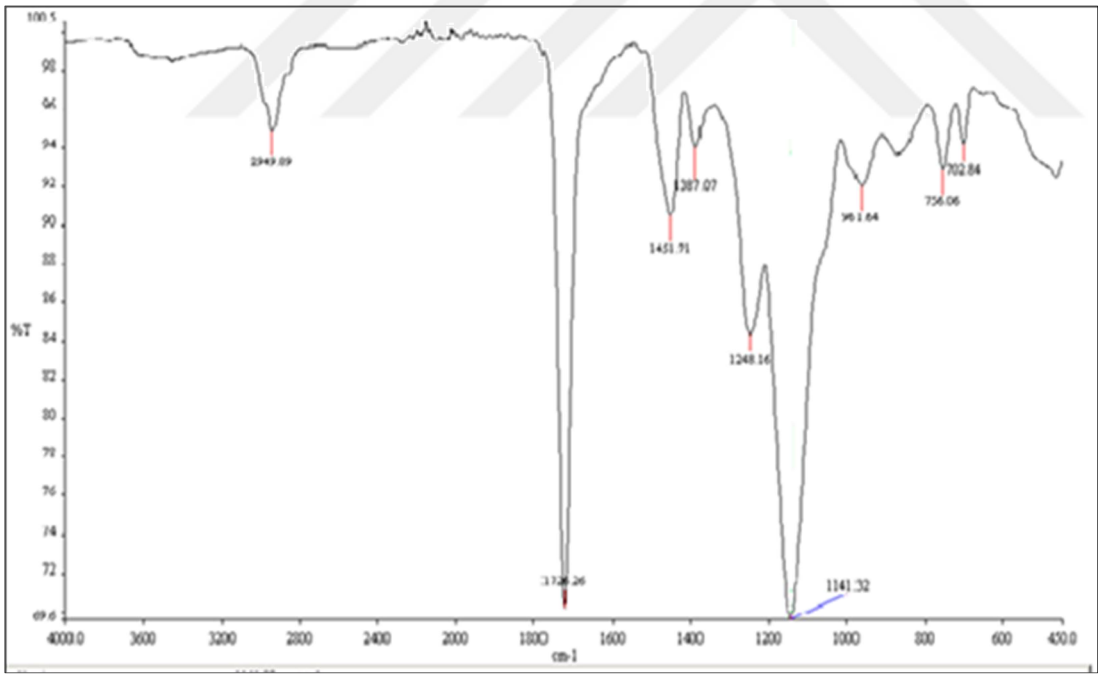
3.2.3. L-Tirozin metil esteri baskılanmış N-(R)-α-benzilmetil akrilamit - EGDMA ko-polimerinin sentezi



L-tirozin metil esteri baskilanmisKopolimer(**N-(1-feniletil)akrilamit -MMA-EGDMA)**

Şekil 3.8. L-Tirozin Metil Esteri Baskılı EGDMA N-(R)-α-Metilbenzil Akrilamit Ko-Polimerleşme Reaksiyonunun Şeması

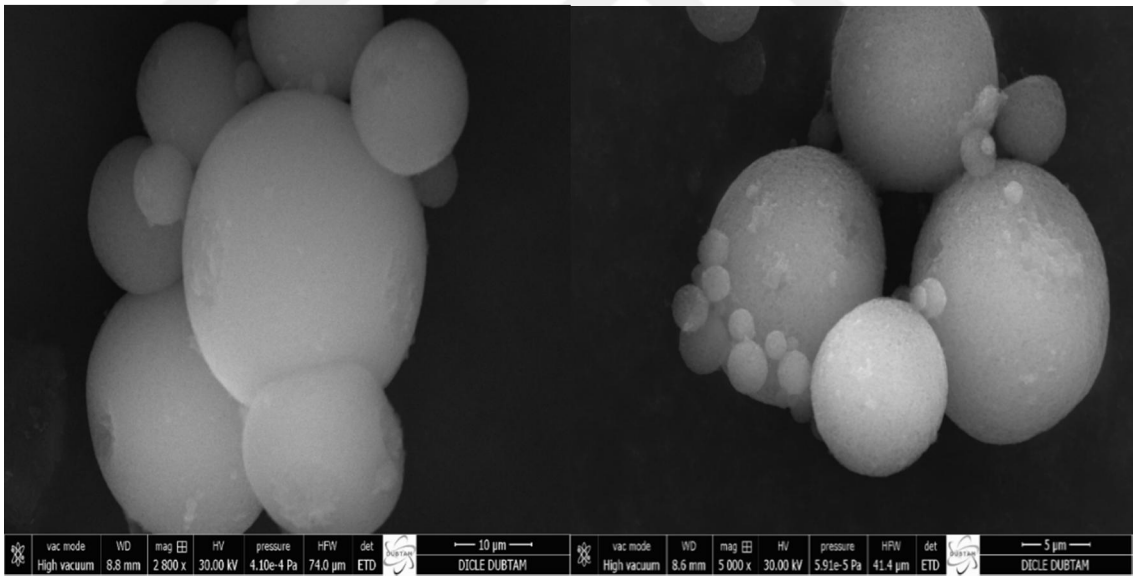
Geri soğutucu takılmış 100 ml'lik iki boyunlu bir balona 20 ml toluen, 3 ml metil metakrilat (MMA), 4 ml etilen glikol dimetil metakrilat (EGDMA), 0,408 gr N-(R)-α metil fenil akrilamit) 0,440 gr L-tirozin metil esteri alınarak manyetik karıştırıcıda karıştırıldı (oda sıcaklığında 15 dk). Daha sonra 0,113 gr benzoil peroksit ortama eklendi. 0,112 gr polivinil alkol alınarak 50 ml saf su içerisinde çözüldü ve karışımın üzerine ilave edildi. Bu işlemin ardından balon muhtevası içerisinden (oda sıcaklığında) 30 dakika müddetle N_2 gazı geçirilerek ortam inert hale getirildi. Manyetik karıştırıcıya kontakt termometre takılarak 4 saat 65 ^{o}C'de, 2 saat 90 ^{o}C'de karıştırılarak polimerizasyon gerçekleştirilmeye çalışıldı. Reaksiyon sonucunda oluşması istenen polimer sentezlendi. Ele geçen polimer trompta süzülerek daha sonra vakum etüvünde 70 ^{o}C ta 0.08 atm basınçta 72 saat kurutuldu. Yapılan bu işlem sonunda 6,462 gr amorf yapıda polimer elde edildi. L-tirozin metil esteri baskılanmış polimer sentezine ait katı fazın FT-IR spektrumu Şekil 3.8 de L-tirozin metil esteri baskılanmadan sentezlenen polimer sentezine ait FT-IR spektrumu Şekil 3.9 da ve katı faza ait SEM görüntüleri Şekil 3.10 da verilmiştir.



Şekil 3.9. L-Tirozin Metil Esteri Baskılı EGDMA N-(R)-α-Metilbenzil Akrilamit Ko-Polimerinin ATR Yöntemiyle Alınan FT-IR Spektrumu



Şekil 3.10. L-Tirozin Metil Esteri Baskısız EGDMA N-(R)-α-Metilbenzil Akrilamit Ko-Polimerinin ATR Yöntemiyle Alınan FT-IR Spektrumu



Şekil 3.11. L-Tirozin Metil Esteri Baskılı EGDMA N-(R)-A-Metilbenzil Akrilamit Ko-Polimerinin SEM Görüntüsü

3.2.4. Baskılanmış L-tirozin metil esteri ko-polimeri kompleks içerisinden L-tirozin metil esterinin sıyrılması çalışmalarında hazırlanan çözeltiler

Sıyırma işlemi yapılırken farklı derişimlerdeki sıyırma reaktifleri ve çözücü miktarı oranları belirlendi. Sıyırma sonrası ele geçen çözücüler L-tirozin metil esterinin

karşılık gelen derişimindeki absorbans aralığına düşene kadar seyreltilerek farklı derişimlerde çözelti karışımları hazırlanıp UV de ölçüldü. Seyreltme oranından faydalanılarak L-tirozin metil esterinin metanol fazına geçen miktarı kabaca % 60 olarak hesaplandı. Hazırlanan bu çözeltiler;

Asetik asit/metanol karışımı: Hacimce 1/9 oranında olacak şekilde (100 ml'lik karışım halinde 10 ml asetik asit/90 ml metanol) 100ml'lik bir balon joje içerisinde karıştırılarak hazırlandı (Osman ve ark. 2013).

Asetik asit/metanol karışımı hacimce 8/2 oranında 50 ml'lik karışımlar halinde 40 ml asetik asit/10 ml metanol çözücüleri 50ml'lik bir balon joje içerisinde karıştırılarak hazırlandı.

Asetik asit/metanol karışımı hacimce 7/3 oranında 50 ml'lik karışımlar halinde 35 ml asetik asit/15 ml metanol çözücüleri 50ml'lik bir balon joje içerisinde karıştırılarak hazırlandı.

Trikloroasetik asit/metanol çözeltisi için 10,9 gr TCA alınıp üçerine 79,1 gr metanol eklenerek 100 ml'lik bir balon joje içerisinde çözülerek hazırlandı(ağırlıkça %12 lik çözelti). Bu çözeltiden alınan 50 ml hacmindeki sıyırma reaktifi 2 g lık baskılanmış polimer üzerine ilave edilerek sıyırma işlemine tabi tutuldu. Sıyrılma işleminden sonra süzüntülerin metanol fazları UV'de okunduğunda herhangi bir absorbans gözlenmedi. Farklı derişimlerde çalışıldığında da absorbans gözlenmediğinden TCA kullanılarak sıyırma işlemlerinden vazgeçildi.

0,05 N NaOH/metanol karışımı için öncelikle 0,05 N NaOH çözeltisi hazırlandı. 0,22 gr NaOH alınarak saf su içerisinde çözülüp çözelti hacmi 100 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan 0,05 N NaOH çözeltisinden 15 ml alınıp üzerine 35 ml metanol eklenerek derişim yeniden 0,015 M olarak hesaplandı. Bu çözeltiden belirli hacimlerde (30 ve 50 ml'lik hacimlerde) alınarak sıyırma işlemleri yapıldı. Sıyrılma işleminden sonra süzüntülerin metanol fazları UV'de okunduğunda herhangi bir absorbans gözlenmedi. Farklı derişimlerde çalışıldığında da absorbans gözlenmediğinden NaOH kullanılarak sıyırma işlemlerinden vazgeçildi.

0,1 N NaOH/metanol karışımı için öncelikle 0,1 N NaOH çözeltisi hazırlandı. 0,4 gr NaOH alınarak saf su içerisinde çözülüp çözelti hacmi 100 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan 0,1 N NaOH çözeltisinden 20 ml alınarak üzerine 30 ml metanol ilave

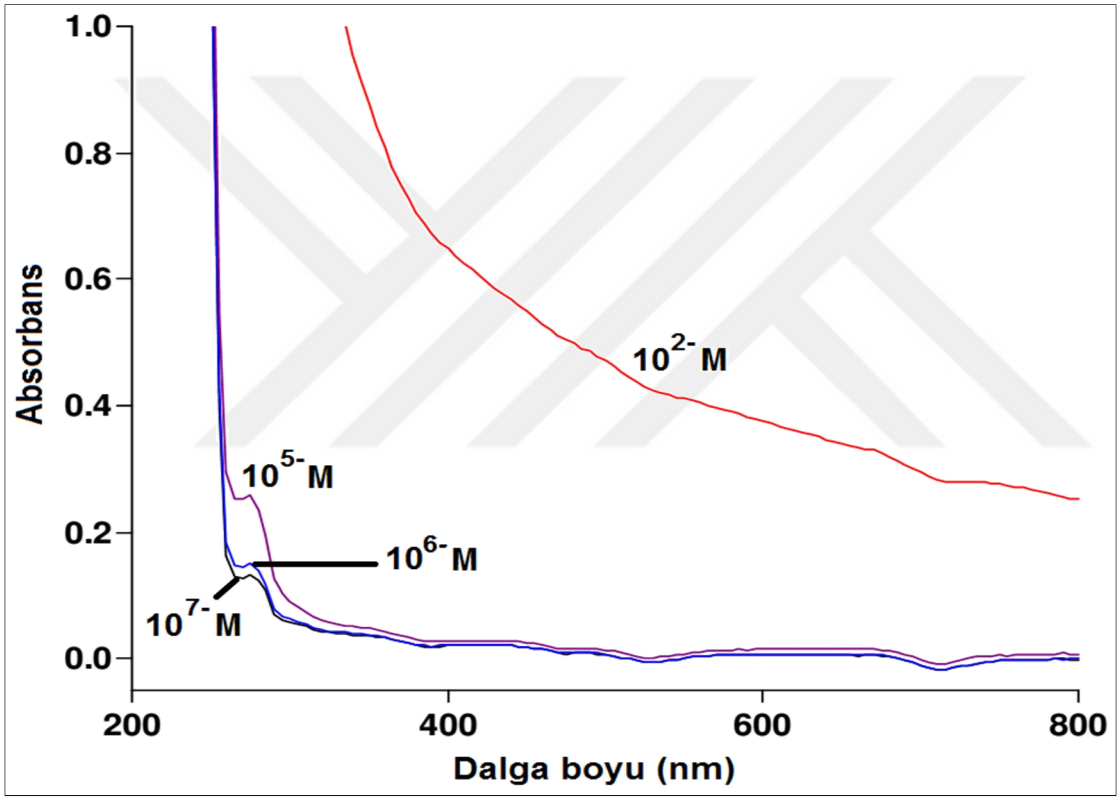
edilerek hacimce 4/6 oranında 0,1 N NaOH/metanol karışımı 50 ml'lik bir balon joje içerisinde hazırlandı.

0,2 N NaOH/metanol karışımı için öncelikle 0,2 N NaOH çözeltisi hazırlandı. 0,4 gr NaOH alınarak saf su içerisinde çözülüp çözelti hacmi 50 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan 0,2 N NaOH çözeltisinden 40 ml alınarak üzerine 10 ml metanol ilave edilerek hacimce 2/8 oranında 0,2 N NaOH/metanol karışımı 50 ml'lik bir balon joje içerisinde hazırlandı. Sıyırma işlemleri yukarıda hazırlanan 0,1 N ve 0,2 N lik çözeltiler ile ayrı ayrı denendi. Farklı derişimlerde çalışılmasına rağmen süzüntülerin UV spektrumlarında absorbans gözlenmediğinden NaOH kullanılmasından tamamen vazgeçildi.

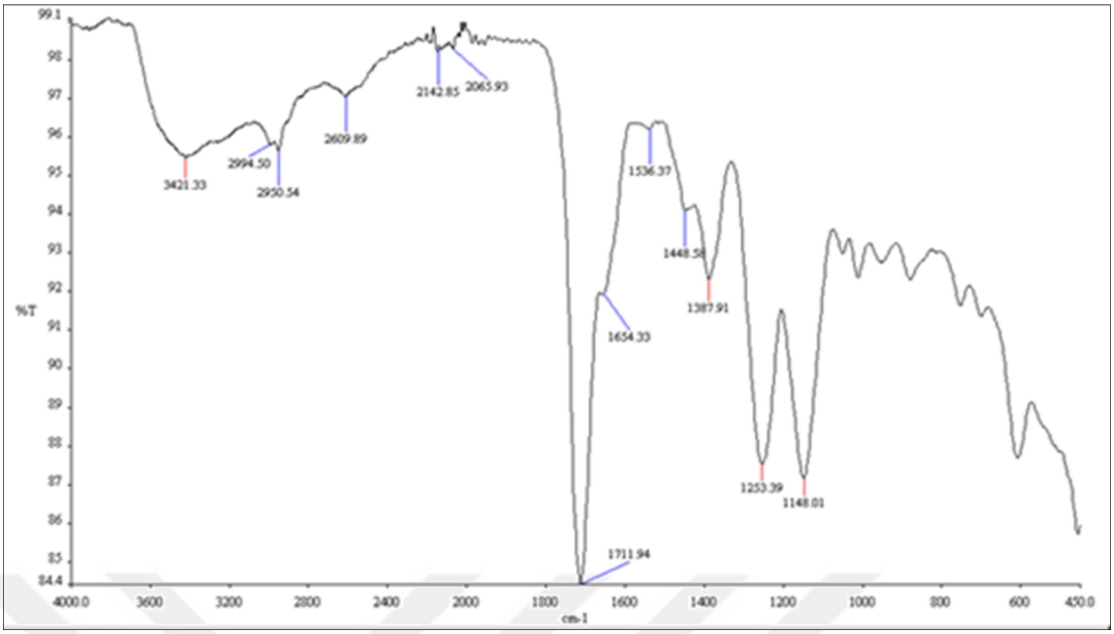
3.2.5. Baskılanmış L-Tirozin metil esteri ko-polimerden L-tirozin metil esterinin sıyrılması

Yaklaşık 2 gr baskılanmış polimer 50 ml'lik bir beher içerisine alındı. Üzerine 50 ml'lik çözücü karışımı (7/3 oranında-35 ml asetik asit/ 15 ml metanol) ilave edildi. Polimer 2 saat boyunca manyetik karıştırıcı üzerinde 250 rpm'de oda sıcaklığında (25 ^{o}C sabit sıcaklıkta) sıyrılma işlemine tabi tutuldu. Daha sonra karşım trompta süzülerek katı faz çözücüden ayrıldı. Kalan süzüntüden farklı derişimlerde çözeltiler hazırlanarak UV ölçümleri alındı. Ölçümler sonunda farklı derişimlerdeki çözücü karışımlarının UV spektrumları alındı. Alınan spektrumlar L-Tirozin metil esterinin aynı derişimde ve aynı çözücüde alınan UV spektumlarıyla karşılaştırılarak spektrumların analizinden L-tirozin metil esterinin polimerden ayrıldığı gözlendi. Öncelikle 7/3 oranında hacimce CH_3COOH/EtOH çözücü karışımı ile sıyırma işlemlerine başlandı. Daha sonra sıyırma reaktifi ve çözücü oranları değiştirilerek işleme devam edildi (sırasıyla 1/9, 7/3, 8/2 oranlarında çalışıldı). Daha sonra 1 saat, 2 saat, 3 saatlik karıştırma sürelerinde ve değişik sıyırma reaktifi derişimlerinde sabit karıştırma hızında (250 rpm'de) ve sabit sıcaklıkta sıyırma işlemleri yapıldı. En uygun karıştırma süresi 2 saat ve en uygun sıyırma reaktifi/çözücü oranı 7/3 olarak belirlendi. Sıyırılma işlemine tabi tutulan polimerik yüzey çeşitli nötralizasyon işlemlerinden sonra vakum etüvünde 50 ^{o}C ta 0.08 atm de 24 saat süreyle kurutuldu. Çözücü karışımlarının hazırlanma prosedürü kısım 3.2.1 de detaylı olarak verilmiştir. UV de farklı derişimlerde sıyırma işlemlerine tabi tutulan baskılanmış veya sorplanmış (absorplanma, adsorplanma veya baskılama

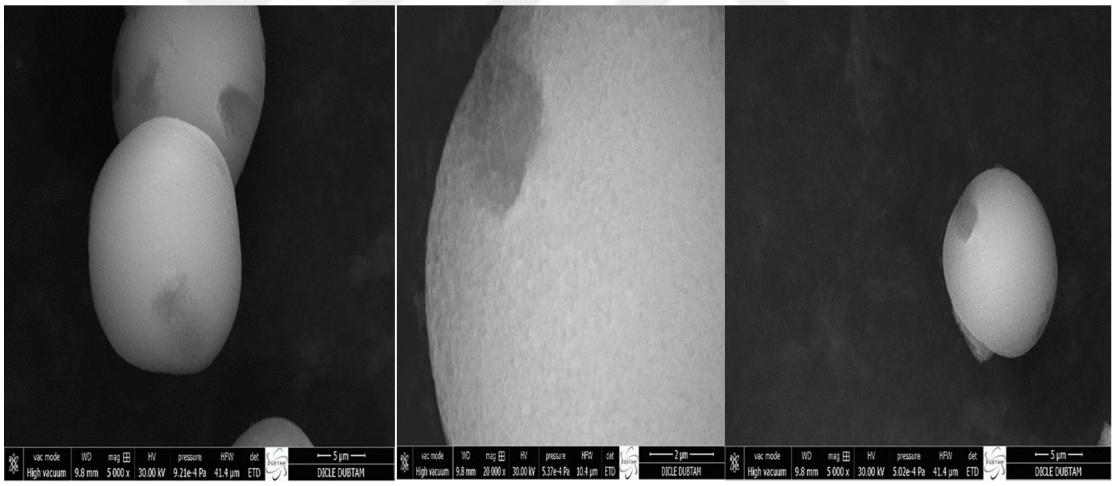
birlikte gerçekleştiğinden sorplanma tabirini kullanmanın daha uygun düşeceği kanaatindeyiz) polimerden esterin uzaklaşıp uzaklaşmadığını tespit için çözücü fazının UV de okunmasıyla ele geçen spektrumlar Şekil 3.11 da ayrıntılı olarak verilmiştir. Geriye kalan sıyrılmış katı fazda (polimerde) istenilen boşlukların oluştuğu SEM görüntüleri alınarak belirlendi. Sıyırma işlemine ait UV spektrumlarının incelenmesi esterin belirli bir kısmının çözelti fazına alındığının göstergesi olup sıyırma işleminin başarıyla gerçekleştiği hakkında önemli bir ipucu verdi. Geride kalan katı fazın FT-IR spektrumu Şekil 3.12 da ve katı faza ait SEM görüntüleri ise Şekil 3.13 de verilmiştir.



Şekil 3.12. Ko-Polimerden L-Tirozin Metil Esterinin İnkubasyon/Ekstraksiyon İle Sıyrılması Ve Asetik Asit/Metanol Fazına Alınması Sonrası Çözücü Fazının Farklı Derişimlerdeki UV Spektrumları



Şekil 3.13. Asetik Asit/Metanol Karışımı İle İnkubasyon Sonrası L-Tirozin Metil Esterinin Sonucu Ele Geçen Ko-Polimer FT-IR Spektrumu



Şekil 3.14. L-Tirozin Metil Esterinin Uzaklaştırılması İle Geride Kalan EGDMA N-(R)-A-Metilbenzil Akrilamit Ko-Polimerinin SEM Görüntüsü

3.2.6. Sıyrılan ko-polimer ile DL-tirozin metil esterinin etkileştirilmesi sonucu L-tirozin metil esterinin çözelti fazından ekstraksiyonu

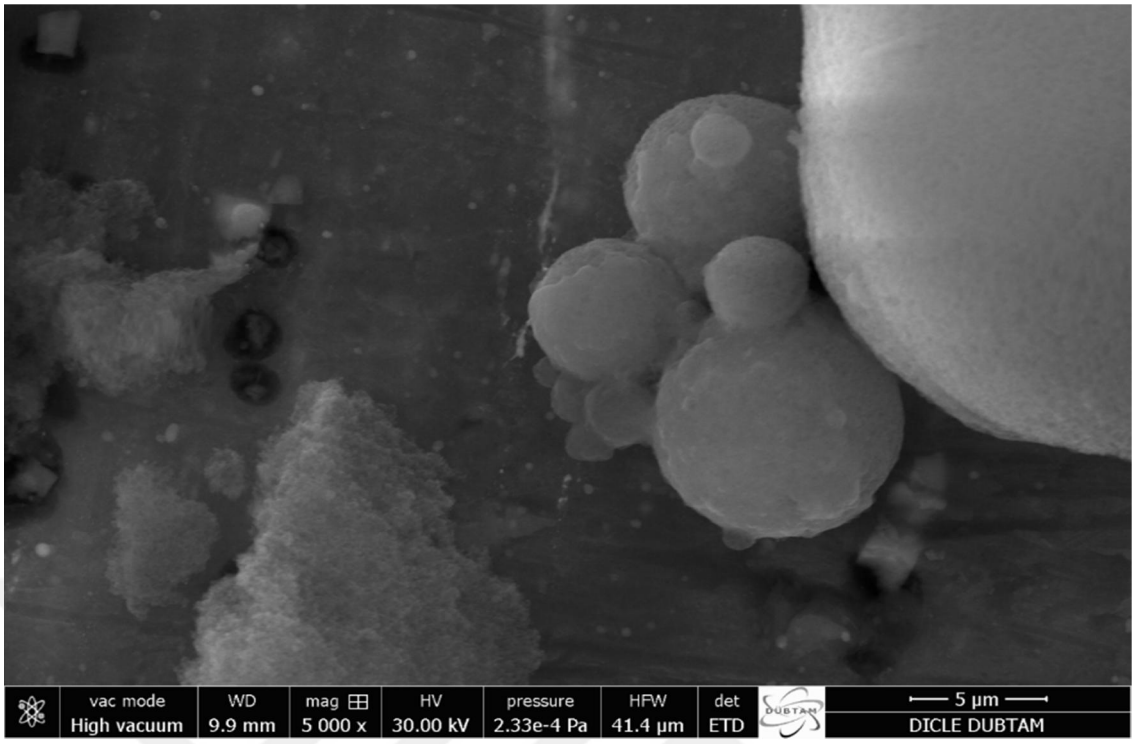
50 ml'lik kapaklı bir erlen içerisine 0,05 gr DL-tirozin metil esteri alınıp üzerine 40 ml etanol eklenerek çözüldü. Daha sonra ortama önceden sıyrılmış olan polimerden 0,422 gr polimer ilave edildi. Karışım inkübasyon yoluyla 3 saat boyunca 400 rpm'de inkübatör içerinde 25 ^{o}C ta karıştırıldı. İşlem sonunda polimer, çözücüden süzülerek ayrıldı. Daha önce D ve L-tirozin metil esterlerinin kiral OD kolon kullanılarak HPLC

değerleri ve alıkonma zamanları tespit edildi. Bu işlem için önce tarafımızdan hazırlanan L-tirozin metil esteri daha sonra da DL-tirozin metil esterinin alıkonma zamanları belirlenerek D–tirozin metil esterinin alıkonma zamanı dolaylı olarak bulundu. Süzüntü bir erlen içerisine alınarak HPLC de referans olarak daha önce alıkonma zamanları belirlenen esterlerin HPLC kromatogramları ile kıyaslanarak yine kiral OD kolon kullanılarak HPLC % alanlar belirlendi ve %ee değerleri Eşitlik 3.1 'e göre hesaplandı.

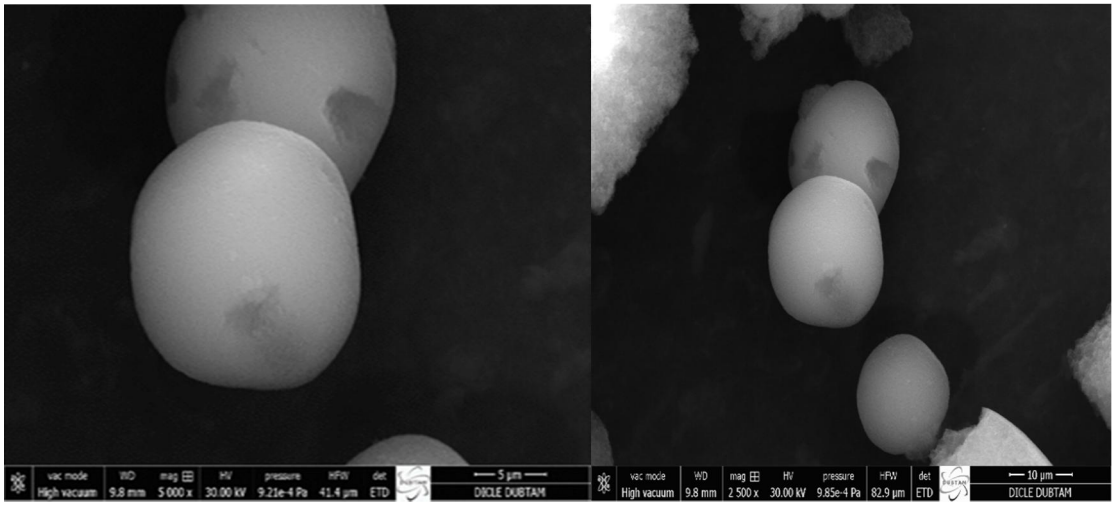
Hesaplama sonucunda başlangıçtaki L-tirozin metil esteri %11 ee fazlalığa sahipti. Daha sonra da rasemik karışımdan gelen %24 ee değeri de dikkate alındığında toplamda D-tirozin metil esteri açısından yaklaşık %37 ee elde edildi. Rasemik karışımın %ee değerinin hesaplanması sonucunda karışım içerisinde olması gereken miktardan beklenenden çok daha az L-tirozin metil esteri % alanı gözlenmesi nedeniyle polimer içerisindeki oluşan boşluklarda rasemik karışımdaki uygun olan yapının (L-ester) tutunduğu belirlendi. Tutunmadan sonra ele geçen katı fazın SEM görüntüsü Şekil.3.12 de rasemik karışıma ait DL tirozin metil esterinin HPLC kromatogramı Şekil 3.15 te etanol fazına geçen DL tirozin metil esterinin HPLC kromatogramı ise Şekil 3.16 te verilmiştir. HPLC analizi ve kolona ait parametreler aşağıda verilmiştir.

HPLC ölçüm koşulları:

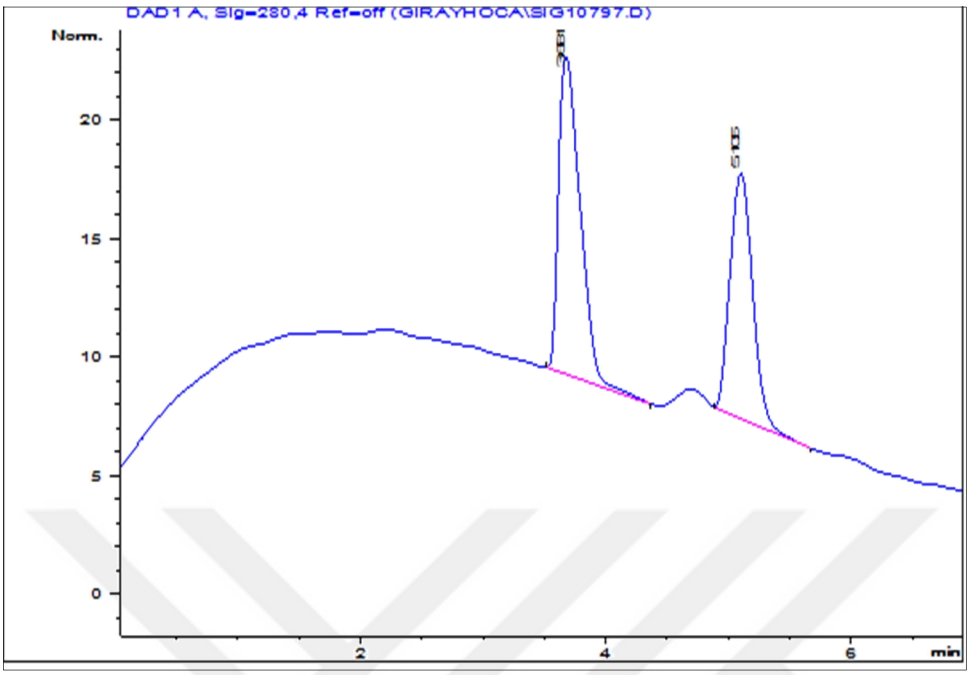
Cihaz : Agilent-1260
Akış hızı : 1 ml/dk
Kolon adı : Chiralcell- OD
Kolon boyut : 250x4.6 mm
Hareketli faz : Hegzan/ 2-proppanol (85/15)
Dalga boyu : 280 nm
Dedektör : UV-DAD dedektör



Şekil 3.15. L-Tirozin Metil Esterinin Uzaklaştırılmasından Sonra EGDMA -N-(R)-A-Metilbenzil Akrilamit Ko-Polimerinin Etanol İçinde DL-Tirozin Metil Esteri İle Ekstraksiyonu Sonucu Ele Geçen Katı Fazın SEM Görüntüsü



Şekil 3.16. L-Tirozin Metil Esterinin Uzaklaştırılması İle Geride Kalan EGDMA N-(R)-A-Metilbenzil Akrilamit Ko-Polimerinin SEM Görüntüsü

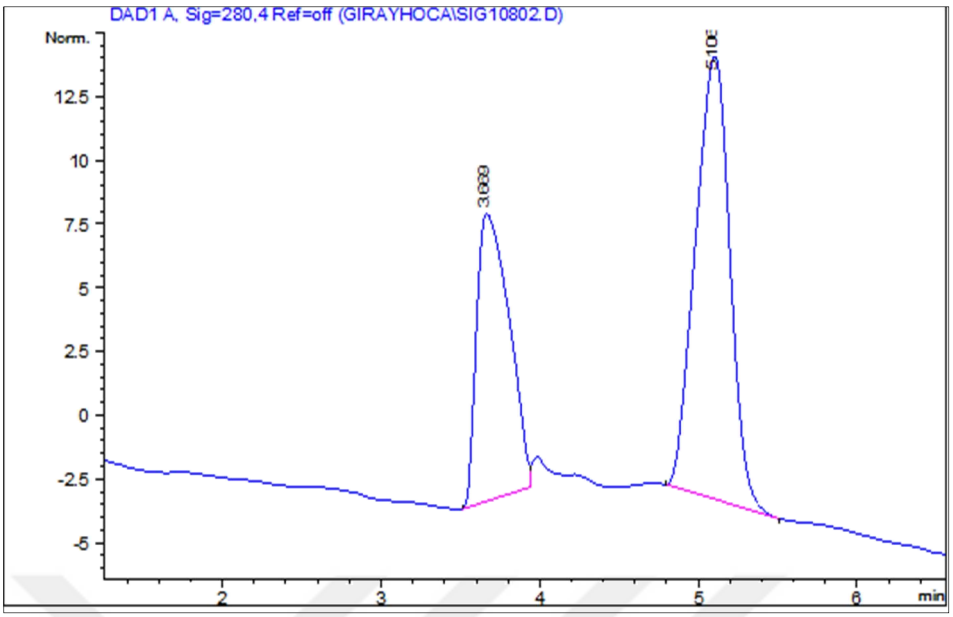


Data File C:\CHEM32\1\DATA\GIRAYHOCA\SIG10797.D
Sample Name: rasemic-tir-Ome

Signal 1: DAD1 A, Sig=280,4 Ref=off

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	3.681	BB	0.1832	164.29558	13.38824	55.3436
2	5.105	BB	0.2014	132.56932	10.35024	44.6564
Totals :				296.86490	23.73848	

Şekil 3.17. Tarafımızdan Hazırlanan DL-Tirozin Metil Esterinin HPLC Kromatogramı Ve Enantiomerlere Ait % Alan Değerleri



Data File C:\CHEM32\1\DATA\GIRAYHOCA\SIG10802.D
Sample Name: EtOH extract

Signal 1: DAD1 A, Sig=280,4 Ref=off

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	3.669	BV	0.2513	159.59393	11.26311	37.7940
2	5.106	BBA	0.2364	262.67947	17.37451	62.2060
Totals :				422.27341	28.63762	

Şekil 3.18. DL-Tirozin Metil Esterinin L-Tirozin Metil Esteri Uzaklaştırılmış Ko-Polimer İle Etanol İçinde Ekstraksiyonu Sonucu Ele Geçen Sıvı Fazın HPLC Kromatogramı Ve Enantiomerlerin % ee Değerleri

$$\%e.e. = \frac{(R)-(S)}{(R)+(S)} x100 \qquad \text{(R>S için)} \qquad \textbf{Eşitlik 3.1}$$

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmamızda kullanılan kimyasallar dışında kendi sentezlediğimiz L-tirozin metil esteri literatürde önceden sentezlenmiş olmakla beraber yapı aydınlatılması yapılmış ve spektroskopik verilerin yapı ile uyum içinde olduğu görülmüştür. UV spektrumuna bakıldığında dalga boyu λ=280 nm de maksimum absorbans gözlendiği görülmektedir. FT-IR spektrumu değerlendirildiğinde 3200 cm^{-1} de sekonder amin pikine ait gerilme titreşimleri, 3067 cm^{-1} de aromatik C-H gerilme titreşimlerine ait sinyaller, 2960 cm-1 de alifatik C-H gerilme titreşimlerine ait sinyaller ve 1744 cm^{-1} de ester grubuna ait gerilme titreşimleri sinyalleri esterleşmenin başarıyla geçekleştiğinin göstergesidir. ^{1}H nmr spektrumuna bakıldığında alifatik bölgede δ=1.6 ppm de metoksi grubundaki oksijene bağlı metil grubuna ait bir singlet metilen grubundaki 2 hidrojen atomuna ait δ=1.05 ppm de bir multiplet gözlenmesi kiral merkeze komşu protonlara ait sinyaller olarak gözlenmiştir. Ayrıca kiral merkezdeki tek protona ait -CH sinyalinin (δ=1.7 ppm bir multiplet) ve aromatik bölgede de yapıyla uyumlu 2 farklı sinyalin (δ=4.7 ve δ=5.1 ppm) gözlenmesi esterleşmenin gerçekleştiğini doğrulamaktadır. Sinyallerin kimyasal kayma değerlerinin beklenenden farklı yerlerde gözlenmesi; molekül içi ve moleküllerarası hidrojen bağları, çözücü etkileşimi ve halkaya elektron verici grupların etkileri dolayısıyla sinyallerin tümünde kimyasal kayma değerlerinin yukarı alana kaymasına neden olduğu düşünülmektedir.

Aynı bileşiğin ^{13}C nmr spektrumuna bakıldığında ise yapıyla uyumlu olarak alifatik bölgede 3, aromatik bölgede 4 ve ester karboniline ait 1 sinyal olmak üzere toplam 8 sinyalin gözlenmesi yapıyı doğrular niteliktedir. Yapıyı destekleyen spektroskopik verilerin yeterli olduğu düşünülerek elementel analiz ve polarimetre ile çevirme açısı ölçümlerine gerek duyulmadı.

Ester baskılı polimerleşme tepkimesinin gerçekleştiği FT-IR ve SEM görüntülerine dayanılarak açıklanabilir. Baskılanmamış polimerle kıyaslandığında FT-IR da L-ester piklerinin hem genişlik hem de keskinlik olarak artması parmak izi bölgesindeki değişiklikler sorplanma şeklinde bir baskılamanın başarılı olduğunu göstermektedir. L- esterin karakteristik FT-IR piklerinin tümünün gözlenmemesi kullanılan L-ester miktarının kullanılan polimer başlatma reaktiflerine göre yaklaşık 20 kat düşük olmasıdır. SEM görüntülerine de bakıldığında baskılama sonrası ve sıyırma sonrası görüntülerde belirgin farklılıklar göze çarpmaktadır. Şekil 3.9 daki Polimerik

süngerimsi yapı çevresindeki küçük boyutlu partiküllerin Şekil 3.11 de gözlenmemesi polimerik yapıya L-ester moleküllerinin gömülü olarak değil de Absorplanma ya da Sorplanma (adsorpsiyon ve absorpsiyon işlemlerinin birlikte yürümesi) şeklinde tutunduklarını L-esterin bağlandığını fakat kovalent bağla bağlanmamış olduğunu ve düşük derişimli sıyırma reaktifleriyle kolaylıkla yapıdan ayrılmaları da polimerik yapıya L-ester sorplanmasının başarılı olduğunu kanıtlamaktadır.

Sorplanma şeklinde polimere tutunmuş L-esterin polimerik yapıdan sıyrılarak uzaklaştırılması işlemlerinde ise birkaç farklı reaktif denendi bunlardan CH_3COOH/CH_3OH karışımı sıyırma reaktifi olarak etkili oldu. TCA ve farklı derişimlerdeki NaOH çözeltileri ile sıyırma başarılı olmadı. Sıyırılmanın başarılı olduğu yine Şekil 3.11 deki SEM görüntülerinden gözlendiği gibi Şekil 3.10 daki UV spektrumlarından da anlaşılmaktadır. Sıyrılma işlemlerinin nasıl yapıldığının ve başarılı olduğunun detaylı şekilde ispatı Kısım 3.2.5 te ayrıntılı olarak verilmiştir.

Sıyrılma işlemine tabi tutulan polimerik yapının içerdiği boşluklar Şekil.3.11 de deki SEM görüntülerinde gözlenmektedir. Ancak bu boşlukların tutunma sonrası kopmalardan mı kaynaklandığı yoksa polimerik yapıya kısmen sorplanma şeklinde baskılanıp fiziksel bağlarla bağlandıktan sonra sıyırma reaktifiyle uzaklaştırılma sonrası oluşan boşluklar mı oldukları yönünde sağlıklı bir yorum yapmak mümkün görülmemektedir. Çünkü boşlukların büyüklükleri molekül boyutundan büyük gözükmektedir. Bunun nedeni olarak sıyırma sırasında reaktifin süngerimsi polimerik yapıyı tahrip edecek derecede yüksek karıştırma hızında kullanılması veya deney sırasındaki değişik faktörlerin etkisiyle (zamanlama, derişim, reaktif cinsi gibi) daha büyük boyutlu boşlukların oluşması gösterilebilir. Daha derişik çözeltilerle çalışmaktan kaçınıldı çünkü polimerik yapıdan monomerin sökülme ihtimali oluşabileceğinden literatüre uygun hareket edilmesine özen gösterilmeye çalışıldı.

Sıyırılma işlemlerine tabi tutulmuş polimerin yüzeyi asidik bazik ve nötral çözücülerle yıkanıp literatürdeki belirli work up işlemlerinden ve vakum etüvünde kısım 3.2.5 te belirtilmiş olan koşullar altında kurutulmasından sonra DL-Tirozin metil esterinin etanol içerinde sıyırılmış polimerle ekstraksiyonu sonucu oluşan boşluklara uygun konfigürasyondaki L-tirozin metil esterinin yerleştiği Şekil 3.14 teki HPLC kromatogramından anlaşılmaktadır. L-tirozin metil esterinin D-estere göre başlangıçta fazla alındığı da hesaba katılırsa rezolüsyon sonrası yaklaşık %40 ee elde edildiği

hesaplamalarla bulunmuştur. Ekstraksiyon işlemleri yalnızca etanol değil çözücü olarak toluen ve $CHCl_3$(kloroform) ile de denendi fakat hatırı sayılır bir enantiomerik rezolüsyon olarak sunulabilecek bir HPLC kromatogramı elde edilemedi. Bu yüzden yalnızca etanolle çalışıldı.

Sonuç olarak elde edilen bulgular özetlenecek olursa:

1. Kullandığımız polimerik yapıya sorplanma ya da baskılanma yoluyla bir molekülün uygun koşullarda bağlanabileceği ve bu bağlanmanın daha çok fiziksel bağlarla gerçekleştiği

2. Düşündüğümüz gibi baskılanmış polimerden enantiomerik yapının sıyırılmasıyla polimer yüzeyinde uygun kavitede boşluklar oluşturulabileceği ve bu boşluklara Rasemik karışımdaki enantiomerlerden yalnızca birinin yerleştirilebileceğinin mümkün olduğu

3. Bu yöntemin enantiomerik rezolüsyon için uygulanabilecek ucuz ve kullanılışlı bir yöntem olduğu

4. Kiral yapıdaki ester fonksiyonel gruplu ilaç veya ilaç hammaddelerinin rezolüsyonunda kullanılabileceği söylenebilir.

Çalışmalarımız devam etmekte olup bu çalışmada prototip olarak kullanılan yalnızca ester fonksiyonel gruplu yapılar değil keton, aldehit veya alkol grubu içeren veya bunlardan birkaçını içeren doğal ürünlerin de polimerik yapıya bağlanarak rezolüsyon çalışmalarına uygulanabilirliği araştırılmaktadır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmada kullanılan polimerik yapılar değiştirilerek farklı fonksiyonel gruba sahip kiral monomerler dizayn edilip homo-polimerleri veya ko-polimerleri hazırlanmak suretiyle enantiomerik rezolüsyon ile ayrılmak istenen biyolojik aktiviteye sahip rasemik karışımlar, ilaç ham maddeleri, prekürsörleri veya kiral organik bileşikler bu polimerler ile fiziksel veya kimyasal etkileşimlerle baskılanarak veya yüzeyde sorplanarak oluşturulan matriks veya ekstrakte edici katı faz hazırlanıp sıyrılma çalışmaları sonucu elde edilen yüzey sayesinde rezolüsyonda etkili kullanım alanlarına ulaşılabilir.

Uygun HPLC kolon parçacık boyutuna sahip dekstrin, sefadeks veya jel türevleri kullanılarak elde edilen değişik polimerik yapılara sentezlenen monomerler, baskılama reaktifi olarak tutturularak veya sorplanarak elde edilen matriks, çeşitli reaktiflerle sıyrılmak suretiyle yüzeyinde uygun enantiomerik kaviteye sahip boşluklar oluşturulup ele geçen katı faz Pirkle-tip HPLC kiral kolon dolgu maddesi olarak kullanılabilir.

Farklı çalışmalarla baskılama reaktifi haricinde daha derişik ve etkili sıyırma reaktifi kullanılarak polimerik yapıdan monomerlerin uzaklaştırılması da sağlanabilir. Bu yolla seçtiğimiz monomerik yapı rasemik olmayıp tek tip bir enantiomerden oluşmuş ise bu oluşan uygun kavite sayesinde polimer başlatıcı monomerleri de rezolüsyonla enantiomerlerine ayırmak mümkün olabilir.

Son olarak da polimerik yapıya moleküler baskılama ile katmak istediğimiz baskılama reaktiflerinin polimer yapı tarafından kolaylıkla kabul edilip edilmeyeceğinin bu reaktiflerin taşıdıkları fonksiyonel gruplar ve etkileşim sırasında kuracakları bağlar, yönlenmelerin veya kimyasal etkileşimlerin neler olabileceğinin polimerik yapıyla karşılaştırılarak önceden tahmin edilmesi gerekir.

6. KAYNAKLAR

Ahuja, S. 1997. Chiral Separations: Applications and Technology; ***American Chemical Society***. Washington D. C.

Armstrong, D. W., Tang, Y., Chen, S., Zhou, Y., Bagwill, C., & Chen, J. R. (1994). Macrocyclic antibiotics as a new class of chiral selectors for liquid chromatography. ***Analytical Chemistry***, *66*(9), 1473-1484.

Armstrong, D. W., & DeMond, W. (1984). Cyclodextrin bonded phases for the liquid chromatographic separation of optical, geometrical, and structural isomers. ***Journal of chromatographic science*****,** *22*(9), 411-415.

Bryndal, I., Jaremko, M., Jaremko, L., & Lis, T. (2006). Comparison of the methyl ester of L-tyrosine hydrochloride and its methanol monosolvate**.** ***Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications***, *62*(3), o111-o114.

Blaschke, G., & Schwanghart, A. D. (1976). Untersuchung chromatographischer Racemattrennungen, VI. Polymere Aminosäurederivate als optisch aktive Adsorbentien. ***Chemische Berichte***, *109*(6), 1967-1975.

Biju, V. M., Gladis, J. M., Rao, T. P. 2002. Ion İmprinted Polymer Particles: Synthesis, Characterization And Dysprosium İon Uptake Properties Suitable For Analytical ***Applications. Analytica Chimica Acta.*** 478, 43-51.

Carlsson, P. A. E., Corrodi, H. R. 1975. Aktiebolaget Hassle, Treatment of Parkinson's disease. ***US Patent***. 19730820.

Chung, T. W., Moon, S. K., Chang, Y. C., Ko, J. H., Lee, Y. C., Cho, G., Kım, S. H., Kım, J. G., Kım, C. H. 2004. Novel And Therapeutic Effect Of Caffeic Acid And Caffeic Acid Phenyl Ester On Hepatocarcinoma Cells:Complete Regression Of Hepatoma Growth And Metastasis By Dual Mechanism. ***The FasebJournal.***18, 1670–1681.

Cormack, P. A. G., Elorza, A. Z. 2004. Molecularly İmprinted Polymers: Synthesis And Characterisation. ***Journal of Chromatography B***. 804, 173-182.

Çakmak, R. 2008. Pirkle-Tip Kiral Kolon Kromatografisi Yöntemiyle Biyolojik Öneme

Sahip Kiral Âminlerden (±)-β-Metilfeniletilamin'in Rezolüsyonu. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa.

Çavuş, A. 2011.İnsülin Baskılanmış Poli (Hema-Mah)Kriyojellerin Hazırlanması. Dicle Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek lisans Tezi. Diyarbakır.

Denizli, A., Küfrevioğlu, İ. Ö. 2010. Protein Kromatografisi ve Yeni Nesil Polimerik Sistemler. Pozitif Matbaacılık. Ankara.

Dotsevi, G., Sogah, Y., & Cram, D. J. (1976). Total chromatographic optical resolutions of. alpha.-amino acid and ester salts through chiral recognition by a host covalently bound to polystyrene resin. ***Journal of the American Chemical Society***, *98*(10), 3038-3041.

Davankov, V. A. (1970). Advan. C'ltromozogr., 18 (1980) 139. SV Rogozhin and VA Davankov, Dokl. ***Ah-ad. Nauk SSSR***, *192*, 1288.

Gargaro, G., Gasparrini, F., Misiti, D., Palmieri, G., Pierini, M., & Villani, C. 1987. New HPLC-chiral stationary phases for enantiomeric resolution of sulfoxides and selenoxides. ***Chromatographia*****,** *24*(1), 505-509.

Glazer, A. N. 1966. Transesterification reactions catalyzed by subtilisins. ***Journal of Biological Chemistry***, 241(3), 635-638.

Grunberger, D., Banerjee, R., Eisinger, K., Oltz, E. M., Efros, L., Caldwell, M., Estevez, V., Nakanishi, K. 1988. Preferentialcytotoxicity on tumor cells by caffeic acid phenethyl esterisolated from propolis. ***Experientia.***44,230–232.

Hermansson, J. 1983. Direct liquid chromatographic resolution of racemic drugs using α1-acid glycoprotein as the chiral stationary phase. ***Journal of Chromatography A***, 269, 71-80.

Hermansson, J. 1989. Enantiomeric separation of drugs and related compounds based on their interaction with α1-acid glycoprotein. ***TrAC Trends in Analytical Chemistry***, 8(7), 251-259.

Hesse, G., & Hagel, R. 1973. A complete separation of a racemic mixture by elution chromatography on cellulose triacetate. ***Chromatographia***, 6(6), 277-280.

Karanfil, G. 2013. Kafeik Asit için QCM Nanosensör Hazırlanması. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü**,** Yüksek Lisans Tezi, Konya, 12 s.

Kawabata, A., Kasamatsu, K., & Takagi, H. 1993. L-Tyrosine-induced antinociception in the mouse: involvement of central δ-opioid receptors and bulbo-spinal noradrenergic system. ***European journal of pharmacology***, 233(2-3), 255-260.

Khawas, B., & Krishna Murti, G. S. R. 1969. On the unit-cell dimensions and space group of L-tyrosine and L-tryptophane. ***Acta Crystallographica Section B: Structural Crystallography and Crystal Chemistry***, 25(5), 1006-1009.

Kirik, D., Rosenblad, C., Burger, C., Lundberg, C., Johansen, T. E., Muzyczka, N., ... & Björklund, A. 2002. Parkinson-like neurodegeneration induced by targeted overexpression of α-synuclein in the nigrostriatal system. ***Journal of Neuroscience***, 22(7), 2780-2791.

Komiyama, M., Takeuchi, T., Mukawa, T., & Asanuma, H. 2003. Fundamentals of molecular imprinting. Molecular Imprinting,(M. Komiyama, T. Takeuchi, T. Mukawa, and H. Asanuma, eds.) ***Wiley***, Weinheim, 9-19.

Kriz, D., Ramström, O., & Mosbach, K. 1997. Molecular imprinting-based biomimetic sensors could provide an alternative to often unstable biosensors for industry, medicine, and environmental analysis. ***Analytical chemistry***, 69(11), 345A-349A.

Kumagai, H., Echigo, T., Suzuki, H., & Tochkura, T. 1989. Enzymatic Synthesis of γ-Glutamyltyrosine Methyl Ester from l-Glutamine and l-Tyrosine Methyl Ester with Escherichia coli K-12 γ-Glutamyltranspeptidase. ***Agricultural and biological chemistry***, 53(5), 1429-1430.

Kuş, H. H.2013. Moleküler Baskılanmış Polimerler Ve Uygulamaları. Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Bitirme Ödevi. Kayseri.

Lämmerhofer, M., & Lindner, W. 1996. Quinine and quinidine derivatives as chiral selectors I. Brush type chiral stationary phases for high-performance liquid chromatography based on cinchonan carbamates and their application as chiral anion exchangers. ***Journal of Chromatography A***, 741(1), 33-48.

Mena, L. M., Martínez-Ruiz, P., Reviejo, A. J., Pingarrón, J. M. 2002. Molecularly imprinted polymers for on-line preconcentration by solid phase extraction of pirimicarb in water samples. ***Analytica Chimica Acta.*** 451, 297-304.

McDonald, C. E., & Balls, A. K. 1956. Transesterification reactions catalyzed by chymotrypsin. ***Journal of Biological Chemistry***, 221(2), 993-1003.

Mndzhoyan, O. L., Agadzhanyan, T. E., Fradkina, N. N., Avakyan, O. M., & Noravyan, O. S. 1971. Amino acids and peptides. ***Pharmaceutical Chemistry Journal***, 5(7), 383-385.

Molochnikov, L. S., Kovalyova, E. G., Zagarodni, A. A., Muhammed, M., Sultanov, Y. M., Efendiev, A. A. 2003. Coordination Of Cu(II) And Ni(II) İn Polymers İmprinted So As To Optimize Amine Chelate Formation**.** ***Polymer.*** 44, 4805-4815**.**

Mostad, A. R. V. I. D., Nissen, H. M., & Romming, C. 1972. Crystal structure of L-tyrosine. ***Acta chemica Scandinavica***, 26(10), 3819-3833.

Nagaoka, T., Banskota, A. H., Tezuka, Y., Saiki, I., And Kadota, S. 2002. Selective Antiproliferative Activity Of Caffeic Acid Phenethylester Analogues On Highly Liver-Metastatic Murine Colon 26-L5 Carcinoma Cell Line. ***Bioorg. Med. Chem***. 10, 3351–3359.

Nicolai, B., Mahe´, N., Ce´Olin, R., Rietveld, I. B., Barrio, M., Tamarit, J. L. 2011. Tyrosine Alkyl Esters As Prodrug: The Structure And İntermolecular İnteractions Of L-Tyrosine Methyl Ester Compared To L-Tyrosine And İts Ethyl And N-Butyl Esters**.** ***Struct Chem***. 22, 649–659.

Okamoto, Y., Aburatani, R., & Hatada, K. (1990). Chromatographic optical resolution on 3, 5-disubstituted phenylcarbamates of cellulose and amylose. ***Bulletin of the Chemical Society of Japan***, *63*(3), 955-957.

Okamoto, Y., & Yashima, E. (1998). Polysaccharide derivatives for chromatographic separation of enantiomers. ***Angewandte Chemie International Edition***, *37*(8), 1020-1043.

Oliyai, R., & Stella, V. J. (1993). Prodrugs of peptides and proteins for improved formulation and delivery. ***Annual review of pharmacology and toxicology***, *33*(1), 521-544.

Osman, B., Özer, E. T., Demirbel, E., Güçer, Ş., Beşirli, N. 2013. Dimetil Ftalatın Sulu Fazdan Çıkarılması İçin L-Triptofan İçeren Mikro Tanelerin Sentezi Ve Karakterizasyonu. ***Separation And Purification Technology***. 109, 40-47.

Odabaşı, M. Denizli, A. 2004. Cibacron Blue F3GA İncorporated Magnetic Poly(2-hydroxyethyl methacrylate) Beads For Lysozyme Adsorption. ***Journal Of Applied Polymer Science, Vol***. 93, 719-725.

Önnby, L., Pakade, V., Mattiasson, B., Kirsebom, H. 2012. Polymer Composite Adsorbents Using Particles Of Molecularly İmprinted Polymers Or Aluminium Oxide Nanoparticles For Treatment Of Arsenic Contaminated Waters**.** ***Water Research***. 46, 4111-4120.

Öncel, P. 2013. İlaç Salımı İçin Moleküler Baskılanmış Kriyojel Membranlar. Hacettepe Üniversitesi, Biyomühendislik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.

Pieret, A. F., Durant, F., Griffé, M., Germain, G., & Debaerdemaeker, T. (1970). Structure cristalline de l'ester ethylique de la tyrosine. ***Acta Crystallographica Section B: Structural Crystallography and Crystal Chemistry***, *26*(12), 2117-2124.

Piletsky, S. A., Alcock, S., Turner, A.P.F. 2001. Molecular Imprinting: At The Edge Of The Third Millennium, ***Trends Biotechnol.*** 19, 9-12.

Pirkle, W. H., Finn, J. M., Schreiner, J. L., & Hamper, B. C. (1981). A widely useful chiral stationary phase for the high-performance liquid chromatography separation of enantiomers**.** ***Journal of the American Chemical Society***, *103*(13), 3964-3966.

Pirkle, W. H., & Hyun, M. H. (1984). A chiral stationary phase for the facile resolution of amino acids, amino alcohols and amines as the N-3, 5-dinitrobenzoyl derivatives**.** ***The Journal of Organic Chemistry***, *49*(17), 3043-3046.

Qian, S. H., Zhu, H. L., Tiekink, E. R. T. 2006. Acta Crystallogr. Sect E. 62, o882-o884.

Sheldon, R. A.1992. Industiral Synthesis of Optically Active Compounds, Chirotecnology. Marcel Dekker, Inc., pp. 53-61 and pp. 27-33, New York, USA.

Steffansen, B., Bundgaard, H., & Mørk, N. (1989). Prodrugs as drug delivery systems 95: Stability and enzymatic hydrolysis of glycolate, glycolamide and alkyl esters of tyrosine**. *Acta Pharm. Nord***, *2*, 47-56.

Stevenson, D. 1999. Molecular İmprinted Polymers For Solid-Phase Extraction. ***Trends in Analytical Chemistry,*** *Vol.* 18, no. 3.

Solomons, T. G., & Fryhle, C. B. (2000). Organic Chemistry John Wiley&Sons. *Inc.,*, 1125.

Subramanian, G. 2001. Chiral Separation Techniques: A Practical Approach, Second, Completely Revised. Wıley-Vch Verlag. Updated Edition. Germany.

Sözen, E.2014. Zn(II) İyon Baskılanmış Polimer Ve Analitik Uygulaması. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. Aydın.

Tümerdem, R. 2004. Yeni Kiral Schiff Bazlarının Sentezi ve Bunların Karbonil Bileşiklerinin Asimetrik İndirgenmesinde Kullanılması. Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Diyarbakır, 90 s.

Uzun, L. Uzek, R. Şenel, S. Say, R. Denizli, A. 2013. Chiral Recognition Of Proteins Having L-Histidine Residues On The Surface With Lanthanide Ion Complex Incorporated-Molecularly İmprinted Fluorescent Nanoparticles. ***Materials Science And Engineering C.*** 33, 3432-3439.

Verheyen, E., Schillemans, J. P., Wijk, M. V., Demeniex, M. A., Hennink, W. E., Nostrum, C. F. V. 2011. Challenges For The Effective Molecular İmprinting Of Proteins. ***Biomaterials.*** 32, 3008-3020.

Wulff, G., Vesper, W., Grobeeinsler, R., Sarhan A. 1977.Enzymeanalogue Built Polymers: 4. Synthesis Of Polymers Containing Chiral Cavities And Their Use For Resolution Of Racemates. ***Makromol Chem***.178, 2799-2816.

Yan, M., ve Ramström, O. 2005. Molecularly Imprinted Materials Science And Technology. Marcel Dekker. New York, U. S. A.

Yamskov, I. A., Berezin, B. B., Davankov, V. A., Zolotarev,Y. A.,Dostavalov, I. N, Myasoedov, N.F. 1981.***J. Chromatogr***.217, 539–543.

Yuki, H., Okamoto, Y., & Okamoto, I. (1980). Resolution of racemic compounds by optically active poly (triphenylmethyl methacrylate). ***Journal of the American Chemical Society***, *102*(20), 6356-6358.

Yıldırım, B. 2015. Farklı Polimerizasyon Yöntemleriyle Hazırlanan Moleküler Thıamethoxambaskılı Polimerlerin Performansının İncelenmesi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. İzmir.

ÖZGEÇMİŞ

Adı	: Remzive
Soyadı	: YEŞİL
Mail	: yslremziye@gmail.com
Doğum Yeri	: Ergani
Doğum Tarihi	: 31.08.1987

EĞİTİM BİLGİLERİ

2016-Devam Dicle Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü Kimya Bölümü Yüksek Lisans

2015-2017 Dicle Üniversitesi Ziya Gökalp Eğitim Fakültesi Kimya Öğretmenliği

2008-2013 Bozok Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEZ İNTİHAL FORMU

ÖĞRENCİ BİLGİLERİ	
ADI VE SOYADI	Remziye YEŞİL
ÖĞRENCİ NO	16803014
EĞİTİM – ÖĞRETİM YILI	2018-2019
YARIYIL	☐ Güz ☒ Bahar
ANABİLİM DALI	KİMYA
PROGRAM	Yüksek Lisans
TEZ KONUSU	"L-Tirozin Metil Esteri Baskılanmış/Sorplanmış N-(R)-α-Metilbenzil Akrilamit-EGDMA Kopolimerinin Hazırlanması Ve Bu Katı Faz Üzerinden Rasemik DL-Tirozin Metil Esterinin Rezolüsyonu"
İNTİHAL RAPORU BİLGİLERİ	
RAPOR TÜRÜ	Tez Savunma Sınavı Sonrası
SAYFA SAYISI	63
BENZERLİK ORANI	%19
RAPORLAMA TARİHİ	05/07/ 2019

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın kapak sayfası, giriş, ana bölümler, sonuç ve tartışma kısımlarından oluşan toplam 63 sayfalık kısmına ilişkin, 05/07/2019 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından *turnitin* adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan intihal raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 19 'tür.

Uygulanan filtrelemeler:

☐ Kabul/Onay sayfaları hariç,
☐ Kaynakça hariç
☐ Alıntılar hariç/dâhil
☐ Diğer

Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Programlarda Tez Çalışması İntihal Raporu Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edilmesi durumunda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

Remziye YEŞİL

05/07/2019

Prof. Dr. Giray TOPAL **Tez Danışmanı** 05/07/2019	Prof. Dr. Haluk AYDIN **Anabilim Dalı Başkanı** 08/07/2019

Formdaki bilgiler bilgisayar ortamında doldurulmalıdır. El yazısı ile doldurulan formlar geçersiz sayılmaktadır.

KGK-FRM-340/00